



# НЕОНАТОЛОГІЯ, ХІРУРГІЯ ТА ПЕРИНАТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ISSN 2226-1230 (PRINT)  
ISSN 2413-4260 (ONLINE)

Щоквартальний медичний науково-практичний журнал      Свідоцтво про державну реєстрацію серія KB №18106-6906 від 2.09.2011 р.  
Видається з 2011 р.

Засновники: Буковинський державний медичний університет  
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація неонатологів України»

Відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії (відповідно до Порядку формування Переліку наукових фахових видань України, затвердженого наказом МОН України від 15 січня 2018 року № 32, зареєстрованого в Мін'юсті України 06 лютого 2018 року за № 148/21600):  
- Наказом Міністерства освіти і науки України від 17.03.2020 року № 409, зареєстрованим у Міністерстві юстиції України 06.02.2018 року за № 148/21600, видання внесено до Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії, Категорія «Б».  
- Наказом Міністерства освіти і науки України від 23.08.2023 року № 1035 видання перенесене з Категорії «Б» до Категорії «А».

Журнал включений у каталоги та наукометричні бази: Національна бібліотека ім. В.І. Вернадського (National Library of Ukraine), «Українська науково-освітня телекомунікаційна мережа URAN (Open Journal Systems), CrossRef, WorldCat, Google Akademi, Index Copernicus, BASE, DOAJ, Scilit, Scopus.

## NEONATOLOGY, SURGERY AND PERINATAL MEDICINE medical scientific journal

Key title: Neonatologîa, hirurgiâ ta perinatal'na medicina (Onl ine)  
Abbreviated key title: Neonatol. hir . perinat. med. (Online)

### ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР

**Бойчук Тарас Миколайович** – д.мед.н., професор, Голова Вченої Ради Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці, Україна)

### ШЕФ-РЕДАКТОР

**Знаменська Тетяна Костянтинівна** – член-кореспондент НАМН України, д.мед.н., професор, заступник директора з перинатальної медицини ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», Президент Всеукраїнської громадської організації «Асоціація неонатологів України», Заслужений лікар України, спеціальність «Неонатологія» (м. Київ, Україна)

### РЕДАКЦІЙНА РАДА

#### Заступники головного редактора:

**Годованець Юлія Дмитрівна** – д.мед.н., професор, професор кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету МОЗ України, спеціальність "Неонатологія" (м. Чернівці, Україна)

**Юзько Олександр Михайлович** – д.мед.н., професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету, спеціальність "Акушерство та гінекологія" (м. Чернівці, Україна)

**Горбатюк Ольга Михайлівна** – д.мед.н., професор, професор кафедри дитячої хірургії, анестезіології, ортопедії та травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупик а, спеціальність "Дитяча хірургія" (м. Київ, Україна)

#### Наукові консультанти:

**Добрянський Д.О.** – д.мед.н., професор, професор кафедри педіатрії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, спеціальність "Неонатологія" (м. Львів, Україна)

**Гречаніна О.Я.** – член-кореспондент НАМН України, д.мед.н., професор, директор Українського інституту клінічної генетики ВДНЗ "Харківський державний медичний університет МОЗ України", спеціальність "Медична генетика" (м. Харків, Україна)

**Дронова В.Л.** – д.мед.н., професор, перший заступник директора з науково-організаційної роботи ДУ "Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України", керівник відділення оперативної гінекології, спеціальність "Акушерство та гінекологія" (м. Київ, Україна)

**Похилько В.І.** – д.мед.н., професор, проректор з науково-педагогічної та виховної роботи Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», спеціальність "Дитяча анестезіологія» (м. Полтава, Україна)

**Нечитайло Ю.М.** – д.мед.н., професор, завідувач кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету МОЗ України, спеціальність "Педіатрія" (м. Чернівці, Україна)

**Македонський І.О.** – д.мед.н., професор, директор Медичного центру матері та дитини ім. Руднева, професор кафедри клінічної лабораторної діагностики Дніпропетровського національного університету імені О.Гончара МОН України, спеціальність "Дитяча хірургія" (м. Дніпро, Україна)

**Давиденко І.С.** – д.мед.н., професор, завідувач кафедри патологічної анатомії Буковинського державного медичного університету МОЗ України, дійсний член Міжнародної Академії Патології, спеціальність "Патологічна анатомія" (м.Чернівці, Україна)

#### Наукові редактори розділів журналу:

Неонатологія – **Клименко Т.М.**, д.мед.н., професор (м. Харків, Україна)

Медична генетика – **Горovenko Н.Г.**, член-кореспондент НАМН України, д.мед.н., професор (м. Київ, Україна)

Неонатальна хірургія – **Лосев О.О.**, д.мед.н., професор (м. Одеса, Україна)

Педіатрія – **Сорокман Т.В.**, д.мед.н., професор (м. Чернівці, Україна)

Акушерство та гінекологія – **Андрієць О.А.**, д.мед.н., професор (м.Чернівці, Україна)

Патологія – **Ткачук С.С.**, д.мед.н., професор (м.Чернівці, Україна)

#### Відповідальний редактор журналу "Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина"

**Бабінцева А.Г.** – д.мед.н., доцент, професор кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці, Україна)

#### Відповідальний редактор електронної версії журналу в системі Open Journal Systems (OJS):

**Годованець О.С.** – к.мед.н., доцент, доцент кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету МОЗ України (м. Чернівці, Україна)

## РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

### НЕОНАТОЛОГІЯ:

Амбалаванан Н. (м. Бірмінгем, США)  
Батман Ю.А. (м. Київ, Україна)  
Власова О.В. (м. Чернівці, Україна)  
Воробіюва О.В. (м. Київ, Україна)  
Дессі А. (м. Кальярі, Італія)  
Ковальова О.М. (м. Полтава, Україна)  
Куріліна Т.В. (м. Київ, Україна)  
Куртяну А.М. (м. Кишинев, Республіка Молдова)  
Ліхачова А.С. (м. Харків, Україна)  
Мавропуло Т.К. (м. Дніпро, Україна)  
Мазманян П.А. (м. Єреван, Вірменія)  
Павлишин Г.А. (м. Тернопіль, Україна)  
Полін Р. (м. Нью-Йорк, США)  
Похилько В.І. (м. Полтава, Україна)  
Редько І.І. (м. Запоріжжя, Україна)  
Рейтерер Ф. (м. Грац, Австрія)  
Ріга О.О. (м. Харків, Україна)  
Кісельова М.М. (м. Львів, Україна)  
Нікуліна Л.І. (м. Київ, Україна)  
Шуцько Є.Є. (м. Київ, Україна)  
Яблонь О.С. (м. Вінниця, Україна)

### НЕОНАТАЛЬНА ХІРУРГІЯ:

Бабуч С.І. (м. Кишинев, Молдова)  
Боднар О.Б. (м. Чернівці, Україна)  
Гулев Ч.Б. (м. Баку, Азербайджан)  
Давиденко В.Б. (м. Харків, Україна)  
Коноплицький В.С. (м. Вінниця, Україна)  
Ксьонз І.В. (м. Полтава, Україна)  
Левницька С.А. (м. Чернівці, Україна)  
Мельниченко М.Г. (м. Одеса, Україна)  
Микив К.М. (м. Бишкек, Киргизстан)  
Наконечний А.Й. (м. Львів, Україна)  
Рибальченко В.Ф. (м. Київ, Україна)  
Руденко Є.О. (м. Київ, Україна)

Савицька Е. (м. Варшава, Польща)  
Сокольник С.О. (м. Чернівці, Україна)  
Фофанов О.Д. (м. Івано-Франківськ, Україна)  
Хамраєв А.Ж. (м. Ташкент, Республіка Узбекистан)

### АКУШЕРСТВО ТА ГІНЕКОЛОГІЯ:

Абрамян Р.А. (м. Єреван, Вірменія)  
Багірова Х.Ф. (м. Баку, Азербайджан)  
Бойчук А.В. (м. Тернопіль, Україна)  
Геряк С.М. (м. Тернопіль, Україна)  
Гнатко О.П. (м. Київ, Україна)  
Громова А.М. (м. Полтава, Україна)  
Дубоссарська З.М. (м. Дніпро, Україна)  
Каліновська І.В. (м. Чернівці, Україна)  
Кравченко О.В. (м. Чернівці, Україна)  
Ліхачов В.К. (м. Полтава, Україна)  
Макарчук О.М. (м. Івано-Франківськ, Україна)  
Маркін Л.Б. (м. Львів, Україна)  
Назаренко Л.Г. (м. Харків, Україна)  
Лонгфорд Н.Т. (м. Лондон, Великобританія)  
Окоєв Г.Г. (м. Єреван, Вірменія)  
Пирогова В.І. (м. Львів, Україна)  
Потапов В.О. (м. Дніпро, Україна)  
Резніченко Г.І. (м. Запоріжжя, Україна)  
Щербина М.О. (м. Харків, Україна)

### ПЕДІАТРІЯ:

Аряєв М.Л. (м. Одеса, Україна)  
Безрук В.В. (м. Чернівці, Україна)  
Борисова Т.П. (м. Дніпро, Україна)  
Бойченко А.Д. (м. Харків, Україна)  
Боконбаєва С.Д. (м. Бішкек, Киргизія)  
Гончарь М.О. (м. Харків, Україна)  
Денисова М.Ф. (м. Київ, Україна)  
Іванько О.Г. (м. Запоріжжя, Україна)

Квашніна Л.В. (м. Київ, Україна)  
Ковтюк Н.І. (м. Чернівці, Україна)  
Котова Н.В. (м. Одеса, Україна)  
Кирилова Л.Г. (м. Київ, Україна)  
Кривоустов С.П. (м. Київ, Україна)  
Марушко Т.В. (м. Київ, Україна)  
Нечитайло Д.Ю. (м. Чернівці, Україна)  
Починок Т.В. (м. Київ, Україна)  
Сенаторова Г.С. (м. Харків, Україна)  
Сміян І.С. (м. Тернопіль, Україна)  
Сокольник С.В. (м. Чернівці, Україна)  
Токарчук Н.І. (м. Вінниця, Україна)  
Шадрін О.Г. (м. Київ, Україна)  
Ященко Ю.Б. (м. Київ, Україна)

### МЕДИЧНА ГЕНЕТИКА:

Веропотвелян М.П. (м. Кривий Ріг, Україна)  
Галаган В.Д. (м. Київ, Україна)  
Гнайтецько О.З. (м. Львів, Україна)  
Ластівка І.В. (м. Чернівці, Україна)

### ПАТОЛОГІЯ:

Бамбуляк А.В. (м. Чернівці, Україна)  
Годованець О.І. (м. Чернівці, Україна)  
Задорожна Т.Д. (м. Київ, Україна)  
Заморський І.І. (м. Чернівці, Україна)  
Зябліцев С.В. (м. Київ, Україна)  
Кузняк Н.Б. (м. Чернівці, Україна)  
Проняєв Д.В. (м. Чернівці, Україна)  
Роговий Ю.Є. (м. Чернівці, Україна)  
Ситнікова В.О. (м. Одеса, Україна)  
Слободян О.М. (м. Чернівці, Україна)  
Степаненко О.Ю. (м. Харків, Україна)  
Цигикало О.В. (м. Чернівці, Україна)  
Марковський В.Д. (м. Харків, Україна)

*Рекомендовано до друку та поширення через мережу Internet рішенням Вченої ради  
Буковинського державного медичного університету  
Протокол №4 від 26 жовтня 2023 року*

## НАУКОВА РЕДАКЦІЯ ЖУРНАЛУ

### Редакційно-видавничий відділ

Буковинського державного медичного університету МОЗ України

Адреса: 58002, Чернівці, площа Театральна, 2

Код ЄДРПОУ 02010971

Керівник відділу - Волошенюк Ірина Олексіївна

Контактний телефон: +38 (0372) 52-39-63

e-mail: print@bsmu.edu.ua

## ВИДАВЕЦЬ

ТОВ «Редакція журналу «Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина»

Адреса: 04053, м. Київ, пров. Бехтерівський, 4Б, оф. 47

Код ЄДРПОУ 42656224

Директор видавництва - Кушнір Віталій Миколайович

Контактні телефони: +380673270800

e-mail: v.kushnir1111@gmail.com

Передплатний індекс: 89773.

Адреса для листування: Буковинський державний медичний університет МОЗ України,  
Театральна площа, 2, м. Чернівці, 58002, Україна. Заступнику головного редактора  
журналу "Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина" професору Годованець Юлії Дмитрівні.

Контактний телефон: +38(050)6189959

E-mail: neonatology@bsmu.edu.ua

Офіційний web-сайт журналу: <http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

(Українська науково-освітня телекомунікаційна мережа "URAN", проєкт «Наукова періодика України,  
в рамках некомерційного проєкту PublicKnowledge Project

### Електронна версія журналу представлена:

Національна бібліотека ім. В.І.Вернадського (м. Київ, Україна), Наукова періодика України, №347,

web-сайт: <http://www.irbis-nbuv.gov.ua/>

Буковинський державний медичний університет МОЗ України (м. Чернівці, Україна),

web-сайт: [http://www.bsmu.edu.ua/uk/science/scientific\\_mags\\_bsmu/neonatal](http://www.bsmu.edu.ua/uk/science/scientific_mags_bsmu/neonatal)

Журнал розсилається згідно Державного реєстру у провідні бібліотеки,

державні установи та вищі медичні навчальні заклади України.

Публікаційна етика журналу відповідає положенням «Єдині вимоги до рукописів, що представляються в біомедичні журнали,  
підготовки та редагування біомедичних публікацій» Міжнародного Комітету Редакторів Медичних Журналів  
(International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) <http://www.icmje.org/>)

Редакція журналу підтримує міжнародні принципи наукових публікацій згідно рекомендацій Комітету з етики публікацій (COPE),  
Довіднику журналів відкритого доступу (DOAJ), Асоціації наукових видавців відкритого доступу (OASPA)  
та Всесвітньої асоціації медичних редакторів (WAME)



**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ОРГАНІЗАЦІЇ НЕОНАТОЛОГІЇ ТА  
ПЕРИНАТАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ В УКРАЇНІ**

- Т. К. Знаменська, Є. В. Зброжик, О. В. Воробйова,  
Л. І. Нікуліна, Т. В. Голота*  
ВПЛИВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ У ВАГІТНИХ  
ТА ПОРОДІЛЬ НА СТАН НОВОНАРОДЖЕНИХ ПІД ЧАС  
ВІЙСЬКОВОЇ АГРЕСІЇ..... 5
- М. Й. Малачинська, М. М. Кісельова, О. Л. Шлемкевич,  
Н. С. Вереснюк, Н. П. Кунта*  
БАНКИ ГРУДНОГО МОЛОКА – ШЛЯХ ДО ГЛОБАЛЬНОГО  
ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГРУДНОГО ВИГОДОВУВАННЯ  
В УКРАЇНІ ТА СВІТІ ..... 12

**РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЙНИХ  
ТА НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ РОБІТ**
**НЕОНАТОЛОГІЯ**

- Т. М. Клименко, М. І. Кононович*  
ДО ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ АЛГОРИТМУ  
ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПІДХОДУ ДО МЕНЕДЖМЕНТУ  
ПЕРСИСТУЮЧОЇ ЛЕГЕНЕВОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ  
У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ ..... 19
- І. О. Анікін, Л. С. Стрижак*  
СКЛАД ТІЛА ДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ НА ТЛІ  
ПІДВИЩЕНОГО СПОЖИВАННЯ БІЛКА У ВІДЦІЛЕННІ  
ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ..... 28
- Ю. Д. Годованець, А. В. Фрунза*  
ПРЕДИКТОРИ ТА КЛІНІКО-ПАРАКЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ  
ПОРУШЕНЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СЕЧОВИДІЛЬНОЇ  
СИСТЕМИ У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ ..... 40

**ПЕДІАТРІЯ**

- Т. О. Крючко, В. В. Щербак, Л. М. Бубир, О. В. Ізмайлова, О. Я. Ткаченко*  
ВИВЧЕННЯ ЦИРКАДΙΑННОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО  
ГОДИННИКА У ПЕДІАТРИЧНИХ ПАЦІЄНТІВ  
ІЗ СЕЗОННИМ АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ: ПОТЕНЦІЙНІ  
ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ..... 49
- Г. А. Павлишин, О. І. Панченко, К. В. Козак*  
ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ COVID-19 У ДІТЕЙ  
ШКІЛЬНОГО ВІКУ ЗАЛЕЖНО ВІД ГУМОРАЛЬНОГО  
ІМУНІТЕТУ ПРОТИ КАШЛУКУ ..... 57
- Л. Є. Калашиківа, С. А. Найда, В. С. Дідковський,  
В. П. Засць, С. Г. Бартенев*  
ПСИХОСОМАТИЧНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЮВАННЯ  
ФУНКЦІЇ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ У ДІТЕЙ  
З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ПРИ ПРОСЛУХУВАННІ  
АУДІО СИГНАЛІВ РІЗНОГО КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ... 63

**ДИТЯЧА ХІРУРГІЯ**

- О. М. Горбатюк, М. Ю. Веселий, Є. В. Зброжик*  
ОЦІНКА ПСИХОЛОГІЧНОГО СТАНУ ПАЦІЄНТІВ  
ДИТЯЧОГО ВІКУ З ПЕРЕКРУТОМ ЯЄЧКА ТА  
ПСИХОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ..... 72
- С. О. Гур'єв, В. А. Кушнір, В. І. Гребенюк, П. Б. Волянський*  
ОЦІНКА КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНОЇ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ДОРОЖНЬО-ТРАНСПОРТНОЇ  
ТРАВМИ У ДІТЕЙ ЯК МЕДИКО-САНИТАРНИЙ НАСЛІДОК  
НАДЗВИЧАЙНОЇ СИТУАЦІЇ ТЕХНОГЕННОГО ХАРАКТЕРУ .... 78
- З. Р. Назірова, Д. М. Туракулова*  
ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЛІКУВАННЯ  
ДІТЕЙ З ПЕРВИННОЮ ВРОДЖЕНОЮ ГЛАУКОМОЮ ..... 84
- Д. М. Туракулова, З. Р. Назірова*  
АЛГОРИТМ ВЕДЕННЯ ДІТЕЙ ПІСЛЯ  
АНТИГЛАУКОМАТОЗНОЇ ХІРУРГІЇ..... 88

**ДИТЯЧА АНЕСТЕЗИОЛОГІЯ  
ТА ІНТЕНСИВНА ТЕРАПІЯ**

- Я. В. Семкович*  
КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ЗМІНИ МАРКЕРІВ БОЛЮ У ДІТЕЙ  
В ПІСЛЯОПЕРАТИВНОМУ ПЕРІОДІ ..... 92

**CURRENT ISSUES OF MEDICAL CARE ORGANIZATION FOR  
CHILDREN IN UKRAINE**

- T. K. Znamenska, E. V. Zbrozhyk, O. V. Vorobiova, L. I. Nikulina, T. V. Golota*  
INFLUENCE OF PSYCHO-EMOTIONAL STRESS IN  
PREGNANT WOMEN AND CHILDBIRTH ON THE  
CONDITION OF THE NEWBORN DURING MILITARY  
AGGRESSION ..... 5
- M. Y. Malachynska, M. M. Kiselova, O. L. Shlemkevych,  
N. S. Veresnyuk, N. P. Kunta.*  
BREAST MILK BANKS – THE WAY TO GLOBAL  
BREASTFEEDING SUPPORT IN UKRAINE  
AND THE WORLD ..... 12

**DISSERTATION RESULTS  
AND RESEARCH WORKS**
**NEONATOLOGY**

- T. Klymenko, M. Kononovych*  
TO THE ISSUE OF THE DEVELOPMENT AN  
ALGORITHM FOR A DIFFERENTIATED APPROACH TO  
THE MANAGEMENT OF PERSISTENT PULMONARY  
HYPERTENSION IN PREMATURE INFANTS..... 19
- I. O. Anikin, L. S. Stryzhak*  
BODY COMPOSITION OF FULL-TERM NEWBORNS  
AGAINST THE BACKGROUND OF INCREASED PROTEIN  
INTAKE IN THE INTENSIVE CARE UNIT..... 28
- Yu. Hodovanets, A. Frunza*  
PREDICTIVE FACTORS AND CLINICAL  
AND PARACLINICAL FEATURES OF URINARY TRACT  
DYSFUNCTION IN PRETERM INFANTS ..... 40

**PEDIATRIC**

- T. O. Kryuchko, V. V. Shcherbak, L. M. Buby, O. V. Izmailova,  
Olha Ya. Tkachenko*  
STUDY OF THE CIRCADIAN MOLECULAR CLOCK  
IN PAEDIATRIC PATIENTS WITH SEASONAL ALLERGIC  
RHINITIS: POTENTIAL APPROACHES TO TREATMENT..... 49
- H. Pavlyshyn, O. Panchenko, K. Kozak*  
PECULIARITIES OF THE COURSE OF COVID-19 IN  
SCHOOL-AGE CHILDREN AS A FUNCTION OF HUMORAL  
IMMUNITY AGAINST PERTUSSIS ..... 57
- L. Kalashnikova, S. Naida, V. Didkovskiy, V. Zaets, S. Bartenev*  
PSYCHOSOMATIC MECHANISMS OF REGULATION  
OF EXTERNAL RESPIRATION FUNCTION IN CHILDREN  
WITH BRONCHIAL ASTHMA WHEN LISTENING  
TO AUDIO SIGNALS OF VARIOUS COMPONENT  
COMPOSITION ..... 63

**PEDIATRIC SURGERY**

- O. Gorbatyuk, M. Veselyi, Y. Zbrozhyk*  
ASSESSMENT OF THE PSYCHOLOGICAL STATE OF PATIENTS  
OF CHILDHOOD AGE WITH TESTICULAR TORSION  
AND PSYCHOLOGICAL CORRECTION OF ITS DISORDERS... 72
- S. O. Guryev, V. A. Kushnir, V. I. Grebeniuk, P. B. Volianskyi*  
EVALUATION OF THE CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL  
CHARACTERISTICS OF ROAD TRAFFIC INJURIES  
IN CHILDREN AS A MEDICAL AND SANITARY  
CONSEQUENCE OF A MAN-MADE EMERGENCY ..... 78
- Z. R. Nazirova, D. M. Turakulova*  
FEATURES OF NEUROPROTECTIVE TREATMENT OF  
CHILDREN WITH PRIMARY CONGENITAL GLAUCOMA..... 84
- D. M. Turakulova, Z. R. Nazirova*  
ALGORITHM FOR MANAGEMENT OF CHILDREN AFTER  
ANTI-GLAUCOMATOSUS SURGERY ..... 88

**PEDIATRIC ANESTHESIOLOGY  
AND INTENSIVE CARE**

- Semkovych Ya. V.*  
CLINICAL AND LABORATORY CHANGES  
IN POSTSURGICAL PAIN MARKERS IN CHILDREN..... 92

**АКУШЕРСТВО ТА ГІНЕКОЛОГІЯ**

|  |     |
|--|-----|
| <i>A. B. Бойчук, Ю. Б. Якимчук, О. М. Якимчук</i><br>SARS-COV-2 ТА ГІПЕРКОАГУЛЯЦІЯ<br>У ВАГІТНИХ .....   | 99  |
| <i>В. Л. Ващенко</i><br>МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ КЛІТИННО-<br>ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ТА ЦИТОКІНОВОГО<br>СТАТУСУ У ВАГІТНИХ ГРУПИ ВИСОКОГО РИЗИКУ ПО<br>ВИНИКНЕННЮ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ..... | 105 |
| <i>В. Ліхачов, О. Тарановська</i><br>ЗМІНИ БАЛАНСУ ЦИТОКІНІВ У ВАГІТНИХ<br>З ХРОНІЧНИМ ЕНДОМЕТРИТОМ<br>В АНАМНЕЗІ ТА ЇХ РОЛЬ У ФОРМУВАННІ<br>ПРЕЕКЛАМПСІЇ .....                          | 111 |
| <i>А. В. Пушкашу</i><br>ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ШИШКОВИДНОГО ТІЛА<br>У ЖІНОК ІЗ ЗАГРОЗЛИВИМ АБОРТОМ В ПЕРШОМУ<br>ТРИМЕСТРІ – ПОДАЛЬШІ ПЕРСПЕКТИВИ ВАГІТНОСТІ.....                            | 118 |

**ПАТОЛОГІЯ**

|   |     |
|---|-----|
| <i>Р. Р. Дмитренко, О. А. Коваль, Л. А. Андрущак,</i><br><i>І. С. Макарчук, О. В. Цигикало</i><br>ОСОБЛИВОСТІ ІДЕНТИФІКАЦІЇ РІЗНИХ ТИПІВ ТКАНИН<br>ПІД ЧАС 3D-РЕКОНСТРУКЦІЇ МІКРОСКОПІЧНИХ<br>СТРУКТУР ЛЮДИНИ ..... | 125 |
| <i>Т. І. Муринюк</i><br>ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПІТЕЛІУ ЯСЕН У ДІТЕЙ<br>У ДІЛЯНЦІ ТРЕТІХ МОЛЯРІВ<br>НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ФОРМУВАННЯ КОРЕНЯ ЗУБА .....   | 135 |

**АНАЛІТИЧНІ ОГЛЯДИ**

|   |     |
|---|-----|
| <i>О. О. Скавінська, Ю. І. Чернявська, Л. Є. Фіщук,</i><br><i>В. І. Похилько, О. Г. Євсеєнкова, З. І. Россоха</i><br>СУЧАСНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ:<br>ВІД ТЕОРІЇ ДО ПРАКТИКИ В ПЕРИНАТОЛОГІЇ<br>ТА ПЕДІАТРІЇ ..... | 141 |
|---|-----|

**ВИПАДКИ З ПРАКТИКИ**

|  |     |
|--|-----|
| <i>О. М. Горбатюк, К. Т. Берцун, О. С. Рубіна, А. І. Сасюк,</i><br><i>О. Г. Мазур, О. О. Лукіянець</i><br>КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК ВАЖКОЇ АНЕМІЇ<br>У НОВОНАРОДЖЕНОЇ ДИТИНИ .....                                       | 150 |
| <i>О. І. Оболонський, О. Ю. Оболонська, О. Г. Капустіна</i><br>ЕФЕКТИВНІСТЬ УЛЬТРАЗВУКОВОГО МОНІТОРИНГУ<br>МАНЕВРУ РЕКРУТУВАННЯ У НОВОНАРОДЖЕНИХ<br>З АТЕЛЕКТАЗОМ ЛЕГЕНЬ НА ПРИКЛАДІ КЛІНІЧНОГО<br>ВИПАДКУ ..... | 156 |

**РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРАКТИКУ**

|  |     |
|--|-----|
| <i>Т. К. Знаменська, О. В. Воробйова</i><br>ДО ПИТАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ПРОБІОТИЧНИХ<br>ДІЄТИЧНИХ ДОБАВОК У НЕМОВЛЯТ ..... | 161 |
|--|-----|

|   |     |
|---|-----|
| ВИМОГИ ДЛЯ ОФОРМЛЕННЯ ТА ПОДАННЯ<br>МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ ПУБЛІКАЦІЇ ..... | 165 |
|---|-----|

**OBSTETRICS AND GYNECOLOGY**

|  |     |
|--|-----|
| <i>A. Boychuk, Y. Yakymchuk, O. Yakymchuk</i><br>SARS-COV-2 AND HYPERCOAGULATION IN PREGNANT<br>WOMEN.....   | 99  |
| <i>V. L. Vashchenko</i><br>POSSIBILITIES OF CORRECTING CELLULAR-<br>HUMORAL IMMUNE DISORDERS AND CYTOKINE<br>STATUS IN HIGH-RISK PREGNANT WOMEN<br>FOR THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA .....               | 105 |
| <i>V. Likhachov, O. Taranovska</i><br>CHANGES IN CYTOKINE BALANCE IN PREGNANT<br>WOMEN WITH CHRONIC ENDOMETRITIS<br>IN THE PAST MEDICAL HISTORY AND THEIR ROLE<br>IN THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA ..... | 111 |
| <i>A. V. Pushkashu</i><br>FUNCTIONAL STATE OF THE PINEAL GLAND IN<br>WOMEN WITH THREATENED ABORTION IN THE FIRST<br>TRIMESTER – FURTHER PROSPECTS OF PREGNANCY.....  | 118 |

**PATHOLOGY**

|   |     |
|---|-----|
| <i>R. R. Dmytrenko, O. A. Koval, L. A. Andrushchak,</i><br><i>I. S. Makarchuk, O. V. Tsyhykalo</i><br>PECULIARITIES OF THE IDENTIFICATION OF DIFFERENT<br>TYPES OF TISSUES DURING 3D-RECONSTRUCTION OF<br>HUMAN MICROSCOPIC STRUCTURES..... | 125 |
| <i>T. I. Murynyuk</i><br>CHARACTERISTICS OF THE GINGIVAL EPITHELIUM OF<br>CHILDREN’S THIRD MOLARS AT DIFFERENT STAGES OF<br>ROOT FORMATION .....  | 135 |

**ANALYTICAL REVIEWS**

|   |     |
|---|-----|
| <i>O. O. Skavinska, Yu. I. Cherniavska, L. Ye. Fishchuk,</i><br><i>V. I. Pokhylko, O. H. Yevseienkova, Z. I. Rossokha</i><br>MODERN ASPECTS OF PHARMACOGENETICS:<br>FROM THEORY TO PRACTICE IN PERINATOLOGY<br>AND PEDIATRICS ..... | 141 |
|---|-----|

**CASES FROM PRACTICE**

|  |     |
|--|-----|
| <i>O. M. Gorbatyuk, K. T. Bertsun, O. S. Rubina, A. I. Sasyuk,</i><br><i>O. G. Mazur, O. O. Lukianets</i><br>CLINICAL CASE OF SEVERE ANEMIA<br>IN A NEWBORN CHILD .....                            | 150 |
| <i>O. I. Obolonsky, O. Y. Obolonska, O. G. Kapustina</i><br>EFFICACY OF ULTRASOUND MONITORING<br>OF RECRUITMENT MANEUVER IN NEWBORNS<br>WITH PULMONARY ATELECTASIS: A CLINICAL CASE<br>STUDY ..... | 156 |

**RECOMMENDATIONS FOR IMPLEMENTATION IN PRACTICE**

|  |     |
|--|-----|
| <i>T. K. Znamenska, O. V. Vorobiova</i><br>ON THE QUESTION OF THE USE OF PROBIOTIC DIETARY<br>SUPPLEMENTS IN INFANTS ..... | 161 |
|--|-----|

|   |     |
|---|-----|
| REQUIREMENTS FOR REGISTRATION TO SUBMIT<br>PUBLICATIONS ..... | 165 |
|---|-----|

# АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ОРГАНІЗАЦІЇ НЕОНАТОЛОГІЇ ТА ПЕРИНАТАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ В УКРАЇНІ

УДК: 618.2/5:616.891:355.3:616-053.31  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.1

*Т. К. Знаменська, Є. В. Зброжик,  
О. В. Воробйова, Л. І. Нікуліна,  
Т. В. Голота*

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології  
імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України»  
(м. Київ, Україна)

ВПЛИВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ  
У ВАГІТНИХ ТА ПОРОДІЛЬ НА СТАН  
НОВОНАРОДЖЕНИХ ПІД ЧАС ВІЙСЬКОВОЇ  
АГРЕСІЇ

## Резюме

*У статті представлено комплексний огляд наслідків психоемоційного стресу, пов'язаного з військовою агресією, на вагітних жінок, породіль та новонароджених.*

*Аналізується вплив стресу на гормональний баланс вагітної жінки, на ймовірність передчасних пологів, малу масу при народженні та вади розвитку. Розкрито нейропсихологічні механізми, які стають причиною цих феноменів. Особлива увага приділяється впливу воєнного стресу на взаємодію між матір'ю та новонародженим та можливим негативним наслідкам для дітей. Стаття включає огляд протоколів та програм, спрямованих на зменшення негативного впливу стресу, а також представляє рекомендації для матерів та медичних фахівців. Мета теоретичного дослідження полягає у поглибленому розумінні цих питань із наступним поліпшенням практичного підходу до підтримки вагітних та породіль у випадках військової агресії. Це допоможе розробити науково обґрунтовані стратегії та програми для зменшення негативних наслідків стресу та підвищення якості життя матерів та дітей. Крім того, стаття має на меті підкреслити актуальність цієї проблеми для системи охорони психічного здоров'я в Україні та привернути увагу щодо необхідності подальших досліджень та розвитку ефективних стратегій підтримки вагітних жінок та новонароджених у контексті військового конфлікту.*

**Ключові слова:** вагітність; військовий стрес; психоемоційний стрес; породілля; новонароджені.

## Вступ

У світі, де військові конфлікти стають все більш поширеними, вплив психоемоційного стресу на вагітних та породіль набуває особливого значення. Така надмірна психологічна напруга може мати серйозні наслідки не тільки для матері, але й для новонародженої дитини. Жінки, які переживають військову агресію під час вагітності, можуть стикнутися з особливо високим рівнем стресу, що може мати значний вплив на стан їхнього здоров'я та здоров'я дітей.

Для системи охорони здоров'я нагальними є питання впливу стресу під час війни на гормональний баланс у вагітних жінок, на розвиток плоду, зокрема затримку внутрішньоутробного розвитку, на формування вад внутрішніх органів і систем та високу ймовірність передчасних пологів. Особливої уваги потребує вивчення нейропсихологічних механізмів впливу стресу під час воєнного стану на вагітних, взаємодію матері та новонародженого, а також наслідки стресу для постнатальної адаптації новонароджених.

Актуальність теми психічного здоров'я вагітних, породіль і новонароджених дітей під час війни для української системи охорони не може бути переоцінена. Україна переживає складні періоди воєнного конфлікту, що призвело до значних стресових виснажень усього населення, зокрема зазначених груп української популяції. Ці навантаження можуть мати довготривалий негативний вплив на психічне та фізичне здоров'я

у подальші роки життя, а також, на стан здоров'я та гармонійний розвиток новонароджених дітей.

Попередні спостереження свідчать про високий рівень стресу та психічних проблем серед вагітних жінок, що перебували у зоні воєнної агресії. Наприклад, дослідження, проведені в Україні, показали, що понад половина вагітних жінок у зоні конфлікту мають ознаки посттравматичного стресового розладу (ПТСР) та інших психічних проблем. Вагітність, пологи та післяпологовий період є критичними щодо забезпечення адекватної підтримки та догляду для жінок, які переживають війну, що є особливо важливим [1].

Українська система охорони психічного здоров'я повинна бути готовою відповідати на виклики часу та забезпечувати належну підтримку та допомогу вагітним жінкам та породіллям під час воєнної агресії. Це передбачає забезпечення доступу до медичних та психологічних послуг, розвиток спеціалізованих програм для зниження стресу та підтримки психічного здоров'я, навчання медичних працівників щодо впливу стресу на вагітних та новонароджених, а також забезпечення координації між різними секторами системи охорони здоров'я. Отже, з урахуванням актуальності теми, важливо проводити додаткові дослідження, спрямовані на оцінку ефективності програм та стратегій для зменшення впливу воєнного стресу на вагітних жінок та новонароджених. Це допоможе розробити науково обґрунтовані підходи до психологічної підтримки та

допомоги, а також покращити систему охорони психічного здоров'я в Україні з урахуванням специфічних потреб цільових груп.

**Мета.** Проаналізувати вплив психоемоційного стресу на стан вагітних та породіль під час воєнної агресії та його наслідків для новонароджених і запропонувати шляхи вирішення виявлених проблем.

### Матеріал та методи дослідження

Дослідження проводилися на базі акушерського стаціонару ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» від початку повномасштабного вторгнення російської федерації 24 лютого 2022 року до лютого 2023 року.

Під спостереженням знаходилося 33 вагітні жінки з окупованих територій Київської області та їх новонароджені діти. Під час проведення дослідження використовувалися психо-діагностичні (тести, опитувальники), аналітичні та статистичні методи. Основні завдання дослідження включали аналіз гормонального балансу, передчасних пологів, малої маси при народженні, вад розвитку, нейропсихологічних механізмів стресу, взаємодії між матір'ю та новонародженим, а також розгляд протоколів та програм для зниження впливу стресу на дану цільову групу.

**Невирішені питання.** У дослідженні ми звертаємо увагу на декілька нагальних проблем, які варто врахувати:

1. Масштабність досліджень. Хоча існують деякі дослідження, що зосереджуються на впливі воєнного стресу на вагітність та новонароджених, вони не охоплюють всі аспекти цієї проблеми. Потрібні більш

масштабні дослідження, які розглядають різні фактори стресу, включаючи соціальні, економічні та культурні аспекти.

2. Довготривалі наслідки. Існуючі дослідження зазвичай спрямовані на оцінку впливу стресу на вагітність та породілля, але менш уваги приділяється довготривалим наслідкам для дитини у подальшому житті. Дослідження, які прослідковують розвиток та стан здоров'я дитини протягом років після народження, допоможуть краще розуміти вплив стресу на розвиток дитини.

3. Ефективність інтервенційних програм. Хоча деякі протоколи та програми розроблені для зменшення стресу у вагітних жінок, потрібно додаткове дослідження, щоб оцінити їх ефективність та вплив на стан вагітних та новонароджених. Потрібні виважені дослідження, щоб визначити оптимальні підходи до підтримки та інтервенцій в умовах воєнного конфлікту.

4. Контекстуальні фактори. Контекст воєнної агресії може відрізнятись в різних регіонах та країнах. Врахування контекстуальних факторів, таких як культурні, соціальні та економічні, є важливим аспектом дослідження впливу стресу на вагітність та новонароджених.

Розв'язання цих невирішених проблем вимагає подальшого дослідження, співпраці між науковцями та практиками, а також збільшення уваги до цієї проблеми у національних та глобальних програмах здоров'я.

### Результати дослідження та їх обговорення.

Визначення впливу стресу на породілля часто включає розгляд фізичних, емоційних та поведінкових симптомів [2]. Враховуючи, що відповідь на стрес може бути індивідуальною, наступні критерії можуть бути використані для діагностики. Дані представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Симптоми та характер реакцій, що виникають під час стресу

| Основні симптоми                | Характеристика  |
|---------------------------------|---|
| Фізичні симптоми                | Стрес може викликати фізичні реакції, такі як головний біль, зміни апетиту, підвищення кров'яного тиску, проблеми зі сном, зниження енергії та інше. Ці симптоми можуть бути показниками високого рівня стресу. |
| Емоційні симптоми               | Стрес може викликати різні емоційні реакції, включаючи почуття пригніченості, роздратованості, переживання, тривоги або депресії.   |
| Поведінкові симптоми            | Зміни в поведінці, такі як збудженість, відсутність ентузіазму, нездатність зосередитися, агресія або відчуття перевтоми можуть бути показниками високого рівня стресу.   |
| Зміни в соціальній взаємодії    | Зміни у відносинах з друзями і родиною, відчуття самотності або відчуження, проблеми зі встановленням зв'язку з новонародженим – все це можуть бути ознаки високого рівня стресу.                               |
| Специфічні психологічні розлади | Посттравматичний стресовий розлад, гострий стресовий розлад, постпартальна депресія або тривала тривога також можуть бути виявлені у породіллі під впливом високого рівня стресу.                               |

Важливо зазначити, що наявність одного або декількох з цих симптомів не обов'язково вказує на високий рівень стресу. Оскільки ці симптоми можуть бути пов'язані з іншими станами здоров'я, важливо

звернутися до професійного медичного працівника для отримання точного діагнозу [3].

Стрес у вагітних жінок може впливати на розвиток плода через низку нейроендокринних механізмів [4].

Загально відомо, що стресова відповідь включає активізацію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової (ГН) системи і збільшення рівнів гормонів стресу, зокрема кортизолу. Коли жінка відчуває стрес, ГН система активізується. Гіпоталамус в мозку виробляє гормон, який стимулює передню долю гіпофізу випускати адренкортикотропний гормон (АКТГ). АКТГ потім потрапляє до надниркових залоз і стимулює їх до продукції кортизолу. Кортизол – гормон, який допомагає сомі справлятися зі стресом, збільшуючи рівень цукру в крові, посилюючи метаболізм глюкози та змінюючи відповідь імунної системи. Однак високий рівень кортизолу може призвести до негативних наслідків, включаючи підвищену роздратованість, знижену здатність до концентрації, проблеми зі сном та знижену імунну відповідь [5].

Щодо впливу стресу на плід. Плід знаходиться в прямому контакті з кров'ю матері через плаценту, і таким чином гормони, включаючи гормони стресу, можуть надходити через плаценту до плода.

Надмірний кортизол може впливати на розвиток мозку плода, особливо на розвиток гіпокампу, який відповідає за регуляцію стресу та пам'ять. Це може призвести до негативних нейропсихологічних наслідків у дитини, включаючи проблеми пам'яті, навчання, поведінки та регуляції емоцій. Таким чином, управління стресом під час вагітності є критично важливим для забезпечення здорового розвитку нервової системи плода.

Умови стресу під час воєнного стану можуть значно ускладнити взаємодію між породіллею і новонародженим. Загроза безпеки, нестабільність, страх, а також можлива втрата близьких і домівки можуть викликати значний психологічний стрес у матері, що, у свою чергу, може негативно вплинути на її здатність та готовність встановлення зв'язку з новонародженим, надання йому належного догляду та підтримки. У представлених дослідженнях визначено наступні зони такого впливу, як: [6-8]

1) Вплив на грудне вигодовування. Стрес може вплинути на грудне вигодовування, знижуючи вироблення грудного молока і впливаючи на якість молока. Грудне молоко важливе для новонародженого, оскільки воно забезпечує продукцію та надходження до організму дитини антитіл, які захищають від інфекцій, особливо в умовах війни, де може бути обмежений доступ до медичних послуг.

2) Вплив на патерни взаємодії. Високий рівень стресу може також вплинути на емоційний зв'язок між матір'ю та дитиною. Матері, які переживають високий рівень стресу, можуть мати проблеми із встановленням взаємодії з немовлятами, що важливо для розвитку дитини.

3) Вплив на психічне здоров'я матері. Військовий стрес може також викликати ПТСР або постпортальну депресію, що може вплинути на взаємодію матері та новонародженого. ПТСР та постпортальна депресія (ППД) – це психічних стани, які можуть розвинути у породіллі під час або після закінчення воєнного конфлікту. Жінки, які пережили воєнну агресію, можуть

стикнутися з ПТСР, характерними ознаками якого є відтворення страшних подій (таких як бойові дії), уникнення будь-яких нагадувань про них, негативні зміни в думках та почуттях та постійна готовність до загрози або «гіпербудженість». ПТСР може ускладнити здатність матері встановлювати зв'язок з дитиною та реагувати на її потреби, оскільки вона занадто поглинута власними травматичними спогадами та емоціями. Умови воєнного стресу також можуть спричинити ППД – стан, при якому жінки стикаються з довготривалими відчуттями смутку, безнадії, втрати енергії або інтересу до речей, які раніше приносили задоволення. Вони можуть мати проблеми із встановленням зв'язку зі своєю дитиною або стурбовані тим, що не зможуть доглядати за нею належним чином. Обидва цих стани вимагають професійного втручання.

**Вплив стресу на вагітних жінок під час воєнної агресії.** Жінки, які переживають стрес під час вагітності, особливо в умовах воєнної агресії, можуть стикатися з підвищеним ризиком розвитку різноманітних проблем. [9, 10] Зокрема, до них належать передчасні пологи, мала маса тіла дитини при народженні, вроджені вади розвитку. Важливо зазначити, що стрес може негативно впливати на гормональний баланс вагітної, що у свою чергу віддзеркалюється на розвитку плода.

**Передчасні пологи.** Однією з найбільш поширених проблем сучасності є передчасні пологи. Високий рівень стресу може спричинити неконтрольовану продукцію стресового гормону кортизолу, який у свою чергу, викликає ефект збудження в організмі, включаючи матку, що призводить до передчасного розслаблення шийки матки та, відповідно, передчасних пологів.

**Мала маса тіла дитини при народженні.** Високий рівень стресу може також негативно впливати на розвиток плода в утробі матері, спричиняючи малу масу тіла при народженні. Мала маса тіла при народженні визначається як маса менше 2500 г, що є одним із важливих показників здоров'я новонародженого і може бути прямим наслідком високого рівня стресу у жінки впродовж гестаційного періоду. Коли організм жінки переживає значний стрес, зокрема внаслідок воєнної агресії, включається механізм «бігти або битися» для виживання. Це призводить до збільшення продукції гормонів стресу, зокрема адреналіну і кортизолу, які у свою чергу викликають підвищення кров'яного тиску і серцебиття, щоб підготувати тіло до реакції на загрозу. Проте цей механізм також змушує організм віддавати перевагу власному виживанню, що може призвести до зменшення кровотоку до плода через плаценту. Відповідно це спричиняє недостатнє надходження у кисню та поживних речовин до плода, що у свою чергу, може обмежити його ріст та розвиток. Низька маса при народженні може мати довгострокові наслідки для здоров'я дитини, включаючи затримку розвитку, низький IQ, важкість у навчанні та підвищення ризику розвитку хронічних захворювань, зокрема діабету та серцево-судинних захворювань.

*Вади розвитку.* Підвищений рівень стресу може впливати на гормональний баланс вагітної жінки. Наприклад, високі рівні кортизолу можуть спричинити порушення розвитку мозку плода. Нервова система плоду є особливо вразливою на початкових етапах вагітності, коли відбувається активне формування нейронів. Високі рівні кортизолу можуть вплинути на розвиток гіпокампу, області мозку, яка відповідає за пам'ять і стресову реакцію. Це може призвести до довгострокових наслідків для когнітивних та емоційних функцій, зокрема розвитку неврологічних та психічних розладів у дитини в подальші роки життя. Окрім того, стрес може вплинути на тиреоїдні гормони, що відповідають за ріст і розвиток плода. Жінки з підвищеним рівнем стресу можуть мати знижений рівень тиреоїдних гормонів, що може спричинити проблеми психофізичного розвитку дитини [11]. Все вищевказане свідчить про важливість розуміння і мінімізації впливу психоемоційного стресу на вагітних жінок, особливо в умовах воєнної агресії.

*Вплив на новонароджених.* У навколоплідній рідині та плодovому живленні присутні гормони стресу матері, тому плід також переживає стрес. Це може мати негативний вплив на розвиток мозку, нервової системи та метаболізм плода у внутрішньоутробному періоді росту та розвитку. Особливо важливим є факт існування досліджень, які показують, що діти, матері яких відчували високий рівень стресу під час вагітності, можуть мати підвищені рівні анксіозності та депресії, а також різні поведінкові та емоційні проблеми. У тому числі, вони мають проблеми з регулюванням власних емоцій, агресивну поведінку або проблеми з взаємодією. Окрім цього, діти, народжені від матерів, що пережили стрес воєнного періоду, можуть мати підвищену чутливість за умов будь-якої стресової ситуації. Вони також, як правило, мають проблеми з концентрацією уваги, навчанням та поведінкою [12, 13].

*Можливі способи зниження впливу стресу.* Попри негативні наслідки стресу, існують способи пом'якшення його впливу на вагітних жінок та їхніх майбутніх дітей. Сюди входять такі практики, як медитація, йога, глибоке дихання та інші форми міндфулнес. Додатково, підтримка соціальних мереж, надання фахової психологічної допомоги, а також фізична активність можуть бути корисними у стратегіях корекції стану при боротьбі зі стресом.

Протоколи і програми, спрямовані на зменшення впливу психоемоційного стресу на вагітних і породіль під час воєнної агресії переважно зосереджені на забезпеченні психологічної підтримки і використанні стратегій зменшення стресу: [13, 14]

- Проведення регулярних сесій з психологом або терапевтом може бути надзвичайно корисним для вагітних жінок, які переживають стрес воєнного часу. Це може включати індивідуальну терапію, групову терапію або семінари з підтримки. Психологи можуть навчити жінок стратегіям оволодіння ситуацією під час переживання стресу, що може допомогти у подальшому краще справлятися з власними емоціями.

- Майднфулнес та техніки розслаблення, йога для вагітних, дихальні вправи, медитація можуть бути корисними для зменшення рівнів стресу. Вони допомагають вагітним жінкам зосередитися на теперішньому моменті, відволікаючися від негативних думок або страхів.

- Соціальна підтримка. Створення сильної соціальних мереж також може бути корисним. Це може включати підтримку від родини і друзів, а також участь в групах підтримки для вагітних жінок, що переживають схожі обставини.

- Навчальні програми, що роз'яснюють фізичні та психологічні впливи стресу на вагітність та новонароджених, можуть допомогти вагітним жінкам краще розуміти свій стан і знаходити ефективні стратегії відновлення у боротьбі зі стресом.

Важливо зазначити, що для найбільш ефективної допомоги може бути потрібна комбінація цих методів. Крім того, деяким жінкам можуть знадобитися медикаментозні методи лікування, такі як антидепресанти або інші ліки, що регулюють рівень стресу.

У відповідності до зазначеного слід розглянути *декілька рекомендацій для матерів*, які мають стрес, обумовлений проблемами під час воєнної агресії:

1. Намагайтеся знайти доступ до медичних та психологічних служб. Це може бути фахівець у сфері ментального здоров'я або група підтримки для вагітних жінок або матерів, які мають дітей немовлячого віку.

2. Приділяйте увагу здоровому харчуванню і регулярній фізичній активності. Це може допомогти знизити рівень стресу та покращити самопочуття.

3. Використовуйте техніки розслаблення: йога, медитація, дихальні вправи та інші техніки, що допомагають розслабитися, можуть допомогти знизити рівень стресу та покращити ваше самопочуття.

4. Навіть у надзвичайних ситуаціях, якщо можливо, дотримуйтеся звичайного щоденного графіку життя. Регулярний режим дня може привнести почуття стабільності та контролю за ситуацією.

5. Частіше приділяйте увагу спілкуванню з вашим малюком, зокрема говоріть, співайте, обіймайте його. Постійна комунікація допоможе вам обом заспокоїтися.

6. Намагайтеся підтримувати зв'язок з родиною та друзями, навіть якщо це можливо лише шляхом телефонної розмови або спілкування on line.

7. Приділяйте увагу по-можливості забезпеченню власних потреб, незважаючи на те, догляд за новонародженим потребує багато енергії. Не забувайте про себе – повноцінний сон, відпочинок і час для задоволення власних потреб.

8. Якщо ситуація того потребує, не соромтеся звертатися по допомогу до рідних та друзів. Пам'ятайте, що певний час для догляду та вирішення власних проблем – це не егоїзм, а необхідність, особливо в складних обставинах воєнного часу.

**Дискусія.** У контексті невирішених актуальних питань сьогодення, які виникли при дослідженні впливу стресу на вагітних жінок та новонароджених дітей в період воєнного часу пропонуються наступні шляхи:



1. Розширення обсягу досліджень. Необхідно провести більш глобальні дослідження із залученням регіональних, культурних, соціальних та інших аспектів проблеми, які розширяють спектр обговорення напрямків стресу під час воєнного періоду. Зокрема це дозволить отримати більш повне уявлення щодо впливу стресових факторів на перебіг вагітності, пологів та адаптацію новонароджених дітей.

2. Вивчення довготривалих наслідків стресу. Необхідно зосередитися на довготривалих наслідках стресу воєнного часу на стан здоров'я дитини у постнатальному періоді та у подальші роки життя. Дослідження, що відслідковують розвиток дитини протягом декількох років, можуть надати важливу інформацію стосовно довгострокового впливу стресу на фізичне та психологічне здоров'я дитячого населення.

3. Оцінка ефективності інтервенційних програм. Важливо проводити систематичну оцінку ефективності інтервенційних програм, спрямованих на зниження стресу у вагітних жінок та породіль в умовах воєнної агресії. Це дозволить визначити найбільш ефективні підходи та розробити науково обґрунтовані програми підтримки цієї категорії населення.

4. Урахування контекстуальних факторів. Урахування культурних, соціальних та економічних факторів при проведенні досліджень є необхідним для розуміння впливу стресу воєнного періоду на перебіг вагітності та постнатальну адаптацію новонароджених з урахуванням різних аспектів. Це допоможе розробити контекстуально адаптовані підходи та програми підтримки, які враховуватимуть унікальні потреби цільової групи.

5. Співпраця між науковцями та практиками. Важливо забезпечити активну співпрацю між науковцями, практиками та організаціями охорони здоров'я для реалізації досліджень та розвитку практичних стратегій напрямку. Це дозволить зробити знання доступними для практиків та забезпечити ефективне впровадження результатів досліджень у клінічну практику.

Вирішення цих нагальних проблем сприятиме кращому розумінню негативних механізмів стресу на перебіг вагітності, характер постнатальної адаптації та подальший розвиток дітей у контексті воєнної агресії та розробити науково-обґрунтовані стратегії покращення психологічної підтримки та специфічних інтервенцій для збереження здоров'я нації.

**Висновок.** Воєнна агресія в Україні, яка триває майже два роки, є суттєвим фактором стресу, який негативно впливає на стан здоров'я вагітних, породіль та новонароджених дітей. Дослідження показали, що стресова ситуація сьогодення може викликати ряд негативних наслідків під час вагітності та пологів, включаючи збільшення частоти різноманітних ускладнень для матерів та новонароджених, зокрема порушення постнатальної адаптації та проблеми подальшого психо-фізичного розвитку дітей, погіршити їх психологічну взаємодію. Тому є багато проблем, що потребують проведення актуальних фахових міждисциплінарних досліджень, які зможуть надати відповіді щодо короткочасних та довготривалих наслідків стресової ситуації воєнного часу для жіночого та дитячого населення в Україні, оцінити ефективність існуючих інтервенційних програм та запропонувати нові лікувально-діагностичні напрямки з урахуванням контекстуальних факторів сьогодення.

Діючі протоколи та програми, які можуть допомогти зменшити вплив воєнного стресу на вагітних та породіль, включають психологічну підтримку, техніки релаксації та медитації, а також зазначається важливість підтримки інформації з соціальних мереж. Важливо, щоб медичні спеціалісти були обізнані щодо зазначених можливостей та більш широко використовували цю інформацію для підтримки вагітних та породіль, які стикнулися з факторами воєнної агресії та мають психологічні наслідки. Важливим на етапі сьогодення є розробка та впровадження стратегій психологічної допомоги населенню на національному рівні для зменшення наслідків воєнного стресу на найбільш вразливі групи населення.

Актуальність цієї проблематики для системи охорони психічного здоров'я в Україні підтверджує необхідність проведення подальших досліджень для розробки ефективних стратегій підтримки вагітних жінок та їх дітей, що народилися під час воєнного конфлікту. Це сприятиме підвищенню ефективності медико-психологічної допомоги жіночому та дитячому населенню, сприятиме побудові ефективної системи охорони психічного здоров'я в Україні на багато років вперед.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Джерело фінансування:** самофінансування.

### Література:

1. Keasley J, Blickwedel J, Quenby S. Adverse effects of exposure to armed conflict on pregnancy: a systematic review. *BMJ Glob Health* [Internet]. 2017[cited 2023 Oct 18];2(4): e000377. Available from: <https://gh.bmj.com/content/bmjgh/2/4/e000377.full.pdf> doi: 10.1136/bmjgh-2017-000377
2. Glover V. Prenatal mental health and the effects of stress on the foetus and the child. Should psychiatrists look beyond mental disorders? *World Psychiatry*. 2020;19(3):331-2. doi: 10.1002/wps.2077
3. Dunkel Schetter C, Tanner L. Anxiety, depression and stress in pregnancy: implications for mothers, children, research, and practice. *Curr Opin Psychiatry*. 2012;25(2):141-8. doi: 10.1097/YCO.0b013e3283503680
4. Астахов ВМ, Бацилева ОВ, Пузь ІВ. Психологічний супровід у репродуктивній медицині. Київ: Інститут психології імені ГС. Костюка НАПН України, 2023; 125 с.
5. Dziurkowska E, Wesolowski M. Cortisol as a Biomarker of Mental Disorder Severity. *J Clin Med* [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 20];10(21):5204. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/10/21/5204> doi: 10.3390/jcm10215204

6. Rinne GR, Somers JA, Ramos IF, Ross KM, Coussons-Read M, Dunkel Schetter C. Increases in maternal depressive symptoms during pregnancy and infant cortisol reactivity: Mediation by placental corticotropin-releasing hormone. *Dev Psychopathol.* 2022; 1-14. doi: 10.1017/S0954579422000621
7. Miranda A, Sousa N. Maternal hormonal milieu influence on fetal brain development. *Brain Behav* [Internet]. 2018[cited 2023 Oct 20];8(2): e00920. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/brb3.920> doi: 10.1002/brb3.920
8. Le K, Nguyen M. Armed conflict and birth weight. *Econ Hum Biol* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 20] Dec;39:100921. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1570677X2030191X?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.ehb.2020.100921
9. Alderdice F, Lynn F, Lobel M. A review and psychometric evaluation of pregnancy-specific stress measures. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2012;33(2):62-77. doi: 10.3109/0167482X.2012.673040
10. Staneva AA, Bogossian F, Wittkowski A. The experience of psychological distress, depression, and anxiety during pregnancy: A meta-synthesis of qualitative research. *Midwifery.* 2015;31(6):563-73. doi: 10.1016/j.midw.2015.03.015
11. Behrman RE, Butler AS, editors. Biological pathways leading to preterm birth. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention.* Washington (DC): National Academies Press (US); 2007. 6, Biological Pathways Leading to Preterm Birth. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11353/>
12. Cutland CL, Lackritz EM, Mallett-Moore T, Bardaji A, Chandrasekaran R, Lahariya C, et al. Low birth weight: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of maternal immunization safety data. *Vaccine.* 2017;35(48):6492-500. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.01.049
13. Williamson L. Prenatal stress can program a child's brain for later health issues (2021, May 6). *American Heart Association News* [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 20]. Available from: <https://www.heart.org/en/news/2021/05/06/prenatal-stress-can-program-a-childs-brain-for-later-health-issues>
14. Wadhwa PD, Entringer S, Buss C, Lu MC. The contribution of maternal stress to preterm birth: issues and considerations. *Clin Perinatol.* 2011;38(3):351-84. doi: 10.1016/j.clp.2011.06.007
15. Dunkel Schetter C. Psychological science on pregnancy: stress processes, biopsychosocial models, and emerging research issues. *Annu Rev Psychol.* 2011;62:531-58. doi: 10.1146/annurev.psych.031809.130727
16. Dunkel Schetter C, Ponting C. What is pregnancy-related anxiety? In: Dryer R, Brunton R, editors. *Pregnancy-related anxiety: Research, theory and practice.* 1st ed. New York: Routledge Publishers; 2022. p. 5-23. doi: 10.4324/9781003014003-3
17. Guardino CM, Dunkel Schetter C, Bower JE, Lu MC, Smalley SL. Randomised controlled pilot trial of mindfulness training for stress reduction during pregnancy. *Psychol Health.* 2014;29(3):334-49. doi: 10.1080/08870446.2013.852670
18. Glover V, O'Donnell KJ, O'Connor TG, Fisher J. Prenatal maternal stress, fetal programming, and mechanisms underlying later psychopathology-A global perspective. *Dev Psychopathol.* 2018;30(3):843-54. doi: 10.1017/s095457941800038x
19. Dhillon A, Sparkes E, Duarte RV. Mindfulness-Based Interventions During Pregnancy: a Systematic Review and Meta-analysis. *Mindfulness (NY).* 2017;8(6):1421-37. doi: 10.1007/s12671-017-0726-x
20. Campo M. Domestic and family violence in pregnancy and early parenthood (practitioner resource). *Australian Institute of Family Studies* [Internet]. 2015[cited 2023 Oct 20]. Available from: [https://aifs.gov.au/sites/default/files/publication-documents/cfca-resource-dv-pregnancy\\_0.pdf](https://aifs.gov.au/sites/default/files/publication-documents/cfca-resource-dv-pregnancy_0.pdf)

## INFLUENCE OF PSYCHO-EMOTIONAL STRESS IN PREGNANT WOMEN AND CHILDBIRTH ON THE CONDITION OF THE NEWBORN DURING MILITARY AGGRESSION

*T. K. Znamenska, E. V. Zbrozhyk, O. V. Vorobiova, L. I. Nikulina, T. V. Golota*

State University «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology  
named after academician O. M. Lukyanova of the NAMS of Ukraine»  
(Kyiv, Ukraine)

### Summary.

The article presents a comprehensive review of the consequences of psycho-emotional stress associated with military aggression on pregnant women, mothers in labor, and newborns.

The purpose of the theoretical study is to gain a deeper understanding of these issues in order to improve the practical approach to supporting pregnant women and mothers in childbirth in cases of military aggression. The effects of shock on a pregnant woman's hormonal balance, on the likelihood of preterm birth, low birth weight, and developmental defects will be analyzed. The neuropsychological mechanisms that cause these phenomena are revealed. Special attention is given to the impact of war stress on the interaction between mother and newborn and the possible negative consequences for the newborn. The article includes an overview of protocols and programs aimed at reducing the negative effects of stress and presents recommendations for mothers and health professionals. This will help to develop science-based policies and programs to reduce the negative effects of stress and improve the quality of life of mothers and infants. In addition, the article aims to emphasize the relevance of this problem for the Ukrainian mental health care system and to draw attention to the need for further research and development of effective strategies to support pregnant women and newborns in the context of military conflict.

**Key words:** Pregnancy; Military Stress; Psycho-emotional Stress; Childbirth; Newborns.

**Контактна інформація:**

**Знаменська Т. К.** – доктор медичних наук, член-кореспондент НАМН України, професор, заступник директора з перинатальної медицини ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», завідувач відділу неонатології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», Президент Всеукраїнської Громадської організації «Асоціація неонатологів України» (м. Київ, Україна).

**e-mail:** tkznamenska@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>

**Воробйова О. В.** – д.мед.н., провідний науковий спеціаліст, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», відділення неонатології, (м. Київ, Україна).

**e-mail:** dr.vorobiova@ukr.net

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5199-0217>

**ResearcherID:** <http://www.researcherid.com/rid/V-1251-2017>

**Голота Т. В.** – науковий співробітник відділення неонатології, лікар-педіатр-неонатолог Центру катамнетичного спостереження ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» (м. Київ, Україна)

**e-mail:** tatianagolota@gmail.com

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6816-7438>

**Contact Information:**

**T. Znamenska** – Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Deputy Director for Perinatal Medicine SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine», Head of the Department of Neonatology SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine», President of the All-Ukrainian Public Organization «Association of Neonatologists of Ukraine» (Kiyv, Ukraine).

**e-mail:** tkznamenska@gmail.com

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>

**O. Vorobiova** – MD, Department of Neonatology, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. Lukyanova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** dr.vorobiova@ukr.net

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5199-0217>

**ResearcherID:** <http://www.researcherid.com/rid/V-1251-2017>

**T. Holota** – Researcher of the Department of Neonatology, Pediatrician-Neonatologist of the Catamnetic Observation Center of the State University «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova National Academy of Sciences of Ukraine» (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** tatianagolota@gmail.com

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6816-7438>



Надійшло до редакції 15.08.2023 р.  
Підписано до друку 10.10.2023 р.

UDC: 618.19-008.846.9:347.121.2 (477+100)

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.2

**M. Y. Malachynska, M. M. Kiselova,  
O. L. Shlemkevych, N. S. Veresnyuk,  
N. P. Kunta.**

Lviv Regional Clinical Perinatal Center,  
Danylo Halytskyi Lviv National Medical University  
(Lviv, Ukraine)

## BREAST MILK BANKS – THE WAY TO GLOBAL BREASTFEEDING SUPPORT IN UKRAINE AND THE WORLD

### **Summary.**

*Breast milk is the standard of infant nutrition, recognized worldwide as the optimal first source of food, and breastfeeding is the ideal way to feed children, meeting all their needs. Breast milk is especially valuable for premature infants, who require specialized medical care from the first seconds of life and for a long time, and for sick newborns born at term. Preterm or sick preterm infants are most vulnerable to perinatal illness, have a high probability of dying and, most importantly, are at the greatest risk of not receiving the life-saving benefits of breast milk. In today's world, the World Health Organization and the American Academy of Pediatrics recommend the use of donor human milk as the first alternative for feeding preterm infants of any gestational age, including very preterm infants (<32 weeks gestation) or very low birth weight infants (<1500 g), when human milk is not available. Studies have shown that breastfeeding, even partial breastfeeding, reduces the risk of necrotizing enterocolitis and late neonatal sepsis, retinopathy of prematurity, and sudden infant death, improves cognitive outcomes in preterm infants, and helps establish optimal functioning of the digestive system and enteric digestive processes.*

*In many countries around the world, targeted support for breastfeeding in neonatal intensive care units, including enteral feeding of sick and premature infants, is provided by donor human breast milk that is concentrated and stored in an established and functioning network of breast milk banks.*

*A breast milk bank is an institution whose purpose is to collect breast milk from mothers who produce more than their infants need, and to process and store breast milk for the feeding of infants who, for medical or other reasons, cannot receive it temporarily or for a long period.*

*International associations of breast milk banks have been established throughout the world to promote the activities of banks and to establish international cooperation among breast milk banks.*

*The European Milk Banks Association (EMBA) was officially launched on October 15, 2010. There are currently 282 active banks in 31 European countries and 18 banks in the process of becoming active. The Southern African Milk Banks Association (HMBASA) was established in 2009. HMBASA coordinates the activities of the network of milk banks throughout the country. The North American Milk Banks Association (HMBANA) was founded in 1985 and brings together 30 non-profit breast milk banks in the United States and Canada. There is a positive trend in the establishment of new breast milk banks in all countries of the world. There are currently about 500 in 37 countries. Brazil is the world leader in breast milk banks, with 222 breast milk banks and 217 milk collection centers.*

*The first donor breast milk bank in Ukraine was established in 2019 in Kyiv at the Perinatal Center, where about 80 % of all premature babies in the city are born. In December 2022, when the country was at war, a high-tech breast milk bank was opened at the Lviv Regional Clinical Perinatal Center. This is the second bank of donated breast milk successfully operating in Ukraine on the basis of perinatal centers.*

*The operation of the breast milk bank at the Lviv Oblast Clinical Perinatal Center is one of the many modern high-tech areas of the healthcare facility. The breast milk bank is equipped with all the necessary equipment, which meets the highest modern world standards. Active daily teamwork of obstetricians, neonatologists, lactation consultants and mothers has allowed the bank to attract 32 donors of breast milk and collect more than 380 liters of donor milk since its opening. The first batch of donor milk was received on January 12, 2023.*

*Promoting the creation of a network of mother's milk banks in Ukraine at the state level will help to make a significant contribution to the preservation of the full healthy development of newborns and infants in our country, which has become especially important in the current military situation in Ukraine.*

**Key words:** Breast milk bank; Breast Milk; Donor Milk; Donors.

Infancy is the most critical period in a child's life, as it is during this period that all structures differentiate and the main post-uterine regulatory mechanisms are formed, including the digestive, immune, endocrine and central nervous systems. Rational nutrition of infants and young children is one of the most important factors directly influencing their health and physical, psycho-emotional and intellectual development. Mistakes in nutrition and care made during this period of childhood cannot be corrected in later years of adulthood. According to the Convention on the Rights of the Child, every infant and

child has the right to adequate nutrition. It has been proven that malnutrition leads to 2.7 million child deaths annually, which is almost 45 % of all child deaths.

Therefore, feeding infants and young children can be considered one of the most important ways to improve child survival and ensure their healthy growth and development [1].

Breast milk is the standard of infant nutrition, recognized worldwide as the optimal first source of food, and breastfeeding is the ideal way to feed children, fully meeting all the needs of the child. In Ukraine, breastfeeding

has always been a traditional way of feeding and its benefits have never been questioned [2].

For a baby, breastfeeding means contact with the mother, familiar smells and sensations, physical comfort, satisfaction of the sucking reflex, a sense of security, a source of nourishment and life, the establishment of all bodily functions, and the formation and development of the immune, nervous, and endocrine systems. The absence of breastfeeding results in a deficiency of several key immunological components, including anti-inflammatory substances, antibodies and white blood cells [3].

The medical and psychological benefits of breastfeeding [BF] have been confirmed by numerous short- and long-term studies. Optimal breastfeeding is essential. If scaled up, BF could prevent approximately 823,000 child deaths, 13.8 % of all child deaths under the age of 2, and 20,000 women's deaths from breast cancer [4].

Protecting, promoting and supporting breastfeeding contributes significantly to achieving the Sustainable Development Goals on nutrition and health and is a key component of quality health care. Appropriate, evidence-based and timely support for infant and young child feeding in emergencies saves lives, protects optimal digestive processes, child health and development, and benefits mothers and families [5].

Breast milk is valuable for premature infants, who require specialized medical care from the first seconds of life and for a long time, as well as for sick newborns born at term. According to statistical estimates, 15 million infants, or more than one-tenth of all newborns in the world, are born prematurely each year, and more than 20 million children have low birth weight [6].

Babies born prematurely or sick preterm are most susceptible to illness and have a high probability of dying, and they are at greatest risk of not receiving the life-saving benefits of breast milk. For these newborns, their own mother's breast milk is the first best option for feeding, but due to various reasons, temporary or absolute contraindications on the part of the mother to breastfeeding, it is impossible to meet the nutritional needs of the infant with the mother's breast milk, then donor milk is the next best option.

The history of the use of donor milk dates back to ancient times when children were breastfed by a nurse who could be a friend, relative or stranger. The rules for breastfeeding are described in the Babylonian Code of Hammurabi (c. 1800 BC), and detailed criteria for selecting nurses can be found in ancient Greco-Roman texts. Greek and Roman mythology, the Bible, the Torah, and Islamic scriptures describe nurses who nursed babies who later became prominent figures such as the Prophet Muhammad [7-9].

After the eleventh century, aristocratic and royal families in Europe used the services of nurses. The transition from private services to milk collection and processing centers began in the early twentieth century.

In the modern world, the World Health Organization and the American Academy of Pediatrics recommend the use of donor breast milk from a breast milk bank as the first alternative for feeding preterm infants regardless of gestational age, including very preterm infants (<32 weeks gestation) or very low birth weight infants (<1500 g) [11-13].

Studies show that breastfeeding, even partial breastfeeding, reduces the risk of necrotizing enterocolitis and late neonatal sepsis, retinopathy of prematurity, and sudden infant death, and improves cognitive outcomes in preterm infants. Breast milk is essential for the optimal functioning of the digestive system and enteric digestive processes.

Studies support a reduction in the length of hospital stay for infants fed expressed donor breast milk, as evidenced by the results of studies reported in a systematic review, which found that the use of pasteurized donor breast milk was associated with a 46 % reduction in cases of necrotizing enterocolitis compared with feeding preterm or low-birth-weight infants with infant formulas (for term or preterm infants) [14, 15].

The use of pasteurized breast milk is associated with a 19 % reduction in the likelihood of neonatal sepsis for every 10 ml/kg of milk consumed daily during the first 28 days of life in very low birth weight infants compared with infants fed formula.

Among preterm infants who received some of their mother's milk, those who received donor breast milk had a 22 % lower incidence of bronchopulmonary dysplasia and required less mechanical ventilation, almost three days less, than preterm infants fed formula [16].

Studies have shown the need for targeted breastfeeding support in the NICU, especially for sick and preterm infants [17].

In many countries around the world, targeted support for breastfeeding in neonatal intensive care units, including enteral feeding for sick and premature babies, is provided by donor human breast milk that is concentrated and stored in an established and functioning network of breast milk banks.

What is a breast milk bank? A breast milk bank (BMB) is an institution whose purpose is to collect breast milk from mothers who produce more than their children need, and to process and store it for use in feeding infants who, for medical or other reasons, cannot receive it temporarily or for long periods. These are primarily preterm or very low birth weight infants, infants in neonatal intensive care units, and healthy newborns who are unable to feed on their own breast milk [8].

The principles and organization of donor breast milk banks in different European countries have been developed to standardize approaches to the organization and functioning of donor breast milk banks (DBMBs) at the level of modern world and European standards and are in line with the principles declared by the European Milk Banks Association (EMBA).

The first breast milk bank was established in Vienna in 1909 (Table 1). The following year, a second mother's milk bank opened in Boston, and others were established throughout the 20th century in the United States and Europe. By 1939, there were 20 milk banks in German-speaking countries, and by 1944, there were 50. Many of these banks were gradually closed in the 1980s due to the risk of HIV transmission.

However, many of them were later re-established, and the number of milk banks is currently growing. One of the reasons for this is the recognition of the benefits of using human milk and donor milk for both full-term and preterm infants compared to infant formula [18].

Table 1

History of the establishment of breast milk banks

|                 |   |
|-----------------|---|
| 1909 Vienna     | First breast milk bank in Europe  |
| 1910 Boston     | First breast milk bank in the United States                                     |
| 1943 USA        | Recommendations of the American Academy of Pediatrics                           |
| 1975 England    | Five large banks are established  |
| 1980 WHO/UNICEF | Joint statement   |
| 1980 USA        | Recommendations of the American Academy of Pediatrics                           |
| 1985 USA        | Founding of the Human Milk Banking Association of North America (HMBANA)        |
| 1993 USA        | Recommendations of the Human Milk Banking Association of North America (HMBANA) |
| 1994 p. Canada  | Recommendations of the Canadian Pediatric Society                               |
| 1995 France     | National law of France on banks of women's milk                                 |
| 2010 Milan      | European Milk Bank Association European Milk Bank Association (EMBA)            |
| 2014 p.         | National Law of Italy on breast milk banks                                      |

In 1980, the World Health Organization (WHO) and the United Nations Children's Fund (UNICEF) issued a joint statement supporting the use of human donor milk to feed low birth weight and preterm infants as a first alternative when the biological mother is unable to breastfeed [18].

The European Milk Banks Association (EMBA) was officially established on October 15, 2010 to promote breastfeeding and milk storage, to encourage the development of milk banks in Europe and to facilitate international cooperation between milk banks in Europe. The Association is based in Milan, Italy, and brings together milk banks, associations of milk banks and individuals who support the objectives of the Association. There are currently 282 active banks in 31 European countries and 18 banks in the process of being established. The largest number of milk banks among European countries are in Italy (39), France (36), Germany (31), Sweden (28), Finland (17), Spain (16) and Poland (16) [19].

In neighboring Poland, there are 16 milk banks located in specialized hospitals where premature and sick babies are born. Most of the milk banks in Poland operate under the auspices of the Breast Milk Bank Foundation [20]. In addition to the European association, communication between BHBs takes place through other international associations of breast milk banks. In particular, the North American Milk Bank Association (HMBANA) was founded in 1985. It brings together 30 non-profit breast milk banks in the United States and Canada [21].

The Southern African Milk Banks Association (HMBASA) was established in 2009. HMBASA coordinates the activities of a network of milk banks throughout the country [22-23].

A positive trend in the establishment of new women's milk banks can be observed in all countries of the world. Currently, there are about 500 WMBs in 37 countries [18].

Brazil is the world leader in breast milk banking. It has the largest network of breast milk banks in the world. From

the establishment of the first breast milk bank in the 1930s until today, there are 222 breast milk banks in Brazil and another 217 milk collection centers [24].

Despite the many benefits that BHM offers in many countries, the number of milk banks is still quite limited due to lack of political will, religious beliefs, or lack of trust in the health care system by mothers in populations with high rates of infectious diseases.

The history of the creation of breast milk banks in Ukraine began with proposals to open them in Ukraine in the scientific circles of the Association of Neonatologists of Ukraine, when a working group was created, developments were made to develop the clinical guideline «Breast Milk Bank», and the company NGO «Breast Milk Terminal» was established in 2018, which was registered in 2018 even before the creation and opening of the first breast milk bank in Ukraine, in Kyiv.

There are already two donor breast milk banks in Ukraine, located in large perinatal centers. Ukraine's first BDBM was established in 2019 in Kyiv, based on the perinatal center where about 80 % of all preterm infants in the city are born [25].

The second modern high-tech breast milk bank in Ukraine was opened at the Lviv Regional Clinical Perinatal Center in December 2022, when the country was at war. The informational and technical components of the project to establish the bank and the training of the staff were made possible with the assistance of the Association of Breast Milk Banks of Poland. The Lviv Perinatal Center has implemented a full cycle of neonatal care in accordance with international standards in one institution: from the Department of Anesthesiology and Intensive Care of Newborns, through the Department of Postnatal Care and Nursing of Premature Infants, to the Department of Medical Rehabilitation for Premature Infants and Young Children.

In 2022, the Lviv Regional Clinical Perinatal Center became the first in Ukraine in terms of the number

of medical care provided during childbirth. Last year 4689 children were born in the center. Every year, about 1000 of all newborns at the Lviv Perinatal Center are premature babies with low and extremely low birth weight. They, as well as sick full-term babies, are the first to receive donor milk. In the future, the Lviv Perinatal Center plans to provide donor breast milk to maternity hospitals in Lviv and neighboring regions [26-27].

Of all the children born in 2022, more than a thousand were born to internally displaced women. Even now, women who have come from other regions of Ukraine where hostilities are taking place are giving birth at the Perinatal Center, and their children could be fed with donor milk if necessary. This increases the value and importance of the work of the Breast Milk Bank in times of war. The operation of the breast milk bank is one of the high-tech areas of the Perinatal Center. The bank is equipped with all the necessary equipment that meets the highest modern international standards. These include special refrigerators with temperature indicators, freezers for milk storage, ultrasonic homogenizers for milk analysis, pasteurizers and other equipment. Since its inception, the bank has registered 32 donors and collected more than 380 liters of donor milk. The first batch of donated breast milk was received on January 12, 2023.

First of all, donor milk is used for premature babies and babies with extremely low and very low birth weight, who are born and nursed at the Lviv Regional Clinical Perinatal Center mostly from the Lviv region and Lviv city.

The smallest patient who received donor breast milk was a boy weighing 580 grams. He was born in the 24<sup>th</sup> week of pregnancy. The boy remained in the neonatal intensive care unit for 34 days, and when his condition became relatively stable, the child, weighing 1200 grams, was transferred to the post-intensive care unit for premature infants. During this time, lactation consultants helped the mother establish lactation so that she could overcome the stress of feeding her baby with her own milk and enjoy motherhood to the fullest.

At the same time, the boy was on a natural diet – he received donor milk, which has both nutritional and medicinal properties. The active participation of the mother, who trusted the doctors and was confident of success, played an important role. On the 91<sup>st</sup> day of life, the baby, weighing 2510 g, was discharged home and was able to be fed with his mother's milk. The teamwork of the neonatologists and the breast milk bank consultants resulted in an excellent outcome.

Donor milk can also be given to children who are temporarily unable to feed on their own breast milk due to medical contraindications. Mothers of children who are prescribed donor milk are happy to give their consent. Doctors note that children tolerate and absorb donor milk well.

Pregnant women are informed about the activities of the Breast Milk Bank at the Parenthood Academy, a regular lecture for pregnant women and their partners on preparing for childbirth. After the birth of a child, lactation consultants from the Perinatal Center work with each mother and, in addition to counseling mothers,

search for and recruit donors. Most of the donors to the Lviv Regional Clinical Perinatal Center's breast milk bank are women who have given birth at the Perinatal Center.

Thanks to the dissemination of information about the activities of the Breast Milk Bank, mothers who gave birth in other maternity hospitals began to apply to become donors in various modern ways. With the increase in reserves, the donated milk from the Breast Milk Bank will be used to meet the needs of newborns in other medical institutions in Lviv and the region.

Perhaps in time, when the number of donor milk banks in Ukrainian cities will increase several times compared to the current number, the NGO «Breast Milk Terminal» will become a leader in motivating all participants of the donor milk banking process to meet to discuss pressing issues, to make constructive decisions aimed at improving the work of each of the banks and to exchange experience on all components of the process, which will ensure the continuous functioning of the donor milk bank, a place of inspiration for generating new ideas to improve the work of the donor milk banks. At present, Ukrainian donor banks are guided in their activities by the Ukrainian Clinical Guideline (CG) «Collection, storage, transportation, processing and banking of donor breast milk» [7].

In accordance with the provisions of the Guidelines, the Bank's activities are carried out in the following stages

1. Screening of donors, who can be healthy women who are breastfeeding and willing to share their excess milk.
2. Serologic testing of the donor to exclude infection with hepatitis B and C, HIV and syphilis.
3. Collection of the milk.
4. Examination of the composition and microbiological purity of the donor's milk, its pasteurization (heating to a temperature of 62.5 °C to eliminate microorganisms).
5. Storage of donor milk in appropriate conditions (frozen) at a temperature of -18 to -20 °C.
6. Delivery of donor milk to neonatal units.

The decision to prescribe milk from the bank is made by a doctor in consultation with the bank's consultants, and the mother and father of the child agree to feeding with donor milk. If necessary, transport is carried out in accordance with the developed procedures.

The work of breast milk banks is aimed at protecting, promoting and supporting breastfeeding, as it provides access to breast milk for infants who cannot fully benefit from their own mother's milk [7, 8].

Therefore, the activities of breast milk banks should be considered as an integral part of the health care and maternal and child care system after childbirth, especially when the newborn requires long-term treatment or when breastfeeding by the biological mother is difficult for other reasons. This will increase children's access to the best nutrition, which is human milk.

Donor breast milk, like mother's milk, is not only a complete natural balanced nutrition for a newborn child, but also a special therapy for children who cannot be fed with mother's milk.

Thus, promoting the creation of a network of breast milk banks in Ukraine at the state level will help to make a significant contribution to the preservation of the full healthy development of newborns and infants in our country, which has become especially important in the current military situation in Ukraine.

**Funding information.** The article was written and published without any financial support.

**Conflict of interest disclosure.** The authors of the article have no conflict of interest related to the publication of the article.

## References:

1. WHO. Key facts. Infant and young child feeding. World Health Organization [Internet]. 2021 June [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding>
2. Moiseienko PO, Tutchenko LI, Ott VD, Marushko TL. Vedennia laktatsii ta hrudnoho vyhodovuvannia: Posibnyk dlia med. pratsivnykiv systemy okhorony zdorov'ia [Management of lactation and breastfeeding: A manual for health care professionals]. Kyiv; 2001. s. 7. (In Ukrainian)
3. Pavlovski CJ. Efficacy of screening immune system function in at-risk newborns. *Australas Med J.* 2014;7(7):272-84. doi: 10.4066/AMJ.2014.1980
4. Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet.* 2016;387(10017):475-90. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01024-7
5. Metodychno-orhanizatsiinyi navchal'no-resursnyi tsentr NDSL «OKhMATDYT». Romanenko LV. Analiz rozvytku Rozshyrenoi Initsiatyvy «Likarnia, dobrozychlyva do dytyny» v Ukraini za 2022 rik [Analysis of the development of the Expanded Child-Friendly Hospital Initiative in Ukraine in 2022] [Internet]. 2023 [tsytovano 2023 Lys 12]. Dostupno: [https://kdm-idd.org.ua/wp-content/uploads/ANALIZ\\_-\\_RI\\_Likarnia-dobrozychlyva-do-dytyny\\_2022.pdf](https://kdm-idd.org.ua/wp-content/uploads/ANALIZ_-_RI_Likarnia-dobrozychlyva-do-dytyny_2022.pdf) (In Ukrainian)
6. WHO advises immediate skin to skin care for survival of small and preterm babies. News release. World Health Organization [Internet]. 2022 Nov [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://www.who.int/news/item/15-11-2022-who-advises-immediate-skin-to-skin-care-for-survival-of-small-and-preterm-babies>
7. MOZ Ukrainy. Zbyrannia, zberihannia, transportuvannia, obrobka ta bankinh donors'koho zhinochoho moloka. Klinichna nastanova, zasnovana na dokazakh [Ministry of Health of Ukraine. Collection, storage, transportation, processing and banking of donor breast milk. Evidence-based clinical practice guideline]. DETs MOZ Ukrainy [Internet]. 2019 [tsytovano 2023 Lys 12]. 15 s. Dostupno: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2019\\_03\\_04\\_kn\\_bakndk.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2019/11/2019_03_04_kn_bakndk.pdf) (In Ukrainian)
8. PATH. Strengthening Human Milk Banking: A Global Implementation Framework. Version 1.1. Seattle, Washington, USA: Bill & Melinda Gates Foundation Grand Challenges initiative, PATH [Internet]. 2013 [cited 2023 Nov 12]. Available from: [https://media.path.org/documents/MCHN\\_strengthen\\_hmb\\_frame\\_Jan2016.pdf](https://media.path.org/documents/MCHN_strengthen_hmb_frame_Jan2016.pdf)
9. Wikipedia. Human milk bank [Internet]. 2022 [update 2023 Nov 1; cited 2023 Nov 12]. Available from: [https://en.wikipedia.org/wiki/Human\\_milk\\_bank#:~:text=A%20human%20milk%20bank%2C%20breast,possible%2C%20for%20the%20first%20year](https://en.wikipedia.org/wiki/Human_milk_bank#:~:text=A%20human%20milk%20bank%2C%20breast,possible%2C%20for%20the%20first%20year)
10. ESPGHAN Committee on Nutrition; Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, et al. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57(4):535-42. doi: 10.1097/MPG.0b013e3182a3af0a
11. Neonatal Guidelines 2019-21. Bedside Clinical Guidelines Partnership & West Midlands Neonatal Operational Delivery Network [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 12]. 410 p. Available from: <https://kids.bwc.nhs.uk/wp-content/uploads/2022/05/Neonatal-Guidelines-2019-21-PDF-rev1-jan20-with-links.pdf>
12. WHO recommendations for care of the preterm or low-birth-weight infant. World Health Organization [Internet]. 2022 [cited 2023 Nov 12]. 123 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/363697>
13. Gartner LM, Morton J, Lawrence RA, Naylor AJ, O'Hare D, Schanler RJ, et al. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics.* 2005;115(2):496-506. doi: 10.1542/peds.2004-2491
14. Kim J, Unger S. Human milk banking. *Paediatr Child Health.* 2010;15(9):595-602.
15. Underwood MA. Human milk for the premature infant. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(1):189-207. doi: 10.1016/j.pcl.2012.09.008
16. Tran HT, Nguyen TT, Mathisen R. The use of human donor milk. *BMJ* [Internet]. 2020 [cited 2023 Nov 12];371: m4243. Available from: <https://www.bmj.com/content/371/bmj.m4243> doi: 10.1136/bmj.m4243
17. Wilson E, Edstedt Bonamy AK, Bonet M, Toome L, Rodrigues C, Howell EA, et al. Room for improvement in breast milk feeding after very preterm birth in Europe: Results from the EPICE cohort. *Matern Child Nutr* [Internet]. 2018 [cited 2023 Nov 12];14(1): e12485. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/mcn.12485> doi: 10.1111/mcn.12485
18. Moro GE. History of Milk Banking: From Origin to Present Time. *Breastfeed Med.* 2018;13(S1): S16-7. doi: 10.1089/bfm.2018.29077.gem
19. About EMBA. European Milk Banking Association [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://europeanmilkbanking.com/about-emba/>
20. About the Foundation. Bank Mleka Kobiecego [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://bankmleka.pl/about-the-foundation/>
21. About. The Human Milk Banking Association of North America (HMBANA) [Internet]. 2023 [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://www.hmbana.org/about-us/>
22. History of Milk Banks. Human Milk Banking Association of South Africa [Internet]. 2023 [cited 2023 Nov 12]. Available from: <http://www.hmbasa.org.za/about-us/history/>
23. PATH. Partner profile: The Human Milk Banking Association of South Africa. Strengthening human milk banking. PATH [Internet]. 2011 Jul [cited 2023 Nov 12]. Available from: <http://www.hmbasa.org.za/wp-content/uploads/2015/02/PATH-Milk-banking-HMBASA.pdf>



24. Brazil is a reference in Breast Milk Banks. Government of Brazil. Latest News [Internet]. 2022 Sep [cited 2023 Nov 12]. Available from: <https://www.gov.br/en/government-of-brazil/latest-news/2022/brazil-is-a-reference-in-breast-milk-banks>
25. U stolytsi z'iyavysia pershyi v Ukraini Bank hrudnoho moloka – Mykola Povoroznyk [Mykola Povoroznyk, Ukraine's first breast milk bank, was established in the capital.]. Ofitsiyniy portal Kyieva [Internet]. 2019 Kvit [tsytovano 2023 Lys 12]. Dostupno: [https://kyivcity.gov.ua/news/u\\_stolitsi\\_zyavivysya\\_pershiy\\_v\\_ukrani\\_bank\\_grudnogo\\_moloka\\_mikola\\_povoroznyk/](https://kyivcity.gov.ua/news/u_stolitsi_zyavivysya_pershiy_v_ukrani_bank_grudnogo_moloka_mikola_povoroznyk/) (In Ukrainian)
26. Bank hrudnoho moloka vidkryly u L'vivs'komu oblasnomu perynatal'nomu tsentri [Breast milk bank opened in Lviv regional perinatal centre]. Uriadoviy portal [Internet]. 2022 Hru [tsytovano 2023 Lys 12]. Dostupno: <https://www.kmu.gov.ua/news/bank-hrudnoho-moloka-vidkryly-u-lvivskomu-oblasnomu-perynatal'nomu-tsentri> (In Ukrainian)
27. Oblasnyi perynatal'nyi tsentr – pershyi v Ukraini za kil'kistiu nadanoi medychnoi dopomohy pry polohakh [The regional perinatal centre is the first in Ukraine in terms of the number of medical care provided during childbirth]. L'vivs'ka oblasna viis'kova administratsiia. Departament okhorony zdorov'ia [Internet]. 2023 Sich [tsytovano 2023 Lys 12]. Dostupno: <https://loda.gov.ua/news/54168> (In Ukrainian)

## БАНКИ ГРУДНОГО МОЛОКА – ШЛЯХ ДО ГЛОБАЛЬНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГРУДНОГО ВИГОДОВУВАННЯ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ

*М. Й. Малачинська, М. М. Кісельова, О. Л. Шлемкевич, Н. С. Вереснюк, Н. П. Кунта*

**Львівський обласний клінічний перинатальний центр, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)**

### Резюме.

Грудне молоко – еталон дитячого харчування, що сприймається в усьому світі як оптимальне перше джерело їжі, а грудне вигодовування – ідеальний спосіб вигодовування дітей, який повноцінно задовольняє всі потреби дитини. Особливої цінності набуває грудне молоко для передчасно народжених дітей, які з перших секунд життя і впродовж тривалого часу потребують спеціалізованої медичної допомоги та для хворих новонароджених дітей, що народились вчасно. Діти, які народились передчасно або хворі доношені новонароджені найбільш схильні до захворювань специфічних для перинатального періоду та мають високу ймовірність смерті і, саме, найбільший ризик не отримати рятівних переваг грудного молока. Як першу альтернативу для вигодовування передчасно народжених дітей незалежно від гестаційного віку, у тому числі глибоко недоношених (<32 тижнів вагітності) або дітей з дуже низькою масою тіла (<1500 г) в сучасному світі Всесвітня організація охорони здоров'я та Американська академія педіатрії рекомендують використовувати донорське грудне молоко із банку людського молока., якщо власне молоко матері недоступне. Дослідження демонструють, що у дітей, що не мають можливостей отримувати материнське молоко, годування грудним молоком, навіть часткове, знижує ризик некротизуючого ентероколіту та пізнього неонатального сепсису, ретинопатії недоношених, раптової смерті немовлят і покращує когнітивні результати у недоношених дітей, сприяє встановленню оптимального функціонування травної системи і процесів ентерального травлення.

У багатьох країнах світу цілеспрямована підтримка грудного вигодовування у відділах інтенсивної терапії новонароджених, зокрема ентеральне харчування хворих та передчасно народжених дітей забезпечується донорським людським грудним молоком, що концентрується і зберігається у створеній та функціонуючій мережі Банків грудного молока.

Банк грудного молока – установа, метою діяльності якої є забір грудного молока від матерів, які виробляють його більше, ніж потрібно їхнім дітям, забезпечує обробку та зберігання грудного молока для годування немовлят, які з медичних або інших причин не можуть тимчасово або тривало його отримувати.

З метою сприяння діяльності банків та налагодження міжнародної співпраці між банками грудного молока в світі створено міжнародні асоціації банків грудного молока.

Європейська асоціація банків молока (ЕМБА) була офіційно започаткована 15 жовтня 2010 року. Нині в 31 країні Європи нараховується 282 банки, які активно працюють і 18 банків, які розпочинають свою роботу. У 2009 році була створена Асоціація банків молока Південної Африки (НМБАСА). НМБАСА координує діяльність мережі банків молока по всій країні. Асоціація банків молока Північної Америки (НМБАНА) заснована в 1985 році і об'єднує 30 некомерційних банків грудного молока США та Канади. Відзначається позитивна тенденція у створенні нових банків жіночого молока в усіх країнах світу. Нині їх нараховується біля 500 у 37 країнах світу. Світовим лідером у сфері діяльності банків грудного молока є Бразилія, там працює 222 банки жіночого молока, а також ще 217 центрів збору молока.

Перший Банк донорського жіночого молока в Україні було створено в 2019 р. у м. Києві на базі Перинатального центру, де народжується близько 80 % усіх недоношених дітей міста. Високотехнологічний банк грудного молока на базі Львівського обласного клінічного перинатального центру було відкрито в грудні 2022р., коли країна перебувала у стані війни. Це другий банк донорського грудного молока, який успішно функціонує в Україні на базі перинатальних центрів.

Діяльність Банку грудного молока у Львівському обласному клінічному перинатальному центрі – один із багатьох сучасних високотехнологічних напрямів роботи закладу охорони здоров'я. Банк грудного молока оснащений усім необхідним обладнанням, яке відповідає найвищим сучасним світовим стандартам. Активна, щоденна командна робота лікарів-акушерів, неонатологів, консультантів з грудного вигодовування, матерів дозволила з моменту роботи Банку залучити до здачі грудного молока 32 донори та зібрати понад 380 л донорського молока. Першу порція донорського грудного молока було отримано 12 січня 2023 р.

Сприяння створенню мережі Банків грудного молока в Україні на державному рівні допоможе зробити вагомий внесок у збереження повноцінності здорового розвитку новонароджених і немовлят в нашій державі, що набуло особливої актуальності в часи воєнного сьогодні в Україні.

**Ключові слова:** банк грудного молока; грудне молоко; донорське молоко; донорки.

**Contact Information:**

**Mariia Kiselova** – Doctor of Medical Science, PhD, MD, Professor, Chief of the Department of Pediatrics and Neonatology Faculty of Postgraduate Education Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine).

**e-mail:** maria.tchuiko@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-7668-411X>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/Q-6735-2016>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6603427861>

**Mariya Malachynska** – Director of the Lviv Perinatal Center; PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine).

**e-mail:** malaschynska@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-2895-3666>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57433879800>

**Nataliia Veresniuk** – Deputy Director for Medical Quality of the Lviv Perinatal Center; Doctor of Medicine, PhD, MD, Associate Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine).

**e-mail:** veresniuk@ukr.net

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5233-7105>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/rid/Y-8949-2018>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57217244457>

**Olha Shlemkevych** – MD, PhD, Assistant at Paediatric and Neonatology Department of post-degree education faculty of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine). Head of the Breast Milk Bank of the Lviv Regional Clinical Perinatal Center

**e-mail:** oshlemkevych@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0005-8425-4159>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/JMB-3742-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57841666700>

**Nataliia Kunta** – Assistant at Paediatric and Neonatology Department of post-degree education faculty of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine).

**e-mail:** nataliakp4@gmail.com

**Контактна інформація:**

**Кісельова Марія Миколаївна** – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри педіатрії та неонатології факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (м. Львів, Україна).

**e-mail:** maria.tchuiko@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-7668-411X>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/Q-6735-2016>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6603427861>

**Малачинська Марія Йосипівна** – директор Львівського перинатального центру; кандидат медичних наук, доцент кафедри акушерства та гінекології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (м. Львів, Україна).

**e-mail:** malaschynska@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-2895-3666>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57433879800>

**Вереснюк Наталія Сергіївна** – заступник директора з якості медичної діяльності Львівського перинатального центру; доктор медичних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та перинатології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (м. Львів, Україна).

**e-mail:** veresniuk@ukr.net

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5233-7105>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/rid/Y-8949-2018>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57217244457>

**Шлемкевич Ольга Любомирівна** – кандидат медичних наук, асистент кафедри педіатрії та неонатології ФПДО Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, керівник Банку грудного молока Львівського обласного клінічного перинатального центру,

**e-mail:** oshlemkevych@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0005-8425-4159>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/JMB-3742-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57841666700>

**Кунта Наталія Петрівна** – асистент кафедри педіатрії та неонатології ФПДО Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, завідувача відділення постінтенсивного догляду новонароджених і виходжування недоношених дітей

**e-mail:** nataliakp4@gmail.com



Received for editorial office on 10/09/2023  
Signed for printing on 12/10/2023

# РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЙНИХ ТА НАУКОВО-ДОСЛІДНИХ РОБІТ

UDC: 616.24-008.331.1-022.324-07-085:

[615.816.2+615.225]-053/32

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.3

TO THE ISSUE OF THE DEVELOPMENT  
AN ALGORITHM FOR A DIFFERENTIATED  
APPROACH TO THE MANAGEMENT OF  
PERSISTENT PULMONARY HYPERTENSION  
IN PREMATURE INFANTS

*T. Klymenko*<sup>1</sup>, *M. Kononovych*<sup>2</sup>

Educational and Scientific Institute for Postgraduate  
Training of the Kharkiv national medical university<sup>1</sup>,  
Municipal non-profit enterprise «City perinatal center»  
of Kharkiv city council<sup>2</sup> (Kharkiv, Ukraine)

## Summary

*The management of premature infants with persistent pulmonary hypertension (PPH) remains a major problem in modern neonatology. In recent years, scientific studies have identified the role of oxidative stress (OS) in the development and course of PPH. The reserve for reducing mortality and optimizing the management of premature infants with respiratory distress syndrome (RDS) and asphyxia is the development of an algorithm for a differentiated approach to the management of PPH in premature infants, taking into account the severity and dynamics of OS, and its implementation into clinical practice.*

**Aim of the study.** *To increase the effectiveness of management of premature infants with persistent pulmonary hypertension with asphyxia and respiratory distress syndrome based on the development of an algorithm for a differentiated approach to the management of pulmonary hypertension taking into account the levels of oxidative stress as determined by urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG).*

**Material and methods.** *100 premature infants between 26/1-34/6 weeks of gestation were included in the study: group I consisted of 50 infants with RDS, group II – 50 newborns with RDS associated with perinatal asphyxia. The presence and severity of PPH was determined in all infants on the first and third to fifth day of life by echocardiography (EchoCG), and quantitative determination of 8-OHdG level (ng/ml) – in 44 infants on the first day, and in dynamics – on the third to fifth day of life by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). For radiographic evaluation of PPH, all infants underwent chest radiography with determination of Moore's, Schwedel's and cardiothoracic index (CTI). The research was conducted in compliance with bioethical requirements as part of the planned scientific work of the Department (state registration number 0122U000025).*

**Results.** *It was found that the characteristics of pulmonary hypertension in premature infants with RDS were significantly lower levels of mean pressure in the pulmonary artery (mPAP) on the first and 3-5 days of life than in children with perinatal asphyxia. It was noted that the factors with high diagnostic significance determining the occurrence of persistent pulmonary hypertension are: birth weight <1500 g; presence of perinatal asphyxia; low Apgar score on the 1st (1-3 points) and on the 5th minute of life (<7 points); gestational age <30 weeks; non-appropriateness for gestational age; male sex. Furthermore, it was found that urinary 8-OHdG levels as a biomarker of OS in preterm infants with RDS and perinatal asphyxia correlated with mPAP on the first and third to fifth days of life, and that urinary 8-OHdG levels had a high diagnostic value for determining the risk of developing severe PPH on the third to fifth days of life. The diagnostic significance of the data of the comprehensive radiological assessment of PPH – the radiological indices of Moore, Schwedel, CTI for the development of severe PPH was analyzed and the correlations between the indices and mPAP and between the indices and the level of 8-OHdG were established. The Schwedel index showed the highest reliability in all cases.*

**Conclusion.** *On the basis of scientifically established relationships between clinical, laboratory, radiological and gender aspects of premature infants with perinatal pathology and the identified diagnostic and prognostic values of urinary 8-OHdG, an algorithm for a differentiated approach to the management of PPH was developed. Determination of the degree of OS and mPAP in premature infants allows us to adjust and individualize the tactics of respiratory support in the management of premature infants, thus improving the quality of medical care of premature infants with RDS and perinatal asphyxia. In prematurely born children in perinatal centers, additional determination of the severity of RDS based on the level of 8-OHdG in urine allows to predict the adverse course of PPH and the development of complications: bronchopulmonary dysplasia, intraventricular hemorrhage III-IV grade, retinopathy II-III grade, hearing impairment, hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system II-III grade in prematurely born children.*

**Key words:** *Premature infants; Persistent Pulmonary Hypertension; Oxidative Stress.*

## Introduction

Oxidative stress (OS) is a component of the pathophysiology of neonatal lung disease associated with persistent pulmonary hypertension (PPH) [1-4]. The most sensitive OS biomarker in preterm infants is urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) [5-8], which shows a high correlation with mean pulmonary artery trunk pressure and duration of respiratory support [9]. In

this article, we add to the body of scientific work on the development of a differentiated approach to the management of PPH. Previously, we published data on the analysis of modern medical literature with the determination of the need to improve the diagnosis and treatment of PPH in premature infants [10] and the results of the search for the optimal urinary OS biomarker correlating between the levels of OS and mPAP in premature infants with RDS and asphyxia [11,

12]. Data were also presented on the type and duration of respiratory support and its relationship with the dynamics of OS levels in preterm infants with PPH [13], and the results of the scientifically established algorithm for a differentiated approach to the management of PPH in preterm infants [9].

**Aim of the study** – to increase the effectiveness of the treatment of premature infants with persistent pulmonary hypertension with asphyxia and respiratory distress syndrome based on the development of an algorithm for a differentiated approach to the management of pulmonary hypertension taking into account the level of oxidative stress as determined by urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine.

### Material and methods

The study was conducted in 2020-2023 on the basis of the intensive care unit for premature infants of the Kharkiv Municipal Perinatal Center. Were studied 100 premature infants, divided into groups. The first group consisted of 50 infants with RDS (26 boys and 24 girls), the second group – 50 infants with perinatal asphyxia associated with RDS (25 boys and 25 girls). The clinical characteristics of the groups are shown in Table 1. Inclusion criteria of the study: persistent pulmonary hypertension; gestational age 26-34 weeks; neonatal period; respiratory distress syndrome IInd-IIIrd degree; RDS associated with perinatal asphyxia; obtaining voluntary informed consent of the patient's parents/caregivers to participate in the study. Exclusion criteria: gestational age less than 26 weeks or more than 34 weeks; congenital heart disease and patent ductus arteriosus; necrotic enterocolitis, sepsis; refusal of parents/caregivers to participate in the study [14].

Clinical and echocardiographic criteria were used to determine the presence and severity of PPH in all infants during the first and dynamic 3-5 days of life. Among the clinical criteria, the oxygenation index (OI) was the most important. Echocardiographic criteria, according to international recommendations, include: assessment of the rate of tricuspid regurgitation, measurement of systolic pressure in the right ventricle, assessment of the state of the right ventricle and the interventricular septum, blood

shunt, ratio of pulmonary artery acceleration time to right ventricular ejection time [15-18]. The mean pressure in the pulmonary artery trunk was determined according to the international standards for the diagnosis of pulmonary hypertension [19]. Quantitative determination of urinary 8-OHdG (ng/ml) was performed in 44 infants on day 1 of life and again on days 3-5 by the ELISA method using the DNA Damage ELISA reagent kit, Enzo Life Sciences (USA), according to the manufacturer's instructions. Radiographic assessment of PPH severity was performed according to the criteria of Spuzyak MI et al. (2006) [20].

The algorithm of the differentiated approach was based on the study of clinical and anamnestic data of the studied groups of children, the ultrasound criteria of PPH, the dynamics of OS levels, the determined prognostic threshold value of 8-OHdG, and comparison with the indicators of comprehensive radiographic evaluation of pulmonary hypertension in premature infants with RDS and perinatal asphyxia.

The study was part of the research plan of the Department of Neonatology of the Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education «Study of the peculiarities of the course of oxidative stress diseases in newborns» (January 2022 – December 2024), state registration number 0122U000025.

The research design was discussed and approved at the meeting of the Medical and Ethical Committee of the Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Protocol No. 5 dated December 18, 2000). All parents gave informed consent to the study of their children.

Statistical analysis was performed using standard packages of MS Excel, Statsoft Statistica 7.0. (USA), MedCalc® Statistical Software, version 20.218 (MedCalc Software Ltd, Ostend (Belgium)). Qualitative parameters were analyzed using Fisher's exact test ( $\phi$ ). A heterogeneous sequential Wald procedure [21] was used to determine the diagnostic coefficients (DC) and informativeness (I) of the studied features. The prognostic threshold for quantitative indicators was determined using ROC analysis with the construction of a curve between the sensitivity and specificity of the diagnostic method.

Table 1

Clinical characteristics of patient groups, n (%), M±m [14]

| Indicator  | Group I<br>n=50 | Group II<br>n=50 |
|--|-----------------|------------------|
| Gestational age, weeks   | 30.66±2.60*     | 30.34±3.15*      |
| Birth weight (g)   | 1399±542*       | 1534±677*        |
| Boys, n (%)  | 26 (52 %)       | 25 (50 %)        |
| Girls, n (%)   | 24 (48 %)       | 25 (50 %)        |
| Apgar score, M±m   |                 |                  |
| 1 <sup>st</sup> minute of life                                       | 4.08±0.24*      | 3.08±0.27*       |
| 5 <sup>th</sup> minute of life                                       | 5.95±0.25**     | 4.50±0.26**      |
| Pulse oximetry, % M±m  |                 |                  |
| SpO <sub>2</sub> on the 1 <sup>st</sup> day of life                  | 92.41±1.62**    | 90.65±1.49**     |
| SpO <sub>2</sub> on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life | 94.04±1.30**    | 91.00±1.26**     |
| Cord blood gas analyses, M±m   |                 |                  |
| pH   | 7.27±0.01**     | 7.01±0.03**      |
| PO <sub>2</sub> , mm Hg  | 34.82±0.47**    | 24.95±0.42**     |
| PCO <sub>2</sub> , mm Hg   | 33.87±0.38**    | 46.58±0.40**     |
| BE <sub>t</sub>  | -2.2±0.80**     | -13.69±0.46**    |

Continuation of Table 1

| Indicator  | Group I<br>n=50 | Group II<br>n=50 |
|--|-----------------|------------------|
| Blood bas analyses, M±m  |                 |                  |
| pH on the 1 <sup>st</sup> day of life  | 7.24±0.06**     | 7.04±0.12**      |
| pH on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life                       | 7.33±0.05**     | 7.189±0.09**     |
| PO <sub>2</sub> , mm Hg on the 1 <sup>st</sup> day of life                   | 31.25±2.10*     | 30.43±4.10*      |
| PO <sub>2</sub> , mm Hg on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life  | 38.67±4.04**    | 30.35±3.18**     |
| PCO <sub>2</sub> , mm Hg on the 1 <sup>st</sup> day of life                  | 52.00±4.75**    | 80.80±14.76**    |
| PCO <sub>2</sub> , mm Hg on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life | 38.16±5.65**    | 64.67±8.51**     |
| BE <sub>p</sub> on the 1 <sup>st</sup> day of life                           | -3.85±2.03**    | -11.56±3.40**    |
| BE <sub>p</sub> on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life          | -0.63±4.35**    | -6.56±4.69**     |
| IO on the 1 <sup>st</sup> day of life, M±m                                   | 16.43±2.79*     | 17.87±2.89*      |
| IO on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life, M±m                  | 8.50±4.69**     | 16.00±1.31**     |
| A-aDO <sub>2</sub> on the 1 <sup>st</sup> day of life, M±m                   | 183.26±48.12*   | 210.27±59.25*    |
| A-aDO <sub>2</sub> on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life, M±m  | 65.86±8.43**    | 160.80±51.75**   |
| Type of delivery and unipara, n (%)  |                 |                  |
| Cesarean section   | 46 (92 %)       | 31 (62 %)        |
| Natural childbirth   | 4 (8 %)         | 19 (38 %)        |
| First delivery   | 38 (76 %)       | 31 (62 %)        |
| Unipara  | 12 (24 %)       | 19 (38 %)        |
| Maternal anamnesis and course of pregnancy                                   |                 |                  |
| Maternal age, years (M±m)  | 26.5±1.90**     | 32.3±1.85**      |
| Severe gestosis, n (%)   | 12 (24 %)       | 34 (68 %)        |
| RDS prophylaxis, n (%)   |                 |                  |
| Full   | 49 (98 %)       | 46 (92 %)        |
| Partial  | 1 (2 %)         | 4 (8 %)          |
| Not conducted  | 0 (0 %)         | 0 (0 %)          |
| Surfactant therapy   |                 |                  |
| LISA, n (%)  | 28 (56 %)       | 6 (12 %)         |
| INSURE, n (%)  | 12 (24 %)       | 7 (14 %)         |
| Through additional port of endotracheal tube, n (%)                          | 2 (4 %)         | 37 (74 %)        |
| Not conducted, n (%)   | 8 (16 %)        | 0 (0 %)          |
| Respiratory support, M±m   |                 |                  |
| MAP, cm H <sub>2</sub> O on the 1 <sup>st</sup> day of life                  | 11.47±0.64*     | 12.86±0.49*      |
| MAP, cm H <sub>2</sub> O on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life | 10.57±1.56**    | 13.35±0.58**     |
| FiO <sub>2</sub> , % on the 1 <sup>st</sup> day of life                      | 31.45±6.75**    | 45.96±7.53**     |
| FiO <sub>2</sub> , % on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life     | 21.16±0.98**    | 37.78±3.45**     |
| Complications and average length of hospital stay                            |                 |                  |
| No complications, n (%)  | 19 (38 %)       | 6 (12 %)         |
| Bronchopulmonary dysplasia, n (%)  | 8 (16 %)        | 13 (26 %)        |
| Retinopathy II-III stage, n (%)  | 13 (26 %)       | 16 (32 %)        |
| IVG II-IV dg, n (%)  | 4 (8 %)         | 6 (12 %)         |
| Hearing impairment (failed test), n (%)                                      | 6 (12 %)        | 9 (18 %)         |
| Anemia of prematurity I dg., n (%)   | 9 (18 %)        | 11 (22 %)        |
| Hypoxic ischemic encephalopathy II-III dg., n (%)                            | 28 (56 %)       | 36 (72 %)        |
| Average length of hospital stay, days  | 37.66±3.79**    | 43.31±2.94**     |

Note: \* –  $p > 0.05$  – no difference between groups

\*\* –  $p < 0.05$  – significant difference between groups

SpO<sub>2</sub> – saturation; pH – blood acidity; PO<sub>2</sub> – partial pressure of oxygen in the blood; PCO<sub>2</sub> – partial pressure of carbon dioxide in the blood; BE<sub>p</sub> – deficiency of bases; IO – oxygenation index; A-aDO<sub>2</sub> – alveolar-arterial oxygen gradient; MAP – average pressure in the respiratory tract; FiO<sub>2</sub> – fraction of oxygen in the inhaled mixture; IVG – intraventricular hemorrhage.

## Results and discussion

At the first stage of research there was presented a characteristics of indicators of PPH and factors that determine the occurrence of PPH; were determined their diagnostic and prognostic significance in prematurely

born children in the gestational age of 26-34 weeks with asphyxia and RDS. Against the background of treatment and selection of the most optimal tactics of respiratory support (traditional mechanical ventilation with PEEP of at least 6 cm H<sub>2</sub>O, high-frequency mechanical ventilation,

non-invasive mechanical ventilation, CPAP), the average mPAP, mm Hg, was measured by the Echo CG method as an indicator of PPH in both groups in the first and in dynamics on the 3rd-5th day of life. On the first day of life, the average value of mPAP in group I was significantly lower than in group II. In the dynamics of observation on the 3rd-5th day of life, the average mPAP significantly

decreased in the group of infants with RDS, and increased in the group with perinatal asphyxia (Table 2).

The above evidence supports the aggravating effect of perinatal asphyxia on the course of PPH and defines asphyxia as a factor determining the development of PPH in premature infants, which is confirmed by modern scientific and medical literature [22, 23].

**Table 2**

**The mean value and dynamics of mPAP (mm Hg) in premature infants with RDS and perinatal asphyxia, M±m [14]**

| Indicator   | Group I<br>n=50 | Group II<br>n=50 |
|---|-----------------|------------------|
| Mean mPAP on the 1 <sup>st</sup> day of life                  | 25.00±0.56*     | 40.19±0.40*      |
| Mean mPAP on the 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life | 21.77±0.73**    | 43.08±0.71**     |

Note: \* –  $p < 0.05$  – significant difference between groups

\*\* –  $p < 0.05$  – significant difference between groups

We evaluated the diagnostic significance and power of the main clinical and anamnestic data of premature infants, the course of pregnancy, the method of delivery,

and analyzed their influence as factors determining the development of persistent pulmonary hypertension of various degrees (Table 3).

**Table 3**

**Diagnostic significance of clinical and anamnestic data of premature infants with persistent pulmonary hypertension [9, 14]**

| Indicator   | Gradation          | DC    | I    |
|---|--------------------|-------|------|
| Birth weight, g                                   | <1500              | -3.8  | 4.35 |
|   | ≥1500              | +11.6 |      |
| Perinatal asphyxia                                | present            | -6.0  | 3.60 |
|   | not present        | +6.0  |      |
| Apgar score on the 5 <sup>th</sup> minute of life | 1-3 points         | -9.0  | 3.49 |
|   | 4-6 points         | -0.5  |      |
|   | ≥7 points          | +23.8 |      |
| Gestational age, weeks                            | 26-29              | -9.7  | 3.24 |
|   | 30-34              | +3.3  |      |
| Type of delivery                                  | natural childbirth | -8.0  | 1.68 |
|   | Cesarean section   | +1.9  |      |
| Apgar score on the 1 <sup>st</sup> minute of life | 1-3 points         | -4.3  | 1.13 |
|   | >3 points          | +2.4  |      |
| Appropriation for gestational age                 | non-appropriative  | -12.5 | 1,13 |
|   | appropriative      | +1,8  |      |
| Placental dysfunction during pregnancy            | present            | -2.6  | 1.11 |
|   | not present        | +3.8  |      |
| Infants's sex                                     | male               | -3.0  | 1.04 |
|   | female             | +3.1  |      |
| Arterial hypertension during pregnancy            | present            | -5.9  | 0.60 |
|   | not present        | 0.9   |      |

Note: The sign (+) indicates about favorable course of PPH, and the sign (–) indicates about the development of significant/severe PPH on the 3-5th day of life.

The following clinical and diagnostic factors are of high diagnostic significance for an unfavorable course of PPH: mean pulmonary artery pressure on day 3-5 of life > 31.9 mm Hg (I=7.0), oxygenation index on day 3-5 of life > 8 (I=4.35), body weight at birth <1500 g (I=4.30). (I=7.0), oxygenation index on day 3-5 of life > 8 (I=4.35), birth weight <1500 g (I=4.30), perinatal asphyxia (I=4.22), Apgar score at 5 minutes of life < 7 points (I=3.49), gestational age < 30 weeks (I=3.24), mean pulmonary artery pressure on day 1 of life > 34

mm Hg. (I=1.98), natural childbirth (I=1.68), small for gestational age (I=1.13), male sex (I=1.04), placental dysfunction during pregnancy (I=1.11), maternal hypertension during pregnancy (I=0.60) [14]. The obtained results are consistent with modern literature data [24, 25, 26].

The second stage was to study the value of urinary 8-OHdG in premature infants with asphyxia and RDS in the early neonatal period and to determine the clinical significance of its levels at different degrees of PPH (Table 4).

Table 4

## Value of the urinary 8-OHdG (ng/ml) and its dynamics in premature infants with RDS and perinatal asphyxia, M±m

| Value of the urinary 8-OHdG, ng/ml           | Group I<br>(n=23) | Group II<br>(n=21) |
|--|-------------------|--------------------|
| First day of life                            | 1.83±0.29*        | 2.27±0.39*         |
| 3 <sup>rd</sup> –5 <sup>th</sup> day of life | 1.06±0.28*        | 4.10±0.42*         |

Note: \* –  $p < 0.05$  – significant difference between groups

The obtained data indicate that on the first day of life there is almost no significant difference between the studied groups of children. On the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life, in the first group of children there is a significant decrease in the studied urinary OS biomarker ( $p < 0.05$ ), in the second group – a significant increase by 1.8 times ( $p < 0.05$ ). Our results indicate that perinatal asphyxia has a detrimental effect on the degree of oxidative stress, reduced adaptability and reactivity to OS in premature infants.

To evaluate the possibility of using the biomarker of oxidative stress in clinical practice in the management of premature infants, we analyzed the diagnostic and prognostic significance of the dynamics of 8-OHdG levels in the first and 3-5 days of life. The DC values (Table 5) indicate that a decrease in urinary 8-OHdG in premature infants is associated with a favorable course of PPH, and the absence of a decrease in the studied indicator indicates the probable development of severe PPH. The above is also confirmed by our correlation analysis

between mPAP and the level of urinary 8-OHdG, ng/ml in premature infants [14].

Urinary 8-OHdG as a biomarker of OS in preterm infants with RDS correlates with mean pulmonary artery pressure on day 1 ( $r=0.85$ ,  $p < 0.001$ ) and day 3-5 ( $r=0.84$ ,  $p < 0.001$ ). A correlation was found between the level of urinary 8-OHdG in preterm infants with RDS associated with perinatal asphyxia and mPAP on the first ( $r=0.82$ ,  $p < 0.05$ ) and on the third to fifth days of life ( $r=0.80$ ,  $p < 0.05$ ). The gender characteristics of the dynamics of 8-OHdG levels in premature infants with RDS and asphyxia with perinatal pathology confirm the reduced adaptability and reactivity of boys to oxidative stress in the early neonatal period: on the first day of life in both groups of studied newborns there is no significant difference ( $p > 0.05$ ) in the levels of 8-OHdG in urine between boys and girls. On the 3-5<sup>th</sup> day of life, a significant increase in urinary 8-OHdG levels was observed in boys in both groups ( $p < 0.05$ ) compared with girls.

Table 5

## Diagnostic significance of determining the dynamics of urinary 8-OHdG in premature infants with PPH

| Indicator  | Gradation       | DC   | I    |
|--|-----------------|------|------|
| Decrease of the 8-OHdG levels on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life | don't decreased | -7.8 | 6.39 |
|  | decreased       | +9.3 |      |

Note: The sign (+) indicates about favorable course of PPH, and the sign (–) indicates about the development of significant/severe PPH on the 3-5<sup>th</sup> day of life.

It was found that the level of urinary 8-OHdG on the 3<sup>rd</sup> – 5<sup>th</sup> day of life has a high diagnostic significance for determining the risk of developing severe PPH ( $I=6.39$ ): a decrease in the level of urinary 8-OHdG indicates a favorable course of PPH, and an increase – about the risk of developing severe PPH. The prognostic significance of decreased levels of urinary 8-OHdG on the 3<sup>rd</sup> – 5<sup>th</sup> day of life indicates a decrease in the probability of developing complications in the neonatal period ( $I=3.25$ ).

Clinical and laboratory correlations between mean pulmonary artery pressure, 8-OHdG levels and the need for respiratory support in premature infants revealed that the more intensive the dynamics of 8-OHdG reduction, the shorter the duration of respiratory support required by the infants to establish spontaneous breathing ( $r=0.80$ ,  $p < 0.001$ ). The high diagnostic value of the duration and type of respiratory support for the prognosis of the course of PPH in premature infants was established: the risk of developing severe PPH is indicated by: duration of HFOV > 48 hours ( $I=3.03$ ), duration of traditional mechanical ventilation > 72 hours ( $I=2.49$ ), when nIV/CPAP is not the only type of respiratory support ( $I=1.56$ ). The prognostic significance of the duration and type of respiratory support

for predicting the course of PPH in preterm infants was determined: the following factors indicate the risk of complications in the neonatal period: duration of traditional mechanical ventilation > 72 hours ( $I=2.65$ ), duration of HFOV > 48 hours ( $I=1.46$ ), when nIV/CPAP is not the only type of respiratory support ( $I=1.08$ ).

Perinatal asphyxia worsens the course of RDS in preterm infants with higher levels of mPAP ( $p < 0.05$ ), 3.5 times more cases of severe pulmonary hypertension ( $p < 0.05$ ), higher levels of OS ( $p < 0.05$ ), and longer duration of ventilatory support ( $p < 0.05$ ).

In the third stage we determined the diagnostic and informative value of predictors of PPH formation in premature infants with asphyxia and RDS. According to the results of the ROC analysis, the signs indicating the development of an unfavorable course of PPH are: the level of urinary 8-OHdG on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life > 2.5 ng/ml; mPAP level on the first day of life > 34 mm Hg; mPAP level on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life > 31.9 mm Hg; Moore's index on the first day of life > 42 %; Moore's index on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> days of life > 43 %, Schwedel's index on the first day of life > 0.4 cm, Schwedel's index on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> days of life > 0.5 cm, CTI on the first day of life > 60 %; CTI on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> days of life > 60 %, oxygenation

index on the first day of life > 16, oxygenation index on the 3rd-5th days of life > 8. High specificity was demonstrated by ROC curves for urinary 8-OHdG levels and radiologic indices on days 3-5 of life. High sensitivity was demonstrated by ROC curves for mean pulmonary artery pressure on days 1 and 3-5 of life, Moore's index on day 1, oxygenation index on days 3-5 of life.

Thus, reliable predictors of the progressive course of persistent pulmonary hypertension in premature infants with RDS and perinatal asphyxia are: the level of the urinary 8-OHdG > 2.5 ng/ml on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life, the Schwedel index on the 3<sup>rd</sup>-5<sup>th</sup> day of life > 0.5 cm. Favorable course of PPH in premature infants is evidenced by: mPAP on the first day of life ≤ 34 mm Hg, mPAP on the 3-5<sup>th</sup> day of life ≤ 31.9 mm Hg, Moore's index on the

first day life ≤ 42 %, oxygenation index on the 3rd-5<sup>th</sup> day of life ≤ 8 [14].

On the basis of the obtained informative indicators of complex radiological assessment of the degree of PPH and dynamics of OS levels, the final stage of the work was carried out – a differentiated approach to the diagnosis and treatment of PPH in premature infants with asphyxia and RDS was developed. The developed algorithm (Table 6) is used by algebraic summation of DC until the diagnostic threshold is reached, which for the 95 % level of confidence is ≥ -13.0, and for the 99 % level – DC ≥ -20. If there is a «-» sign next to the sum of DC of all indicators, there is a risk of developing severe PPH, which requires correction of ventilator parameters and increased treatment, and a «+» sign indicates a favorable course of PPH.

**Table 6**

**Algorithm of a differentiated approach to management of persistent pulmonary hypertension in premature infants [9, 14]**

| Indicator  | Gradation          | DC    | I    |
|--|--------------------|-------|------|
| mPAP on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life, mmHg                    | ≤31.9              | +9.0  | 7.0  |
|  | >31.9              | -9.0  |      |
| Decrease of the 8-OHdG levels on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life | decreased          | -7.8  | 6.39 |
|  | don't decreased    | +9.3  |      |
| Surfactant therapy   | conducted          | +4.0  | 6.07 |
|  | don't conducted    | -6.1  |      |
| Oxygenation index on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life             | ≤8                 | +5.0  | 4.35 |
|  | >8                 | -4.2  |      |
| Birth weight, g  | <1500              | -3.8  | 4.30 |
|  | ≥1500              | +11.6 |      |
| Perinatal asphyxia   | present            | -6.0  | 4.22 |
|  | not present        | +6.0  |      |
| Schwedel's index on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life, cm          | 0.4-0.5            | +8.5  | 3.60 |
|  | >0.5               | -5.0  |      |
| Apgar score on the 5 <sup>th</sup> minute of life                                  | 1-3 points         | -9.0  | 3.49 |
|  | 4-6 points         | -0.5  |      |
|  | >7 points          | +23.8 |      |
| Gestational age, weeks   | 26-29              | -9.7  | 3.24 |
|  | 30-34              | +3.3  |      |
| Moore's index on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life, %              | 36-43 %            | +6.7  | 3.23 |
|  | >43 %              | -6.3  |      |
| Oxygenation index on the first day of life   | ≤16                | +6.2  | 3.20 |
|  | >16                | -6.4  |      |
| Duration of the HFOV, hours  | <48                | +3.1  | 3.03 |
|  | >48                | -9.5  |      |
| Duration of TMV, hours   | <72                | +3.4  | 2.49 |
|  | >72                | -6.9  |      |
| CTI on the 3 <sup>rd</sup> – 5 <sup>th</sup> day of life, %                        | 50-60 %            | +3.4  | 2.49 |
|  | >60 %              | -6.9  |      |
| mPAP on the 1 <sup>st</sup> day of life, mmHg                                      | ≤34                | +4.0  | 1.98 |
|  | >34                | -4.6  |      |
| Type of delivery   | natural childbirth | -8.0  | 1.68 |
|  | Cesarean section   | +1.8  |      |
| NIV/CPAP- the only one type of respiratory support                                 | yes                | +7.2  | 1.56 |
|  | no                 | -2.0  |      |
| Apgar score on the 1 <sup>st</sup> minute of life                                  | 1-3 points         | -4.3  | 1.13 |
|  | >4 points          | +2.4  |      |
| Appropriation for gestational age  | non-appropriative  | -12.5 | 1.13 |
|  | appropriative      | +1.8  |      |
| Placental disfunction during pregnancy   | present            | -2.6  | 1.11 |
|  | not present        | +3.8  |      |
| Infants's sex  | male               | -3.0  | 1.04 |
|  | female             | +3.1  |      |
| Arterial hypertension during pregnancy   | present            | -5.9  | 0.60 |
|  | not present        | 0.9   |      |

Note: The sign (+) indicates about favorable course of PPH, and the sign (-) indicates about the development of significant/severe PPH on the 3-5th day of life.



If the diagnostic threshold was not reached when adding the DC of all algorithm indicators, the diagnosis is considered uncertain.

### Conclusions

1. In our research, the development of an algorithm for a differentiated approach to the management of PPH, taking into account the complex radiological assessment of pulmonary hypertension, OS levels as determined by urinary 8-OHdG in premature infants at gestational age of 26-34 weeks with respiratory distress syndrome and perinatal asphyxia is scientifically based.

2. The pathogenetic significance of urinary 8-OHdG in the development of PPH was determined and substantiated by the ELISA method, and a direct strong correlation was established between the OS indicator and the mPAP level in premature infants with RDS and with RDS associated with perinatal asphyxia in the early neonatal period. Perinatal asphyxia has been shown to exacerbate the degree and course of pulmonary hypertension in premature infants with RDS.

3. Diagnostic and prognostic determinants of the development and course of pulmonary hypertension in premature infants with RDS and perinatal asphyxia were determined. It was found that a decrease in urinary 8-OHdG levels on the 3rd to 5th day of life is a prognostic sign of a favorable course of PPH ( $I=6.39$ ).

4. On the basis of scientifically substantiated correlations between clinical, laboratory, radiological,

gender aspects of premature infants with perinatal pathology and the identified diagnostic and prognostic values of the informative value of urinary 8-OHdG levels, an algorithm for a differentiated approach to the management of PPH was developed.

5. Determination of the degree of OS and mPAP in premature infants allows to optimize the tactics of respiratory support in the management of premature infants, thus improving the quality of medical care of premature infants with RDS and perinatal asphyxia.

6. In premature infants in perinatal centers, additional determination of the severity of PPH on the basis of urinary 8-OHdG level allows to predict the adverse course of PPH and development of complications: bronchopulmonary dysplasia, intraventricular hemorrhage of III-IV degree, retinopathy of II-III degree, hearing impairment, hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system of II-III degree in premature infants.

**Prospects for further research.** Prospects for further research are to carry out a catamnestic observation of premature infants in order to study the influence of OS on the development of complications.

**Conflict of interest:** none.

**Financing:** self-financing.

### References:

1. Rawat M, Lakshminrusimha S, Vento M. Pulmonary hypertension and oxidative stress: Where is the link? *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 11];27(4):101347. Available from: [https://www.sfnjournal.com/article/S1744-165X\(22\)00026-9/fulltext](https://www.sfnjournal.com/article/S1744-165X(22)00026-9/fulltext) doi: 10.1016/j.siny.2022.101347
2. Mikhael M, Makar C, Wissa A, Le T, Eghbali M, Umar S. Oxidative Stress and Its Implications in the Right Ventricular Remodeling Secondary to Pulmonary Hypertension. *Front Physiol* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];10:1233. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.01233/full> doi: 10.3389/fphys.2019.01233
3. Cannavò L, Perrone S, Viola V, Marseglia L, Di Rosa G, Gitto E. Oxidative Stress and Respiratory Diseases in Preterm Newborns. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 11];22(22):12504. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/22/12504> doi: 10.3390/ijms222212504
4. Poyatos P, Gratacós M, Samuel K, Orriols R, Tura-Ceide O. Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Pulmonary Hypertension. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 11];12(5):1006. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1006> doi: 10.3390/antiox12051006
5. Millán I, Piñero-Ramos JD, Lara I, Parra-Llorca A, Torres-Cuevas I, Vento M. Oxidative Stress in the Newborn Period: Useful Biomarkers in the Clinical Setting. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2018[cited 2023 Nov 11];7(12):193. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1006> doi: 10.3390/antiox7120193
6. Ferrante G, Carota G, Li Volti G, Giuffrè M. Biomarkers of Oxidative Stress for Neonatal Lung Disease. *Front Pediatr* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 11];9:618867. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.618867/full> doi: 10.3389/fped.2021.618867
7. Elkabany ZA, El-Farrash RA, Shinkar DM, Ismail EA, Nada AS, Farag AS, et al. Oxidative stress markers in neonatal respiratory distress syndrome: advanced oxidation protein products and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in relation to disease severity. *Pediatr Res*. 2020;87(1):74-80. doi: 10.1038/s41390-019-0464-y
8. Di Fiore JM, Vento M. Intermittent hypoxemia and oxidative stress in preterm infants. *Respir Physiol Neurobiol*. 2019;266:121-9. doi: 10.1016/j.resp.2019.05.006
9. Klymenko T, Kononovych M. Algorithm of a differentiated approach to management of persistent pulmonary hypertension in premature infants. *Neonatal Surg Perinat Med*. 2023;13(2(48)):34-9. doi: 10.24061/2413-4260.xiii.2.48.2023.5
10. Klymenko TM, Karapetyan OY, Kononovych MI. Problemy ta rezervy vedennia novonarodzhenykh ditei z lehenevoiu hipertenziiu [Problems and management reserves of newborns with pulmonary hypertension]. *Neonatolohiia, khirurgiia ta perynatal'na medytyna*. 2020;10(2(36)):58-63. doi: 10.24061/2413-4260.X.2.36.2020.7 (In Ukrainian)
11. Klymenko TM, Kononovych MI. Clinical significance of correlation between persistent pulmonary hypertension and 8-hydroxy-2-desoxyguanosine level in premature newborns. *J Neonatal Perinatal Med*. 2023;16(1):81-5. doi: 10.3233/NPM-221005
12. Klymenko T, Kononovych M. Diagnostic aspects of persistent pulmonary hypertension in premature infants with oxidative stress. *Neonatal Surg Perinat Med*. 2022;12(2(44)):19-23. doi: 10.24061/2413-4260.XII.2.44.2022.3

13. Klymenko T, Kononovych M. Clinical significance of dynamics between oxidative stress levels during mechanical lung ventilation in premature infants with persistent pulmonary hypertension. *ScienceRise: Medical Science*. 2022;(4(49):50-4. doi: 10.15587/2519-4798.2022.26263
14. Kononovych MI. Dyferentsiiovanyi pidkhhid do menedzhmentu persystuiuchoi lehenevoi hipertenzii u peredchasno narodzhennykh ditei [A differentiated approach to the management of persistent pulmonary hypertension in premature infants] [dysertatsiia v interneti]. Kharkiv: Kharkivs'ka medychna akademiia pislidyplomnoi osvity MOZ Ukrainy; 2023 [tsytovano 10 lyst. 2023]. 154 s. Dostupno: [https://knmu.edu.ua/wp-content/uploads/2023/07/kononovych\\_dys.pdf](https://knmu.edu.ua/wp-content/uploads/2023/07/kononovych_dys.pdf) (In Ukrainian)
15. Carlton EF, Sontag MK, Younoszai A, DiMaria MV, Miller JI, Poindexter BB, et al. Reliability of echocardiographic indicators of pulmonary vascular disease in preterm infants at risk for bronchopulmonary dysplasia. *J. Pediatr*. 2017;186:29-33. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.03.027
16. de Boode WP, Singh Y, Molnar Z, Schubert U, Savoia M, Sehgal A, et al. Application of neonatologist performed echocardiography in the assessment and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatr Res*. 2018;84(S1):68-77. doi: 10.1038/s41390-018-0082-0
17. Nagiub M, Lee S, Guglani L. Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension in infants with bronchopulmonary dysplasia: Systematic review of literature and a proposed algorithm for assessment. *Echocardiography*. 2014;32(5):819-33. doi: 10.1111/echo.12738
18. Kumaran U, Sheno A. Management of pulmonary hypertension in preterm infants – a review. *J. Neonatol*. 2022;36(2):143-52. doi: 10.1177/09732179221084669
19. Lammers AE, Apitz C, Michel-Behnke I, Koestenberger M. A guide to echocardiographic assessment in children and adolescents with pulmonary hypertension. *Cardiovasc Diagn Ther* 2021;11(4):1160-77. doi: 10.21037/cdt-21-119
20. Spuziak MI, Voron'zhev IO, Kramnyi IO, Shapovalova VV, vynakhidnyky; Kharkivs'ka medychna akademiia pislidyplomnoi osvity, vlasnyk patentu. Sposib diahnozyky stupenia tiazhkosti lehenevoi hipertenzii u novonarodzhennykh z hipoksychno-travmatychnymy urazhenniamy TsN S. Patent Ukrainy № 13141. 2006 Ber 15. (In Ukrainian)
21. Wald A. Sequential tests of statistical hypotheses. *The Annals of Mathematical Statistics*. 1945;16(2):117-86. doi: 10.1214/aoms/1177731118
22. Singh Y, Lakshminrusimha S. Pathophysiology and Management of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn. *Clin Perinatol*. 2021;48(3):595-618. doi: 10.1016/j.clp.2021.05.009
23. Ducsay CA, Goyal R, Pearce WJ, Wilson S, Hu X-Q, Zhang L. Gestational hypoxia and developmental plasticity. *Physiol. Rev*. 2018;98(3):1241-334. doi: 10.1152/physrev.00043.2017
24. Steurer MA, Baer RJ, Oltman S, Ryckman KK, Feuer SK, Rogers E, et al. Morbidity of persistent pulmonary hypertension of the newborn in the first year of life. *J Pediatr*. 2019;213:58-65.e4. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.06.053
25. Nakanishi H, Suenaga H, Uchiyama A, Kusuda S. Neonatal Research Network, Japan. Persistent pulmonary hypertension of the newborn in extremely preterm infants: a Japanese cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018;103(6): F554-61. doi: 10.1136/archdischild-2017-313778
26. Fuloria M, Aschner JL. Persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017;22(4):220-6. doi: 10.1016/j.siny.2017.03.004

## ДО ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ АЛГОРИТМУ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПІДХОДУ ДО МЕНЕДЖМЕНТУ ПЕРСИСТУЮЧОЇ ЛЕГЕНЕВОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ

*Т. М. Клименко<sup>1</sup>, М. І. Кононович<sup>2</sup>*

Навчально-науковий інститут післядипломної освіти Харківського національного медичного університету,  
кафедра педіатрії №3 та неонатології<sup>1</sup>,

Комунальне неприбуткове підприємство «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради<sup>2</sup>  
(м. Харків, Україна)

### Резюме.

Ведення передчасно народжених дітей з персистуючою легеневою гіпертензією (ПЛГ) залишається актуальною проблемою сучасної неонатології. Наукові дослідження останніх років визначають роль оксидативного стресу (ОС) у розвитку та перебігу ПЛГ. Резервом для зниження летальності та оптимізації ведення недоношених новонароджених з респіраторним дистрес-синдромом (РДС) та асфіксією є розробка та впровадження в клінічну практику алгоритму диференційованого підходу до менеджменту ПЛГ у передчасно народжених дітей з урахуванням вираженості та динаміки ОС.

**Мета дослідження.** Підвищення ефективності ведення передчасно народжених дітей з ПЛГ з асфіксією та РДС на підставі розробки алгоритму диференційованого підходу до ведення легеневої гіпертензії з урахуванням рівнів оксидативного стресу за визначенням 8-гідрокси-2-дезоксигуанозину (8-ОНдГ) в сечі.

**Матеріал та методи дослідження.** В дослідження було включено 100 передчасно народжених дітей у терміні гестації 26/1-34/6 тижнів: I групу склали 50 дітей з РДС, групу II – 50 дітей з РДС у поєднанні з асфіксією при народженні.

Визначення наявності та ступеню тяжкості ПЛГ було проведено всім дітям в першу та на 3-5 добу життя за допомогою ехокардіографії (ЕхоКГ), а кількісне визначення рівня 8-ОНдГ (нг/мл) – 44 дітям в першу, та в динаміці – на 3-5 добу життя методом імуноферментного аналізу (ІФА). Для променевої оцінки ПЛГ всім дітям проводилось рентгенологічне дослідження органів грудної клітини (Rö ОГК) з визначенням індексів Мура, Шведеля та кардіоторакального індексу (КТІ).

**Дослідження виконано з дотриманням вимог біоетики в рамках планової наукової роботи кафедри (№ держреєстрації 0122U000025).**

**Результати дослідження.** Встановлено, що особливостями легеневої гіпертензії у передчасно народжених дітей з РДС були достовірно нижчі рівні середнього тиску у стовбурі легеневої артерії (mPAP) в першу, та на 3-5 добу життя, ніж у дітей з перинатальною асфіксією.

Визначено, що чинниками з високою діагностичною значущістю, детермінуючими виникнення персистоючої легеневої гіпертензії є: маса тіла дитини при народженні <1500 г, наявність перинатальної асфіксії, низька оцінка за шкалою Апгар на 1 (1-3 бали) та на 5 хвилинах життя (<7 балів), термін гестації <30 тижнів, невідповідність маси тіла дитини гестаційному віку, чоловіча стать дитини.

Встановлено, що вміст 8-ОНдG як біомаркера ОС в сечі у передчасно народжених дітей з РДС та перинатальною асфіксією корелює з mPAP в першу та на 3-5 добу життя, а рівні 8-ОНдG в сечі мають високу діагностичну значущість для визначення ризику розвитку ПЛГ тяжкого ступеня на 3-5 добу життя.

Проаналізовано діагностичну значущість даних комплексної променевої оцінки ПЛГ – рентгенологічних індексів Мура, Шведеля, КТІ на розвиток ПЛГ тяжкого ступеня та встановлено кореляційні зв'язки між індексами та mPAP, та між індексами та рівнем 8-ОНдG. Індекс Шведеля показав найбільш високу достовірність у всіх випадках.

**Висновки.** На підставі науково обґрунтованих взаємозв'язків між клінічними, лабораторними, променевими, гендерними аспектами передчасно народжених дітей з перинатальною патологією та виявлених діагностично-прогностичних значень інформативності рівнів 8-ОНдG в сечі розроблено алгоритм диференційованого підходу до менеджменту ПЛГ. Визначення ступеня ОС та mPAP у передчасно народжених дітей дозволяє скоригувати та індивідуалізувати тактику респіраторної підтримки при веденні недоношених новонароджених, таким чином покращивши якість надання медичної допомоги недоношеним новонародженим з РДС та перинатальною асфіксією.

У передчасно народжених дітей в перинатальних центрах додатково визначення тяжкості ОС на підставі рівня 8-ОНдG в сечі дозволяє прогнозувати несприятливий перебіг ПЛГ та розвиток ускладнень: бронхолегеневої дисплазії, внутрішньопуночкової крововиливу III-IV ступеня, ретинопатії II-III стадії, уражень слуху, гіпоксично-ішемічного ураження ЦНС II-III ступеня у передчасно народжених дітей.

**Ключові слова:** передчасно народжені діти; персистоюча легенева гіпертензія; оксидативний стрес.

#### Contact information:

**Tetiana Klivenko** – Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of Pediatric № 3 and Neonatology of Educational and Scientific Institute for Postgraduate Training of the Kharkiv national medical university Kharkiv national medical university (Kharkiv, Ukraine)

**e-mail:** klivenko57.t@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6936-8557>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=6701325386>

**Researcher ID:** <https://www.researchrid.com/rid/H-3698-2017>

**Mariia Kononovych** – PhD, neonatologist, neonatal intensive care unit Municipal non-profit enterprise «City perinatal center» of Kharkiv city council (Kharkiv, Ukraine)

**e-mail:** konon\_92@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4705-1444>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=5784226250>

#### Контактна інформація:

**Клименко Тетяна Михайлівна** – доктор медичних наук, професор, в.о. завідувача кафедри педіатрії № 3 та неонатології Навчально-наукового інституту післядипломної освіти Харківського національного медичного університету (м. Харків, Україна)

**e-mail:** klivenko57.t@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6936-8557>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=6701325386>

**Researcher ID:** <https://www.researchrid.com/rid/H-3698-2017>

**Кононович Марія Ігорівна** – PhD, лікар-неонатолог відділення інтенсивної терапії новонароджених КНП «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради (м. Харків, Україна).

**e-mail:** konon\_92@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4705-1444>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=5784226250>



Received for editorial office on 23/08/2023

Signed for printing on 23/10/2023

UDC: 616.831:612.015]-053.31-02:577.112]-039.72  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.4

## BODY COMPOSITION OF FULL-TERM NEWBORNS AGAINST THE BACKGROUND OF INCREASED PROTEIN INTAKE IN THE INTENSIVE CARE UNIT

I. O. Anikin, L. S. Stryzhak

Zaporizhzhia State University of Medicine and Pharmacy (Zaporizhzhia, Ukraine)

### Summary

To evaluate the effects of increased protein and L-carnitine supplementation in the feeding program of term infants with perinatal conditions on improving physical development outcomes, changes in body composition and hospital outcomes.

**The aim** is to evaluate the effect of short-term increased protein intake in term infants and L-carnitine supplementation on body composition and key indicators of physical development in children.

**Material and methods.** To test the proposed hypothesis of neonatal nutrition, we studied the vital signs of 59 term infants randomized into two groups. The first group ( $n = 30$ ) received standard breastmilk (BM) or formula feeding, and the second group ( $n = 29$ ) received a protein-fortified (PF) formula and L-carnitine supplementation during the hospital stay. At the beginning and end of treatment, the children's physical development and body composition were assessed using bioelectrical impedance.

The study protocol was agreed and approved by the Regional Bioethics Committee of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University. The study was conducted in accordance with the moral and ethical standards of the IGH/GCP, the Declaration of Helsinki (1964 with amendments of 1975, 1983, 1989, 1996, 2000), the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine, and the legislation of Ukraine. Written informed consent was obtained from the parents of the patients before the start of the study.

All statistical analyses were performed using the software Statistica 13.0, TIBCO Software Inc (licence number JPZ804I382130.ARCN10-J) and Microsoft Excel 2013 (licence number 00331-10000-00001-AA404). The probability of the difference in the absolute values of the means was determined using non-parametric methods of statistical analysis: the Mann-Whitney test ( $U$ ) for unrelated groups and the Wilcoxon signed rank test ( $T$ ) for related groups. Statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

The study was conducted within the framework of the research work of the Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine – «Optimization of diagnosis and intensive care of multi etiological lesions of the brain, gastrointestinal tract, kidneys in newborns and older children», state registration number 0118U007142.

**Results.** Infants in both groups had similar characteristics of weight, length and head circumference at baseline. The proportions of infants of both sexes were within the 50 % percentile. In general, the proposed feeding strategy contributed to better indicators of infant physical development and a statistically significant, faster recovery of body weight in the fortified group. Thus, the generalised indicator of body weight of children in the GZ group was  $3966.90 \pm 439.08$  g, compared to  $3554.62 \pm 452.28$  g in the SC group,  $p = 0.0033$ . In general, the children who consumed more protein were transferred out of intensive care sooner – 10.00 (8.00, 12.00) days vs. 12.00 (11.00, 16.00) days,  $U = 235.00$ ;  $p = 0.0024$ ; discharged from hospital sooner – 21.00 (19.00, 27.00) days vs. 26.50 (22.00, 31.00) days,  $U = 267.00$ ,  $p = 0.0109$ . This strategy proved to be safe, as evidenced by normal phenylalanine and urea levels at all stages of the children's examination. Percentage analysis of body composition showed an increase in the formation of more dry mass in children on the standard diet, without protein fortification and without carnitine supplementation. Thus, the percentage of FFM in the children on the standard diet was 84.71 (83.27; 85.47) % at the end of the study, compared with 83.09 (81.93; 83.96) % in the GZ group,  $U = 117.00$ ;  $p = 0.0020$ . The total cohort indicator was influenced by the changes in body composition found in the women: in the GZ group, the percentage was 82.21 (81.55; 83.10) % versus 84.71 (83.65; 85.30) % in the SC group,  $U = 8.0$ ;  $p = 0.0051$ . Thus, increased protein supplementation in term girls was associated with greater accumulation of fat mass, even with short-term supplementation.

**Conclusions.** Consumption of more protein and carnitine supplementation in term neonates in the intensive care unit promotes better growth against a background of body composition with higher fat content in females, a fact that limits the use of this strategy without further studies.

**Key words:** Body composition; Hypoxic-ischemic Encephalopathy; Neonates; Children; Physical Development; Bioelectrical Impedance; Breast Milk.

### Introduction

In the care of neonates in the intensive care unit, considerable attention is paid to nutritional support in addition to the management of perinatal conditions. The goal of feeding preterm infants is to mimic the intrauterine growth rate and, after 36 weeks postmenstrual age, to maintain the growth rate of a full-term infant who is breastfed [1]. Optimal physical development in full-term infants corresponds to rapid recovery of postnatal weight loss and standard daily growth. A proven strategy to improve children's physical development is to provide

sufficient protein in breast milk or formula for both term and preterm infants. Exogenous protein is an indispensable source of essential amino acids for the synthesis of protein required for growth.

The problem of physical developmental delay is most prevalent in the low-birth-weight group. Only a limited number of studies have looked at the optimal protein intake for term infants, who have fewer perinatal morbidities than preterm infants [2, 3]. This is due to well-known and well-studied factors: impaired intracellular insulin signaling, impaired glucose uptake and reduced mitochondrial

efficiency during critical illness. Even in term infants requiring intensive care, such mechanisms contribute to increased protein catabolism and the need for additional energy to overcome illness and ensure physical growth [4, 5]. A large number of observational studies and surveys of the nutritional status of term infants treated for critical illness show that the prescribed and actually delivered macronutrient intakes are usually lower than recommended intakes, and that cumulative protein and energy deficiencies during hospitalization can reach 40-45 % [4]. The severity of illness and nutritional deficiencies correlate with the duration of mechanical ventilation. For example, the Canadian National Network of Intensive Care Units reports a similar problem [6].

One method of preventing this deficiency in preterm infants is early initiation of parenteral nutrition, but a recent multicentre study has shown possible risks of this strategy with potentially negative consequences for this population, so improving the outcomes of enteral nutrition is still relevant [7]. Another strategy that has been explored in recent years is to improve neonatal outcomes by supplementing the nutritional support program with L-carnitine. It plays an important role in fatty acid oxidation by facilitating the transport of long-chain fatty acids across the mitochondrial membrane. The resulting energy can contribute to improved protein synthesis. Carnitine is a conditionally essential nutrient found in breast milk and is added to infant formula. Recent evidence suggests a positive association between carnitine intake and brain size and physical development in children [8]. Almost no studies have been conducted in preterm infants requiring intensive care, but the lack of adequate nutrition in term infants in the first few weeks of life contributes to the accumulation of secondary carnitine deficiency.

During critical illness, proteolysis is enhanced. The release of cytokines, cortisol and growth hormone contributes to the breakdown of skeletal muscle so that certain amino acids can be redirected and used as substrates for the synthesis of additional energy in the liver. This may play an important role in stunted growth in infants with limited protein and energy reserves or in cases where energy intake is delayed [4]. Weight gain in the preterm infant cohort can be achieved with current formulae and breast milk fortification, but there is a risk that the weight gain will be at the expense of fat and a reduction in lean mass and will not meet the reference growth charts for newborns [9-11].

In recent years, studies have been carried out not only in the preterm category to investigate the effects of increased protein intake. In a multicentre study by V. Koletzko, the effect of increased protein intake in healthy term infants over the course of one year was investigated in comparison with the exclusive breastfeeding group. Assessment of body composition and anthropometric parameters at the age of 6 years showed a 2.6-fold reduction in the adjusted odds of obesity in the breastfed group, indicating the risks of high protein intake [12]. However, the short-term consumption of high protein intakes within the guidelines for critically ill preterm infants and the possible outcomes of such a strategy have been little studied [4]. Disorders

of body composition in early life may play a key role in the «metabolic» programming of several future health conditions, including hypertension, stroke, type 2 diabetes mellitus, and obesity, which are grouped together in the definition of «metabolic syndrome» [13].

Accurate assessment of neonatal body composition is therefore essential for determining, predicting and monitoring nutritional outcomes in order to develop optimal feeding strategies. Conventional methods used in clinical settings to assess physical development and body composition in children are largely based on anthropometric measurements (such as length, weight and skinfold thickness). Body mass index (BMI) is commonly used to accurately assess the body composition of young children [13]. BMI reflects fat mass (FM) and fat-free mass (FFM) as a single value. Accurate methods for analyzing body composition in neonates include: air displacement plethysmography (ADP), water diluted isotope (TBW) method, bioelectrical impedance analysis (BIA), dual energy X-ray absorptiometry (DXA) and magnetic resonance imaging (MRI). Each of these methods has been validated as an affordable way to determine body composition in newborns, although none of them provides the most accurate data [14-18]. In addition, all methods except BIA cannot be used in intensive care units for neonates with critical perinatal conditions. The latter, based on changes in tissue electrical conductivity, is fast, relatively inexpensive and BIA can be used in any patient [19].

**The aim of the study.** To evaluate the effect of short-term increased protein intake in term infants and L-carnitine supplementation on body composition and key indicators of physical development in children.

**Material and Methods.** When designing the study, we hypothesized that early administration of a guaranteed higher protein supplement (relative to the usual intake in the intensive care program) and the addition of L-carnitine to the nutritional program of term, critically ill infants would improve the physical development of the children. In addition, we hypothesized that an increase in body weight with increased protein intake would be accompanied by a decrease in adipose tissue content – fat mass (FM) – due to an increase in lean body mass – fat-free mass (FFM).

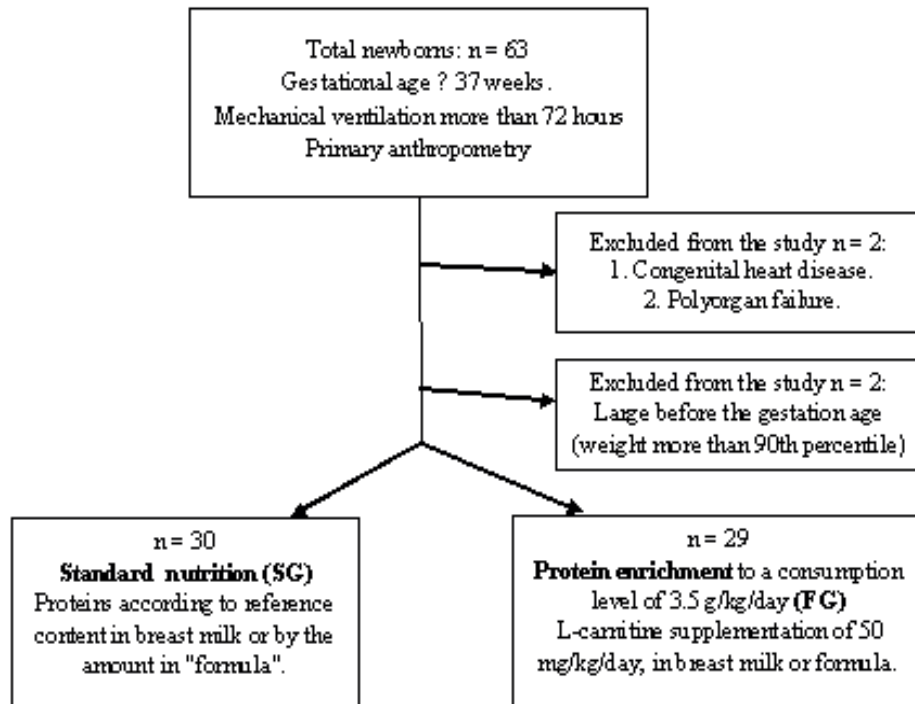
The study participants were treated in the neonatal intensive care unit of the Zaporizhzhia Regional Clinical Children's Hospital. The center provides tertiary care for infants delivered from medical institutions of the Zaporizhzhia region or the city of Zaporizhzhia of the second level of care and is the clinical base of the Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University.

A prospective, randomized, controlled trial was conducted in children of different gestational ages from 24 to 42 weeks at birth. The children were stratified into 4 groups according to their degree of maturity. This publication focuses on the group of children born at term. In the period from 2017 to 2020, 59 infants born at 37 to 41 weeks were selected. The children were evacuated from maternity hospitals and hospitals in critical condition. The

universal criterion for inclusion in the study was the need for prolonged artificial lung ventilation for more than 72 hours due to critical perinatal diseases. Intensive care was provided in accordance with existing protocols of the Ministry of Health of Ukraine and international standards for neonatal care.

Exclusion criteria included children who were small or large for gestational age (assessed using the Fenton 2013 nomograms for fetal physical development [20]),

children with congenital malformations requiring surgical intervention, children with congenital metabolic disorders, chromosomal abnormalities, and children with end-stage liver disease. Thus, 63 children were included in the study at the screening stage, but 4 infants were subsequently excluded from the study due to congenital heart disease with surgical correction (1), development of end-stage multiorgan failure (1), and 2 children were classified as large for gestational age by anthropometry (Fig. 1).



**Fig. 1. Study design and organization.**

All infants were randomly divided into 2 groups using the method of random numbers generated by the Statistica program. The standard feeding group consisted of 30 (50 %) infants who received mainly breast milk. At the initial stage of care, the infants received tube feeding, and when swallowing was regained, they received breast or bottle feeding. The amount of food was gradually increased each day based on clinical signs of food tolerance.

In the study group (29 children), protein supplementation was used up to a consumption of 3.5 g/kg/day using a protein fortifier, a casein hydrolysate. Fortification was started at an enteral absorption of approximately 80-90 ml/kg/day. The required dose of fortifier was calculated daily by adding the required amount to milk or formula. For the calculation, we used the average data on the protein content in breast milk of women who gave birth at term and the protein content according to the instructions for formula feeding [21]. Usually, the daily amount of fortifier was evenly distributed over all portions for tube feeding and in 4 portions for self-swallowing. In addition, L-carnitine supplements were administered to prevent the accumulation of carnitine deficiency at a daily dose of 50 mg/kg/day of the active ingredient until discharge from the hospital. Until the child was able to receive adequate enteral nutrition, L-carnitine was administered as an infusion by adding the daily dose to a prepared mixture of

fluids and electrolytes, which was administered at a steady rate throughout the day. The enteral administration of carnitine was started when the feeding volume reached 90-100 ml/kg/day. The daily dose of carnitine was administered in three doses by adding it to the formula or breast milk.

The physical development of the children was assessed on the day of birth and then weekly or on the day of discharge from the hospital. The main anthropometric parameters (body weight, head circumference, body length) were measured. All measurements were standardized according to WHO recommendations [22]. Measurements were performed twice by two specialists independently of each other. Weight was measured to the nearest 5 g on a calibrated electronic scale. If the difference between the two measurements exceeded 50 g for weight, 0.7 cm for length, and 0.5 cm for head circumference, both personnel repeated the measurements.

The data obtained were compared with Fenton's nomograms of physical development and a comparative analysis was performed between the groups. In addition, a comprehensive assessment of the infants' somatic and neurological status was performed. The biochemical profile of the neonates was studied weekly. Plasma free carnitine and phenylalanine levels were assessed at baseline and during the last week of treatment using liquid

chromatography-mass spectrometry (LC MS-Agilent 1260 Infinity HPLC system, USA).

The variability of neonatal body composition was studied using the bioelectrical impedance (BIA) method. Impedance measurements were performed simultaneously with anthropometry. A Bodystat® 1500MDD device (Bodystat Ltd, Isle of Man, UK) and special disposable electrodes from the same manufacturer (Bodystat Electrode Pads) were used for impedance analysis. The device automatically performs a calibration during each measurement. Two electrodes were placed on the neonates in the supine position: on the back of the hand and on the right foot. Measurements were performed with a signal frequency of  $f = 50$  KHz, an electric current amplitude of 200 microamperes, and a measurement accuracy of  $2 \pm \Omega$  (ohm). The impedance index (impedance index –  $Ht^2/I$ , (cm<sup>2</sup>/Ω)) as a variable (calculated as height in square centimeters divided by bioelectrical impedance in Ω) was calculated separately for each child to assess FFM. Impedance analysis using similar devices has demonstrated diagnostic capabilities in neonatal cohorts to measure FM and FFM with high accuracy [19, 23, 24]. A comparative analysis of the data obtained was performed at the time of birth and at the third postnatal week, which coincided with the discharge of most children in the fortification group.

In the text and tables, data are presented as  $M \pm SD$  (arithmetic mean  $\pm$  standard deviation) in the case of normal distribution of the trait,  $Me$  (Q1; Q3) (median of the sample with interquartile range reported as upper (75 %) and lower (25 %) quartiles in the case of non-normal distribution). Categorical variables are expressed as the absolute number of cases (n) in the group and frequency as a percentage (%). Nonparametric methods of statistical analysis, such as the Mann-Whitney U test, were used to assess the significance of the difference in absolute values of means between independent samples. The Wilcoxon signed rank test (T) was used for paired groups. The p level  $< 0.05$  was defined as significant in all tests.

The study protocol was agreed and approved by the Regional Bioethics Committee of the Zaporizhzhya State University of Medicine and Pharmacy. The study was conducted in accordance with the moral and ethical standards of the IGH/GCP, the Declaration of Helsinki (1964 with amendments in 1975, 1983, 1989, 1996, 2000),

the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine, and the legislation of Ukraine. Written informed consent was obtained from the parents of the patients before the start of the study.

The study was conducted within the framework of the research work of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine of the State Institution «Zaporizhzhya State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine» – «Optimization of diagnosis and intensive care of polyetiological lesions of the brain, gastrointestinal tract, kidneys in newborns and older children», state registration number 0118U007142.

All statistical analyses were performed with the software Statistica 13.0, TIBCO Software Inc. (license number JPZ8041382130ARCN10-J) and Microsoft Excel 2013 (license number 00331-10000-00001-AA404). The probability of the difference in absolute values of means was determined using nonparametric methods of statistical analysis: the Mann-Whitney test (U) for unrelated groups and the Wilcoxon signed rank test (T) for related groups. The statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

**Results.** The study included 59 neonates, 30 in the standard diet group (SN) and 29 in the protein and carnitine enrichment group (FG). The characteristics of the infant groups are shown in Table 1. The enrolled infants were similar in terms of gestational age and anthropometric characteristics. In each group, boys predominated with 70 % and 62 %, respectively. Children in both groups had manifestations of hypoxic-ischemic encephalopathy at birth, initially determined by the Sarnat scale. A small percentage of children were born by cesarean section, the frequency of intervention did not differ between subgroups and was 16.67 % in the SN group and 20.69 % in the FG group,  $p=0.96$ . As expected, the children were comparable in terms of perinatal morbidity. The main problem was moderate hypoxic-ischemic encephalopathy (86.67 % and 86.21 %, without statistically significant difference). The main product of infant feeding was breast milk, 86 % in the SN group and 90 % in the FG group,  $p=0.69$ .

The proportions of birth weight and head circumference were within the 50 % percentile for both sexes. For birth length, both cohorts had values within the  $<90$ th and  $>50$ th percentiles, which were statistically equivalent (Table 1).

**Table 1**

**Demographic and clinical data of infants enrolled in the study**

| Indicator, units of measurement         | SN<br>(n = 30)       | FG<br>(n = 29)       | p-level |
|---|----------------------|----------------------|---------|
| Gestational age, weeks                  | 38,73 $\pm$ 1,26     | 39,00 $\pm$ 1,13     | 0,39    |
| Weight at birth, g                      | 3265,13 $\pm$ 366,60 | 3452,24 $\pm$ 413,58 | 0,07    |
| Body length, cm                         | 52,17 $\pm$ 2,32     | 53,16 $\pm$ 2,13     | 0,09    |
| Head circumference, cm                  | 34,27 $\pm$ 1,17     | 34,69 $\pm$ 1,01     | 0,14    |
| Boys, n (%)                             | 21,00 (70,00 %)      | 18,00 (62,07 %)      | 0,53    |
| Apgar score at the first minute, points | 6,13 $\pm$ 1,72      | 5,69 $\pm$ 2,00      | 0,36    |
| Apgar score at the fifth minute, points | 7,20 $\pm$ 1,71      | 6,76 $\pm$ 1,60      | 0,31    |
| Cesarean section, n (%)                 | 5,00 (16,67 %)       | 6,00 (20,69 %)       | 0,69    |
| Hypoxic-ischemic encephalopathy, n (%)  | 26,00 (86,67 %)      | 25,00 (86,21 %)      | 0,96    |
| Neonatal sepsis, n (%)                  | 1,00 (3,33 %)        | 2,00 (6,90 %)        | 0,54    |
| Meconium aspiration, n (%)              | 3,00 (10,00 %)       | 2,00 (6,90 %)        | 0,68    |

A gradual increase in the daily feeding volume provided tolerance to the nutritional load, which in the groups at the end of the first week of life was respectively: for the FG  $141.81 \pm 20.18$  ml/kg/day and for the SN  $131.87 \pm 30.63$  ml/kg/day,  $p = 0.13$ ; on day 14: for the FG  $163.43 \pm 9.46$  ml/kg/day and for the SN  $156.12 \pm 13.25$  ml/kg/day,  $p = 0.07$ . These data indicate a good tolerance of food intake in full-term infants, which allowed protein supplementation during the first week after birth. The increase in volume was stopped when the daily intake reached 150-165 ml/kg. Parenteral nutrition with lipid emulsions and amino acids was not performed according to the strategy adopted by the hospital [4,7].

In the fortification group (FG), it was possible to provide protein supplementation of approximately 3.5 g/kg/day from the 7th day of life. This corresponded to the protein intakes of critically ill term infants (2.0-3.50 g/kg/day) who had entered a stable «recovery» phase, according to the ESPGHAN 2021 recommendations [4]. At the same time, the level of deviation from the average was low, achieved by the automatic calculation of the infant formula. Thus, on days 14 and 21, the infants continued to consume 3.5 (3.4; 3.6) g/kg/day and 3.5 (3.5; 3.5) g/kg/day, respectively, of protein from fortification, and 2.3 (2.3; 2.5) g/kg/day and 2.4 (2.3; 2.6) g/kg/day, respectively, of protein from breast milk or formula.

The protein intake of the infants on the standard formula was 2.35 (2.3; 2.5) g/kg/day on average and 2.4 (2.3; 2.5) g/kg/day on days 14 and 21, which was also within the recommendations. When comparing the intake of total protein in the stable phase of lactation, a statistically significant difference was found between the groups: 3.5 (3.4, 3.6) g/kg/day versus 2.35 (2.3, 2.5) g/kg/day, at  $U = 80.00$ ;  $p = 0.0001$  on day 14, and 3.5 (3.5, 3.5) g/kg/day versus 2.4 (2.3, 2.5) g/kg/day, at  $U = 50.00$ ;  $p = 0.0001$  on day 21.

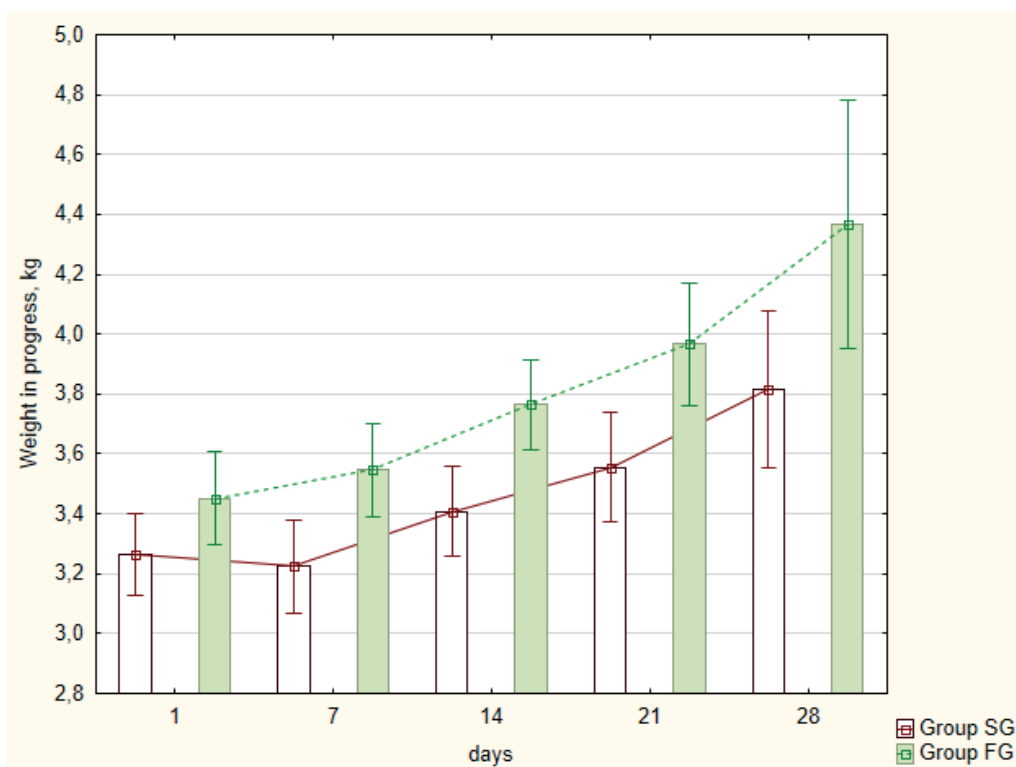
Increased protein intake did not lead to an increase in plasma phenylalanine reference values. The international database, which includes results from 133 laboratories, reports a mean phenylalanine cut-off value of 130 mmol/L (range 65-234 mmol/L). In our study, the mean plasma phenylalanine level before the start of fortification was 91.18 mmol/L (65.56; 112.61), and at the end of fortification it was 88.07 mmol/L (62.49; 112.40), with  $U = 429.00$ ;  $p = 0.76$ . No child was found to exceed the threshold for the above amino acid. Urea levels did not differ between groups during the first week of life or during weekly monitoring of biochemical parameters. Thus, the urea in the blood plasma of children with CH was 6.39 (3.45; 9.73) mmol/l, while the index in the fortified group was 4.92 (3.65; 7.10) mmol/l, with  $U = 429.00$ ;  $p = 0.76$ . In the second week of breastfeeding this trend continued: in the SC group 4.14 (2.85; 5.22) mmol/l versus 4.56 (4.10; 6.46) mmol/l, with  $U = 291.00$ ;  $p = 0.03$ . At the end of the treatment, the data obtained finally indicated the safety of the proposed strategy. At the end of the third week of treatment, newborns in the lower protein intake group had a urea level of 3.39 (2.71; 4.55) mmol/L, compared with a urea level of 4.47 (3.04; 6.01) mmol/L in the supplementation group,  $U = 376.00$ ;  $p = 0.2$ .

In our study, infants in both groups had limited enteral feeding opportunities during the first two weeks and thus did not receive adequate carnitine supplementation from breast milk. This increased the risk of secondary carnitine deficiency. It should be noted that the reference values for free carnitine (FC) in newborns vary. According to the results of the study by H. Snares, the normal level of FC in term infants is  $46.41 \pm 20.73$  mmol/L [25]. Other authors point out the limit values of free carnitine in the range of 20-26 mmol/L, which can vary during the first month of life, so the data vary in recent years. One observational study reports that hypoxic-ischemic encephalopathy is a proven risk factor for secondary carnitine deficiency. In the group of children with HIE, a statistically lower level of carnitine was found compared to healthy children, reaching  $13.2 \pm 6.8$  mmol/L [26]. This prompted us to offer carnitine supplementation to the study group. As a result, serum carnitine levels in the group not taking prophylactic carnitine were below the reference value of 13.67 mmol/L (10.08; 18.61) at baseline and below the reference value of 24.97 mmol/L (18.99; 38.85) before discharge. In the fortification group, the initial carnitine level was also below the reference value, which increased after supplementation. Thus, in the last measurements, the level of free carnitine averaged 96.18 mmol/L (76.33; 119.32), in the first samples of this group – 24.17 mmol/L (20.22; 36.29),  $U = 35.0000$ ;  $p = 0.0001$ . In the standard diet group, there was also a statistically significant increase in free carnitine levels at baseline and at the end of the study. This is due to the intake of carnitine with breast milk.

Weight gain showed significant differences between the two groups (Figure 2). As can be seen in this figure, although the birth weight was higher in the group that received more protein, it was not statistically significant. Subsequently, at the end of the first week of life, the weight gain curve was downward in the standard diet group due to a greater initial weight loss. In contrast, the FG group showed an upward weight gain due to early protein supplementation. Thus, the mean weight on day 7 in the SN group was  $3224.00 \pm 419.64$  g, while in the FG group it was  $3545.83 \pm 405.39$  g ( $p = 0.004$ ). Subsequently, the growth of the infants in both groups was accompanied by a steady increase in weight, the corresponding growth curves were ascending, parallel to the 50 % percentile, until the moment of discharge from the hospital. On the 21<sup>st</sup> day of life, the statistical difference in body weight between the groups was maintained:  $3554.62 \pm 452.28$  g for the SN group ( $n = 26$ ) versus  $3966.90 \pm 439.08$  g for the FG group ( $n = 20$ ), at  $p = 0.003$ .

The generalized data (without taking gender into account) showed that the infants in the SN group initially lost more weight and recovered it more slowly than the infants in the FG group. Thus, the mean weight recovery in the protein supplementation group was almost twice as fast as in the standard diet group: 5.0 days (1.0; 8.0) versus 10.0 days (8.0; 16.0), with  $U = 173.00$ ;  $p = 0.0002$ . It is noteworthy that this was achieved with the same dietary intake. The children in the enrichment group also showed a statistically greater daily weight gain: 24.76 g/kg/day (14.2; 30.36) versus 18.62 g/kg/day (12.5; 24.3), with  $U = 263.00$ ;  $p = 0.02$ .



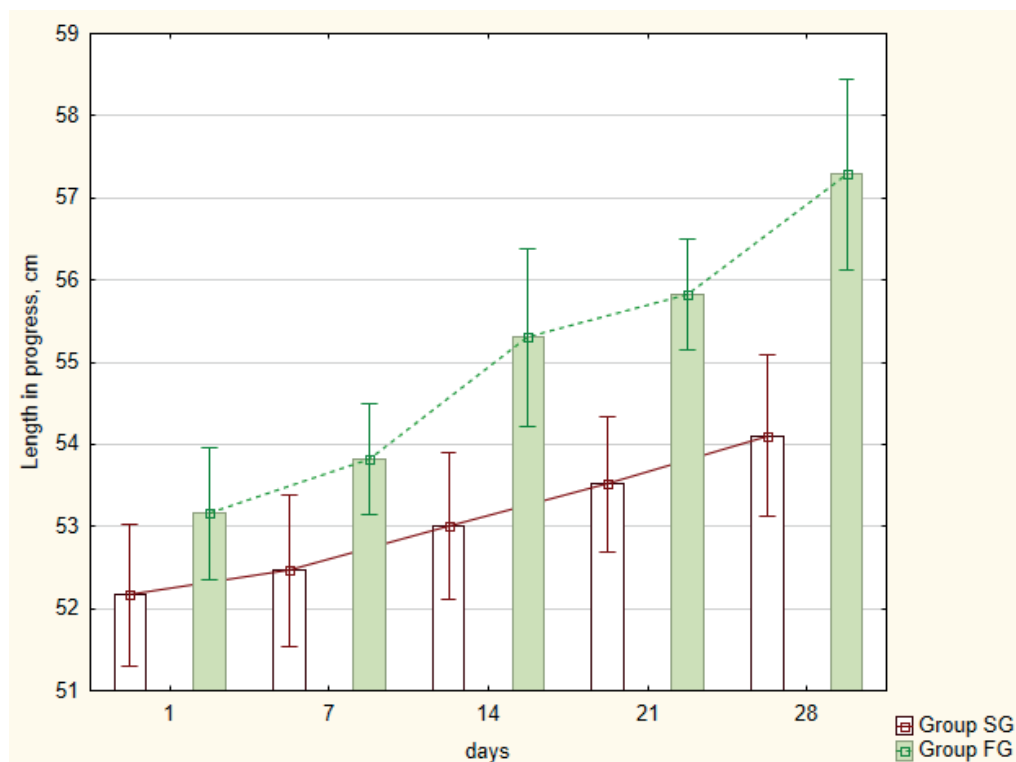


**Fig. 2. Weight dynamics between groups**

Note \* – statistically significant differences between groups

As for the dynamics of changes in body length among infants, it was similar to weight (Fig. 3). The analysis revealed that the growth of babies began to increase already in the first week of life up to the 28<sup>th</sup> day, statistically significant differences began to appear as early as the 7<sup>th</sup> day. On the 21<sup>st</sup> day of observation, when most children in the enrichment group were ready for discharge, the

body length indicators for the SN and FG groups were respectively:  $53.52 \pm 2.04$  cm, versus  $55.83 \pm 1.43$  cm, at  $p = 0.0001$ . Indicators of physical development of infants when assessed using Fenton diagrams adapted to the 50<sup>th</sup> week of adjusted age demonstrated a parallel increase in body length in infants of both groups from the first week of life.



**Fig. 3. Dynamics of body length growth**

Note \* – statistically significant differences between groups

As shown in Figures 2 and 3, the differences in physical development were mainly related to body weight and length. The increase in head circumference was similar in both groups, with no statistical difference, and corresponded to an ascending curve parallel to the 50% percentile. Accordingly, neonates of the FG spent less time in the NICU and hospital. Thus, after 23 days, only

7 (24.14%) infants remained in the high protein group and 15 (50%) in the standard nutrition group. Therefore, a comparative analysis of physical development after 21 days of life was not important.

The results of the BIA measurements during the study and the indicators calculated taking into account the body weight of the girls in both groups are summarized in Table 2.

**Table 2**

**Dynamics of changes in BIA and «dry weight» among female newborns**

| Indicator, units of measurement                  | SN (n=9) <sup>#</sup> | FG (n=11) <sup>#</sup> | p-level | U     |
|--|-----------------------|------------------------|---------|-------|
| Bioelectric Impedance, ohm, Me (Q1; Q3)          |                       |                        |         |       |
| At birth   | 698.0 (603.0; 756.0)  | 740.0 (705.0; 789.0)   | 0.15    | 30.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 562.0 (533.0; 588.0)  | 646.0 (634.0; 655.0)   | 0.003   | 10.00 |
| Impedance index, cm <sup>2</sup> /Ω, Me (Q1; Q3) |                       |                        |         |       |
| At birth   | 3.37 (2.49; 3.44)     | 3.12 (2.76; 3.17)      | 0.7     | 44.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 3.91 (3.56; 4.42)     | 3.95 (3.51; 4.10)      | 0.82    | 46.00 |
| Fat-free body mass (FFM), kg, Me (Q1; Q3)        |                       |                        |         |       |
| At birth   | 2.51 (2.47; 2.90)     | 2.86 (2.69; 3.29)      | 0.11    | 28.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 2.83 (2.74; 2.9)      | 3.27 (3.00; 3.54)      | 0.03    | 15.00 |
| Fat-free body mass (FFM), %, Me (Q1; Q3)         |                       |                        |         |       |
| At birth   | 84.58 (83.35; 85.42)  | 82.99 (81.57; 83.40)   | 0.07    | 25.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 84.71 (83.65; 85.30)  | 82.21 (81.55; 83.10)   | 0.0051  | 8.00  |

<sup>#</sup> – number of children from 1 to 14 days of observation; <sup>†</sup> – number of observations for girls on day 21 was in the SN group n = 8, in the FG group n = 10;

It is noteworthy that statistically significant differences in tissue impedance and FFM were obtained at day 21. The latter was higher in absolute numbers in the girls of the protein-supplemented group: 3.27 (3.00, 3.54) in the FG group versus 2.83 (2.74, 2.9) in the SN group, with U = 15.0; p = 0.03. It should be noted that the total body weight at 21 days was significantly higher in the fortified group, and in general the girls in this group grew better. Thus, in the third week, the body weight of girls in the FG group was 3982.50 (3610.00; 4340.00) g, while in the SN group it was 3320.00 (3235.00; 3460.00) g, with U = 7.5; p = 0.004. However, when the percentage of «dry» body weight relative to total weight was calculated, the opposite result was obtained: in women in the FG group, the percentage was 82.21 (81.55; 83.10)%,

versus 84.71 (83.65; 85.30)% in the SN group, with U = 8.0; p = 0.0051. Thus, increased protein supplementation in term girls, even with short-term supplementation, was associated with greater accumulation of fat mass.

The analysis of the growth pattern in males showed no differences found in girls (Table 3).

When analyzing the dynamics of weight gain, it was found that boys of both groups grew approximately equally, and on the 21st day of life, the indicators did not have a statistical difference, for the CN group 3675.00 (3295.00, 4050.00) g (n = 18), against the average body weight in the FG group 3960.00 (3721.00, 4340.00) g (n = 10), with U = 50.0; p = 0.06, although half of the boys were discharged home by the third week of life.

**Table 3**

**Dynamics of changes in BIA and «dry weight» among male newborns**

| Indicator, units of measurement                  | SN (n=21) <sup>#</sup> | FG (n=18) <sup>#</sup> | p-level | U      |
|--|------------------------|------------------------|---------|--------|
| Bioelectric Impedance, ohm, Me (Q1; Q3)          |                        |                        |         |        |
| At birth   | 684.0 (614.0; 698.0)   | 643.5 (592.0; 688.0)   | 0.27    | 149.50 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 594.0 (541.0; 623.0)   | 569.0 (548.0; 594.0)   | 0.41    | 159.50 |
| Impedance index, cm <sup>2</sup> /Ω, Me (Q1; Q3) |                        |                        |         |        |
| At birth   | 3.06 (3.01; 3.40)      | 3.42 (3.10; 3.74)      | 0.17    | 139.50 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 4.01 (3.61; 4.22)      | 4.06 (3.92; 4.70)      | 0.41    | 150.00 |
| Fat-free body mass (FFM), kg, Me (Q1; Q3)        |                        |                        |         |        |
| At birth   | 2.81 (2.69; 2.97)      | 2.83 (2.73; 3.15)      | 0.37    | 157.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 3.10 (2.81; 3.36)      | 3.11 (2.91; 3.33)      | 0.04    | 47.00  |
| Fat-free body mass (FFM), %, Me (Q1; Q3)         |                        |                        |         |        |
| At birth   | 85.15 (85.00; 84.38)   | 84.78 (84.75; 83.77)   | 0.49    | 164.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 84.61 (84.85; 83.22)   | 83.68 (83.84; 82.55)   | 0.19    | 62.00  |

<sup>#</sup> – number of children from 1 to 14 days of observation; <sup>†</sup> – number of observations for boys on day 21 was in the SN group n = 18, in the FG group n = 10;

Accordingly, there were no statistically significant differences for impedance and body composition indicators. The nature of the sex differences in body composition and growth influenced the results generalized to the entire cohort of children studied (Table 4).

Obviously, the nature of the differences is influenced by the difference found in female neonates. The absolute value of «lean» body weight increased in proportion to the increase in body weight and was significantly higher in the FG group at 21 days of age. The total weight in the FG group

was 3960.00 (3691.00; 4340.00) g, versus 3460.00 (3240.00; 3980.00) g in the SN group, at  $U = 131.5$   $p = 0.005$ , and for FFM  $-3.12$  (2.98; 3.30) g, versus 2.87 (2.68; 3.09) g, at  $U = 137.0$ ;  $p = 0.01$ . The analysis of body composition in percentages showed an increase in the formation of more dry mass in the children who ate normally, without protein fortification and carnitine supplementation. Thus, the percentage of FFM was 84.71 (83.27; 85.47) % in the children on the standard diet, compared to 83.09 (81.93; 83.96) % in the FG group,  $U = 117.00$ ;  $p = 0.002$ .

Table 4

#### Dynamics of changes in BIA and «dry weight» in newborns without regard to sex

| Indicator, units of measurement                  | SN (n=30) <sup>#</sup> | FG (n=29) <sup>#</sup> | p-level | U      |
|--|------------------------|------------------------|---------|--------|
| Bioelectric Impedance, ohm, Me (Q1; Q3)          |                        |                        |         |        |
| At birth   | 686.0 (613.00; 702.0)  | 680.0 (622.0; 740.0)   | 0.57    | 397.50 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 586.0 (540.00; 623.0)  | 597.0 (563.0; 650.0)   | 0.22    | 353.50 |
| Impedance index, cm <sup>2</sup> /Ω, Me (Q1; Q3) |                        |                        |         |        |
| At birth   | 3.08 (2.94; 3.44)      | 3.20 (3.09; 3.70)      | 0.42    | 381.50 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 3.96 (3.56; 4.28)      | 4.01 (3.68; 4.37)      | 0.73    | 397.00 |
| Fat-free body mass (FFM), kg, Me (Q1; Q3)        |                        |                        |         |        |
| At birth   | 2.75 (2.51; 2.96)      | 2.85 (2.70; 3.15)      | 0.13    | 334.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 2.87 (2.68; 3.09)      | 3.12 (2.98; 3.30)      | 0.01    | 137.00 |
| Fat-free body mass (FFM), %, Me (Q1; Q3)         |                        |                        |         |        |
| At birth   | 84.96 (83.79; 85.45)   | 84.00 (83.03; 85.01)   | 0.06    | 308.00 |
| 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup>   | 84.71 (83.27; 85.47)   | 83.09 (81.93; 83.96)   | 0.002   | 117.00 |

# – number of children from 1 to 14 days of observation; † – number of observations for the 21st day was in the SN group  $n = 26$ , in the FG group  $n = 20$ ;

To determine whether the body composition of neonates in each group changed from birth to discharge,

we compared the percentage of FFM, and the results are shown in Table 5.

Table 5

#### Comparison of FFM, %, in neonates at baseline and end of study within groups

| Indicator, units of measurement | At birth                    | 21 <sup>st</sup> day or discharge <sup>†</sup> | p-level | T     |
|---------------------------------|-----------------------------|--|---------|-------|
| Girls, SN                       | 84.58 (83.35; 85.42) (n=9)  | 84.71 (83.65; 85.30) (n=8)                     | 0.66    | -0.46 |
| Boys, SN                        | 85.00 (84.38; 85.45) (n=21) | 84.85 (83.22; 85.96) (n=18)                    | 0.01    | 2.74  |
| Total, SN                       | 84.96 (83.79; 85.45) (n=30) | 84.71 (83.27; 85.47) (n=26)                    | 0.05    | 2.02  |
| Girls, FG                       | 82.99 (81.57; 83.40) (n=11) | 82.21 (81.55; 83.10) (n=10)                    | 0.03    | 2.62  |
| Boys, FG                        | 84.75 (83.77; 86.01) (n=18) | 83.84 (82.55; 84.05) (n=10)                    | 0.01    | 3.17  |
| Total, FG                       | 84.00 (83.03; 85.01) (n=29) | 83.09 (81.93; 83.96) (n=20)                    | 0.0009  | 3.92  |

As can be seen from the data presented here, the growth of the children fed the standard program was not accompanied by changes in body composition, as evidenced by the absence of a significant difference in lean mass at birth and at the end of treatment. In contrast, increased protein intake resulted in a decrease in lean body mass as a percentage of actual body weight, as evidenced by the performance of the fortified group. Of particular note, the reduction in FFM in neonates receiving more protein did not differ by gender.

In general, children who consumed more protein were transferred from the ICU sooner – 10.00 (8.00, 12.00) days versus 12.00 (11.00, 16.00) days,  $U = 235.00$ ;  $p = 0.0024$ ;

discharged from the hospital sooner – 21.00 (19.00, 27.00) days versus 26.50 (22.00, 31.00) days,  $U = 267.00$ ,  $p = 0.0109$ .

**Discussion.** We present the results of a study of a group of term infants who showed very early differences in body structure at the end of hospitalization. The children required treatment in intensive care units for perinatal conditions. As a result of the study, we found that full-term infants who were fed mostly breast milk according to the standard approach had less fat mass at the end of the treatment than the group of children who received increased protein intake throughout the nursing period. The latter

was achieved by fortifying the breast milk with a protein supplement and adding carnitine to the treatment program. The decrease in lean body mass occurred against a background of better physical development in the fortified group, as evidenced by significantly higher anthropometric development indicators in infants in the fortified group. Our study is one of the few to evaluate body composition in term infants requiring treatment in the NICU.

In recent years, many researchers have investigated the hypothesis that increased protein intake in sick and healthy children of various ages promotes better physical development, accompanied by the formation of a body structure predominantly free of fat mass. Most of the studies have been conducted in premature infants, who are more likely to have physical developmental delays. Amesz E. M. hypothesized that formulas enriched in energy and protein, with an increased protein-to-energy ratio, improve lean mass gain in preterm infants [27]. The authors conducted a randomized controlled trial in which preterm infants were fed fortified milk or formula until 40 weeks' gestation, at which time they were randomized to receive a protein-enriched preterm formula or a term formula. Feeding was continued for up to 6 months, after which anthropometric and body composition assessments were performed using dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA). Infants fed the lower-protein formula had lower fat mass, especially boys, but the differences were not significant. The results of this study are similar to ours.

Recently, differences in body composition in healthy full-term infants fed a protein-enriched diet for one year were studied to determine the effects on future body composition [12]. This multicenter study compared groups of infants fed breastmilk or a formula with increased protein (relative to the reference) and a balanced formula for full-term infants during the first months of life. Body mass index and anthropometric parameters were assessed at 1, 2 and 6 years of age. It was found that increased protein intake led to an increase in body mass index at 2 and 6 years of age in the children who received more protein, and increased the risk of obesity by a factor of 2.6. This is known to influence the development of the so-called «metabolic syndrome» and has negative consequences [28]. The main goal of our study was to improve hospital outcomes by reducing the time spent in bed and the need for mechanical ventilation, which was demonstrated, but better physical growth with a higher percentage of body fat may be a limitation for the implementation of this practice. Recently, many studies conducted in preterm infants have shown that increased protein intake allows for better growth in this group, which still differs from the development of full-term infants without disease [4]. Historically, preterm infants have been found to have lower height and weight, more adipose tissue, and a correspondingly higher body mass index. However, there are few studies in cohorts of term infants, although certain subpopulations of term infants with impaired nutritional tolerance may have additional nutritional needs [29,30]. At the same time, studies have been published demonstrating the benefits of increased protein intake in the context of breast milk fortification. Mariani E. et al. demonstrated that higher protein in the diet of preterm infants contributes to better physical development and neurological outcomes in

the future, but the body composition of the children was not assessed in this work [31].

The study of body composition in healthy, term-born infants using DEXA is almost a reference method for determining body composition, but recently there have been many publications pointing to the possibilities of bioelectrical impedance [23]. A comparison of BIA and DEXA was performed by N. Q. Dung et al. The randomized study included 118 children (51 boys, 67 girls), all born preterm at a mean age of  $30.1 \pm 3.1$  weeks and a birth weight of  $1.26 \pm 0.47$  kg. Body composition was measured at a postmenstrual age of  $38.6 \pm 3.8$  weeks and an actual body weight of  $2.6 \pm 0.54$  kg using dual-energy X-ray absorptiometry [24, 29]. Weight and height were collected along with bioelectrical resistance measurements for further mathematical calculation of FFM. Multiple regression analysis was performed to evaluate the prediction of FFM using impedance index ( $Ht^2/I$ ,  $cm^2/\Omega$ ) and body weight. Stronger correlations demonstrated that body weight was a more effective predictor of FFM than impedance index. However, as a bedside monitoring, FFM has been proposed to rely more on weight variability than BIA, but in general the accuracy of the calculation of dry mass was almost equal to the reference (DEXA), which led us to choose this technique. In addition, other authors have successfully used this simple and inexpensive method of determining body composition in their studies [19, 23].

In conclusion, feeding full-term infants in the NICU with artificially high-protein breast milk contributes to a better hospital stay, which may have some economic impact, and to better physical development, but this practice contributes to an increase in the fat content of infants at the expense of females, which affects the overall group index. The results may have implications for future metabolic programming. This may be due to certain limitations of our study: small sample size, use of bioimpedance analysis instead of dual-energy X-ray absorptiometry, and lack of follow-up of children.

## Conclusions

1. Consumption of more protein relative to the reference requirement and carnitine supplementation in term neonates in the intensive care unit promotes better growth and is associated with a shorter hospital stay.

2. The increase in body weight in children receiving protein supplementation above the standard intake was accompanied by an increase in adipose tissue content in females compared with the group fed breast milk without fortification, which may have implications for metabolic programming in the future.

3. Bioimpedance analysis is a simple, non-invasive method for determining fat-free mass in term infants, which should be a useful tool for assessing changes in body composition in the neonatal unit.

4. Studies with a larger number of observations and a more comprehensive examination of infants are needed. At present, we cannot recommend increasing the protein intake of term infants in the NICU.

Prospects for further research: To examine the full implications, it is advisable to conduct a study that includes a catamnestic analysis of children's physical development,

neurological development, body composition, and overall morbidity in infancy. Studies should determine whether changes in body composition are the result of diet alone, or whether genetic and other environmental factors have an impact.

**Sources of funding.** The article was published without any financial support.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

### References:

1. Amisshah EA, Brown J, Harding JE. Protein supplementation of human milk for promoting growth in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2018[cited 2023 Oct 25];6(6): CD000433. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD000433.pub2/full#0> doi: 10.1002/14651858.CD000433.pub2
2. Koletzko B, Godfrey KM, Poston L, Szajewska H, van Goudoever JB, de Waard M, et al. Nutrition During Pregnancy, Lactation and Early Childhood and its Implications for Maternal and Long-Term Child Health: The Early Nutrition Project Recommendations. *Ann Nutr Metab*. 2019;74(2):93-106. doi: 10.1159/000496471
3. Hoogewerf M, Ter Horst HJ, Groen H, Nieuwenhuis T, Bos AF, van Dijk MWG. The prevalence of feeding problems in children formerly treated in a neonatal intensive care unit. *J Perinatol*. 2017 May;37(5):578-584. doi: 10.1038/jp.2016.256.
4. Moltu SJ, Bronsky J, Embleton N, Gerasimidis K, Indrio F, Köglmeier J, et al. Nutritional Management of the Critically Ill Neonate: A Position Paper of the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021;73(2):274-89. doi: 10.1097/MPG.0000000000003076
5. Yalçın N, Kaşıkçı M, Çelik HT, Demirhan K, Yiğit Ş, Yurdakök M. Development and validation of machine learning-based clinical decision support tool for identifying malnutrition in NICU patients. *Sci Rep* [Internet]. 2023[cited 2023 Oct 25];13(1):5227. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-32570-z> doi: 10.1038/s41598-023-32570-z
6. Canadian Neonatal Network. Annual Report 2021 [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 25]. 148 p. Available from: [http://www.canadianneonatalnetwork.org/portal/Portals/0/Annual%20Reports/2021%20CNN%20annual%20report%20final\\_amended.pdf](http://www.canadianneonatalnetwork.org/portal/Portals/0/Annual%20Reports/2021%20CNN%20annual%20report%20final_amended.pdf)
7. van Puffelen E, Vanhorebeek I, Joosten KFM, Wouters PJ, Van den Berghe G, Verbruggen SCAT. Early versus late parenteral nutrition in critically ill, term neonates: a preplanned secondary subgroup analysis of the PEPaNIC multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Child Adolesc Health*. 2018;2(7):505-15. doi: 10.1016/S2352-4642(18)30131-7
8. Manninen S, Silvennoinen S, Bendel P, Lankinen M, Schwab US, Sankilampi U. Carnitine Intake and Serum Levels Associate Positively with Postnatal Growth and Brain Size at Term in Very Preterm Infants. *Nutrients* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 25];14(22):4725. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/22/4725> doi: 10.3390/nu14224725
9. Kiserud T, Benachi A, Hecher K, Perez RG, Carvalho J, Piaggio G, et al. The World Health Organization fetal growth charts: concept, findings, interpretation, and application. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;218(2S): S619-29. doi: 10.1016/j.ajog.2017.12.010
10. Fenton TR, Premji SS, Al-Wassia H, Sauve RS. Higher versus lower protein intake in formula-fed low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2014[cited 2023 Oct 25];2014(4): CD003959. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD003959.pub3/full> doi: 10.1002/14651858.CD003959.pub3
11. Singhal A, Wells J, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Programming of lean body mass: a link between birth weight, obesity, and cardiovascular disease? *Am J Clin Nutr*. 2003;77(3):726-30. doi: 10.1093/ajcn/77.3.726
12. Koletzko B, Demmelmair H, Grote V, Totzauer M. Optimized protein intakes in term infants support physiological growth and promote long-term health. *Semin Perinatol* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 25];43(7):151153. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0146000519300795?via%3Dihub> doi: 10.1053/j.semperi.2019.06.001
13. Rice MS, Valentine CJ. Neonatal Body Composition: Measuring Lean Mass as a Tool to Guide Nutrition Management in the Neonate. *Nutr Clin Pract*. 2015;30(5):625-32. doi: 10.1177/0884533615578917
14. Ellis KJ, Yao M, Shypailo RJ, Orlando A, Wong WW, Heird WC. Body-composition assessment in infancy: air-displacement plethysmography compared with a reference 4-compartment model. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(1):90-5. doi: 10.1093/ajcn/85.1.90
15. Harrington TA, Thomas EL, Modi N, Frost G, Coutts GA, Bell JD. Fast and reproducible method for the direct quantitation of adipose tissue in newborn infants. *Lipids*. 2002;37(1):95-100. doi: 10.1007/s11745-002-0868-4
16. Wells JC, Fewtrell MS. Measuring body composition. *Arch Dis Child*. 2006;91(7):612-7. doi: 10.1136/adc.2005.085522
17. Rigo J, Nyamugabo K, Picaud JC, Gerard P, Pieltain C, De Curtis M. Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998;27(2):184-90. doi: 10.1097/00005176-199808000-00011
18. Olhager E, Thuomas KA, Wigström L, Forsum E. Description and evaluation of a method based on magnetic resonance imaging to estimate adipose tissue volume and total body fat in infants. *Pediatr Res*. 1998;44(4):572-7. doi: 10.1203/00006450-199810000-00017
19. Mól N, Zasada M, Kwinta P. Does type of feeding affect body composition in very low birth weight infants? – A prospective cohort study. *Pediatr Neonatol*. 2019;60(2):135-40. doi: 10.1016/j.pedneo.2018.04.010
20. Fenton TR, Nasser R, Eliasziw M, Kim JH, Bilan D, Sauve R. Validating the weight gain of preterm infants between the reference growth curve of the fetus and the term infant. *BMC Pediatr* [Internet]. 2013[cited 2023 Oct 25];13:92. Available from: <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/1471-2431-13-92.pdf> doi: 10.1186/1471-2431-13-92
21. Richter M, Baerlocher K, Bauer JM, Elmadfa I, Heseker H, Leschik-Bonnet E, et al. Revised Reference Values for the Intake of Protein. *Ann Nutr Metab*. 2019;74(3):242-50. doi: 10.1159/000499374
22. de Onis M, Garza C, Victora CG, Onyango AW, Frongillo EA, Martinez J. The WHO Multicentre Growth Reference Study: planning, study design, and methodology. *Food Nutr Bull*. 2004;25(1): S15-26. doi: 10.1177/15648265040251S103
23. Tortorella CCDS, Kuhl AM, Coradine AVP, Rabito EI, Sarquis AL. Application of bioelectrical impedance in newborns: an integrative review. *Nutr Hosp*. 2023;40(2):436-43. doi: 10.20960/nh.04365
24. Dung NQ, Fusch G, Armbrust S, Jochum F, Fusch C. Body composition of preterm infants measured during the first months of life: bioelectrical impedance provides insignificant additional information compared to anthropometry alone. *Eur J Pediatr*. 2007;166(3):215-22. doi: 10.1007/s00431-006-0232-y
25. Chace DH, Pons R, Chiriboga CA, McMahon DJ, Tein I, Naylor EW, et al. Neonatal blood carnitine concentrations: normative data by electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res*. 2003;53(5):823-9. doi: 10.1203/01.PDR.0000059220.39578.3D

26. Cam H, Yildirim B, Aydin A, Say A. Carnitine levels in neonatal hypoxia. *J Trop Pediatr*. 2005;51(2):106-8. doi: 10.1093/tropej/fmh089
27. Amesz EM, Schaafsma A, Cranendonk A, Lafeber HN. Optimal growth and lower fat mass in preterm infants fed a protein-enriched postdischarge formula. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010;50(2):200-7. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181a8150d
28. Lapillonne A, Griffin IJ. Feeding preterm infants today for later metabolic and cardiovascular outcomes. *J Pediatr*. 2013;162(3):S7-16. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.11.048
29. Alja'nini Z, McNelis KM, Viswanathan S, Goddard GR, Merlino-Barr S, Collin M, et al. Infant body composition assessment in the neonatal intensive care unit (NICU) using air displacement plethysmography: Strategies for implementation into clinical workflow. *Clin Nutr ESPEN*. 2021;43:212-22. doi: 10.1016/j.clnesp.2021.04.014
30. Hamatschek C, Yousuf EI, Möllers LS, So HY, Morrison KM, Fusch C, et al. Fat and Fat-Free Mass of Preterm and Term Infants from Birth to Six Months: A Review of Current Evidence. *Nutrients* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 25];12(2):288. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/2/288> doi: 10.3390/nu12020288
31. Mariani E, Biasini A, Marvulli L, Martini S, Aceti A, Faldella G, et al. Strategies of Increased Protein Intake in ELBW Infants Fed by Human Milk Lead to Long Term Benefits. *Front Public Health* [Internet]. 2018[cited 2023 Oct 25];6:272. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2018.00272/full> doi: 10.3389/fpubh.2018.00272

## СКЛАД ТІЛА ДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ НА ТЛІ ПІДВИЩЕНОГО СПОЖИВАННЯ БІЛКА У ВІДДІЛЕННІ ІНТЕНСИВНОЇ ТЕРАПІЇ

*І. О. Анікін, Л. С. Стрижак*

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет  
(м. Запоріжжя, Україна)

### Резюме.

У дослідженні вивчали результати впливу підвищеної дотації протеїнів та L-карнітину в програмі харчування доношених новонароджених із захворюваннями перинатального періоду на покращення результатів фізичного розвитку, зміни складу тіла та на показники лікування у стаціонарі.

**Мета** – оцінити вплив короткотривалого підвищеного споживання білка доношеними новонародженими та дотації L-карнітину на формування складу тіла та основні показники фізичного розвитку дітей.

Матеріал і методи дослідження. Для перевірки запропонованої гіпотези харчування новонароджених досліджено показники життя 59 доношених дітей, яких рандомізовано на дві групи. Перша група (n = 30) отримувала стандартне харчування молоком матері (СХ) або формулою, друга група (n = 29) отримувала фортифікований білковою добавкою харчовий продукт (ГЗ) та дотацію L-карнітину протягом перебування у лікарні. На початку і в кінці лікування вивчали фізичний розвиток дітей та склад тіла за допомогою біоелектричного імпедансу.

**Протокол дослідження** узгоджено та схвалено регіональною Комісією з питань біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Дослідження виконано із дотриманням морально-етичних норм згідно правил IGH/GCP, Гельсінської декларації (1964 з доповненнями 1975, 1983, 1989, 1996, 2000 р.р.), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицини та законодавства України. Інформована письмова згода була отримана від батьків пацієнтів перед початком дослідження.

Всі статистичні аналізи проводилися з використанням програмного забезпечення Statistica 13.0, TIBCO Software Inc. (№ ліцензії JPZ804I382130ARCN10-J) та Microsoft Excel 2013 (№ ліцензії 00331-10000-00001-AA404). Визначення вірогідності різниці абсолютних значень середніх величин проводили, використовуючи непараметричні методи статистичного аналізу: критерій Манна – Вітні (U) для непов'язаних груп і критерій знаків Вілкоксона (T) для пов'язаних груп. Статистична значущість визначалася, як  $p < 0,05$ .

**Дослідження виконано** в рамках науково-дослідницької роботи кафедри анестезіології та інтенсивної терапії ДЗ «Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України» – «Оптимізація діагностики та інтенсивної терапії поліетиологічних уражень головного мозку, кишково-шлункового тракту, нирок у новонароджених та дітей старшого віку», № держреєстрації 0118U007142.

**Результати дослідження.** Немовлята обох груп мали рівнозначні характеристики маси, довжини та обводу голови на початку дослідження. Пропорції немовлят обох статей відповідали межах 50 %-го перцентилю. В цілому, запропонована стратегія харчування сприяла кращим показникам фізичного розвитку малюків та статистично вірогідним, більш швидким відновленням маси тіла в групі фортифікації. Так, узагальнений показник маси тіла дітей групи ГЗ склав  $3966,90 \pm 439,08$  г, порівняно з групою СХ  $3554,62 \pm 452,28$  г, при  $p = 0,0033$ . В цілому, діти, які споживали більше білка, раніше переводилися з відділення інтенсивної терапії – 10,00 (8,00; 12,00) днів проти 12,00 (11,00; 16,00) днів, при  $U = 235,00$ ;  $p = 0,0024$ ; раніше виписувались зі стаціонару – 21,00 (19,00; 27,00) днів проти 26,50 (22,00; 31,00) днів, при  $U = 267,00$ ,  $p = 0,0109$ . Дана стратегія виявилася безпечною, що підтверджено нормальними рівнями фенілаланіну та сечовини на всіх етапах обстеження дітей. Аналіз складу тіла у відсотках виявив зростання з формуванням більшої кількості сухої маси у малюків, які харчувалися звичайно, без білкової фортифікації та додавання карнітину. Так, відсоток FFM у дітей при стандартному харчуванні складав в фіналі 84,71(83,27;85,47) %, проти FFM 83,09 (81,93;83,96) % в групі ГЗ, при  $U = 117,00$ ;  $p = 0,0020$ . На показник загальної когорті впливали зміни складу тіла, виявлені серед осіб жіночої статі: в ГЗ відсоток склав 82,21 (81,55;83,10) % проти 84,71 (83,65;85,30) % в групі СХ, при  $U = 8,0$ ;  $p = 0,0051$ . Отже, підвищена дотація протеїну у доношених дівчат, навіть при короткотривалій дотації, супроводжувалась більшим накопиченням жирової маси.

**Висновки. Споживання** більшої кількості протеїну та дотація карнітину у доношених новонароджених, які перебували у відділенні інтенсивної терапії, сприяє кращому зростанню на тлі формування складу тіла з більшим вмістом жиру серед осіб жіночої статі, що є фактом обмеження застосування даної стратегії без більших, за кількістю спостережень, досліджень.

**Ключові слова:** склад тіла; гіпоксично-ішемічна енцефалопатія; новонароджений; діти; фізичний розвиток; біоелектричний імпеданс; грудне молоко.

**Contact Information:**

**Ivan Anikin** – Candidate of Medical Science, Docent, Associate Professor, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (Zaporizhzhia, Ukraine).

**e-mail:** anikin1974@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1125-0123>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/ABZ-8446-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57191345751>

**Liliya Stryzhak** – Assistant Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University (Zaporizhzhia, Ukraine).

**e-mail:** liliia\_stryzhak@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4204-2159>

**Контактна інформація:**

**Анікін Іван Олександрович** – кандидат медичних наук, доцент кафедри анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет (м. Запоріжжя, Україна).

**e-mail:** anikin1974@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1125-0123>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/ABZ-8446-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57191345751>

**Стрижак Лілія Сергіївна** – асистент кафедри анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет (м. Запоріжжя, Україна).

**e-mail:** liliia\_stryzhak@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4204-2159>



Received for editorial office on 12/08/2023  
Signed for printing on 10/10/2023

UDC: 618.33+615.5]-07-037:612.46-053.32

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.5

## PREDICTIVE FACTORS AND CLINICAL AND PARACLINICAL FEATURES OF URINARY TRACT DYSFUNCTION IN PRETERM INFANTS

*Yu. Hodovanets, A. Frunza*

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

### Summary

*Acute kidney injury is a multifactorial clinical pathological syndrome that falls within the critical conditions of the early neonatal period and independently associates with high rates of morbidity and mortality. The frequency of acute kidney injury in critically ill preterm infants varies significantly, ranging from 25 % to 77 % according to different studies. Numerous scientific investigations describe an inversely proportional correlation between gestational age and birth weight. Of particular importance in terms of pathophysiology is the understanding of the concept of 'functional acute kidney injury,' clinically characterized by a reduction in glomerular filtration rate in the absence of markers of tubular damage. Consequently, it represents potentially reversible changes in renal function, sensitive to both the duration and depth of the alterations, which precede the development of injury.*

**Aim of the study:** *To conduct an analysis of clinical characteristics, risk factors, and results of paraclinical examinations in preterm infants with gestational ages of 25-31 and 32-33 weeks, who exhibited signs of severe functional disturbances in the urinary system during the early neonatal period as part of complex perinatal pathology.*

**Materials and Methods:** *A comprehensive clinical and paraclinical examination was conducted on 93 preterm infants with severe perinatal pathology. Group I comprised 30 infants with gestational ages of 25-31 weeks, while Group II consisted of 32 infants with gestational ages of 32-33 weeks. Group III included 31 conditionally healthy preterm infants with gestational ages of 34-36 weeks.*

*Verification of the diagnosis of renal dysfunction was performed according to the recommended international classification 'Kidney Disease: Improving Global Outcomes' with the modification by J. G. Jetton and D. J. Askenazi (2015). The degree of severity of polyorgan deficiency in perinatal pathology in newborns was assessed using the Neonatal Multiple Organ Dysfunction Score. The effectiveness of therapeutic interventions was evaluated using the Neonatal Therapeutic Intervention Scoring scale. The severity of the newborns' condition during observation was assessed using the Score for Neonatal Acute Physiology scale.*

*The research was conducted in accordance with the fundamental principles of Good Clinical Practice (GCP, 1996), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997), the Helsinki Declaration of the World Medical Association on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), as well as the Ministry of Health of Ukraine Order No. 690 dated September 23, 2009 (amended by the Ministry of Health of Ukraine Order No. 523 dated July 12, 2012).*

*Statistical analysis of the obtained research results was performed using the software packages «Statistica 10» (StatSoft Inc., USA, 2010) and MedCalc Software (Version 16.1), with calculations including the odds ratio excess coefficient (Chi-squared), odds ratio (OR), and 95 % confidence interval (CI). Statistically significant differences between groups were considered at a significance level of  $p < 0.005$ .*

*The dissertation work was conducted within the scientific focus of the Department of Pediatrics, Neonatology, and Perinatal Medicine at Bukovinian State Medical University. The research themes included: a research project on 'Improvement of Prognostic, Diagnostic, and Therapeutic Approaches to Perinatal Pathology in Newborns and Infants, Optimization of Follow-up and Rehabilitation Schemes' (State registration number 0115U002768, duration from 01.2015 to 12.2019); and a research project on 'Chronobiological and Adaptive Aspects, as well as Features of Vegetative Regulation in Pathological Conditions in Children of Different Age Groups' (State registration number 0122U002245, duration from 01.2020 to 12.2024).*

**Research Results:** *The obtained results demonstrated statistically significant associations between the severity of perinatal pathology in preterm infants and the depth of dysfunction in the urinary system, as well as a complex set of factors complicating the course of pregnancy and childbirth in mothers, thereby influencing the postnatal adaptation of the child. Among the reasons for complicated pregnancies, notable factors included anemia, cardiovascular and urinary system pathology, TORCH infections, isthmocervical insufficiency, disturbances in fetal-placental blood flow, the threat of spontaneous abortion, and premature labor. Anomalies such as abnormal fetal presentation, fetal distress, premature rupture of membranes, and urgent cesarean section were more likely to occur in women in this group. The course of perinatal pathology in newborns with gestational ages less than 33 weeks at birth was predominantly severe, with some children diagnosed with multiple organ dysfunction syndrome, one manifestation of which was acute kidney injury. Changes in the indicators of general and biochemical blood analysis in newborns reflected low compensatory reserves of the neonatal organism in the context of experienced hypoxia and morpho-functional immaturity associated with premature birth.*

**Conclusions:** *The formation of renal dysfunction in preterm infants in the early neonatal period has a complex polyetiologic nature associated with a set of adverse factors during pregnancy and childbirth in mothers. Critically ill newborns represent a primary and challenging pediatric cohort in which this pathological syndrome is linked to high neonatal mortality rates and the development of functional and chronic pathology of the urinary system in later years, justifying the need for in-depth scientific research to consolidate perspectives on providing medical care to preterm infants.*

**Key words:** *Preterm Infants; Renal Dysfunction; Risk Factors; Clinical Features; Laboratory Diagnostic Criteria.*

### Introduction

One of the threatening pathological conditions contributing to a high incidence and mortality rate in perinatal pathology among preterm infants (PTIs) is acute kidney injury (AKI), with a frequency ranging from 25 to

56 % within this infant cohort [1-3]. Various studies have demonstrated that the epidemiology of renal dysfunction in children has significantly evolved over the past few decades. Scientific data on kidney diseases exhibit extraordinary variability, primarily due to differences in criteria used to



define the condition, the absence of a unified approach to diagnosis, and the nonspecific clinical manifestations [4-6].

According to Charlton D. R.'s literature, the frequency of early neonatal acute kidney injury (AKI) (within the first 7 days of life) varies, taking into account different gestational age (GA) cohorts: 22-28 weeks – 28 % of cases, 29-35 weeks – 14 % of cases, and  $\geq 36$  weeks – 27 % of cases. The average number of days from birth to the first episode of renal dysfunction is typically  $2.8 \pm 1.8$  days. Early manifestations of AKI are independently associated with higher mortality and longer hospitalization compared to infants without kidney disorders [7]. Askenazi D. J.'s study (2020) describes the frequency distribution of AKI among children of different GAs as follows: 43 % in newborns with GA < 29 weeks, 18 % in children with GA between 29 and 36 weeks, and 37 % in infants with GA > 36 weeks. Analyzing the scientific literature reveals some discrepancies in the frequency of pathology among newborn groups of different gestational ages. Numerous studies note a reverse correlation between GA, body weight, and the frequency of AKI during the early neonatal period [8-10].

According to the literature, functional impairments of the urinary system in preterm infants (PTIs) have a multifactorial etiology closely associated with gestational age and low birth weight, often coexisting with clinical signs of respiratory distress syndrome (RDS), arterial hypotension, and birth asphyxia [11,12]. The administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, diuretics, anticonvulsant, and inotropic drugs has an adverse impact on the development of renal functions in PTIs [11-13].

In recent years, numerous scientific discussions have been ongoing regarding the well-known marker of kidney dysfunction – plasma creatinine level (SCr). It is noted that an elevation in plasma creatinine levels, as well as a decrease in diuresis, are only late consequences of kidney damage, not indicators of acute injury. Therefore, active research is underway to identify new biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury (AKI). Additionally, various measurement techniques, specific medications, and the presence of hyperbilirubinemia can distort the actual values of SCr levels in the first few days of a newborn's life [14,15]. Leading researchers in the field of neonatal nephrology are focused on studying novel biomarkers of tubular and glomerular kidney damage, which have demonstrated high diagnostic and prognostic value, including plasma cystatin C (Cys-C), urinary fractions of alpha-1-microglobulin ( $\alpha 1$ -MG), beta-2-microglobulin ( $\beta 2$ -MG), and microalbumin (MA) [16-19].

In our opinion, there is a need for scientific research to deepen the understanding of potential pathogenetic mechanisms underlying the development of functional impairments in the urinary system in newborns, taking into account the severity of perinatal pathology and gestational age at birth, particularly in preterm infants.

**Research Aim:** to conduct an analysis of clinical characteristics, risk factors, and results of paraclinical examinations in preterm infants with gestational ages of 25-31 and 32-33 weeks, who presented severe perinatal pathology and exhibited signs of functional impairments in the urinary system during the early neonatal period.

The study presents a comprehensive analysis of data from exchange cards of pregnant women (Form № 113/o), labor histories (Form № 096/o), and newborn development histories (Form № 112/o) for 93 preterm neonates (PTN) receiving treatment at the Neonatal Intensive Care Unit (NICU) of the Municipal Clinical Maternity Hospital No. 2, Chernivtsi, during the period from 2017 to 2021.

Observation groups were formed considering gestational age (GA) at birth and the presence or absence of severe perinatal pathology signs. Accordingly, Group I comprised 30 newborns with GA of 25-31 weeks, Group II included 32 infants with GA of 32-33 weeks, and Group III consisted of 31 infants with GA of 34-36 weeks. The examination results of Group III served as a basis for comparing the clinical and laboratory indicators of the newborns in the main study groups.

The analysis involved reviewing and synthesizing information from prenatal, labor, and neonatal records to extract relevant clinical and paraclinical data. Statistical processing was performed using the «Statistica 10» software (StatSoft Inc., USA) and MedCalc Software (Version 16.1), employing Chi-squared test, Odds ratio (OR), and 95 % Confidence Interval (CI) calculations. Statistical significance was considered at  $p < 0.005$ .

The study adhered to the principles of Good Clinical Practice (1996), the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997), the Helsinki Declaration of the World Medical Association on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), and Ukrainian Ministry of Health Order No. 690 dated September 23, 2009, with subsequent amendments according to Order No. 523 dated July 12, 2012. The research was conducted within the scientific themes of the Department of Pediatrics, Neonatology, and Perinatal Medicine at Bukovinian State Medical University.

**Inclusion Criteria:** Children born with a gestational age between 25-36 weeks and a weight  $\geq 500$  g and < 2500 g were eligible for inclusion. Parental informed consent for participation in the clinical study was required. **Exclusion Criteria:** Children with a weight < 500 g or  $\geq 2500$  g, gestational age < 25 weeks or  $\geq 37$  weeks, lack of informed parental consent for participation in the clinical study, congenital developmental defects, and early neonatal sepsis were excluded from the study.

The severity of multiple organ dysfunction in newborns with perinatal pathology was assessed using the Neonatal Multiple Organ Dysfunction Score (NEOMOD, 2001) [18]. According to recommended criteria, the newborn's condition was scored (10 and > points indicated severe organ failure, 7-10 points indicated moderate, and < 7 points indicated mild). The condition of newborns in Groups I and II was considered very severe with a NEOMOD score exceeding 7 points.

The effectiveness of therapeutic interventions was evaluated using the Neonatal Therapeutic Intervention Scoring (NTISS) scale [19]. The severity of the newborns' condition over time was assessed using the Score for Neonatal Acute Physiology (SNAPPE II) scale, followed by the calculation of the predicted risk of in-hospital mortality [20].

The degree of renal dysfunction severity was determined using the classification developed by the Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) International Expert

Group, as modified by J. G. Jetton and D. J. Askenazi [21]. This classification is based on an increase in plasma creatinine levels of more than 26.5  $\mu\text{mol/L}$  (with two consecutive measurements within 48 hours) and/or an hourly urine output of less than 0.5 ml/kg/hour over 6 hours.

The research was conducted in accordance with the fundamental principles of Good Clinical Practice (GCP) from 1996, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997), the Helsinki Declaration of the World Medical Association on ethical principles for conducting medical research involving human subjects (1964-2008), and the Ukrainian Ministry of Health Order No. 690 dated September 23, 2009 (with amendments according to the Ministry of Health of Ukraine Order No. 523 dated July 12, 2012).

Statistical processing of the study results was performed on a PC using the Statistica 10 software package (StatSoft Inc., USA, 2010) and Microsoft Excel (2010), Microsoft Office (2010), and MedCalc software (version 16.1). Differences between relative values were determined and analyzed using the Fisher's signed rank test. Statistical values were calculated by analyzing the following indicators: standard deviation (S), standard error (m), arithmetic mean of the sample (M), using the Shapiro-Wilk test (normal distribution with sample size greater than 30,  $p < 0.05$ ) and the Kolgomorov-Smirnov test.

Assessment of differences in qualitative characteristics between study groups was performed using MedCalc software (Statistical software package for biomedical research, 2023) with calculation of the coefficient of variation (Chi-squared), odds ratio (OR), 95 % confidence interval (95 % CI). Statistically significant differences between groups were considered at  $p < 0.05$ .

The dissertation work was conducted within the scientific focus of the Department of Pediatrics, Neonatology, and Perinatal Medicine at Bukovinian State Medical University. The research themes included: a research project on 'Improvement of Prognostic, Diagnostic, and Therapeutic Approaches to Perinatal Pathology in Newborns and Infants, Optimization of Follow-up and Rehabilitation Schemes' (State registration number 0115U002768, duration from 01.2015 to 12.2019); and a research project on 'Chronobiological and Adaptive Aspects, as well as Features of Vegetative Regulation in Pathological Conditions in Children of Different Age Groups' (State registration number 0122U002245, duration from 01.2020 to 12.2024).

**Results and discussion.** According to the assessment of anthropometric indicators in the observed groups at birth, the average body weight was  $1105.66 \pm 128.53$  g in Group I (95 % CI 1188.70-1313.97,  $p < 0.0001$ ),  $1547.83 \pm 141.48$  g in Group II (95 % CI 743.92-874.41,  $p < 0.0001$ ), significantly lower compared to the comparison group –  $2357.00 \pm 115.78$  g. The body length was accordingly  $35.36 \pm 1.05$  cm (95 % CI 10.37-11.30,  $p < 0.0001$ ) in Group I,  $35.96 \pm 1.24$  cm (95 % CI 9.71-10.76,  $p < 0.0001$ ) in Group II, and  $46.20 \pm 0.76$  cm in the comparison group. Newborns in the study groups were gender-representative, with a predominance of males in both groups (Group I – 20 boys (66.60 %, CI 10.40; 95 % CI 3.06-35.28,  $p = 0.0002$ ), Group II – 24 boys (75.00 %, CI

20.80; 95 % CI 5.61-77.09,  $p < 0.0001$ )), compared to the comparison group (5 boys, 16.10 %).

According to the KDIGO diagnostic criteria [21], severe renal dysfunction associated with perinatal pathology was diagnosed in 16 children (53.33 %) in Group I, including 4 cases (13.33 %) based on combined criteria (decreased hourly diuresis and pathological increase in plasma creatinine level), 4 cases (13.33 %) based on an increase in plasma creatinine level only, and 8 cases (26.66 %) based on a decrease in hourly diuresis. Among the newborns in group II, this pathology was diagnosed in 11 children (34.38 %), including 3 cases (9.37 %) based on two criteria (hourly diuresis level and pathological increase in plasma creatinine), 4 cases (12.48 %) based on increased plasma creatinine, and 4 cases (12.48 %) where the diagnosis was made because of a decrease in hourly diuresis.

Analysis of medical history, spectrum of extragenital and gynecological pathology in mothers of newborns in the observation groups, as well as features of pregnancy and childbirth, allowed us to identify the main perinatal risk factors for functional disorders of the urinary system in preterm newborns, which are presented in Table 1.

• Summarizing the obtained statistical data, it should be noted that the following factors contribute to the risk of developing renal dysfunction in IPV in perinatal pathology:

- Maternal somatic and obstetric-gynecological history:
  - maternal age (group I OR 22.94, 95 % CI 2.75-109.97,  $p = 0.0038$ ; group II OR 13.63, 95 % CI 1.62-114.52,  $p = 0.0161$ )
  - Maternal anemia grade II-III (group I, OR 12.68, 95 % CI 1.51-109.27,  $p = 0.0019$ ),
  - cardiovascular diseases (group I, OR 58.00, 95 % CI 10.71-314.09,  $p < 0.0001$ ; group II, BMI 21.19, 95 % CI 4.29-104.67,  $p = 0.0002$ ),
  - Urinary tract diseases (Group I OR 98.57, 95 % CI 1.31-858.66,  $p < 0.0001$ ; Group II OR 34.00, 95 % CI 4.12-280.41,  $p = 0.0011$ )
  - TORCH infections (group I OR 15.00, 95 % CI 1.77-126.48,  $p = 0.0128$ ),
  - induced and spontaneous abortions, stillbirths, and history of children under one year of age (group I, OR 20.00, 95 % CI 2.39-166.96,  $p = 0.0057$ ),
- -Pregnancy and delivery characteristics:
  - Risk of spontaneous abortion and preterm delivery (group I, HR 12.85, 95 % CI 2.55-62.99,  $p = 0.0193$ )
  - Impaired fetal-placental blood flow (group I, OR 34.28, 95 % CI 4.12-284.94,  $p = 0.0011$ ; group II, OR 11.73, 95 % CI 1.38-99.40,  $p = 0.00238$ )
  - Abnormal fetal presentation (group I, OR 12.85, 95 % CI 1.51-109.27,  $p = 0.0193$ )
  - fetal distress (group I, OR 29.00, 95 % CI 5.73-146.77,  $p < 0.0001$ ; group II, OR 11.27, 95 % CI 2.29-55.52,  $p = 0.0029$ ),
  - cervical incompetence (group I, OR 17.36, 95 % CI 2.07-145.61,  $p = 0.0085$ ),
  - Premature rupture of membranes (group I OR 15.00, 95 % CI 1.77-126.48,  $p = 0.128$ ; group II OR 12.85, 95 % CI 1.51-109.27,  $p = 0.0193$ ),
  - Urgent cesarean section (group I OR 29.00, 95 % CI 5.73-146.77,  $p < 0.0001$ ; group II OR 7.70, 95 % CI 1.63-66.25,  $p = 0.0098$ )

Table 1

**Anamnesis data, spectrum of extragenital and obstetric and gynecological pathology in mothers of newborns in the observation groups, n (%)**

| Indicators   | Group I (n=30) | Group II (n=32) | Group III (n=31) |
|--|----------------|-----------------|------------------|
| First pregnancy  | 10 (33,30)     | 10 (31,25)      | 7 (22,54)        |
| Repeated pregnancy   | 20 (66,70)     | 22 (68,75)      | 24 (77,46)       |
| The first birth  | 10 (33,30)     | 13 (40,62)      | 9 (28,98)        |
| Repeated birth   | 20 (66,70)     | 19 (59,38)      | 22 (71,02)       |
| Urban residents  | 18 (59,94)     | 17 (53,12)      | 9 (28,98)        |
| Rural residents  | 12 (40,06)     | 15 (46,88)      | 22 (71,02)       |
| Natural childbirth   | 10 (33,30)     | 10 (31,25)      | 22 (73,26)       |
| Emergency cesarean section   | 20 (66,70)*    | 17 (53,12)*     | 2 (6,44)         |
| Planned cesarean section   | -              | 5(15,62)        | 7(22,54)         |
| <b>Extragenital pathology</b>  |                |                 |                  |
| Cardiovascular Diseases  | 24 (79,92)*    | 19 (59,37)*     | 2 (6,44)         |
| Diseases of the urinary system   | 23 (76,59)*    | 17 (53,12)*     | 1 (3,22)         |
| Respiratory diseases   | 6 (19,38)      | 4 (12,50)       | -                |
| Diseases of the gastrointestinal tract   | 9 (29,97)      | 8 (25,00)       | -                |
| Diseases of the endocrine system   | 11 (36,63)     | 9 (28,12)       | 1 (3,22)         |
| Acute viral infections during pregnancy  | 8 (26,64)      | 5 (15,60)       | 1 (3,22)         |
| An old firstborn   | 13 (43,29)*    | 10 (31,25)*     | 1 (3,22)         |
| A young firstborn  | 2 (6,66)       | 2 (6,25)        | -                |
| <b>Complicated obstetric history</b>   |                |                 |                  |
| Induced and spontaneous abortions, stillbirths, children who died before one year of age | 12 (40,06)*    | 4 (12,50)       | 1 (3,22)         |
| Infertility  | 7 (23,31)      | 4 (12,50)       | 1 (3,22)         |
| In vitro fertilization   | 6 (19,98)      | 3 (9,37)        | 1 (3,22)         |
| History of preterm labor   | 4 (3,33)       | 2 (6,25)        | 1 (3,22)         |
| <b>Gynecological Pathology</b>   |                |                 |                  |
| Vaginitis  | 9 (29,97)      | 6 (18,75)       | 1 (3,22)         |
| Infections of the TORCH group  | 10 (33,30)*    | 6 (18,75)       | 1 (3,22)         |
| Abnormalities in the development of the uterus   | 5 (16,65)      | 5 (15,60)       | -                |
| Cervical Incompetence  | 11 (36,63)*    | 8 (25,00)       | 1 (3,22)         |
| <b>Course of Pregnancy</b>   |                |                 |                  |
| Risk of miscarriage, premature birth   | 9 (29,97)*     | 7 (21,87)       | 1 (3,22)         |
| Anemia of the II-III grade.  | 14 (46,62)*    | 9 (28,12)       | 2 (6,44)         |
| Feto-placental insufficiency with development of fetal retardation syndrome              | 16 (53,33)*    | 9 (28,12)*      | 1 (3,22)         |
| <b>Childbirth Complications</b>  |                |                 |                  |
| Fetal distress   | 20 (66,70)*    | 14 (43,75)*     | 2 (6,44)         |
| Prenatal death of one fetus out of twins   | 2 (6,66)       | 2 (6,25)        | -                |
| Premature rupture of the membranes   | 10 (33,30)*    | 9 (28,12)       | 1 (3,22)         |
| Premature detachment of a normally positioned placenta                                   | 7 (23,31)      | 5 (15,60)       | 1 (3,22)         |
| Uterine bleeding   | 6 (19,98)      | 3 (9,37)        | -                |
| Abnormal fetal presentation  | 9 (29,97)*     | 4 (12,50)       | 1 (3,22)         |

\* – significant difference compared to the control,  $p < 0.05$

The obtained data coincide with the results of recent studies on the prognosis of the development of disorders of the functional state of the urinary system in newborns [7-10].

Analyzing the peculiarities of the course of perinatal pathology in children of the study groups, it should be noted that postnatal adaptation disorders were caused by typical conditions characteristic of premature birth. In particular, in all 30 cases children of group I (100 %) had severe respiratory disorders (RD) (6 and > points on the Downes scale); the average duration of stay on artificial lung ventilation (ALV) was  $7.60 \pm 3.52$  days. Neurological

symptoms were represented by severe hypoxic-ischemic damage (HI) of the central nervous system (100 %), all children had depression syndrome; 4 newborns (13.32 %) had signs of intraventricular hemorrhage (IVH) of the first degree, in 4 children (13.32 %) – signs of IVH II, in 2 children (6.66 %) – signs of IVH III-IV; in 4 children (13.32 %) – periventricular leukomalacia (PVL) was diagnosed.

Clinical signs of cerebral edema were detected in 4 newborns (13.32 %), cerebral coma was diagnosed in 4 children (13.32 %), and 8 newborns (26.64 %) had clinical signs of convulsive syndrome. It should

be noted that all children of this group had clinical manifestations of multiple organ failure syndrome (MOFS) in the dynamics of observation. In particular, in 30 cases (100 %) there were lesions of CNS and RS, in 9 cases (29.97 %) – lesions of cardiovascular system (CVS), in 7 cases (23.31 %) – anemic syndrome, in 9 cases (29.97 %) – hemorrhagic syndrome, in 8 cases (26.64 %) – phenomena of disseminated intravascular coagulation (DIC). 18 newborns of group I (59.94 %) had signs of gastrointestinal tract (GIT) disorders, including decreased food tolerance, and 6 children (19.98 %) had complete intolerance to enteral feeding. Nonspecific enterocolitis (NEC) of the first degree was diagnosed in 6 newborns (19.98 %) and NEC of the second degree in 2 newborns (6.66 %). 9 children (29.97 %) of this group had signs of neonatal jaundice in the first week of life. Among the newborns of this group, 11 children (36.63 %) had low birth weight, 2 children (6.66 %) were small for gestational age.

The condition of all newborns of group I from the moment of birth and during the treatment in the NICU remained serious and did not show significant positive dynamics. The duration of stay in the NICU was 8.46±3.29 days, after which the children were transferred to further stages of treatment.

The neonates of group II had clinical manifestations of severe respiratory distress immediately after birth in 18 cases (44.0 %), moderate respiratory distress in 11 cases (40.0 %), and mild respiratory distress in 3 cases (16.0 %), the severity of which increased during the first day of life. The mean duration of stay on ALV in neonates was 7.60±3.52 days. In 17 cases (53.12 %) clinical signs of CNS HI with dominance of depression syndrome were noted, in 5 cases (15.62 %) clinical signs of neonatal encephalopathy were noted, in 4 newborns (12.50 %) grade I IVH was diagnosed, in 3 newborns (9.37 %) – grade II IVH, in 2 infants (6.25 %) grade III-IV CHD was diagnosed, in 1 infant (3.12 %) PVL was diagnosed. 2 infants (6.25 %) had clinical signs of cerebral edema, 1 infant (3.12 %) was diagnosed with cerebral coma, and 5 infants (15.62 %) had clinical signs of convulsive syndrome.

Clinical manifestations of POF syndrome were diagnosed in 9 children (28.12 %) of group II, with CNS and RS lesions in all cases; 3 infants (9.37 %) were diagnosed with CVS lesions, 1 case (3.12 %) – anemic and hemorrhagic syndrome; 4 children (12.48 %) had manifestations of DIC syndrome. In 8 newborns of this group (25.00 %) there were signs of gastrointestinal damage manifested by decrease in food tolerance, 2 children (6.25 %) had complete intolerance to enteral nutrition. In 2 children of this group (6.25 %) NEC I was diagnosed. There were signs of neonatal jaundice in 5 newborns (15.62 %). 9 children (28.12 %) of group II were born with low birth weight, 2 children (6.25 %) were born small for gestational age. The condition of 18 children (44.0 %) of this group was severe at birth, 14 children (56.0 %) had deterioration to severe during the first day of life and remained so throughout the period of treatment in the NICU. The average length of stay in the NICU of group II was 6.33±1.39 days, and the children continued treatment in the following stages of medical care.

The comparison group (group III) consisted of 31 conditionally healthy preterm infants with GA at 34-36/6 weeks. The average Apgar score at the end of the first minute of life was 6.83±0.37 points, at the end of the fifth minute – 7.83±0.37 points. Accordingly, all children had a satisfactory condition at birth and a favorable course of the early neonatal period in terms of postnatal adaptation. The number of hospital bed days was 3.96±0.31 days.

The hematopoietic system plays an important role in providing compensatory and adaptive mechanisms in conditions of premature birth, having certain characteristics in conditions of morphological and functional immaturity of the organism [25, 26]. The analysis of the complete blood count (CBC) on the first day of life in premature infants of the observation groups showed that the average values of most indicators differ between groups of newborns and have a clear correlation with the general condition and GA, respectively. The mean values of hematological parameters on the first day of life in children of the observation groups in comparison with the control indicators are shown in Table 2.

Table 2

Mean values of hematological parameters in preterm infants of the observation groups on day 1 of life (M±m)

| Index                   | Group I (n=30) | Group II (n=32) | Group III (n=31) |
|-------------------------|----------------|-----------------|------------------|
| Red blood cells (t/L)   | 4,59±0,23*     | 4,86±0,19**     | 5,09±0,22        |
| Hemoglobin (g/L)        | 168,23±7,41*   | 172,14±8,73*    | 198,25±6,28      |
| Hematocrit (%)          | 50,07±2,05*    | 52,75±2,61**    | 55,69±2,60       |
| Thrombocytes (g/L)      | 205,93±9,8*    | 204,25±9,83*    | 246,12±6,26      |
| White blood cells (g/L) | 17,07±0,77*    | 16,86±0,78*     | 11,31±0,52       |
| Rod nucleation (%)      | 10,76±0,51*    | 10,50±0,56*     | 7,12±0,34        |
| Segmented (%)           | 49,66±2,24*    | 48,06±2,34*     | 57,38±2,69       |
| Eosinophils (%)         | 1,60±0,72*     | 1,93±0,84       | 1,9±0,14         |
| Lymphocytes (%)         | 36,40±1,37*    | 36,43±1,81*     | 32,58±1,40       |
| Monocytes (%)           | 1,46±0,62*     | 2,00±0,87       | 2,12±0,34        |

Note: \* – significant difference compared to the control,  $p < 0.05$ ; \*\* – significant difference between the observation subgroups,  $p < 0.05$ .

Summarizing the data obtained, it should be noted that the indicators of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit and platelets were inversely correlated with the GW of

newborns and had statistically significantly lower values compared to control values ( $p < 0.0001$ ), probably indicating a weak adaptive response to the combined effect of intra-

and postnatal adverse factors against the background of severe combined somatic dysfunction, and also due to the suppression of hematopoietic activation under the conditions of hypoxia in MFD [25, 26]. Levels of leukocytes, especially polymorphonuclear neutrophils (PMN), were statistically significantly higher, which is characteristic of lower GA compared to controls ( $p < 0.0001$ ). A statistically significant

lower level of eosinophils and monocytes was observed in children of group I compared to controls ( $p < 0.0001$ ), and the opposite was observed in the absolute level of lymphocytes – the indicators in children of groups I and II were higher compared to controls ( $p < 0.0001$ ).

The results of the analysis of the biochemical spectrum of blood serum in the study groups are shown in Table 3.

Table 3

**Indicators of the biochemical spectrum of blood in preterm infants in the observation groups (M±m)**

| Index                      | Group I (n=30) | Group II (n=32) | Group III (n=31) |
|----------------------------|----------------|-----------------|------------------|
| Total protein, g/L         | 50,44±2,60*    | 52,48±2,58**    | 55,20±2,34       |
| Urea, mmol/L               | 3,85±0,16*     | 3,84±0,21*      | 3,45±0,17        |
| Total bilirubin, μmol/L    | 131,92±6,5*    | 119,16±5,86**   | 79,94±3,98       |
| Indirect bilirubin, μmol/L | 129,59±4,7*    | 117,18±5,84**   | 79,94±3,98       |
| Direct bilirubin, μmol/L   | 2,33±0,11*     | 1,98±0,10"      | -                |
| Glucose, μmol/L            | 2,41±0,12*     | 2,51±0,11**     | 3,34±0,15        |
| Creatinine, μmol/L         | 79,93±3,89*    | 75,96±3,37**    | 60,32±2,63       |
| ALT, U/L                   | 17,22±0,84*    | 15,66±0,75**    | 10,26±0,44       |
| ACT, U/L                   | 48,00±2,33*    | 47,73±2,09*     | 38,41±1,76       |
| Sodium, mmol/L             | 134,49±4,34*   | 136,89±6,02     | 140,49±4,12      |
| Potassium, mmol/L          | 4,98±0,22*     | 5,25±0,19**     | 5,43±0,25        |
| Calcium, mmol/L            | 1,33±0,07*     | 1,36±0,07*      | 2,28±0,10        |
| Chlorides, mmol/L          | 103,50±4,09*   | 104,79±2,82*    | 109,99±4,23      |

Note: \* – significant difference compared to the control,  $p < 0.05$ ; " – significant difference between the observation subgroups,  $p < 0.05$ .

The analysis of serum parameters allowed us to establish statistically significant associations between neonatal GA and the overall severity of the condition. With lower GA in children and severe perinatal pathology, a decrease in the level of total protein was noted, which can be explained by the complex effect of the depth of morphological and functional immaturity on protein metabolism and slowing down of anabolic processes [27], especially in newborns of groups I and II compared with the control ( $p < 0.0001$ ), as well as when comparing groups among themselves – between the indicators of group I and group II ( $p = 0.0029$ ). The analysis of average serum urea values showed a statistically significant inverse relationship between GA and plasma urea levels, which is probably due to a pronounced impairment of nitrogen metabolism against the background of a slowing down of the excretory function of «immature» kidneys with subsequent retention of degradation products in the body [28]. A significant increase in urea levels was also found to be inversely related to GA and the severity of the neonatal condition, with statistically significant differences found in children compared to controls ( $p < 0.0001$ ), as well as between the indicators of children in groups I and II ( $p = 0.0390$ ). The same trends were found for total serum bilirubin – an increase in its level at lower GA in all groups compared to control ( $p < 0.0001$ ), as well as when comparing the mean values of observation groups I and II ( $p < 0.0001$ ). According to the study, all neonates, regardless of the observation group, had a stable tendency to hypoglycemia ( $p < 0.0001$ ).

The classic marker of glomerular filtration rate is serum creatinine. Although the relevance of this indicator for the verification of the diagnosis of AKI in premature infants

has been the subject of much debate in recent years, it is still the most widely used marker. Due to the morphologic and functional immaturity of the renal glomeruli and desynchronous nephrogenesis, an increase in creatinine levels can only be observed when 25-50 % of filtration capacity has already been lost. Preterm infants have higher values of this indicator compared to full-term infants and «late» preterm infants [29,30]. In the analysis of creatinine levels, it was found that the index was statistically higher in newborns of groups I and II compared to controls ( $p < 0.0001$ ), which mainly reflects the trend of postnatal evolution of renal function.

The study of the main indicators of electrolyte metabolism also showed certain trends in the difference of indicators, namely the presence of hyponatremia in newborns of group I in comparison with the control group ( $p < 0.0001$ ), hypokalemia in children of groups I and II ( $p < 0.0001$ ), hypocalcemia ( $p < 0.0001$ ) in newborns of groups I and II in comparison with the control group. Disturbances of calcium metabolism in the body in conditions of preterm birth (decreased intestinal reabsorption, increased urinary losses, etc.) indicate a redistribution of the concentration of free calcium ions with subsequent increase of lipid peroxidation (LPO) as a result of cell apoptosis on the background of moderate to severe hypoxic damage. [31,32] Serum chloride levels reflected the general trends of electrolyte imbalance in correlation with GA and were lower in neonates of groups I and II compared to controls ( $p < 0.0001$ ).

Thus, the formation of disorders of the functional state of the urinary system in critically ill IPH has a multifactorial etiology due to the combined adverse effects of prenatal and perinatal factors on the body of a pregnant woman and

the fetus, and the development of severe, often combined perinatal pathology in the child after birth. The adaptation of premature newborns to the conditions of extrauterine existence occurs at a certain level of morphological and functional immaturity of the body, which is a trigger factor for the formation of organ and systemic disorders under hypoxia, which requires appropriate understanding and medical tactics in the implementation of intensive care measures in the early neonatal period.

## Conclusions

1. The development of disorders of the functional state of the urinary system, including acute kidney injury in premature infants is statistically significantly associated with a burdened background of somatic and obstetric and gynecological pathology in the mother, which requires the attention of neonatologists to predict possible renal dysfunction to develop an appropriate plan for diagnosis and treatment of newborns.

2. The course of neonatal diseases in children with gestational age of 25-31 weeks and 32-33 weeks is characterized by a combination of simultaneous disorders of 2 or more organ systems in the clinical picture, which

causes certain difficulties in differential diagnosis of somatic dysfunction.

3. A detailed analysis of the recommended laboratory parameters of general and biochemical blood counts allows us to draw conclusions about the disorders of compensatory and adaptive mechanisms in premature infants under conditions of hypoxia in perinatal pathology, reflecting the nature of postnatal adaptation and body reserves, which is important for the formation of an optimal intervention strategy in the treatment of prenatal pathology.

**Prospects for further research.** Significant variability of scientific data makes it expedient to study the prevalence, risk factors and possible etiopathogenetic mechanisms of development of disorders of the functional state of the urinary system in preterm infants, which will improve the quality of medical care of this cohort of newborns.

**Conflicts of interest.** There are no actual or potential conflicts of interest related to this publication.

**Funding sources.** The article was published without financial support.

## References:

1. Yablon OS, Savrun TI, Bertsun KT, Serheta DP, Shovkoplias NA. Suchasni problemy neonatalnoi nefrolohii. [Modern problems of neonatal nephrology], Neonatolohiia, khirurgiia ta perynatalna medytsyna.2014;3:45-9. (in Ukraine)  
doi: <https://doi.org/10.24061/2413-4260.IV.3.13.2014.8>
2. Savrun T., Kocherha Z., Chekotun TV, Bykovska OA, Kyslov YO. Doslidzhennia hostroho urazhennia nyrok u peredchasno narodzhennykh novonarodzhennykh, yaki zaznaly vplyvu perynatalnoi hipoksii.[Study of acute kidney injury in premature neonates exposed to perinatal hypoxia]. 2017; 4(62): 71-76. (in Ukraine)  
doi: <https://doi.org/10.26724/2079-8334-2017-4-62-71-76>
3. Frunza AV. Hostre poshkodzhennia nyrok u peredchasno narodzhennykh ditei: perynatalni chynnyky ryzyku. [Acute kidney injury in premature infants: perinatal risk factors.] Neonatolohiia, khirurgiia ta perynatalna medytsyna. 2019;2 (32):45-52. (in Ukraine)  
doi: <https://doi.org/10.24061/2413-4260.IX.2.32.2019.7>
4. Phrunza A, Hodovanets Y, Babintseva A, Kovtyuk N, Makarova O. Laboratory Diagnostic Criteria of Renal Impairment in Premature Newborns with Severe Perinatal Pathology. International Conference on Innovations in Science and Education. Proceeding of CBU in Medicine. 2021;1: 12-17. doi: <https://doi.org/10.12955/pmp.v1.91>
5. Charlton JR, Boohaker L, Askenazi D, Brophy PD, D'Angio C, Fuloria M. et al. Incidence and risk factors of early onset neonatal AKI. Clin J Am Soc Nephrol. 2019;14:184-95. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.03670318>
6. Sutherland SM, Ji J, Sheikhi FH, Widen E, Tian L, Alexander SR, Ling XB. AKI in hospitalized children: epidemiology and clinical associations in a national cohort. Clin J Am Soc Nephrol. 2018 Oct;8(10):1661-9. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.00270113>
7. Charlton JR, Boohaker L, Askenazi D, Brophy PD, D'Angio C, Fuloria M, Gien J, Griffin R, Hingorani S, Ingraham S, Mian A, Ohls RK, Rastogi S, Rhee CJ, Revenis M, Sarkar S, Smith A, Starr M, Kent AL. Neonatal Kidney Collaborative. Incidence and Risk Factors of Early Onset Neonatal AKI. Clin J Am Soc Nephrol. 2019;14(2):184-195. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.03670318>
8. Lee CC, Chan OW, Lai MY, Hsu KH, Wu TW, Lim WH, Wang YC, Lien R. Incidence and outcomes of acute kidney injury in extremely-low-birth-weight infants. PLoS One. 2017; 12(11): e0187764. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187764>
9. Askenazi, DJ, Koralkar R, Hundley HE, Montesanti A, Patil N, Ambalavanan N.Fluid overload and mortality are associated with acute kidney injury in sick near-term/term neonate. Pediatric nephrology. 2013; 28(4): 661-666. doi: <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2369-4>
10. Zappitelli M, Ambalavanan N, Askenazi DJ, Moxey-Mims MM, Kimmel PL, Star RA, Goldstein SL.Developing a neonatal acute kidney injury research definition: a report from the NIDDK neonatal AKI workshop. Pediatric research, 2017; 82(4): 569-573. doi: <https://doi.org/10.1038/pr.2017.136>
11. Garg PM, Britt AB, Ansari M, Sobisek S, Block DK, Paschal JL, Ojeda NB, Askenazi D, Sanderson KR.Severe acute kidney injury in neonates with necrotizing enterocolitis: risk factors and outcomes. Pediatric research. 2021; 90(3): 642-649. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01320-6>
12. Selewski DT, Charlton JR, Jetton JG, Guillet R., Mhanna MJ, Askenazi DJ, Kent AL. Neonatal acute kidney injury. Pediatrics. 2015; 136(2): e463-e473. doi: <https://doi.org/10.1542/peds.2014-3819>
13. Chang JW, Jeng MJ, Yang LY, Chen TJ, Chiang SC, Soong WJ, Wu KG, Lee YS, Wang HH, Yang CF, Tsai HL. The epidemiology and prognostic factors of mortality in critically ill children with acute kidney injury in Taiwan. Kidney Int. 2015; 87(3):632-639. doi: <https://doi.org/10.1038/ki.2014.299>
14. Carmody JB, Swanson JR, Rhone ET, Charlton JR. Recognition and reporting of AKI in very low birth weight infants. Clin J Am Soc Nephrol. 2014; 9(12):2036-43. a. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.05190514>
15. Askenazi, DJ, Ambalavanan N, Goldstein S L. Acute kidney injury in critically ill newborns: what do we know? What do we need to learn? Pediatric nephrology. 2009; 24(2): 265-274. doi: <https://doi.org/10.1007/s00467-008-1060-2>

16. Askenazi DJ, Koralkar R, Levitan EB, Goldstein SL, Devarajan P, Khandrika S, Mehta RL, Ambalavanan N. Baseline values of candidate urine acute kidney injury biomarkers vary by gestational age in premature infants. *Pediatr Res.* 2011; 70(3):302-6. doi: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3182275164>
17. Abdelaal NA, Shalaby SA, Khashana AK, Abdelwahab AM. Serum cystatin C as an earlier predictor of acute kidney injury than serum creatinine in preterm neonates with respiratory distress syndrome. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2017; 28(5):1003-1014. doi: <https://doi.org/10.4103/1319-2442.215148>
18. Batista Muñoz A, Hadley S, Iriando Sanz M, Agut Quijano T, Camprubí Camprubí M. Role of beta-2-microglobulin as a biomarker in very preterm and extremely preterm infants with CNS inflammation. *PLoS One.* 2019;14(5): e0216498. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216498>
19. Romantsik O, Agyemang AA, Sveinsdóttir S, Rutardóttir S, Holmqvist B, Cinthio M, Mörgelin M, Gumus G, Karlsson H, Hansson SR, Åkerström B, Ley D, Gram M. The heme and radical scavenger  $\alpha$ 1-microglobulin (A1M) confers early protection of the immature brain following preterm intraventricular hemorrhage. *J Neuroinflammation.* 2019;16(1):122. doi: <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1486-4>
20. Cetinkaya M, Köksal N, Özkan H. A new scoring system for evaluation of multiple organ dysfunction syndrome in premature infants. *American journal of critical care: an official publication, American Association of Critical-Care Nurses.* 2012; 21(5): 328-337. doi: <https://doi.org/10.4037/ajcc2012312>
21. Oygur N, Ongun H, Saka O. Risk prediction using a neonatal therapeutic intervention scoring system in VLBW and ELBW preterm infants. *Pediatr Int.* 2012; 54(4):496-500. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2012.03576.x>
22. Richardson DK, Corcoran JD, Escobar GJ, Lee SK. SNAP-II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *The Journal of pediatrics.* 2001; 138(1), 92-100. doi: <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.109608>
23. KDIGO AKI Work Group: KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl* 2012, 2:1-138. <https://kdigo.org/guidelines/acute-kidney-injury/>
24. Charlton JR, Boohaker L, Askenazi D, Brophy PD, D'Angio C, Fuloria M. et al. Incidence and risk factors of early onset neonatal AKI. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14:184-95. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.03670318>
25. Jiang J, Mao Y, Wu J, Zhou Q. Relationship between hematological parameters and bronchopulmonary dysplasia in premature infants. *J Int Med Res.* 2023; 51(7):3000605231187802. doi: <https://doi.org/10.1177/03000605231187802>
26. Kitaoka H, Shitara Y, Kashima K, Ochiai S, Chikai H, Watanabe K, Ida H, Kumagai T, Takahashi N. Risk factors for anemia of prematurity among 30-35-week preterm infants. *Fukushima J Med Sci.* 2023;69(2):115-123. doi: <https://doi.org/10.5387/fms.2022-21>
27. Yang C, Liu Z, Tian M, Xu P, Li B, Yang Q, Yang Y. Relationship Between Serum Albumin Levels and Infections in Newborn Late Preterm Infants. *Med Sci Monit.* 2016; 9(22):92-98. doi: <https://doi.org/10.12659/msm.895435>
28. Li X, Li T, Wang J, Dong G, Zhang M, Xu Z, Hu Y, Xie B, Yang J, Wang Y. Higher blood urea nitrogen level is independently linked with the presence and severity of neonatal sepsis. *Ann Med.* 2021; 53(1):2192-2198. doi: <https://doi.org/10.1080/07853890.2021.2004317>
29. Muhari-Stark E, Burckart GJ. Glomerular Filtration Rate Estimation Formulas for Pediatric and Neonatal Use. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2018;23(6):424-31. doi: <https://doi.org/10.5863/1551-6776-23.6.424>
30. Salem F, Johnson TN, Hodgkinson ABJ, Ogungbenro K, Rostami-Hodjegan A. Does «Birth» as an Event Impact Maturation Trajectory of Renal Clearance via Glomerular Filtration? Reexamining Data in Preterm and Full-Term Neonates by Avoiding the Creatinine Bias. *J Clin Pharmacol.* 2021;61(2):159-71. doi: <https://doi.org/10.1002/jcph.1725>
31. Kaji I. Dynamics of Intestinal Calcium Absorption in Neonates. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019;8(4):647-648. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.08.010>
32. Rodan AR. Intracellular chloride: a regulator of transepithelial transport in the distal nephron. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2019;28(4):360-367.

## ПРЕДИКТОРИ ТА КЛІНІКО-ПАРАКЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОРУШЕНЬ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СЕЧОВИДІЛЬНОЇ СИСТЕМИ У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ

*Ю. Д. Годованець, А. В. Фрунза*

**Буковинський державний медичний університет  
(м. Чернівці, Україна)**

### **Резюме.**

Гостре пошкодження нирок – мультифакторний клінічний патологічний синдром, що належить до критичних станів раннього неонатального періоду і незалежно асоціюється з високими показниками захворюваності та смертності. Частота гострого пошкодження нирок у критично хворих передчасно народжених дітей значно варіює і за різними даними новонароджених складає від 25 до 77 %. Численні наукові дослідження описують обернено пропорційну кореляцію між гестаційним віком та масою тіла при народженні. Важливим з погляду патофізіології є розуміння поняття «функціональне гостре пошкодження нирок», що клінічно характеризується зменшенням швидкості клубочкової фільтрації при відсутності маркерів тубулярного ураження та, відповідно характеризує потенційно оборотні, чутливі до часу та глибини зміни ниркових функцій, які лише передують розвитку пошкодження.

**Мета дослідження.** Провести аналіз даних клінічної характеристики, факторів ризику та результатів параклінічного обстеження у передчасно народжених дітей з гестаційним віком 25-31 та 32-33 тижнів, що мали в комплексі перинатальної патології важкого ступеню ознаки порушень функціонального стану сечовидільної системи впродовж раннього неонатального періоду.

**Матеріал та методи дослідження.** Проведено комплексне клініко-параклінічне обстеження 93 передчасно народжених дитини з важкою перинатальною патологією, з яких I групу склали 30 дітей з гестаційним віком 25-31 тижнів та II групу – 32 дитини з гестаційним віком 32-33 тижні; до III групи увійшли 31 умовно здорових передчасно народжених дітей з гестаційним віком 34-36 тижнів.

Верифікація діагнозу дисфункції нирок проводилась згідно рекомендованої міжнародної класифікації Kidney Disease: Improving Global Outcomes з модифікацією J. G. Jetton та D. J. Askenazi (2015). Для оцінки ступеню важкості поліорганної недостатності при перинатальній патології у новонароджених використано шкалу Neonatal Multiple Organ Dysfunction Score. Оцінку ефективності терапевтичних втручань проводили за допомогою шкали Neonatal Therapeutic Intervention Scoring. Оцінку важкості стану новонароджених в динаміці спостереження проводили за шкалою Score for Neonatal Acute Physiology.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень GCP (1996 рік), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 4 квітня 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2008 рр.), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 523 від 12.07.2012 р.).

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження проведено з використанням пакету програмного забезпечення «Statistica 10» (StatSoft Inc., США, 2010) та MedCalc Software (Version 16.1) з розрахунком відношення шансів коефіцієнту експесу (Chi-squared), коефіцієнту співвідношення шансів, 95 % довірчого інтервалу (95 % Confidence Interval). Статистично значимі відмінності між групами вважались при значенні  $p < 0,005$ .

Дисертаційна робота виконувалась в межах наукової тематики кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету: НДР на тему «Удосконалення напрямків прогнозування, діагностики і лікування перинатальної патології у новонароджених та дітей раннього віку, оптимізація схем катамнестичного спостереження та реабілітації» (Державний реєстраційний номер 0115U002768, термін виконання 01.2015 р. – 12.2019 р.); НДР на тему: «Хронобіологічні й адаптаційні аспекти та особливості вегетативної регуляції при патологічних станах у дітей різних вікових груп» (Державний реєстраційний номер 0122U002245, термін виконання 01.2020 р. – 12.2024 р.).

**Результати дослідження.** Отримані результати продемонстрували статистично значимі асоціації між важкістю перинатальної патології у передчасно народжених дітей та глибини дисфункції сечовидільної системи, а також, комплексом факторів, що ускладнювали перебіг вагітності та пологів у матері та, відповідно, постнатальну адаптацію дитини. Серед причин ускладненого перебігу вагітності відмічені анемія, патологія серцево-судинної та сечовидільної систем, істміко-цервікальна недостатність, порушення плодово-плацентарного кровотоку, загроза самовільного викидня та передчасних пологів. Вірогідно частіше у жінок даної групи відмічалися аномальне передлежання та дистрес плоду, передчасний розрив плідних оболонок, а також, ургентний кесарів розтин. Перебіг перинатальної патології в групах новонароджених з гестаційним віком менше 33 тижні при народженні був здебільшого важким, у тому числі, у деяких дітей було діагностовано синдром поліорганної невідповідності, одним з проявів якого було гостре пошкодження нирок. Зміни показників загального та біохімічного аналізу крові новонароджених відобразили низькі компенсаторні резерви організму новонароджених на тлі перенесеної гіпоксії та морфо-функціональної незрілості, що пов'язано з передчасним народженням.

**Висновки.** Формування ренальної дисфункції у передчасно народжених дітей в ранньому неонатальному періоді має складний поліетіологічний характер, асоційований з комплексом несприятливих факторів під час вагітності та пологів у матері. Критично хворі новонароджені є основною та найбільш складною педіатричною когортою, у яких даний патологічний синдром пов'язаний з високим рівнем смертності в неонатальному періоді та формуванням функціональної та хронічної патології сечовидільної системи у подальші роки життя, що обґрунтовують необхідність поглиблення наукових досліджень для узагальнення поглядів щодо надання медичної допомоги передчасно народженим дітям.

**Ключові слова:** передчасно народжені діти; реальна дисфункція; чинники ризику; клінічні особливості; критерії лабораторної діагностики.

#### Contact Information:

**Yuliya Godovanets** – PhD, Doctor of Medicine, Professor, Professor of Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatal Medicine, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**e-mail:** yul.godovanets@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-0922-8696>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/S-8224-2016>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205579303>

**Alina Frunza** – Postgraduate student, Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatal Medicine, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**e-mail:** frunzaalina@ukr.net

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-9178-5004>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/AAAY-1624-2021>

#### Контактна інформація:

**Годованець Юлія Дмитрівна** – доктор медичних наук, професор, професор кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**e-mail:** yul.godovanets@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-0922-8696>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/S-8224-2016>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205579303>

**Фрунза Аліна Владиславівна** – аспірант кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**e-mail:** frunzaalina@ukr.net

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-9178-5004>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/AAAY-1624-2021>



Received for editorial office on 23/07/2023

Signed for printing on 15/10/2023



УДК: 616.211-002-053.2-085  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.6

ВИВЧЕННЯ ЦИРКАДІАННОГО  
МОЛЕКУЛЯРНОГО ГОДИННИКА  
У ПЕДІАТРИЧНИХ ПАЦІЄНТІВ  
ІЗ СЕЗОННИМ АЛЕРГІЧНИМ РИНИТОМ:  
ПОТЕНЦІЙНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ

Т. О. Крючко, В. В. Щербак,  
Л. М. Бубир, О. В. Ізмайлова,  
О. Я. Ткаченко

Полтавський державний медичний університет  
(м. Полтава, Україна)

### Резюме

Розуміння взаємозв'язку між циркадіанним молекулярним годинником та алергічними захворюваннями продовжує вивчатися й може мати практичне значення для подальшого підбору оптимального лікування.

**Метою роботи** була оцінка ступеня експресії мРНК генів *bmal1* та *per1* циркадіанного молекулярного годинника в клітинах букального епітелію та вивчення ефективності протокольного лікування у дітей із сезонним алергічним ринітом в залежності від часу доби застосування терапії.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідження було включено 20 пацієнтів віком від 6 до 17 років з верифікованим діагнозом сезонного алергічного риніту (САР). До групи контролю були залучені 7 здорових дітей відповідного віку без будь-яких алергічних та хронічних захворювань в анамнезі. Всі пацієнти з САР були розподілені на 2 групи по 10 чоловік, які отримували протокольну терапію протягом 4 тижнів зранку (1-ша група) та ввечері (2-га група). Експресію генів циркадіанного молекулярного годинника досліджували за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу шляхом забору букального епітелію ротової порожнини дітей у ранковий (8:00) та вечірній (20:00) час з повторним дослідженням зразків через 1 місяць після проведеного лікування.

Дизайн дослідження був обговорений та схвалений на засіданні медико-етичної комісії Української медичної стоматологічної академії, протокол № 188 від 25.11.2020 р., де було видано дозвіл на проведення медико-біологічних досліджень.

Статистичний аналіз проводився за допомогою комп'ютерної програми GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

Дослідження проведено відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація ранньої діагностики, лікування та визначення прогнозу найбільш поширених захворювань дитячого віку», номер державної реєстрації 0122U001876 (2021-2026 роки виконання) та науково-дослідної роботи науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ПДМУ «Розробка методики лікування та профілактики розвитку фіброзу легень шляхом активації PPAR-gamma рецепторів», номер державної реєстрації 0122U201686 (2023-2025 роки виконання).

**Результати дослідження.** Ранкова експресія генів у здорових дітей продемонструвала статистично вищі рівні *per1* ( $0,780 \pm 0,070$ ) порівняно з показниками *bmal1* ( $0,293 \pm 0,074$ ;  $p < 0,001$ ), тоді як ввечері рівень останнього ( $0,697 \pm 0,130$ ) навпаки був достовірно вищим за значення *per1* ( $0,370 \pm 0,044$ ;  $p < 0,05$ ). Порівнюючи рівні показників *per1*, в даній групі, можна сказати, що ранкова експресія даного гену ( $0,780 \pm 0,070$ ) була вищою ніж у вечірній час ( $0,370 \pm 0,044$ ;  $p < 0,001$ ), тоді як експресія *bmal1* була більшою о 20:00 ( $0,697 \pm 0,130$  проти  $0,293 \pm 0,074$ ;  $p < 0,05$ ). На противагу цього у пацієнтів із САР відрізняв достовірно вищий рівень експресії мРНК гена *bmal1* ( $1,036 \pm 0,161$  проти  $0,293 \pm 0,074$  у здорових дітей ( $p < 0,05$ ). При дослідженні експресії генів дітей з САР у вечірні години з'ясовано, що значення *bmal1* в усіх учасників продемонстрували подібні рівні експресії ( $0,775 \pm 0,163$  проти  $0,697 \pm 0,130$ ;  $p > 0,05$ ), тоді як рівень мРНК гена *per1* був статистично вищий у хворих з ринітом ( $1,293 \pm 0,186$ ;  $p < 0,01$ ).

**Висновки.** Отримані результати свідчать про дизрегуляцію периферичного молекулярного циркадіанного годинника у букальному епітелії пацієнтів з САР. Застосування протокольного лікування у дітей із САР у вечірній час продемонстрував краще відновлення експресії позитивної та негативної регуляторної ланки молекулярного циркадіанного годинника.

**Ключові слова:** алергічний риніт; циркадний ритм; гени годинника; *per1*; *bmal1*; букальний епітелій; лікування.

### Вступ

Аналіз робіт, які висвітлюють алергічний риніт, вказує на те, що дана алергопатологія має велике значення як для алергологів, отоларингологів так і для лікарів загальної практики – педіатричного й терапевтичного профілю [1-3]. Перш за все, це пояснюється поширеністю захворювання, високою коморбідністю з бронхіальною астмою й алергічним кон'юнктивітом, економічними затратами, негативним впливом на якість життя хворих та низькою ефективністю симптоматичної терапії для певної частки пацієнтів [4].

Циркадні ритми – це внутрішні біологічні ритми, які мають період тривалістю близько 24 годин і від-

повідають 24-годинному циклу зміни світла і температури на Землі. Одним з механізмів, що лежить в основі циркадних ритмів, є молекулярний годинник [5]. Молекулярний годинник – це система генетичних і біохімічних процесів, які регулюють циркадні ритми в клітинах організму [6]. Один з найважливіших компонентів молекулярного годинника – це набір генів, відомий як гени циркадних ритмів або гени періодичності, які виробляють спеціальні білки, котрі накопичуються або руйнуються в клітині протягом 24-годинного циклу й в кінцевому рахунку контролюють широкий спектр циркадіанних ритмів. Основними компонентами годинника є гени *Bmal1*

(brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like 1) і *Clock* (circadian locomotor output cycles kaput), білки яких утворюють гетеродимерний комплекс *BMAL1/CLOCK*, що стимулює транскрипцію E-box, який в свою чергу, містить гени інших компонентів молекулярного годинника, включаючи *Per1-3* (period circadian protein homolog), *Cry1-2* (cryptochrome circadian clock), *Rev-erb* (orphan nuclear receptor) та *Ror* (retinoic acid-related orphan). Гени *Bmal1/Clock* утворюють позитивний ланцюг зворотного зв'язку, а *Per1/Cry* за рахунок відповідних білків пригнічують власну експресію та створюють негативний зворотній зв'язок подавляючи активність *CLOCK/BMAL1*. Цей механізм негативного зворотного зв'язку разом із додатковими посттрансляційними модифікаціями саме й контролюють циркадні ритми [7].

Циркадні ритми, керовані молекулярним годинником, регулюють широкий спектр фізіологічних процесів у людей і інших організмів, включаючи сон, пробудження, температуру тіла, активність мозку, апетит, гормональний баланс й функцію органів і систем, а також інші важливі аспекти фізіології [8]. Деякі дослідження показують, що порушення циркадних ритмів можуть мати негативний вплив на здоров'я та призводити до розладів сну, настрою, імунної системи, метаболічних та інших хронічних захворювань [9-13].

Зв'язок між циркадним годинником й алергічним ринітом ще не повністю зрозумілий і вивчається науковцями, але відомо, що циркадний годинник є потужним регулятором алергічних реакцій [14-16]. Проте, існує деяка експериментальна евіденція, що підтримує взаємозв'язок між цими двома поняттями. Деякі дослідження показують, що імунологічна відповідь може варіюватись залежно від часу доби [17]. Це може пояснювати той факт, що деякі пацієнти з сезонним алергічним ринітом (САР) спостерігають погіршення симптомів в певний час доби, наприклад, вранці або вночі [18].

Дослідження ролі молекулярного годинника та його впливу на фізіологічні та патологічні процеси в організмі наразі є активним напрямком наукових досліджень, й має значний потенціал для розуміння біологічних процесів та розробки нових підходів до терапії різних захворювань, адже циркадні ритми також впливають на ефективність терапевтичних засобів і вакцин [19, 20]. Наукові праці демонструють, що експресія циркадних генів може впливати на ефективність лікування різних захворювань, включаючи алергічний риніт [21]. Оскільки циркадні ритми впливають на функціонування імунної системи та запалення, розуміння взаємозв'язку між циркадним молекулярним годинником та алергічними реакціями може мати практичне значення для підбору оптимального лікування. Наприклад, деякі дослідження показали, що врахування циркадних ритмів при призначенні лікарських препаратів може підвищити їх ефективність, особливо впливає час введення, відомий як хронотерапія [22]. Крім того, визначення оптимального часу прийому антигістамінних препаратів або назальних глюкокорти-

костероїдів може поліпшити контроль над симптомами алергічного риніту [23-24].

**Метою** нашої роботи була оцінка ступеня експресії мРНК генів *bmal1* та *per1* циркадального молекулярного годинника в клітинах букального епітелію та вивчення ефективності протокольного лікування у дітей із сезонним алергічним ринітом в залежності від часу доби застосування терапії.

### Матеріал та методи дослідження

До проспективного когортного дослідження було включено 20 пацієнтів віком від 6 до 17 років з верифікованим діагнозом сезонний алергічний риніт, які звернулися до Центру спеціалізованої педіатричної допомоги «Полтавська обласна клінічна лікарня імені М. В. Скліфосовського Полтавської Обласної Ради» протягом 2022 року. Серед них було 8 (40 %) дівчаток та 12 (60 %) – хлопчиків. Середній вік хворих на САР склав  $11,75 \pm 3,37$  років. У всіх обстежених дітей відмічалися симптоми алергічного риніту та у половини (50 %) хворих алергічного кон'юнктивіту. Основними критеріями включення хворих до дослідження були: період загострення захворювання, симптоми які спостерігаються не менше 4 днів на тиждень та впродовж не менше ніж 4 тижнів; вік дітей – 6-17 років. Критеріями виключення були: наявність супутньої бронхіальної астми та інших захворювань верхніх дихальних шляхів. До групи контролю були залучені 7 здорових дітей відповідного віку без будь-яких алергічних та хронічних захворювань в анамнезі.

Всі пацієнти з САР були розподілені на 2 групи. До 1-ї групи (n=10) увійшли пацієнти, які приймали терапію протягом 4 тижнів зранку. Пацієнти 2-ї групи (n=10) отримували лікування ввечері. Дослідження включало скринінговий візит і візит через 2 та 4 тижні. Вираженість симптомів алергічного риніту оцінювали за стандартною 4-бальною шкалою з використанням TNSS (Total Nasal Symptom Score). Лікування хворим призначалося відповідно до алгоритму рекомендованим ARIA (Bousquet J, et al. 2020) та вітчизняного уніфікованого протоколу «Алергічний риніт» (2016). За даними візуальної аналогової шкали, при першому візиті, всі пацієнти з САР мали >5 балів, тому призначався інтраназальний кортикостероїд (ІНКС) або ІНКС + азеластин інтраназально.

Експресію генів циркадного молекулярного годинника досліджували біозразках букального епітелію ротової порожнини дітей у ранковий (о 8:00) та вечірній (о 20:00), крім того хворим на САР проводили забір букального епітелію через 1 місяць після проведеного лікування. Зібраний матеріал негайно поміщали до пробірки Eppendorf із РНК стабілізуючим розчином (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Стабілізовані зразки зберігали при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$  для подальших досліджень.

Рівень експресії мРНК генів *bmal1* та *per1* у зразках букального епітелію визначали методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу (ПЛР РЧ). Загальну РНК виділяли з біологічного зразка за допо-

могою набору реагентів для виділення й очищення РНК (GeneJET RNA Purification Kit, Thermo Fisher Scientific Inc., США). Для отримання комплементарної ДНК (кДНК) використовували набір реагентів для синтезу кДНК (LunaScript™ RT SuperMix, New England Biolabs, Inc.).

ПЛР-ПЧ проводили на «CFX96™ Real-Time PCR Detection System» («BioRad», США) за використання суміші для кількісної ПЛР із референсним барвником (Luna® Universal Master Mix, New England Biolabs, Inc.). ПЛР проводили за наступних умов: перший цикл початкової денатурації 95 °С – 60 сек, наступні 45 циклів: 95 °С – 15 сек, 60 °С – 30 сек.

Послідовність праймерів для визначення експресії генів:

– hPER1

прямий: 5' – AGGTGAGAGTAGCGGAGAG – 3';

зворотній: 5' – AGGGAGAGGGCAGGTTAG – 3.

– hBMAL1

прямий: 5' – TCAGTGATTTTCATGTCCCCG – 3';

зворотній: 5' – CATTTGTGCTCCCCAAATTCG – 3'.

В якості референтного гену використовували ген hGAPDH, послідовність праймерів для його визначення [25]:

прямий: 5' – CCACATCGCTCAGACACCAT – 3';

зворотній: 5' – AGTTAACAGCCCTGGTGA – 3'.

Для аналізу даних застосовували відносний дельта Ct метод. Розрахунок проводили за формулою  $2^{-\Delta Ct}$ .

Статистичний аналіз проводився за допомогою комп'ютерної програми GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). В залежності від нормальності розподілу ряду даних були застосовані параметричні та непараметричні статистичні методи. Для визначення статистичної достовірності в середині групи при правильному розподілі використовували t-критерій Ст'юдента, при неправильному – U критерій Манна-Уїтні. З метою обчислення динамічних змін одержаних результатів до та після лікування використовували методи обчислення для спарених даних. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

Дизайн дослідження був обговорений та схвалений на засіданні медико-етичної комісії Української медичної стоматологічної академії, протокол № 188 від 25.11.2020 р., де було видано дозвіл на проведення медико-біологічних досліджень. Також отримано добровільну письмову інформовану згоду від усіх батьків обстежених дітей на участь в науковому дослідженні, яке проводилося із дозволу комісії біоетики.

Дослідження проведено відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація ранньої діагностики, лікування та визначення прогнозу найбільш поширених захворювань дитячого віку», номер державної реєстрації 0122U001876 (2021-2026 роки виконання) та науково-дослідної роботи науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ПДМУ «Розробка методики лікування та профілактики розвитку фіброзу легень шляхом активації PPAR-gamma рецепторів», номер державної реєстрації 0122U201686 (2023-2025 роки виконання).

### Результати дослідження та їх обговорення

Характеристика вираженості вранішньої експресії генів у здорових дітей (табл. 1) продемонструвала статистично вищі рівні *perl* ( $0,780 \pm 0,070$ ) порівняно з показниками *bmal1* ( $0,293 \pm 0,074$ ;  $p < 0,001$ ), тоді як ввечері рівень останнього ( $0,697 \pm 0,130$ ) навпаки був достовірно вищим за значення *perl* ( $0,370 \pm 0,044$ ;  $p < 0,05$ ). Порівнюючи рівні показників *perl*, в даній групі, можна сказати, що ранкова експресія даного гену ( $0,780 \pm 0,070$ ) була вищою ніж у вечірній час ( $0,370 \pm 0,044$ ;  $p < 0,001$ ), тоді як експресія *bmal1* була більшою о 20:00 ( $0,697 \pm 0,130$  проти  $0,293 \pm 0,074$ ;  $p < 0,05$ ).

Отримані в групі контролю результати дослідження, знаходять підтвердження в інших подібних роботах. Так, нещодавно, вітчизняними науковцями було продемонстровано, що в здорових людей експресія мРНК *perl* у букальному епітелії була вищою вранці, в той час як *bmal1* була більш вираженою у вечірній час незалежно від хронотипу, віку та статі [26]. Аналіз додаткових зарубіжних робіт, наводить дані, що у здорових людей експресія мРНК *perl* в слизовій оболонці ротової порожнини та шкіри має найвищі показники в першій половині дня, з наступним зниженням впродовж доби (Vjarnason G. A., 2001). Отримані нами результати динаміки експресії генів *bmal1* та *perl* серед здорових дітей узгоджуються з результатами інших науковців щодо молекулярних механізмів регуляції тактових циркадних генів, які наводять свідчення про авторегуляторний реверсний цикл зворотного зв'язку, відповідно до якого експресія генів біологічного годинника є ритмічною й перебуває в протилежній фазі відносно один одного (Von Schantz M. 2008). Таким чином, результати, виявлені в нашому дослідженні, також підтверджують референтні значення експресії даних генів у здорових осіб з урахуванням молекулярних циркадних ритмів, що сприяє їх використанню в процесі констатації синхронних процесів (явищ синхронізації) в людському організмі.

За результатами даних, отриманих в ході дослідження, встановлено, що вранці експресія мРНК гена *bmal1* у пацієнтів із САР була достовірно вищою ( $1,036 \pm 0,161$ ) в порівнянні із здоровими дітьми ( $0,293 \pm 0,074$ ;  $p < 0,05$ ). В цей час, рівень показників експресії мРНК гена *perl* в клітинах букального епітелію не мав відмінностей серед обстежених обох груп ( $0,715 \pm 0,140$  проти  $0,780 \pm 0,070$ ;  $p > 0,05$ ). При дослідженні експресії генів у вечірні години з'ясовано, що значення *bmal1* в усіх учасників дослідження продемонстрували подібні рівні експресії ( $0,775 \pm 0,163$  проти  $0,697 \pm 0,130$ ;  $p > 0,05$ ), тоді як рівень мРНК гена *perl* був статистично вищий у хворих з ринітом ( $1,293 \pm 0,186$ ) в порівнянні зі здоровими дітьми ( $0,370 \pm 0,044$ ;  $p < 0,01$ ).

Крім того, при порівнянні показників експресії мРНК гена *perl* у групі дітей з САР в залежності від часу доби, було виявлено більш виражений його рівень у вечірній час ( $1,293 \pm 0,186$ ) в порівнянні з ранковими показниками ( $0,715 \pm 0,140$ ) ( $p < 0,05$ ). Визначено достовірно вищий його рівень ввечері порівняно із значеннями *bmal1* ( $0,775 \pm 0,163$ ;  $p < 0,05$ ).

Таблиця 1

Характеристика рівнів експресії мРНК генів *bmal1* та *per1* в клітинах букального епітелію в обстежених дітей на початок проведення дослідження

| Час                     | Ген                                    | Пацієнти з САР (n=20) | Здорові діти (n=7) | p-показник вірогідності |
|-------------------------|--|-----------------------|--------------------|-------------------------|
| Ранок (8:00)            | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> (M+m) | 1,036 ± 0,161         | 0,293 ± 0,074      | p<0,05                  |
|                         | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> (M+m)  | 0,715 ± 0,140         | 0,780 ± 0,070      | p>0,05                  |
| p-показник вірогідності |  | p>0,05                | p<0,001            |                         |
| Вечір (20:00)           | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> (M+m) | 0,775 ± 0,163         | 0,697 ± 0,130      | p>0,05                  |
|                         | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> (M+m)  | 1,293 ± 0,186         | 0,370 ± 0,044      | p<0,01                  |
| p-показник вірогідності |  | p<0,05                | p<0,05             |                         |

Значимих відмінностей експресії мРНК *bmal1* в залежності від часу доби серед хворих не було виявлено (p>0,05). Відповідно до результатів інших досліджень (Reilly D. F. 2007), пік експресії мРНК *bmal1* припадає на середину циркадної ночі, з наступним зниженням його рівнів в послідуючі години, в той час як пік показників *per1* більш виражений в середині циркадного дня незалежно від хронотипу людини. Серед інших подібних праць (Kim H. K. 2018) повідомлялося про функціонування циркадного молекулярного годинника в слизовій оболонці носа людей та щурів. Так, ними було встановлено, що у здорових людей та хворих на алергічний риніт, *per1* та *bmal1* мали асиметричну експресію в слизовій оболонці носу відносно правого та лівого носових ходів. Натомість, в щурів *Per1* продемонстрував стійке підвищення показників, що супроводжувалося протифазними коливаннями з рівнем *Bmal1*. Проте в цьому дослідженні не було виявлено суттєвих відмінностей у рівнях експресії *per1* та *bmal1* між здоровими та хворими на алергічний риніт. Таким чином, порівнюючи добові коливання експресії генів *bmal1* та *per1* в букальному епітелії пацієнтів з САР та здоровими, можна стверджувати, що у хворих дітей виявлено явище десинхронозу, що ймовірно свідчить про зміни молекулярних циркадних ритмів впродовж доби.

Насьогодні, циркадні молекулярні механізми й хронотерапія набули важливого значення серед науковців для кращого розуміння терапевтичної користі медичних засобів серед найбільш поширених хронічних захворювань, які мають взаємозв'язок з добовими циркадними ритмами. Станом на теперішній час, хронофармакологічний підхід до лікування отримує все більшого визнання й особливу увагу до себе привертають кортикостероїди. Так, було проведено кілька хронотерапевтичних досліджень із застосуванням інгаляційних кортикостероїдів при бронхіальній астмі, які продемонстрували, що прийом мометазону фуорату один раз на день у вечірній час виявляється більш ефективним, ніж в ранковий час (Noonan M. et al., 2001). Відомо, що гістамін синтезується вечорі й найбільша

його активність спостерігається у вечірній та нічний час з максимальною концентрацією в сироватці крові з 21:00 до 24:00 години, тому його добовий ритм вказує на необхідність призначення антигістамінних препаратів в другій половині дня або ввечері. Таким чином, проведений аналіз зарубіжних хронотерапевтичних досліджень, які були зосереджені на хронотерапії алергічного риніту (Haue та ін. 2005, Urdaneta E. R. та ін. 2018), свідчать про дискусабельність таких підходів до лікування та створює перспективи для подальших досліджень [27]. Тому, з метою оптимізації підходів до лікування пацієнтів із САР наступним етапом нашої роботи було проведення порівняльної оцінки ефективності протокольної терапії в залежності від часу застосування лікарських засобів з урахуванням вираженості експресії генів молекулярного циркадианного годинника.

Згідно отриманих результатів експресії генів периферичного молекулярного годинника у букальному епітелії хворих із САР, які приймали протокольне лікування зранку (табл. 2), було встановлено, що в ранковий час експресія гену позитивної регуляторної ланки *bmal1* після проведеного лікування була статистично менш значимою (0,420 ± 0,898) ніж до лікування (0,974 ± 0,263) (p<0,05), тоді як рівень експресії негативної регуляторної ланки *per1* не мав істотних відмінностей в даній групі як до, так і після лікування (p>0,05). Варто зазначити, що після лікування рівень *per1* вранці (0,911 ± 0,815) статистично значимо перевищував показники *bmal1* (0,420 ± 0,898; p<0,05), що може свідчити про відновлення регуляції молекулярних циркадианних механізмів. Крім того, в даній групі не було виявлено ритмічності експресії мРНК *bmal1* у вечірній час між результатами до та після лікування, тоді як показник *per1* ввечері мав достовірно менші показники після лікування (0,650 ± 0,140 проти 1,588 ± 0,247; p<0,05), що також в черговий раз підтверджує нормалізацію регуляторних молекулярних механізмів негативної ланки у периферичному циркадианному годиннику букального епітелію дітей із САР.

Таблиця 2

Характеристики рівнів експресії мРНК генів *bmal1*, *per1* в клітинах букального епітелію до та після лікування дітей із сезонним алергічним ринітом, які застосовували терапію вранці, (n=10)

| Час                     |  | Ген                              | До лікування  | Після лікування | р-показник вірогідності |
|-------------------------|--|----------------------------------|---------------|-----------------|-------------------------|
| Ранок (8:00)            |  | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> | 0,974 ± 0,263 | 0,420 ± 0,898   | p<0,05                  |
|                         |  | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup>  | 0,984±0,238   | 0,911 ± 0,815   | p>0,05                  |
| р-показник вірогідності |  |                                  | p>0,05        | p<0,05          |                         |
| Вечір (20:00)           |  | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> | 0,652 ± 0,196 | 0,538 ± 0,140   | p>0,05                  |
|                         |  | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup>  | 1,588 ± 0,247 | 0,650 ± 0,140   | p<0,05                  |
| р-показник вірогідності |  |                                  | p<0,05        | p>0,05          |                         |

В таблиці 3 наведені показники експресії мРНК генів *bmal1* та *per1* у слизовій оболонці ротової порожнини пацієнтів з сезонним алергічним ринітом до та після лікування, що отримували терапію у вечірній час. Так, вечірня вираженість експресії мРНК гена позитивної регуляторної одиниці *bmal1* була статистично більш значимою за ранкову (0,864 ± 0,123 проти 0,433 ± 0,123; p<0,05). Аналіз вранішніх значень даного показника після проведеного лікування продемонстрував статистично менш значимі рівні у порівнянні з початковими даними (0,433 ± 0,123 проти 1,100 ± 0,199; p<0,05), що свідчить про нормалізацію

позитивного ланцюга периферичного циркадіанного годинника.

Під час аналізу даних експресії мРНК гену негативної регуляторної ланки *per1* встановлено, що після лікування достовірне його підвищення спостерігалось у ранковий час (0,900 ± 0,191 проти 0,446 ± 0,104; p<0,05) й відповідно зниження рівня його експресії в 1,6 рази ввечері порівняно з ранковим значенням. Отримані результати дозволяють допустити вірогідність відновлення регуляторної циклічності молекулярного осцилятора транскрипційного циклу зворотного зв'язку тактових генів, хоча показники і не мали статистичної значимості (p>0,05).

Таблиця 3

Характеристики рівнів експресії мРНК генів *bmal1*, *per1* в клітинах букального епітелію до та після лікування у дітей з сезонним алергічним ринітом, які застосовували терапію ввечері, (n=10)

| Час                     |  | Ген                              | До лікування  | Після лікування | р-показник вірогідності |
|-------------------------|--|----------------------------------|---------------|-----------------|-------------------------|
| Ранок (8:00)            |  | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> | 1,100 ± 0,199 | 0,433 ± 0,123   | p<0,05                  |
|                         |  | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup>  | 0,446 ± 0,104 | 0,900 ± 0,191   | p<0,05                  |
| р-показник вірогідності |  |                                  | p<0,01        | p>0,05          |                         |
| Вечір (20:00)           |  | <i>bmal1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup> | 0,900 ± 0,266 | 0,864 ± 0,123   | p>0,05                  |
|                         |  | <i>per1</i> , 2 <sup>-ΔCt</sup>  | 1,100 ± 0,255 | 0,561 ± 0,130   | p>0,05                  |
| р-показник вірогідності |  |                                  | p>0,05        | p>0,05          |                         |

Таким чином, отримані результати дослідження свідчать про помітне налагодження регуляторних механізмів як негативного так і позитивного ланцюга периферичного циркадіанного годинника у букальному епітелії дітей з САР, що приймали лікування у вечірній час.

Проведене дослідження має певні обмеження – невеликий розмір вибірки обстежених дітей. Також не

були враховані такі критерії як забезпечення комфортних умов сну, дотримання режиму сну, обмеження перед сном фізичної, розумової праці й об'єму спожитої їжі та використання гаджетів перед сном. Оскільки зазначені фактори також мають місце у розвитку інсомнії, яка в подальшому впливає не лише на час сну, але й на фізичне та психічне здоров'я дітей, поведінку, настрій та успішність в навчанні, адже цикл сну/неспанья є

класичним прикладом систем циркадних ритмів, підтримка яких залежить від взаємодії між ендogenousними добовими ритмами та процесами, що регулюють гомеостаз внутрішнього середовища [28].

### Висновки

Отримані в ході дослідження результати свідчать про дизрегуляцію периферичного молекулярного циркадianного годинника у букальному епітелії пацієнтів з сезонним алергічним ринітом, що відображається у вигляді порушення експресії мРНК генів *bm11* у ранковий час та *perl* у вечірній години.

Застосування протокольного лікування у дітей із сезонним алергічним ринітом у вечірній час продемонстрував більш виражене відновлення експресії позитивної та негативної регуляторної ланки молекулярного циркадianного годинника у порівнянні з ранковим прийомом топічних інтраназальних кортикостероїдів та антигістамінних препаратів.

### Література:

1. Bousquet J, Agache I, Berger U, Bergmann KC, Besancenot JP, Bousquet PJ, et al. Differences in Reporting the Ragweed Pollen Season Using Google Trends across 15 Countries. *Int Arch Allergy Immunol*. 2018;176(3-4):181-8. doi: 10.1159/000488391
2. Wang J, Zhou Y, Zhang H, Hu L, Liu J, Wang L, et al. Pathogenesis of allergic diseases and implications for therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 3];8(1):138. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01344-4> doi: 10.1038/s41392-023-01344-4
3. Bousquet J, Pfaar O, Agache I, Bedbrook A, Akdis CA, Canonica GW, et al. ARIA-EAACI care pathways for allergen immunotherapy in respiratory allergy. *Clin Transl Allergy* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 3];11(4): e12014. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ct2.12014> doi: 10.1002/ct2.12014
4. Dierick BJH, van der Molen T, Flokstra-de Blok BMJ, Muraro A, Postma MJ, Kocks JWH, et al. Burden and socioeconomics of asthma, allergic rhinitis, atopic dermatitis and food allergy. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2020;20(5):437-53. doi: 10.1080/14737167.2020.1819793
5. Lee Y, Wisor JP. Multi-Modal Regulation of Circadian Physiology by Interactive Features of Biological Clocks. *Biology (Basel)* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 3];11(1):21. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-7737/11/1/21> doi: 10.3390/biology11010021
6. Meléndez-Fernández OH, Liu JA, Nelson RJ. Circadian Rhythms Disrupted by Light at Night and Mistimed Food Intake Alter Hormonal Rhythms and Metabolism. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 3];24(4):3392. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3392> doi: 10.3390/ijms24043392
7. He QY, Dai N, Mao M, Ma J, Wen Q, Song DD, et al. Insomnia and circadian rhythm: a bibliometrics study and visualization analysis via CiteSpace. *Front Neurol* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 3];14:1184302. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2023.1184302/full> doi: 10.3389/fneur.2023.1184302
8. Mentzelou M, Papadopoulou SK, Papandreou D, Spanoudaki M, Dakanalas A, Vasios GK, et al. Evaluating the Relationship between Circadian Rhythms and Sleep, Metabolic and Cardiovascular Disorders: Current Clinical Evidence in Human Studies. *Metabolites* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 3];13(3):370. Available from: <https://www.mdpi.com/2218-1989/13/3/370> doi: 10.3390/metabo13030370
9. Ємченко Я, Ішейкін К, Кайдашев І, Безега О, Гайдучок І. Дослідження взаємозв'язку циркадного ритму з тяжкістю персистируючої риносинусити та ожиріння. *Acta Medica Leopoliensia*. 2021;27(1-2):22-9. doi: 10.25040/aml2021.01-02.022
10. Lokes K, Lychman V, Izmailova O, Shlykova O, Avetikov D, Kaidashev I. Expression of peripheral core molecular clock genes in oral mucosa depends on the chronotype in patients with maxillofacial cellulitis. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2023;13(5):517-21. doi: 10.1016/j.jobcr.2023.06.001
11. Shkodina AD, Tan SC, Hasan MM, Abdelgawad M, Chopra H, Bilal M et al. Roles of clock genes in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 3];74:101554. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568163721003019?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.arr.2021.101554
12. Huang H, Mehta A, Kalmanovich J, Anand A, Bejarano MC, Garg T, et al. Immunological and inflammatory effects of infectious diseases in circadian rhythm disruption and future therapeutic directions. *Mol Biol Rep*. 2023;50(4):3739-53. doi: 10.1007/s11033-023-08276-w
13. Boiko DI, Skrypnikov AM, Shkodina AD, Hasan MM, Ashraf GM, Rahman MH. Circadian rhythm disorder and anxiety as mental health complications in post-COVID-19. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2022;29(19):28062-9. doi: 10.1007/s11356-021-18384-4
14. Nakao A. Clockwork allergy: How the circadian clock underpins allergic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(4):1021-31. doi: 10.1016/j.jaci.2018.08.007
15. Cheng FL, An YF, Xue JM, Wang YJ, Ding XW, Zhang YT, et al. Circadian rhythm disruption exacerbates Th2-like immune response in murine allergic airway inflammation. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2022;12(5):757-70. doi: 10.1002/alr.22914
16. Tran NQV, Le MK, Nguyen TA, Kondo T, Nakao A. Association of Circadian Clock Gene Expression with Pediatric/Adolescent Asthma and Its Comorbidities. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 3];24(8):7477. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/8/7477> doi: 10.3390/ijms24087477
17. Geiger SS, Fagundes CT, Siegel RM. Chrono-immunology: progress and challenges in understanding links between the circadian and immune systems. *Immunology*. 2015;146(3):349-58. doi: 10.1111/imm.12525

### Перспективи подальших досліджень.

Продемонстровані результати досліджень, що ґрунтуються на урахуванні часу доби, як ключової біологічної змінної під час лікування хворих із сезонним алергічним ринітом, наглядно розширюють перспективи проведення подальших досліджень на більшій популяції пацієнтів. Продовження наукових досліджень у даному напрямку з більшою вибіркою пацієнтів з урахуванням усіх критеріїв комфортних умов сну дозволять підвищити ефективність протокольного лікування педіатричних пацієнтів та обґрунтують перспективи формування нових раціонально-потенційних підходів сучасного менеджменту алергічних захворювань в рамках розвитку персоналізованої медицини.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Фінансування:** самофінансування.

18. Wang C, Lutes LK, Barnoud C, Scheiermann C. The circadian immune system. *Sci Immunol* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 3];7(72): eabm2465. Available from: <https://www.science.org/doi/reader/10.1126/sciimmunol.abm2465> doi: 10.1126/sciimmunol.abm2465
19. Vandenberghe A, Lefranc M, Furlan A. An Overview of the Circadian Clock in the Frame of Chronotherapy: From Bench to Bedside. *Pharmaceutics* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 3];14(7):1424. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4923/14/7/1424> doi: 10.3390/pharmaceutics14071424
20. Otasowie CO, Tanner R, Ray D, Austyn JM, Coventry BJ. Chronovaccination: Harnessing circadian rhythms to optimize immunisation strategies. *Front Immunol* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 3];13:977525. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.977525/full> doi: 10.3389/fimmu.2022.977525
21. Ohdo S, Koyanagi S, Matsunaga N. Chronopharmacological strategies focused on chrono-drug discovery. *Pharmacol Ther.* 2019;202:72-90. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.05.018
22. Ayyar VS, Sukumaran S. Circadian rhythms: influence on physiology, pharmacology, and therapeutic interventions. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2021;48(3):321-38. doi: 10.1007/s10928-021-09751-2
23. Shimba A, Ikuta K. Glucocorticoids Regulate Circadian Rhythm of Innate and Adaptive Immunity. *Front Immunol* [Internet]. 2020[cited 2023 Nov 3];11:2143. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.02143/full> doi: 10.3389/fimmu.2020.02143
24. Olejniczak I, Oster H, Ray DW. Glucocorticoid circadian rhythms in immune function. *Semin Immunopathol.* 2022;44(2):153-63. doi: 10.1007/s00281-021-00889-2
25. Kim HK, Kim HJ, Kim JH, Kim TH, Lee SH. Asymmetric expression level of clock genes in left vs. right nasal mucosa in humans with and without allergies and in rats: Circadian characteristics and possible contribution to nasal cycle. *PLoS One* [Internet]. 2018[cited 2023 Nov 3];13(3): e0194018. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0194018> doi: 10.1371/journal.pone.0194018
26. Vasko M, Marchenko I, Shundryk M, Shlykova O, Tkachenko I, Kaidashev I. Influence of age, gender characteristics, chronotype on the expression of core clock genes *Per1*, *Clock*, *Bmal1* and *Cry1* in buccal epithelium. *Acta Biochim Pol.* 2022;69(4):883-8. doi: 10.18388/abp.2020\_6408
27. Fedchenko T, Izmailova O, Shynkevych V, Shlykova O, Kaidashev I. PPAR- $\gamma$  Agonist Pioglitazone Restored Mouse Liver mRNA Expression of Clock Genes and Inflammation-Related Genes Disrupted by Reversed Feeding. *PPAR Res* [Internet]. 2022[cited 2023 Nov 3];2022:7537210. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ppar/2022/7537210/> doi: 10.1155/2022/7537210
28. Meyer N, Harvey AG, Lockley SW, Dijk DJ. Circadian rhythms and disorders of the timing of sleep. *Lancet.* 2022;400(10357):1061-78. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00877-7

## STUDY OF THE CIRCADIAN MOLECULAR CLOCK IN PAEDIATRIC PATIENTS WITH SEASONAL ALLERGIC RHINITIS: POTENTIAL APPROACHES TO TREATMENT

*T. O. Kryuchko, V. V. Shcherbak, L. M. Bubyk, O. V. Izmailova, Olha Ya. Tkachenko*

**Poltava State Medical University  
(Poltava, Ukraine)**

### Summary.

Understanding of the relationship between the circadian molecular clock and allergic diseases continues to be studied and may be of practical importance for further selection of optimal treatment.

**The aim of this study** was to evaluate the degree of mRNA expression of the circadian molecular clock genes *bmal1* and *per1* in buccal epithelial cells and to investigate the efficacy of protocol treatment in children with seasonal allergic rhinitis, taking into account the time dependence.

**Material and methods.** The study included 20 patients aged 6 to 17 years with a confirmed diagnosis of seasonal allergic rhinitis (SAR). The control group included 7 healthy children of the same age with no history of allergic or chronic diseases. All patients with SAR were divided into 2 groups of 10 patients each, who received the protocol therapy in the morning (group 1) and in the evening (group 2) for 4 weeks. The expression of circadian molecular clock genes was studied by real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) method by sampling the buccal epithelium of the children's oral cavity in the morning (8:00 am) and in the evening (8:00 pm), with a repeat examination of the samples 1 month after treatment.

Statistical analysis was performed using the GraphPad Prism 5.00 computer program (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).

The research design was discussed and approved at the meeting of the medical and ethical commission of the Ukrainian Medical and Stomatological Academy, protocol No. 188 dated 11/25/2020, where permission to conduct medical and biological research was issued.

The research design was discussed and approved at the meeting of the Medical and Ethical Committee of the Ukrainian Academy of Medicine and Dentistry, Protocol No. 188 dated 25.11.2000, where permission to conduct medical and biological research was granted.

The study was conducted in accordance with the research plan of the Pediatrics Department no. 2 of Poltava State Medical University «Optimization of early diagnosis, treatment and prognosis of the most common childhood diseases», state registration number 0122U001876 (years of implementation 2021-2026) and research work – Research Institute of genetic and immunological bases of development of pathology and pharmacogenetics of PDMU «Development of methods of treatment and prevention of development of pulmonary fibrosis by activation of PPAR-gamma receptors», state registration number 0122U201686 (years of implementation 2023-2025).

**Results.** Morning gene expression in healthy children showed statistically higher levels of *per1* ( $0.780 \pm 0.070$ ) compared to *bmal1* ( $0.293 \pm 0.074$ ;  $p < 0.001$ ), whereas in the evening the level of the latter ( $0.697 \pm 0.130$ ) was significantly higher than *per1* ( $0.370 \pm 0.044$ ;  $p < 0.05$ ). Comparing the levels of *per1* in this group, the expression of this gene was higher in the morning ( $0.780 \pm 0.070$ ) than in the evening ( $0.370 \pm 0.044$ ;  $p < 0.001$ ), while the expression of *bmal1* was higher at 20:00 ( $0.697 \pm 0.130$  vs.  $0.293 \pm 0.074$ ;  $p < 0.05$ ). In contrast, patients with SAR had a significantly higher level of *bmal1* gene mRNA expression ( $1.036 \pm 0.161$  vs.  $0.293 \pm 0.074$  in healthy children ( $p < 0.05$ ). Examination of gene expression in children with SAR in the evening revealed that *bmal1* values showed similar levels

of expression in all participants ( $0.775 \pm 0.163$  vs.  $0.697 \pm 0.130$ ;  $p > 0.05$ ), while the mRNA level of the *per1* gene was statistically higher in patients with rhinitis ( $1.293 \pm 0.186$ ;  $p < 0.01$ ).

**Conclusions.** The results obtained indicate a dysregulation of the peripheral molecular circadian clock in the buccal epithelium of patients with SAR. The use of the protocol treatment in children with SAR in the evening demonstrated a better restoration of the expression of the positive and negative regulatory link of the molecular circadian clock.

**Key words:** Allergic Rhinitis; Circadian Rhythm; Clock Genes; *per1*; *bmal1*; Buccal Epithelium; Treatment.

**Контактна інформація:**

**Крючко Тетяна Олександрівна** – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** drkryuchko@gmail.com

**Researcher ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5034-4181>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/W-4506-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57194855000>

**Щербак Вікторія Валеріївна** – асистент кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** v.shcherbak@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9268-6454>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=5722112013>

**Бубир Людмила Миколаївна** – PhD, асистент кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** l.bubyr@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9736-3593>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/JEP-4315-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57221124422>

**Ізмайлова Ольга Віталіївна** – старший науковий співробітник інституту в складі закладу вищої освіти Науково-дослідного інституту генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики, Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** o.izmailova@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4770-3494>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=58016790800>

**Ткаченко Ольга Ярославівна** – к.м.д.н., доцент кафедри педіатрії № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** lol.tkachenko@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9976-6430>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57194855368>

**Contact Information:**

**Tetyana Kryuchko** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pediatrics № 2 of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** drkryuchko@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5034-4181>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/W-4506-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57194855000>

**Victoriia Shcherbak** – Assistant Professor of Pediatrics Department № 2 of Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** v.shcherbak@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9268-6454>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=5722112013>

**Liudmila Bubyr** – PhD, Assistant Professor of the Department of Pediatrics № 2 of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** l.bubyr@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9736-3593>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/JEP-4315-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57221124422>

**Olga Izmailova** – Senior Researcher of Scientific Research Institute of Genetic and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetic, Poltava State Medical University, Poltava (Ukraine (Poltava, Ukraine))

**e-mail:** o.izmailova@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4770-3494>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=58016790800>

**Olha Tkachenko** – Candidate of Medical Science, Associate Professor of the Department of Pediatrics № 2 of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** lol.tkachenko@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9976-6430>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57194855368>

Надійшло до редакції 23.05.2023 р.

Підписано до друку 15.08.2023 р.





UDC: 616.98:578.834.1-036:616.921.8-085.373.3]-053.2  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.7

PECULIARITIES OF THE COURSE  
OF COVID-19 IN SCHOOL-AGE CHILDREN  
AS A FUNCTION OF HUMORAL IMMUNITY  
AGAINST PERTUSSIS

*H. Pavlyshyn, O. Panchenko, K. Kozak*

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
(Ternopil, Ukraine)

### Summary

Coronavirus disease remains one of the most serious diseases in the world. The percentage of severe and fatal cases in children is lower than in adults. The search for biomarkers of disease severity continues. There is evidence of heterologous immunity between the causative agent of coronavirus infection and some other infectious agents. Both *Bordetella pertussis* and SARS-CoV-2 cause damage to the respiratory system. It should be noted that the incubation period and transmission mechanism are similar for these two microorganisms. Pertussis vaccinations are given in childhood.

**The purpose of the study** is to find the characteristics of the course of COVID-19 in school-aged children depending on the state of humoral immunity against pertussis toxin, assessing their level of immunoglobulin G against pertussis.

**Material and methods.** 92 pediatric patients aged 6 to 17 years were studied, including 30 children without signs of the disease in the control group and 62 children with manifestations of laboratory-confirmed COVID-19. The clinical features of the disease and laboratory indicators (C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR), white blood cells, D-dimer) were evaluated, as well as the levels of free salivary cortisol and vitamin D. According to the severity of the disease, 3 groups were formed: the first – 20 children with a mild course of COVID-19, the second – 33 patients with a moderate course of the disease, the third – 9 with a severe course of the disease.

All children were tested for immunoglobulin G (Ig G) to pertussis toxin by enzyme-linked immunosorbent assay (VIROTECH B. pertussis PT Ig G ELISA, Rüsselsheim, Germany). The result was considered negative (no increase in the titer of specific class G antibodies to pertussis toxin), borderline, and positive (there is an increase in the titer of immunoglobulin G to pertussis toxin).

Statistical analysis was performed using the program «Stat Plus» (Shapiro-Wilk test, mean  $\pm$  SD (standard deviation) with correct distribution of characteristics; median, upper and lower quartiles with incorrect distribution, Chi-square test, Man-Whitney test, Fisher's test).

The study was conducted in accordance with the rules of patient safety and ethical principles of scientific medical research involving human subjects (2000). The permission to conduct this study was given by the Bioethics Commission (Protocol No. 61 of 13.11.2020). The parents (legal representatives) of the patients gave their written consent to the conduct of this study.

This study is a fragment of research work «An Integrated Approach to Symptom Control, Long-Term Prognosis in the Context of Comorbid Pathology in the Clinic of Internal Diseases and Family Doctor Practice» (state registration No. 0118U000361).

**Results.** The mean age of the patients was  $11.57 \pm 3.82$  years. The study groups did not differ in sex ( $\chi^2=4.97$ ,  $p=0.174$ ) and age ( $p=0.490$ ) composition.

The level of humoral immunity against pertussis toxin differed significantly between the study groups. A positive and borderline result for the presence of specific immunoglobulin G to tetanus toxin was found in 75.86 % of children without signs of disease. At the same time, only 41.51 % of children with COVID-19 manifestations had a positive and borderline result ( $p=0.005$ ). A positive and borderline result for the presence of specific immunoglobulin G to tetanus toxin was seen in 66.67 % of children with mild infection, 33.33 % of patients with moderate disease, and only 12.50 % of patients with severe disease ( $\chi^2=16.91$ ,  $P<0.001$ ).

Children with a negative result for immunoglobulin G to pertussis toxin have significantly higher WBC count (1.3-fold), ESR (2.4-fold), D-dimer (3.4-fold), and CRP (1.5-fold) compared to patients with positive and borderline levels of these antibodies. In children with a negative result, there was a 6.25-fold increase in salivary free cortisol ( $p<0.001$ ) and a 2.0-fold decrease in vitamin D levels ( $p<0.001$ ).

**Conclusions.** In children with COVID-19 manifestations, there was a significantly higher percentage of negative test results for the presence of IgG to pertussis toxin compared to the control group, indicating a lower level of humoral immunity to tetanus in this group of patients. In children with mild disease, there was a significantly higher percentage of positive and borderline test results for the presence of IgG to pertussis toxin (indicating a higher level of humoral immunity against this pathogen) compared to the groups of children with moderate and severe disease. The absence of specific immunoglobulins G to pertussis toxin is associated with an increase in the level of pro-inflammatory markers (leukocyte count, ESR, CRP) and D-dimer, which also indicates a more severe course of COVID-19. Patients who are negative for pertussis toxin antibodies have elevated cortisol levels as a marker of stress and decreased vitamin D levels. Both biologically active substances are involved in the immune response to infectious agents and may serve as additional non-specific markers of COVID-19 severity. Therefore, low humoral immunity to pertussis contributes to the increase in COVID-19 severity in childhood.

**Key words:** Children; COVID-19; Pertussis; Humoral Immunity.

### Introduction

Coronavirus disease remains one of the most serious diseases of mankind with a high percentage of complications and mortality. The pediatric population has a lower percentage of complications and mortality compared to adults [1, 2]. Some microorganisms are cross-immune to

coronaviruses. Such data exist for *Bordetella pertussis*, the causative agent of pertussis, which was a formidable disease in childhood before the advent of specific vaccine prophylaxis. Pertussis, like coronaviruses, is a respiratory disease. Common epidemiologic features are the length of the incubation period, the mode of transmission and

the possibility of asymptomatic carriage. In the world literature there is information about a milder course of influenza, respiratory syncytial infection associated with the formed post-vaccination immunity against pertussis [3, 4]. Since pertussis vaccinations are mainly administered in childhood, studying the course of COVID-19 in relation to the state of humoral immunity against pertussis may be of great importance for predicting the severity of disease caused by COVID-19 and the risk of its recurrence.

**The purpose of the study** was to find the features of the course of COVID-19 in children depending on the state of post-vaccination immunity against pertussis toxin, assessing their level of humoral immunity against pertussis.

### Material and methods

A total of 92 children aged 6 to 17 years were examined, including 30 children without signs of the disease (the control group) and 62 children with manifestations of laboratory-confirmed COVID-19. Clinical features of the disease, laboratory indicators (C-reactive protein, ESR, D-dimer, leukocytes), and levels of free salivary cortisol and serum vitamin D were assessed. Criteria for mild COVID-19 course were subfebrile fever, diarrheal syndrome without signs of dehydration, catarrhal syndrome without lower respiratory tract involvement, and changes in taste or smell. Moderate course criteria were hyperthermia above subfebrile, signs of dehydration, and signs of pneumonia without disturbing saturation. Patients with severe disease were treated in the intensive care unit, had signs of severe respiratory failure, and required supplemental oxygen; no patients died.

Qualitative determination of immunoglobulin G levels against pertussis toxin was performed by enzyme immunoassay (VIROTECH B. pertussis PT Ig G ELISA, Rüsselsheim, Germany). According to this semi-quantitative method, the result is evaluated as negative (no increase in the

titer of specific class G antibodies against pertussis toxin), borderline (there is an increase in the titer of immunoglobulin G against pertussis toxin), positive (very high titer of G antibodies against pertussis toxin). This technique is based on the determination of the antibody index [5, 6].

Statistical analysis was performed using Stat Plus [7,8] (Shapiro-Wilk tests, mean  $\pm$  SD in case of correct distribution of measurements, median, upper and lower quartiles in case of incorrect distribution, Chi-square test, Mann-Whitney test, Fisher test).

The study was conducted in accordance with the rules of patient safety and ethical principles of scientific medical research involving human subjects (2000). The permission to conduct this study was given by the Bioethics Commission (Protocol No. 61 of 13.11.2020). The parents (legal representatives) of the patients gave their written consent to the conduct of this study.

This study is a fragment of research work «An Integrated Approach to Symptom Control, Long-Term Prognosis in the Context of Comorbid Pathology in the Clinic of Internal Diseases and Family Doctor Practice» (state registration No. 0118U000361).

### Results and discussion

The mean age of the patients was 11.57 $\pm$ 3.82 years. The mean age of patients in the control group was 11.57  $\pm$  3.27 [95 % CI 10.18; 12.95] years, the first group (children with mild disease) – 12.00  $\pm$  3.92 [95 % CI 10.31; 13.69] years, the second group (moderate disease) – 11.55  $\pm$  4.05 [95 % CI 10.19; 12.91] years, the third group (patients with severe disease) – 9.67  $\pm$  4.39 [95 % CI 7.14; 12.19] years (p=0.490). There was no significant difference in gender composition ( $\chi^2=4.97$ , p=0.174) between the study groups.

The status of humoral immunity against pertussis toxin in patients in the control group and in children with manifestations of SARS-CoV-2 infection is shown in Table 1.

**Table 1**

#### Presence of immunoglobulins G against pertussis toxin in children of the control group and in patients with manifestations of SARS-CoV-2 infection

| Presence of immunoglobulin G to pertussis toxin | Control group, n=30 | Children with manifestations of SARS-CoV-2 infection, n=62 | P=0.005*                                   |
|---|---------------------|--|--|
| Negative result                                 | 24.14 %             | 58.49 %  | * – A statistically significant difference |
| Borderline and positive result                  | 75.86 %             | 41.51 %  |  |

In the control group, positive and borderline results for antibodies to pertussis toxin are 1.8 times more frequent than in the group of children with manifestations of COVID-19.

The state of humoral immunity against pertussis toxin in patients with different courses of COVID-19 is shown in Table 2.

**Table 2**

#### Presence of immunoglobulins G against pertussis toxin in children with manifestations of COVID-19

| Presence of immunoglobulin G to tetanus toxin | The first group (mild course of COVID-19), n=20 | The second group (moderate course COVID-19), n=33 | The third group (severe COVID-19), n=9 | $\chi^2=16.91$<br>P=<0.001*              |
|---|---|---|--|--|
| Negative result                               | 33.33 %   | 66.67 %   | 87.50 %                                | * – Statistically significant difference |
| Borderline and positive result                | 66.67 %   | 33.33 %   | 12.50 %                                |  |

As the severity of the disease increases, the number of children with borderline and positive results of specific immunoglobulin G against pertussis toxin decreases.

The number of leukocytes, ESR, D-dimer and CRP depending on the presence (absence) of specific immunoglobulins G against pertussis toxin are shown in Table 3.

Table 3

**WBC (white blood cell) count, ESR and D-dimer, and CRP depending on the results of specific immunoglobulins G against pertussis toxin**

| Immunoglobulins G to pertussis toxin | White blood cell count, 10 <sup>9</sup> /l | ESR, mm/hour           | D-dimer, ng/ml             | CRP, mg/l             |
|--------------------------------------|--|------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Negative result                      | 7.80<br>[4.65; 12.67]                      | 12.00<br>[4.00; 17.00] | 259.00<br>[103.70; 444.55] | 5.20<br>[3.00; 13.97] |
| Borderline and positive result       | 5.80<br>[4.60; 7.40]                       | 5.00<br>[3.00; 7.50]   | 76.00<br>[45.30; 98.00]    | 3.40<br>[2.60; 4.30]  |
|                                      | P=0.008*                                   | P<0.001*               | P<0.001*                   | P=0.004*              |

Note: \* – Statistically significant difference

In children with a negative result of specific immunoglobulin G against pertussis toxin, the values of leukocyte count (1.3 times), ESR (2.4 times), D-dimer (3.4 times) and CRP (1.5 times) are significantly higher than in borderline and positive patients, which indicates a more severe course of the disease.

Increased cortisol levels [9-16] and decreased vitamin D levels [17-18] have been found in children with more severe disease.

The mean levels of salivary free cortisol and serum vitamin D in children with different results of specific class G antibodies to pertussis toxin are shown in Table 4.

Table 4

**Mean levels of free salivary cortisol and vitamin D in children with the different result of specific class G antibodies to pertussis toxin**

|                                | Negative result         | Borderline and positive result |          |
|--------------------------------|-------------------------|--------------------------------|----------|
| Free salivary cortisol, mcg/dl | 1.00<br>[0.70; 1.05]    | 0.16<br>[0.11; 0.35]           | P<0.001* |
| 25-OHvitamin D, ng/ml          | 13.59<br>[11.00; 17.42] | 27.49<br>[22.05; 31.59]        | P<0.001* |

Note: \* – Statistically significant difference

In children with negative results for specific G-antibodies to pertussis toxin, there was a 6.25-fold increase in salivary free cortisol and a 2.0-fold decrease in vitamin D levels.

The number of severe and fatal cases in children with COVID-19 is significantly lower than in adults [19]. There is also evidence that some vaccines received by children may provide cross-protection against the causative agent of coronavirus disease [8, 20]. In the world, there is a term «heterologous non-specific effects of vaccines» (in other words, «off-target effects») – this is their effect on the body's immune response, which is different from their direct purpose. In 2015, the conference «Off-target effects of vaccination» was held in Annecy, France. There is growing evidence that vaccines can affect diseases other than those for which they were designed [21]. Such data are available for BCG, measles, mumps, rubella, diphtheria and tetanus vaccines [22]. Children are better protected against COVID-19 in countries with higher indicators of vaccination against so-called childhood infections [23]. The world scientific community has not yet been able to fully explain this phenomenon. Some peptides of the acellular pertussis vaccine are similar to SARS-CoV-2 peptides, i.e. it is possible to develop a cross-immune response against these two infections simultaneously [24, 25]. Another study [26] demonstrated a milder course of

SARS-CoV-2 infection in mice vaccinated with pertussis vaccine. There are also data on the activity of this vaccine against adenovirus and herpes viruses in mice [22-24]. These preliminary findings provide much hope for future research to eliminate large-scale outbreaks of COVID-19 and predict the course of this disease.

The study of the possible protective role of antitoxic immunity against pertussis can be done in several steps: The first step is the study of epidemiological data (collection of information on previous vaccinations against pertussis, comparison of the incidence of COVID-19 in countries with different levels of non-specific vaccination); the second step is the determination of the level of specific immunoglobulins G against pertussis in patients with different courses of coronavirus disease, which was the case in our study; The next steps are molecular and cellular studies [27, 28], testing of cross-reactivity between antibodies and T cells induced by SARS-CoV-2 and pertussis, in vivo experiments in animals that first develop immunity against pertussis by specific vaccination, followed by infection with SARS-CoV-2 and study of its course, clinical trials (independent clinical trials are currently underway to assess the course of COVID-19 in vaccinated and unvaccinated health care workers against pertussis [29]).

Low vitamin D levels and elevated cortisol levels are also seen in more severe COVID-19 [30, 31] and may

serve as additional non-specific prognostic biomarkers of disease severity.

## Conclusions

1. The number of children with specific antibodies to pertussis toxin was 1.8 times higher in the control group than in the group of children infected with COVID-19.

2. In children with different courses of coronavirus disease, an increase in its severity is associated with an increase in the percentage of negative results for pertussis toxin in children. Children with negative results for specific pertussis immunoglobulin G have a more severe course of COVID-19.

3. The negative results for specific pertussis immunoglobulins G are also associated with elevated levels of pro-inflammatory markers (leukocyte count, ESR, CRP) and

D-dimer, which also indicates a more severe course [7] of disease caused by COVID-19.

4. Pediatric patients with negative results for pertussis antibodies have elevated levels of cortisol as a marker of stress and decreased levels of vitamin D. Both biologically active substances are involved in the immune response to infectious agents and may act as additional non-specific markers of COVID-19 severity.

**Conflict of Interests.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Founding source.** This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or non-profit sectors.

## References

- Ludvigsson JF. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020;109(6):1088-95. doi: 10.1111/apa.15270
- Brodin P. Why is COVID-19 so mild in children? *Acta Paediatr.* 2020;109(6):1082-3. doi: 10.1111/apa.15271
- Cauchi S, Loch C. Non-specific Effects of Live Attenuated Pertussis Vaccine Against Heterologous Infectious and Inflammatory Diseases. *Front Immunol* [Internet]. 2018[cited 2023 Oct 30];9:2872. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02872/full> doi: 10.3389/fimmu.2018.02872
- Seo SU, Seong BL. Prospects on Repurposing a Live Attenuated Vaccine for the Control of Unrelated Infections. *Front Immunol* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 30];13:877845. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.877845/full> doi: 10.3389/fimmu.2022.877845
- Chen Z, Liu X, Zhang Y, Peng X, Zhang N, Chen N, et al. Evaluation of serum anti-pertussis toxin IgA antibodies for the diagnosis of Bordetella pertussis infection in young children. *J Infect Public Health.* 2023;16(8):1167-73. doi: 10.1016/j.jiph.2023.05.028
- VIROTECH. EC115.00 Bordetella pertussis IgG/IgA ELISA. Instruction for use [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30]. Available from: [http://www.virotechdiagnostics.com/uploads/tx\\_multishop/images/cmsfiles/59d5db13096c7.pdf](http://www.virotechdiagnostics.com/uploads/tx_multishop/images/cmsfiles/59d5db13096c7.pdf)
- Pavlyshyn HA, Panchenko OI. The laboratory changes in the children with COVID-19. *Journal of hepato-gastroenterology research. Special Issue.* 2022;2:94-6. doi: 10.5281/zenodo.7311094
- Panchenko OI, Pavlyshyn HA. Osoblyvosti perebihu COVID-19 u ditei zalezho vid humoral'noho imunitetu proty pravtsia [Features of the course of COVID-19 in children depending on humoral immunity against tetanus]. *Infektsiini khvoroby.* 2023;1:12-7. doi: 10.11603/1681-2727.2023.1.13920 (In Ukrainian)
- Fayyad D, Kelts JL, Nielson TH, Epelle IL, Monear NC, Strawn MTG, et al. COVID-19: A Systematic Review of the Transmissibility, Pathogenesis, Entry Factors, and Signature Immune Response. *BioChem.* 2022;2(2):115-44. doi: 10.3390/biochem2020009
- Yavropoulou MP, Filippa MG, Mantzou A, Ntziora F, Mylona M, Tektonidou MG, et al. Alterations in cortisol and interleukin-6 secretion in patients with COVID-19 suggestive of neuroendocrine-immune adaptations. *Endocrine.* 2022;75(2):317-27. doi: 10.1007/s12020-021-02968-8
- Erturk SB, Tukenmez TE, Ilgin C, Korten V, Odabasi Z. Prognostic values of baseline cortisol levels and neutrophil to lymphocyte ratio in COVID-19. *J Med Biochem.* 2023;42(3):437-43. doi: 10.5937/jomb0-38533
- Ahmadi I, Estabraghnia Babaki H, Maleki M, Jarineshin H, Kaffashian MR, Hassaniazad M, et al. Changes in Physiological Levels of Cortisol and Adrenocorticotrophic Hormone upon Hospitalization Can Predict SARS-CoV-2 Mortality: A Cohort Study. *Int J Endocrinol* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 30];2022:4280691. Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/ije/2022/4280691.pdf> doi: 10.1155/2022/4280691
- Athanasiou N, Diamantopoulos A, Keskinidou C, Katsaounou P, Angelousi A, Jahaj E, et al. Adrenal function in relation to cytokines and outcome in non-critically ill patients with COVID-19. *J Endocrinol Invest* [Internet]. 2023[cited 2023 Oct 30]. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40618-023-02189-y> doi: 10.1007/s40618-023-02189-y
- Rezaei M, Fullwood C, Hird B, Chawla M, Tetlow L, Banerjee I, et al. Cortisol Levels During Acute Illnesses in Children and Adolescents. A Systematic Review. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 30];5(6): e2217812. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2793433> doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.17812
- Khalil MM, Maher MM, Abd Al-Kader MA. The association between the serum total cortisol as an adrenal response biomarker and severe community-acquired pneumonia. *Egypt J Bronchol* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 30];13:100. Available from: [https://ejb.springeropen.com/counter/pdf/10.4103/ejb.ejb\\_84\\_17.pdf](https://ejb.springeropen.com/counter/pdf/10.4103/ejb.ejb_84_17.pdf) doi: 10.4103/ejb.ejb\_84\_17
- Meduri GU, Chrousos GP. General Adaptation in Critical Illness: Glucocorticoid Receptor-alpha Master Regulator of Homeostatic Corrections. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30];11:161. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.00161/full> doi: 10.3389/fendo.2020.00161
- Cutolo M, Paolino S, Smith V. Evidences for a protective role of vitamin D in COVID-19. *RMD Open* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30];6(3): e001454. Available from: <https://rmdopen.bmj.com/content/rmdopen/6/3/e001454.full.pdf> doi: 10.1136/rmdopen-2020-001454
- Karonova TL, Andreeva AT, Golovatuk KA, Bykova ES, Simanenkov AV, Vashukova MA, et al. Low 25(OH)D Level Is Associated with Severe Course and Poor Prognosis in COVID-19. *Nutrients* [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 30];13(9):3021. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/9/3021> doi: 10.3390/nu13093021

19. Lee PI, Hu YL, Chen PY, Huang YC, Hsueh PR. Are children less susceptible to COVID-19? *J Microbiol Immunol Infect*. 2020;53(3):371-2. doi: 10.1016/j.jmii.2020.02.011
20. Agrawal B. Heterologous Immunity: Role in Natural and Vaccine-Induced Resistance to Infections. *Front Immunol* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 30];10:2631. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.02631/full> doi: 10.3389/fimmu.2019.02631
21. Aaby P, Netea MG, Benn CS. Beneficial non-specific effects of live vaccines against COVID-19 and other unrelated infections. *Lancet Infect Dis*. 2023;23(1): e34-42. doi:10.1016/S1473-3099(22)00498-4
22. Bao L, Deng W, Huang B, Gao H, Liu J, Ren L, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature*. 2020;583(7818):830-3. doi: 10.1038/s41586-020-2312-y
23. Sidiq KR, Sabir DK, Ali SM, Kodzius R. Does Early Childhood Vaccination Protect Against COVID-19? *Front Mol Biosci* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30];7:120. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2020.00120/full> doi: 10.3389/fmolb.2020.00120
24. Reche PA. Potential Cross-Reactive Immunity to SARS-CoV-2 From Common Human Pathogens and Vaccines. *Front Immunol* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30];11:586984. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.586984/full> doi: 10.3389/fimmu.2020.586984
25. Alkholy UM, Salama ME, Mahmoud H, Taher A, Elsayes KM. Could Bordetella pertussis vaccine protect against coronavirus COVID-19? *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;22:803-5. doi: 10.1016/j.jgar.2020.07.005
26. Ismail MB, Omari SA, Rafei R, Dabboussi F, Hamze M. COVID-19 in children: Could pertussis vaccine play the protective role? *Med Hypotheses* [Internet]. 2020[cited 2023 Oct 30];145:110305. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306987720314468?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.mehy.2020.110305
27. Vojdani A, Vojdani E, Melgar AL, Redd J. Reaction of SARS-CoV-2 antibodies with other pathogens, vaccines, and food antigens. *Front Immunol* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 30];13:1003094. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1003094/full> doi: 10.3389/fimmu.2022.1003094
28. O'Connor E, Teh J, Kamat AM, Lawrentschuk N. Bacillus Calmette Guérin (BCG) vaccination use in the fight against COVID-19 – what's old is new again? *Future Oncol*. 2020;16(19):1323-5. doi: 10.2217/fon-2020-0381
29. Pittet LF, Messina NL, Gardiner K, Orsini F, Abruzzo V, Bannister S, et al. BCG vaccination to reduce the impact of COVID-19 in healthcare workers: Protocol for a randomised controlled trial (BRACE trial). *BMJ Open* [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 30];11(10): e052101. Available from: <https://bmjopen.bmj.com/content/bmjopen/11/10/e052101.full.pdf> doi: 10.1136/bmjopen-2021-052101
30. Tan T, Khoo B, Mills EG, Phylactou M, Patel B, Eng PC, et al. Association between high serum total cortisol concentrations and mortality from COVID-19. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(8):659-60. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30216-3
31. Güven M, Gültekin H. Could serum total cortisol level at admission predict mortality due to coronavirus disease 2019 in the intensive care unit? A prospective study. *Sao Paulo Med J*. 2021;139(4):398-404. doi: 10.1590/1516-3180.2020.0722.R1.2302021

## ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ COVID-19 У ДІТЕЙ ШКІЛЬНОГО ВІКУ ЗАЛЕЖНО ВІД ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ПРОТИ КАШЛЮКУ

*Г. А. Павлишин, О. І. Панченко, К. В. Козак*

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
(м. Тернопіль, Україна)

### Резюме.

Коронавірусна хвороба залишається однією з найважчих у світі. Відсоток важких і летальних випадків серед дітей нижчий, ніж у дорослих. Триває пошук біомаркерів, які вказують на тяжкість перебігу захворювання. Є дані про наявність гетерологічного імунітету між збудником коронавірусної інфекції та деякими іншими інфекційними агентами. І *Bordetella pertussis*, і SARS-CoV-2 призводять до ураження дихальної системи. Слід зазначити, що інкубаційний період і механізм передачі подібні для цих двох мікроорганізмів. У дитячому віці проводять щеплення проти кашлюку.

**Мета дослідження:** з'ясувати особливості перебігу COVID-19 у дітей залежно від стану поствакцинального імунітету проти кашлюкового токсину, оцінюючи у них рівень гуморального імунітету проти кашлюка.

**Матеріал та методи дослідження.** Обстежено 92 дитини віком від 6 до 17 років, з них 30 дітей без ознак захворювання становили контрольну групу, 62 дитини були з проявами лабораторно підтвердженого COVID-19. Оцінювався клінічний перебіг захворювання та деякі лабораторні показники (С-реактивний білок (СРБ), швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), кількість лейкоцитів, Д-димер), а також рівень вільного кортизолу слини та вітаміну Д. За важкістю перебігу захворювання сформовано 3 групи: перша – 20 дітей з легким перебігом COVID-19, друга група – 33 пацієнтів з середньо-тяжким перебігом захворювання, третя – 9 із важким перебігом.

Усім дітям проведено визначення рівня імуноглобуліну G (Ig G) проти кашлюкового токсину методом імуноферментного аналізу (VIROTECH B. pertussis PT Ig G ELISA, Russelsheim, Germany). Результат оцінювався як negative (відсутнє підвищення титру специфічних антитіл класу G до кашлюкового токсину), borderline (наявне підвищення титру імуноглобулінів G до кашлюкового токсину), positive (дуже високий титр антитіл G до кашлюкового токсину).

Статистичний аналіз здійснювався за допомогою програми «Stat Plus» (критерій Шапіро-Вілка, Mean ± SD при правильному розподілі ознак; медіана, верхній та нижній квартилі при неправильному розподілі, критерій  $\chi^2$ , критерій Мана-Уїтні, точний критерій Фішера).

Під час проведення роботи дотримані правила безпеки пацієнтів та етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини (2000 р.). Комісія з біоетики надала дозвіл на проведення цього дослідження (протокол No 61 від 13.11.2020). Батьки (законні представники) пацієнтів надали письмову згоду на проведення даного дослідження.

Дане дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи «Комплексний підхід до контролю симптомів, віддаленого прогнозу в умовах коморбідної патології в клініці внутрішніх хвороб та практиці сімейного лікаря» (державна реєстрація № 0118U000361).

**Результати дослідження.** Середній вік пацієнтів становив  $11,57 \pm 3,82$  роки. Середній вік пацієнтів контрольної групи був  $11,57 \pm 3,27$  [95 % CI 10,18;12,95], першої групи (діти з легким перебігом захворювання) –  $12,00 \pm 3,92$  [95 % CI 10,31;13,69], другої групи (середньоважкий перебіг захворювання) –  $11,55 \pm 4,05$  [95 % CI 10,19;12,91], третьої групи (пацієнти з важким перебігом) –  $9,67 \pm 4,39$  [95 % CI 7,14;12,19] років ( $p=0,490$ ). Не було достовірної відмінності між статевим ( $\chi^2=4,97$ ,  $p=0,174$ ) складом у групах даного дослідження.

Рівень гуморального імунітету проти токсину кашлюка достовірно відрізнявся у групах порівняння. У контрольній групі (діти без ознак захворювання) у 75,86 % випадків був borderline and positive результат на наявність специфічних імуноглобулінів G до правцевого токсину, тоді як у дітей з проявами COVID-19 лише у 41,51 % ( $p=0,005$ ). При порівнянні трьох груп пацієнтів з COVID-19 у першій групі (діти з легким перебігом інфекції) positive and borderline результат на наявність специфічних імуноглобулінів G до правцевого токсину був у 66,67 %, у другій групі (діти із середньоважким перебігом захворювання) – у 33,33 % пацієнтів, у третій групі (важкий перебіг хвороби) – 12,5 % ( $\chi^2=16,91$ ,  $p<0,001$ ). У дітей з негативним результатом на наявність імуноглобулінів G проти токсину кашлюка достовірно відмічаються вищі показники кількості лейкоцитів (в 1,3 рази), ШОЕ (в 2,4 рази), Д-димеру (в 3,4 рази) та СРБ (в 1,5 рази) порівняно із пацієнтами positive and borderline рівнем цих антитіл. У дітей з відсутністю специфічних антитіл G до кашлюкового токсину достовірно в 6,25 разів відмічається збільшення показника вільного кортизолу слини ( $p<0,001$ ) та у 2 рази зменшення рівня вітаміну D ( $p<0,001$ ).

**Висновки.** У групі дітей з проявами COVID-19 спостерігався достовірно більший відсоток негативного результату тесту на наявність IgG проти токсину кашлюка порівняно з контрольною групою, що вказує на нижчий рівень гуморального імунітету проти кашлюка у даної групи пацієнтів. У дітей з легким перебігом захворювання відмічався достовірно більший відсоток позитивного результату тесту на наявність IgG проти токсину кашлюка, що свідчить про вищий рівень гуморального імунітету проти даного збудника, порівняно з групами дітей із середньоважким та важким перебігом захворювання. На фоні відсутності специфічних імуноглобулінів G до кашлюкового токсину відмічається зростання рівня прозапальних маркерів (кількості лейкоцитів, ШОЕ, СРБ) та Д-димеру, що свідчить про більш важкий перебіг захворювання, викликаного COVID-19. У пацієнтів дитячого віку з негативним результатом на наявність антитіл спостерігається підвищений рівень кортизолу, як маркера стресу, та зменшення рівня вітаміну D. Обидві біологічно активні речовини беруть участь в імунній відповіді на інфекційні агенти та можуть виступати додатковими неспецифічними маркерами важкості COVID-19. Тобто на фоні нижчого рівня гуморального імунітету проти кашлюка спостерігається зростання важкості захворювання, спричиненого COVID-19.

**Ключові слова:** діти; COVID-19; кашлюк; гуморальний імунітет.

**Contact Information:**

**Halyna Pavlyshyn** – Doctor of Medical Science, MD, PhD, Professor, Chief of Pediatric Department No2, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** halynapavlishin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4106-2235>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/H-2220-2018>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57192925001>

**Olha Panchenko** – PhD fellow, Pediatric Department No2, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** panchenko\_oi@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6160-3823>

**Kateryna Kozak** – Candidate of Medical Science, PhD, Docent, Associate Professor, Pediatric Department No2, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** kozakk@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5328-4647>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/JMB-4823-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57211213734>

**Контактна інформація:**

**Павлишин Галина Андріївна** – доктор медичних наук, завідувач кафедри педіатрії № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** halynapavlishin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4106-2235>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/H-2220-2018>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57192925001>

**Панченко Ольга Іванівна** – аспірант кафедри педіатрії № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** panchenko\_oi@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6160-3823>

**Козак Катерина Валеріївна** – кандидат медичних наук, доцент кафедри педіатрії № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** kozakk@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5328-4647>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/JMB-4823-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57211213734>



Received for editorial office on 23/07/2023  
Signed for printing on 11/10/2023

UDC: 616.248-053.2-071.6-08:612.28

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.8

*L. Kalashnikova*<sup>1</sup>, *S. Naida*<sup>2</sup>,  
*V. Didkovskiy*<sup>2</sup>, *V. Zaets*<sup>2</sup>, *S. Bartenev*<sup>3</sup>

Faculty of Biomedical Engineering, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»<sup>1</sup>, Faculty of Electronics, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute»<sup>2</sup>, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine<sup>3</sup> (Kyiv, Ukraine)

## PSYCHOSOMATIC MECHANISMS OF REGULATION OF EXTERNAL RESPIRATION FUNCTION IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA WHEN LISTENING TO AUDIO SIGNALS OF VARIOUS COMPONENT COMPOSITION

### Summary

*In the treatment of bronchial asthma (BA), an integrated approach is used that includes both drugs and alternative methods that influence the psycho-emotional state of the patient. In this regard, one of the most powerful methods of psycho-emotional influence on a person is musical influence.*

*The aim of the research is to study the effectiveness of influence of audio signals of different amplitude-frequency range on the central mechanisms of regulation of ventilatory capacity of bronchi of patients with asthma.*

*Material and methods.* Twenty-five children between the ages of 9 and 14 with clinically diagnosed BA participated in the study. Three melodies with different component composition were used. Their amplitude-frequency characteristics were analyzed using the Matlab environment. The sound energy fraction of the studied musical compositions in one-third octave frequency bands throughout the duration of the audio signal was calculated. Statistical processing of the data was performed using IBM SPSS Statistics software.

*Results.* The results of the study indicate that the most effective musical influence is provided by the audio excerpt from *The Magic Flute* by W. A. Mozart. It was found that the main spirometric indicators of bronchopulmonary obstruction increase under the influence of music, and correspondingly there are changes in the integral characteristics of bioelectrical activity of the brain.

*Conclusion.* The results of the study show reliable normalization of spirometry indicators in children with bronchial asthma under the influence of selected musical melodies of a certain frequency. Effectiveness of sound influence on central regulation mechanisms of bronchial ventilatory capacity can be used for preventive and therapeutic purposes.

**Key words:** Bronchial Ventilatory Function; Amplitude-frequency Characteristics; Electroencephalography; Bioelectrical Activity of the Brain; Absolute Power Spectral Density.

### Introduction

Bronchial asthma (BA) is one of the most common chronic inflammatory diseases of the respiratory tract (predominantly allergic), and its main symptom is breathlessness due to narrowing of the bronchial lumen resulting in chronic airflow limitation and bronchial mucosal edema. Asthma is incurable, but treatment can slow the progression of the disease [1, 2, 3]. Currently, the basis of asthma treatment is pharmacological agents, which allow to achieve a high level of disease control. On the other hand, it is recognized that psychological factors play an important role in the pathogenesis of BA [3, 4, 5]. In particular, the psychological component is expressed in childhood. Psychological disorders associated with BA include anxiety, depression, and panic attacks, as well as behavioral factors such as poor social adjustment and lack of self-control. These symptoms worsen the course of the underlying disease and are associated with higher rates of hospitalization and worsening control of asthma manifestations, and significantly affect the quality of life, ability to work, and social activity of patients [5].

Pathological process of asthma involves nervous, endocrine and immune systems, which integrate vital processes of the body. Insufficiency of organ mechanisms of autoregulation and BA resistance causes predisposition to realization of central pathogenic influences. Impaired

function of the central nervous system in patients with BA is noted both during exacerbation and in the post-attack period.

Therefore, in the treatment of BA an integrated approach is used, including drugs and methods influencing the psycho-emotional state of the patient [6, 7, 8].

Recently, considerable efforts have been made in the development of psychological methods of influence capable of dealing with the problems of the psycho-emotional component of BA. Effectiveness of such psychological methods of influence as hypnosis, cognitive-behavioral and relaxation therapy has been proved in clinical practice. These methods of influence on psycho-emotional state lead to improvement of quality of life and decrease of anxiety level and control of BA symptoms [7, 9, 10].

The emotional reaction of a person is reflected in a change of the indicators of the brain electroencephalogram (EEG), which is manifested in a change of the ratio of such basic rhythms as delta, alpha and beta [11, 12, 13]. The objectification of the psycho-emotional state of the patient is, as it is known, the assessment of the level of alpha brain activity, since it is known that such a psycho-emotional state as anxiety is associated with the depression of the alpha rhythm [11, 14]. These waves decrease during anxiety and depression. And increase in power of such EEG signals as alpha and theta rhythms testifies to normalization of psychosomatic status of a patient [11, 14, 15].

One of the methods of the most powerful psycho-emotional influence on a person is musical influence [16, 17]. Therefore, this method can be included in relaxation therapy and can be part of a psycho-educational complex program for treatment and rehabilitation of children with BA [8, 10].

Previously, music as a therapeutic method was used to sing or play musical compositions on wind instruments with the aim of training the muscles responsible for the functioning of the respiratory system. Music hasn't been used to influence the psychological status of children with asthma [7, 8, 9, 10].

The research of the influence of audio signals (musical fragments) on the human body in order to improve the psycho-emotional status of listeners began to be systematically undertaken since 2012 under the guidance of Professor Vitaliy Didkovskiy and Larysa Kalashnikova at the Department of Acoustics and Multimedia Electronic Systems of the National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» jointly with the Department of Respiratory Diseases and Respiratory Allergies in Children of the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine under the direction of Serhiy Bartenev.

The obtained results showed an increase in the attention of the listeners – students of the Department of Acoustics and Multimedia Electronic Systems – while listening to specially selected musical fragments during the breaks between the first and second, and especially between the third and fourth university classes.

In addition, in 2016, on the basis of the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, studies began to examine the effect of audio signals on the course of BA in children. The main results of this work are presented in this article.

We have proposed a non-drug method that promotes activation of reserve and adaptive abilities of the body with asthma, which allows us to study the effectiveness of therapeutic music effects on the ventilatory function of the bronchi in asthma.

The purpose of this work is to study the effectiveness of influence of different amplitude-frequency range audio signals on the central mechanisms of ventilatory capacity regulation of bronchi in patients with BA.

### Material and methods

According to the objective of our research, we studied both the spectral characteristics of the brain bioelectric activity and the functional indicators of the bronchial tree under the influence of audio signals. This study is a continuation of the scientific work [18] to justify the effectiveness of the musical correction method of the bronchial ventilation function.

The study included 25 people – children aged 9 to 14 years with clinically diagnosed bronchospasm accompanied by moderate respiratory failure of obstructive type due to bronchospasm. The children were treated in the Pulmonology Department of the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of

Medical Sciences of Ukraine. The study was conducted in accordance with the principles of biomedical ethics. The research was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association. The approval of the Commission on Bioethics and Deontology (CBD) of the State Institution «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after Academician O. M. Lukyanova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine» was granted at the meeting of CBD No. 2 on 07.02.2020 and the official letter of CBD No. 2.6-04/280 confirming the approval was issued on 28.05.2021.

Musical fragments used to influence the psycho-emotional state of the examined persons for correction of the respiratory function are the following: ocean noise – audio fragment 1, Lullaby by W. A. Mozart – audio fragment 2, The Magic Flute by W. A. Mozart – audio fragment 3. Suggested musical fragments are audio stimuli of different compositional structure, varying in melodic component and playback speed. Mozart's music was chosen as a stimulus signal based on the fact known from literature that Mozart's music helps most people with strong psycho-emotional stress [19]. This phenomenon is called the «Mozart effect». The peculiarities of the effect of Mozart's music on the electrical activity of the brain have been studied in two directions: the frequency of the rhythmic change and the actual frequency of the sound. However, in the literature there are no data on the relationship between the amplitude-frequency characteristics of Mozart's works and the psychosomatic functions of the body.

In the present study, the amplitude-frequency composition of the used audio signals is investigated. The spectral analysis was carried out using the Matlab application software package, which calculated the sound energy fraction of the studied musical compositions in the one-third octave frequency bands throughout the duration of the audio signal.

To study the electrophysiological indicators of the central nervous system, the method of electroencephalography (EEG) was used [18]. The EEG was recorded monopolarly using the computerized electroencephalograph Neuroscope-416 (NPF Biola, Ukraine) and silver cup electrodes placed in the leads according to the international system «10-20» on 16 channels (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, C3, C4, P3, P4, O1, O2). EEG recording was performed in the 0.5 to 70.0 Hz passband. A ground electrode was placed on the subject's forehead.

The absolute power spectral density (PSD) was used as a quantitative parameter of the electroencephalogram. The spectral analysis of EEG was performed using the fast Fourier transform algorithm to calculate the PSD in standard ranges of physiological frequencies of the main brain rhythms: alpha, beta, theta, and delta [2, 20]. Licensed software of the Neuroscope-416 computer electroencephalograph was used for EEG registration and processing.

At the time of EEG recording, the patient was in the soundproof chamber in a state of quiet wakefulness with eyes closed. The study was performed in a comfortable environment, in the morning, in a sitting position. At the beginning of each study, 3 minutes of EEG were recorded



in a state of quiet wakefulness, with eyes closed, in the absence of any sound stimuli. These data were considered background. During the next part of the study, the EEG was recorded while the subject listened to the different audio stimuli. The signals were reproduced binaurally, and the sound sources were amplified using vacuum headphones. The sequences of audio signals generated on the computer were the load options. Each audio signal was listened to three times by the subject during a ten-minute period of quiet wakefulness with eyes closed and no sound signals between audio stimuli.

To assess the functional state of the respiratory system, the method of spirometry was used – the method of graphic registration of changes in lung volumes during natural and forced respiratory movements [21].

An open type spirometric complex Spiro-Spectrum (KhAI-Medika, Ukraine) was used in the study. The basic requirements for spirometric examinations [2, 21] were observed. Calculation of spirometric indicators and their normative values was carried out using the software Spirokom-Standard.

Functional changes in BA are associated with a decrease in the main spirometric velocity indicators that reflect the degree of bronchial obstruction (BO), namely

- Forced vital capacity (FVC) of the lungs – the volume of air expired (in liters) during the fastest and most forceful exhalation.

- Forced Expiratory Volume (FEV1) – the volume of air (in liters) exhaled in the first second of forced exhalation.

- Forced expiratory flow (FEF) after exhalation of 25 %, 50 %, 75 % of FVC, calculated from the beginning of exhalation (FEF25, FEF50, FEF75, respectively, liters/second).

- Tiffno Index (FEV1/FVC, %).

These indicators are diagnostic criteria for bronchial obstruction (BO) and are used to determine the severity of BO [2].

The calculation of velocity indicators is of great importance in identifying signs of bronchial obstruction. A decrease in Tiffno index and FEV1 is a characteristic

symptom of diseases associated with a decrease in bronchial patency.

FEF indicators are used in the diagnosis of early manifestations of BO. FEF75 reflects the patency of the large bronchi. FEF25-50 indicates the state of patency of small bronchi and bronchioles, which characterizes the early stages of impaired ventilatory function.

Statistical Analysis. Independent samples t-test and Mann-Whitney U-test, as appropriate for the type of data being analyzed, were used to assess statistical significance. Data were analyzed using IBM SPSS Statistics 19 software. The precision of the differences in EEG PSD levels (background and music exposure) for each subject was assessed by the Mann-Whitney U test. The statistical reliability of the Mann-Whitney U-test indicators was set at  $p=0.05$ . Reliability of values of EEG PSD levels for the whole group of subjects was assessed by Student's criterion ( $p<0.05$ ) [20, 22, 23].

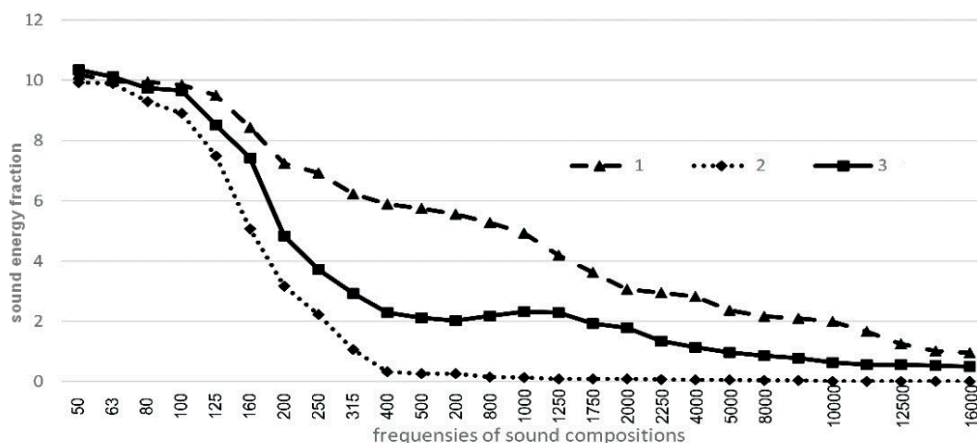
## Results

In order to analyze the contribution of the mentioned audio signals to the physiological response, a fraction of the total sound energy of each frequency band of the studied musical fragments was used. This indicator combines all musical works into one group – sound stimuli of different amplitude-frequency range.

The percentage of the sound energy of the selected musical compositions in one-third octave frequency bands was calculated using the Matlab software (Fig. 1).

According to the sound energy values of the musical fragments, all the studied frequencies of the sound range can be divided into three groups: low (LF), medium (MF) and high (HF) frequencies according to the frequency range perceived by the human ear. For low frequencies, typical frequencies are approximately from 50 Hz to 315 Hz, for medium frequencies, typical frequencies are approximately from 315 Hz to 3 kHz, and for high frequencies, typical frequencies are approximately from 3 kHz to 16 kHz.

There is a graph of the sound energy fraction distribution in one-third octave bands during the audio exposure time (Fig. 1).



**Fig. 1.** Graph of sound energy fraction distribution in one-third octave bands during the period of audio exposure. Ordinate: fraction of sound energy. Abscissa: frequency of sound compositions. Graph: line 1 – audio fragment 1, line 2 – audio fragment 2, and line 3 – audio fragment 3

From the graphs in Figure 1, it can be seen that in musical fragment 1, the percentage of low-frequency sound energy dominates over the medium and high frequencies that are also present in this musical fragment. In musical fragment 2, the low-frequency component dominates against the background of the absence of medium and high frequencies. Musical fragment 3 does not contain high frequency audio signals, but this fragment contains low and medium frequencies with a low percentage of sound energy.

The clinical and psychological study of the influence of music on the ventilatory function of the lungs was carried out in two stages. In each stage, boys and girls between the ages of 9 and 14 were included in the research.

Twenty-five children with clinically diagnosed BA participated in the first stage of the research. According to spirometry, at the time of the study the children were diagnosed with obstructive impairment of the ventilatory function of the bronchopulmonary system of moderate severity.

First of all, the musical influence on the indicators of electrical activity of the brain was studied, namely the PSD of brain rhythms (alpha, beta, delta and theta rhythms) in relation to the background EEG values when listening to the studied audio signals. The results of this series of studies are presented in Table 1.

After listening to each piece of music, the effect of the selected pieces of music on bronchial ventilatory function was studied.

**Table 1**

**Change of PSD of the brain rhythms under the audio signals influence (n=25, M±m)**

| Indicators       | Average values of PSD indicators |           |           |           |                    |           |           |           |                    |           |           |           |
|------------------|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|--------------------|-----------|-----------|-----------|--------------------|-----------|-----------|-----------|
|                  | Under the audio signal influence |           |           |           |                    |           |           |           |                    |           |           |           |
|                  | № 1                              |           |           |           | № 2                |           |           |           | № 3                |           |           |           |
|                  | Main brain rhythms               |           |           |           | Main brain rhythms |           |           |           | Main brain rhythms |           |           |           |
|                  | α                                | β         | θ         | δ         | α                  | β         | θ         | δ         | α                  | β         | θ         | δ         |
| Before listening | 25,3±0,8                         | 39,0 ±1,6 | 36,3 ±1,5 | 27,7 ±3,2 | 18,3±2,1           | 45,0 ±2,5 | 18,0 ±1,7 | 22,3 ±1,5 | 32,3±1,5           | 50,3 ±1,9 | 44,6 ±3,1 | 35,8 ±0,8 |
| During listening | 28,1±0,2                         | 32,5 ±1,6 | 34,3 ±1,5 | 31,4 ±3,2 | 22,3 ±2,1          | 42,0 ±2,5 | 15,0 ±1,7 | 18,3 ±1,5 | 47,7±2,5           | 39,6 ±1,9 | 36,5 ±3,1 | 25,3 ±0,8 |
| After listening  | 27,5±0,9                         | 31,0 ±1,6 | 32,5 ±1,5 | 33,7 ±3,2 | 23,3 ±2,1          | 36,3 ±2,5 | 16,0 ±1,7 | 21,3 ±1,5 | 43,5 ±2,5          | 42,3 ±1,9 | 37,6 ±3,1 | 26,3 ±0,8 |

Note: reliability of the differences in the external respiration function indicators of the subjects according to the Student's criterion was  $p < 0,05$ .

The development of bronchial patency was assessed on the basis of spirometric data, which testify to the effectiveness of the influence of musical audio signals on the autonomic regulation of the smooth muscle tone of the bronchial tree.

Before listening to musical fragments, spirometric indicators of respiratory function were 10-30 % lower than the reference values. After listening to the sound signals, the indicators chosen to characterize the respiratory function normalized in 68±1,1 % of the subjects of the first

group (group A). In the subjects of the second group the figures were 32±1,1 % (group B), and there was no reliable improvement of the respiratory function after listening to musical fragments.

In the first group – group A – the influence of the heard sound fragments leads to the normalization of the indicators of the ventilatory function of the lungs, the research results are presented in Table 2.

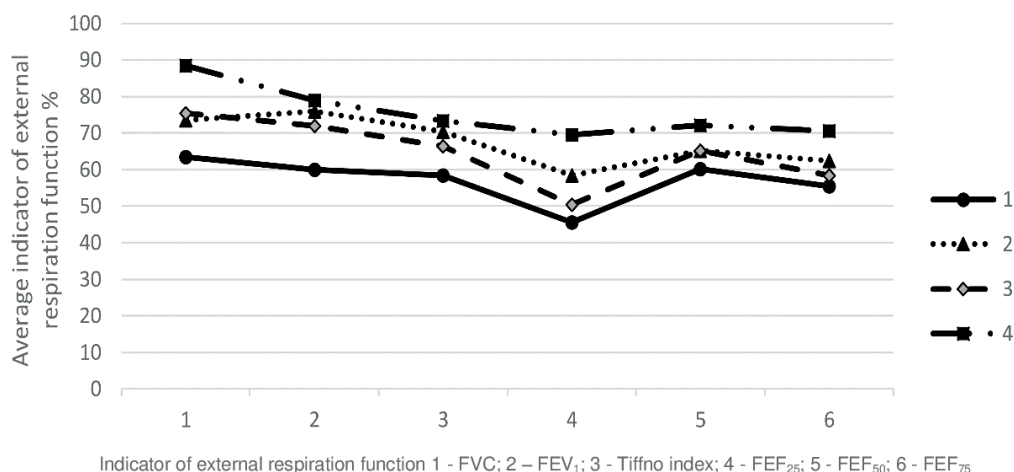
Distribution of changes in forced breathing indicators in the subjects is shown in Figure 2.

**Table 2**

**Absolute changes in spirometry indicators under the influence of the audio signals (n=25, M±m)**

| Forced exhalation indicators | Average values of forced exhalation indicators | Average values of forced exhalation indicators | Average values of forced exhalation indicators | Average values of forced exhalation indicators | Reference values |
|------------------------------|--|--|--|--|------------------|
|                              |  | Under the audio signal influence               |  |  |                  |
|                              |  | № 1  | № 2  | № 3  |                  |
| FVC                          | 63,5±2,17                                      | 73,5±2,35                                      | 75,5±1,07                                      | 88,5±1,07                                      | 100-80 %         |
| FEV <sub>1</sub>             | 59,9±2,02                                      | 75,9±1,92                                      | 71,9±1,25                                      | 78,9±2,92                                      | 100-80 %         |
| Tiffno index                 | 58,4±2,19                                      | 70,4±2,19                                      | 66,4±2,19                                      | 73,4±2,19                                      | 100-75 %         |
| FEF <sub>25</sub>            | 45,5±2,32                                      | 58,5±2,82                                      | 50,5±2,82                                      | 69,5±2,82                                      | 100-55 %         |
| FEF <sub>50</sub>            | 60,2±2,05                                      | 65,2±2,05                                      | 65,2±2,05                                      | 72,2±2,05                                      | 100-65 %         |
| FEF <sub>75</sub>            | 55,5±1,04                                      | 62,5±1,24                                      | 58,5±2,14                                      | 70,5±1,55                                      | 100-60 %         |

Note: reliability of the differences in the external respiration function indicators of the subjects according to the Student's criterion was  $p < 0,05$ .



**Fig. 2. Comparative analysis of spirometry indicators in the examined children before and after influence of various audio signals: 1 – before listening; 2 – audio fragment 1; 3 – audio fragment 2; 4 – audio fragment 3. Abscissa: indicator of external respiration function: 1 – FVC; 2 – FEV1; 3 – Tiffno index; 4 – FEF25; 5 – FEF50; 6 – FEF75. Ordinate: average indicator of forced exhalation.**

The analysis of the obtained results showed that only when listening to the musical fragment 3 there were changes of the ventilation indicators to the reference values in 100 % of the examined persons.

At the second stage the specifics of musical influence on children with bronchopulmonary pathology were studied. At this stage of the research, audio fragment 3 was used as a factor of musical influence and it showed the highest efficiency in normalization of ventilation parameters.

At this stage of the study 25 children with bronchial hyperreactivity syndrome, diagnosed with obstructive respiratory failure of mild and moderate severity according to spirometry data, were included. At this stage, we studied the effect of musical fragment 3 on pulmonary ventilation function and indicators of electrical activity of the brain of children who were not initially diagnosed with BA. The results are presented in Table 3.

**Table 3**

**Absolute changes in spirometry indicators under the influence of the audio signals, control group – children with hyperreactivity syndrome (n=25, M±m)**

| Spirometry indicators | Average spirometry values (n=25) | Average spirometry values Group I (n=16) | Average spirometry values Group II (n=9) | Reference values |
|-----------------------|----------------------------------|--|--|------------------|
|                       |                                  | Under audio signal 3 influence           |  |                  |
| FVC                   | 70,2±2,07                        | 67,5±3,76                                | 80,1±2,23                                | 100-80 %         |
| FEV <sub>1</sub>      | 58,0±1,64                        | 57,8±2,47                                | 79,4±3,03                                | 100-80 %         |
| Tiffno index          | 63,4±2,19                        | 66,4±2,19                                | 73,4±2,19                                | 100-75 %         |
| FEF <sub>25</sub>     | 53,6±1,97                        | 54,8±2,25                                | 58,5±2,82                                | 100-55 %         |
| FEF <sub>50</sub>     | 57,5±1,52                        | 54,8±2,25                                | 67,1±3,05                                | 100-65 %         |
| FEF <sub>75</sub>     | 61,4±2,06                        | 59,4±1,95                                | 69,4±2,37                                | 100-60 %         |

Note: reliability of the differences in the external respiration function indicators of the subjects according to the Student's criterion was  $p < 0,05$ .

As a result of the study, two groups of children were identified according to their response to the influence of the audio signal 3. The first group (group I) included 16 children in whom no statistically significant deviations from clinically normative spirometric indicators were found. Children of this group were not diagnosed with BA. Various forms of somatic changes in the bronchopulmonary system were observed in the anamnesis of the children. Children of this group did not show statistically significant changes in the value of PSD of brain rhythms under the influence of the studied musical fragment.

Children of the second group (group II), which consisted of 9 children, showed a statistically significant

improvement of spirometric indicators. BA was diagnosed in children of this group.

Analysis of the obtained results showed that only when listening to musical fragment 3, 100 % of the examined persons showed improvement of standard spirometric indicators of ventilation to the reference values.

Analysis of PSD of brain rhythms in children of this group, when listening to musical fragment 3, shows that the value of PSD of  $\alpha$ -rhythm increases on average by  $46.5 \pm 3.6$  %. The change of PSD of other rhythms in relation to EEG values is less pronounced, and for  $\theta$ -rhythm it shows a decrease by  $14.5 \pm 2.8$  %, and for  $\delta$ -rhythm by  $12.3 \pm 3.5$  %. Beta activity of the brain ( $\beta$  rhythm) decreased by  $22.5 \pm 2.1$  %.

## Discussion

It is known that among all EEG rhythms the most stable characteristics of psycho-emotional state of a person are changes in PSD of  $\alpha$  and  $\beta$  brain rhythms. It was established that  $\alpha$ -rhythm is inhibited during emotional experience, and the amplification of  $\beta$ -rhythms power occurs against the background of development of stressful situation for the individual. As for  $\delta$  and  $\theta$  rhythms, despite the lack of data on functional value of frequencies of these rhythms in emotional behavior of a person, there are facts that let us consider these rhythms as EEG correlates of psychophysiological orientation of a person. It is known that the increase of power of  $\theta$ -rhythm is the indicator of emotional excitation, and the increase of power of  $\delta$ -rhythm against the background of depression of PSD of  $\alpha$ -rhythm reflects the development of stress reaction. Thus, it is possible to use the changes of electrical characteristics of brain activity as indicators of realization of psycho-emotional reaction of the body to musical influence.

The effectiveness of the studied musical fragments as a psycho-emotional factor was assessed by the changes of the PSD of the main brain rhythms, primarily  $\alpha$  and  $\beta$  rhythms.

According to the results of the study, audio fragment 1, where the high-frequency components of the audio signal are insignificant and the energy of the audio signal is concentrated mainly in low and medium frequencies, practically doesn't change the PSD of the studied brain rhythms:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\theta$  and  $\delta$  rhythms changed in 1.1; 0.83; 0.94; 1.13 times, respectively.

Audio fragment 2, where mainly low frequencies are present, like the first audio fragment, practically did not change the PSD of the studied brain rhythms. PSD of brain rhythms  $\beta$ ,  $\theta$  and  $\delta$  changed in 0.9; 0.8; 0.8 times, respectively. Under the influence of this audio signal, the change of  $\alpha$ -rhythm is expressed more significantly in 1.2 times, which corresponds to the increase of PSD rhythm by  $20.0\% \pm 2.2\%$  ( $p=0.05$ ).

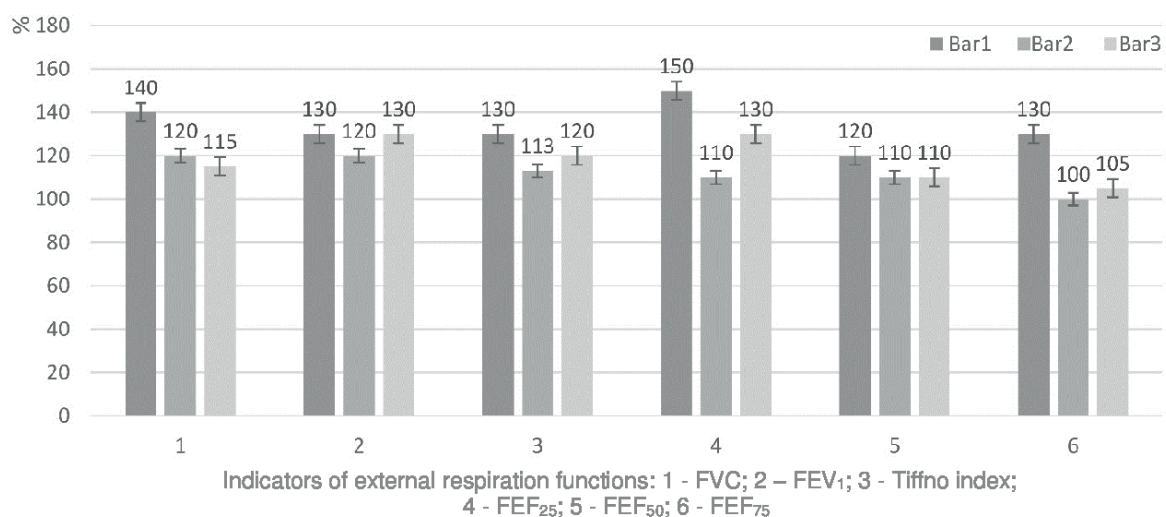
Audio Fragment 3, an excerpt from The Magic Flute by W. A. Mozart, has the most effective musical influence. It does not contain high frequency sound signals, but this fragment contains low and medium frequencies with a low percentage of sound energy. When listening to audio fragment 3, the most significant change in PSD of the studied brain rhythms is noticed:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\theta$  and  $\delta$  rhythms changed in 1.49; 0.69; 0.81; 0.74, respectively.

PSD of  $\alpha$ -rhythm increased on average by  $49.0 \pm 2.0\%$  ( $p<0.05$ ), and at the same time  $\beta$ -rhythm decreased by  $31.0 \pm 3.6\%$  ( $p<0.05$ ). Under the influence of this audio fragment, PSD of other brain rhythms changed in this way: PSD of  $\theta$  and  $\delta$  rhythms decreased by  $19.0 \pm 3.1\%$  ( $p<0.05$ ) and by  $29.0 \pm 0.8\%$  ( $p<0.05$ ), respectively.

Since the indicators of psycho-emotional state of a person are first of all changes in PSD of  $\alpha$ - and  $\beta$ -rhythms of the brain, it can be concluded that audio fragment 3 leads to the decrease of emotional stress through the increase of PSD of  $\alpha$ -rhythm and on the other hand through the decrease of PSD of  $\beta$ -rhythm. A combined change in the activity of these rhythms leads to a balance between excitation and inhibition in emotional experiences.

In accordance with the purpose of this research, we studied the effectiveness of the influence of the studied musical fragments as a psycho-emotional factor on the ventilatory function of the bronchi in patients with BA.

Before listening to musical fragments, spirometric indicators of respiratory function were 10-30% lower than control indicators. The spirometric data show an improvement of bronchial patency in  $68.0 \pm 1.1\%$  of subjects (group A) against the background of exposure to sound signals. Musical influence led to normalization of ventilatory function to varying degrees (Fig. 3.). When listening to audio fragment 3, a significant improvement of standard spirometric ventilation indicators towards the reference indicators was observed in 100% of the examined group A.



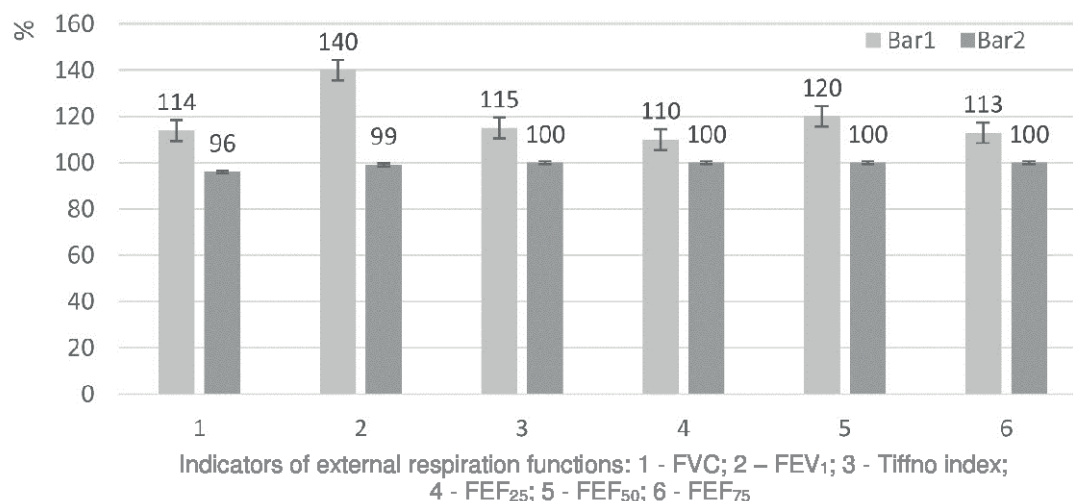
**Fig. 3. Relative changes in spirometric indicators under the influence of the audio fragments. Abscissa: 1 – FVC; 2 – FEV1; 3 – Tiffno index; 4 – FEF<sub>25</sub>; 5 – FEF<sub>50</sub>; 6 – FEF<sub>75</sub>. Bar 1 indicates audio fragment 3, bar 2 indicates audio fragment 1, bar 3 indicates audio fragment 2.**

The study of the specifics of the musical influence on children diagnosed by spirometry with obstructive respiratory failure of mild and moderate severity was

carried out using the audio fragment 3, which, as it turned out, not only increased the spirometric indicators in 100% of the subjects, but also significantly increased all

the studied spiropographic indicators in the direction of the reference values.

An improvement in respiratory function was noted in patients diagnosed with BA (Fig. 4).



**Fig. 4. Relative changes in spiropographic indicators under the influence of audio fragments in the group of children who, according to spirometry data, were diagnosed with obstructive ventilation failure of mild and moderate severity. Abscissa: 1 – FVC; 2 – FEV1; 3 – Tiffno index; 4 – FEF<sub>25</sub>; 5 – FEF<sub>50</sub>; 6 – FEF<sub>75</sub>. Bar 1 indicates children diagnosed with BA (Group B), bar 2 indicates children without BA.**

It was found that in children of this group, after listening to audio fragment 3, there was a significant improvement in spiropographic indicators against the background of an increase in PSD of alpha brain rhythm, which may indicate a decrease in psycho-emotional stress. On the other hand, there was a decrease in PSD rhythms responsible for such sensations as fear, anxiety and depression.

Thus, a change in the activity of the main brain rhythms (alpha and beta rhythms) under the influence of sound signals with a predominance of low and medium frequencies (audio fragment 3) causes a balance between excitation and inhibition in emotional experience and contributes to the normalization of the external respiratory function in children with BO.

## Conclusions

1. For the first time in Ukraine a systematic study of the effect of audio signals on the human body with a recreational purpose, namely for the treatment of bronchial asthma in children, was started.

2. Audio influence causes change of absolute power spectral density of brain rhythms in children suffering from bronchial asthma with predominance of neurovegetative and psychosomatic disorders.

3. Reliable normalization of spiropographic indicators in children with bronchial asthma under the influence of selected musical melodies of certain frequency proves a positive effect on the reflex chain consisting of sequentially interacting central and autonomic nervous systems. The result of this interaction is the expansion of the smooth muscles of the bronchi and the relief of bronchospasm.

4. Changes in activity of  $\alpha$  and  $\beta$  rhythms under the influence of sound signals with predominance of low and medium frequencies (audio fragment 3) contribute to normalization of external respiratory function in children with bronchial asthma by reducing psycho-emotional stress.

5. In the future, when developing rehabilitation programs for children with different degrees of severity of bronchial asthma, it is possible to introduce music therapy into the programs in order to influence the psycho-emotional status of the patient.

**Conflict of interest:** the authors have declared no conflict of interest.

**Source of funding:** self-funding.

## References:

1. Brill SR, Patel DR, MacDonald E. Psychosomatic disorders in pediatrics. *Indian J Pediatr.* 2001;68(7):597-603. doi: 10.1007/BF02752270
2. Ostrovskyy MM, Kulynych-Miskiv MO, Korzh GZ et al. Pulmonary Disease: study guide for the English students of higher educational institutions of IV accred. levels. Ivano-Frankivsk: IFNMU; 2014.
3. Besh LV. Bronkhial'na astma u ditei [Bronchial asthma in children]. *Zdorov'ia dytyny* [Internet]. 2012[tsytovano 2023 Zhov 30];8(43). Dostupno: [http://www.mif-ua.com/archive/article\\_print/34983](http://www.mif-ua.com/archive/article_print/34983) (In Ukrainian)
4. McGeachie MJ. Childhood asthma is a risk factor for the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2017;17(2):104-9. doi: 10.1097/ACI.0000000000000348
5. Ribeiro JD, Fischer GB. Chronic obstructive pulmonary diseases in children. *J Pediatr (Rio J).* 2015;91(6S1): S11-25. doi: 10.1016/j.jpmed.2015.06.003
6. Bradt J, Dileo C, Potvin N. Music for stress and anxiety reduction in coronary heart disease patients. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2013[cited 2023 Oct 28]; 2013(12): CD006577. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD006577.pub3/full> doi: 10.1002/14651858.CD006577.pub3

7. Mainka S, Spintge R, Thaut MH. Music Therapy in Medical and Neurological Rehabilitation Settings. In: Hallam S, Cross I, Thaut M, editors. The Oxford Handbook of Music Psychology. 2nd ed. Oxford University Press; 2016. p. 857-74 doi: 10.1093/oxfordhb/9780198722946.013.51
8. Kew KM, Nashed M, Dulay V, Yorke J. Cognitive behavioural therapy (CBT) for adults and adolescents with asthma. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2016[cited 2023 Oct 28];9(9): CD011818. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD011818.pub2/full> doi: 10.1002/14651858.CD011818.pub2
9. Canga B, Azoulay R, Raskin J, Loewy J. AIR: Advances in Respiration – Music therapy in the treatment of chronic pulmonary disease. Respir Med. 2015;109(12):1532-9. doi: 10.1016/j.rmed.2015.10.001
10. Smith HE, Jones CJ. Psychological Interventions in Asthma. Curr Treat Options Allergy. 2015;2:155-68. doi: 10.1007/s40521-015-0051-3
11. Thaut MH. The future of music in therapy and medicine. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1060:303-8. doi: 10.1196/annals.1360.023
12. Nawaz R, Nisar H, Voon YV. The Effect of Music on Human Brain; Frequency Domain and Time Series Analysis Using Electroencephalogram. IEEE Access. 2018;6:45191-205. doi: 10.1109/ACCESS.2018.2855194
13. Britton JW, Frey LC, Hopp JL, Korb P, Koubeissi MZ, Lievens WE, et al. Electroencephalography (EEG): An Introductory Text and Atlas of Normal and Abnormal Findings in Adults, Children, and Infants [Internet]. St. Louis EK, Frey LC, editors. Chicago: American Epilepsy Society; 2016 [cited 2023 Oct 28]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK390354/>
14. Kanda PAM, Anghinah R, Smidth MT, Silva JM. The clinical use of quantitative EEG in cognitive disorders. Dement Neuropsychol. 2009;3(3):195-203. doi: 10.1590/S1980-57642009DN30300004
15. Thoma MV, La Marca R, Brönnimann R, Finkel L, Ehlert U, Nater UM. The effect of music on the human stress response. PLoS One [Internet]. 2013[cited 2023 Oct 28];8(8): e70156. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0070156> doi: 10.1371/journal.pone.0070156
16. Desai R, Thaker R, Patel J, Parmar J. Effect of music on post-exercise recovery rate in young healthy individuals. Int J Res Med Sci. 2015;3(4):896-8. doi: 10.5455/2320-6012.ijrms20150414
17. Dornan T, Kelly M. Music and Medicine: being in the moment. MedEdPublish [Internet]. 2018[updated 2018 Sep 05; cited 2023 Oct 28];7:197. Available from: <https://mededpublish.org/articles/7-197> doi:10.15694/mep.2018.0000197.1
18. Boichyk KO, Kalashnikova LIe, Tolkach SI. Audiokorektsiia tsentral'nykh mekhanizmv rehuliatzii funktsii dykhannia u ditei z bronkhoobstruktyvnym syndromom. Biomedychna inzheneriia i tekhnolohiia [The audiocorrection of the central mechanisms of regulation of children's respiratory function with broncho-obstructive syndrome]. 2018;1:29-34. doi: 10.20535/2617-8974.2018.1(1).152113 (In Ukrainian)
19. Campbell DG. The Mozart Effect for Children: Awakening Your Child's Mind, Health, and Creativity with Music. 4 ed. William Morrow/HarperCollins; 2000. 288 p.
20. Verbyts'kyi Ye. V. Shvydke peretvorenna Fur'ie modul'ovanykh syhnaliv, predstavlenykh riadom Fur'ie dvokh zminnykh [A fast fourier transform of modulated signals based on double fourier series]. Visnyk Natsional'noho tekhnichnoho universytetu «KhPI». Seriya: Novi rishennia v suchasnykh tekhnolohiakh. 2018;16(1292):102-6. (In Ukrainian)
21. McCarthy K. Pulmonary Function Testing. Medscape [Internet]. 2020 May 14 [cited 2023 Oct 28]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/303239-overview>
22. Schäfer T, Sedlmeier P, Städtler C, Huron D. The psychological functions of music listening. Front Psychol [Internet]. 2013[cited 2023 Oct 28];4:511. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyg.2013.00511/full> doi: 10.3389/fpsyg.2013.00511
23. Larini M, Barthes A. Quantitative and Statistical Data in Education: From Data Collection to Data Processing. Wiley-ISTE; 2018. 304 p.

## ПСИХОСОМАТИЧНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЮВАННЯ ФУНКЦІЇ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ У ДІТЕЙ З БРОНХІАЛЬНОЮ АСТМОЮ ПРИ ПРОСЛУХУВАННІ АУДІО СИГНАЛІВ РІЗНОГО КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ

*Л. Є. Калашинікова<sup>1</sup>, С. А. Найдя<sup>2</sup>, В. С. Дідковський<sup>2</sup>, В. П. Засць<sup>2</sup>, С. Г. Бартенев<sup>3</sup>*

**Факультет біомедичної інженерії Національного технічного університету України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»<sup>1</sup>,**

**Факультет електроніки Національного технічного університету України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»<sup>2</sup>,**

**Відділення респіраторних хвороб та респіраторної алергії у дітей Інституту педіатрії,  
акушерства і гінекології НАМН України<sup>3</sup>  
(м. Київ, Україна)**

### Резюме.

Для лікування бронхіальної астми (БА) використовується комплексний підхід, який включає як медикаментозні, так і альтернативні методи, що впливають на психоемоційний стан пацієнта. У зв'язку з цим, одним з методів найпотужнішого психоемоційного впливу на людину є музичний вплив.

**Метою** даної роботи є вивчення ефективності впливу звукових сигналів різного амплітудно-частотного діапазону на центральні механізми регуляції вентиляційної здатності бронхів хворих на БА.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 25 дітей віком від 9 до 14 років з клінічно виявленою БА. Використано три мелодії різного компонентного складу. Їх амплітудно-частотні характеристики аналізували в середовищі Matlab. Розраховували частку звукової енергії досліджуваних музичних композицій у третинооктавних смугах частот протягом всієї тривалості звукового сигналу.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програмного забезпечення IBM SPSS Statistics.

Дослідження проводили відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації. Схвалення Комісії з біоетики та деонтології (КБД) ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України»

надано на засіданні КДБ № 2 07.02.2020 р., також для підтвердження схвалення був виданий офіційний лист КБД № 2.6-04/280 від 28.05.2021.

**Результати дослідження.** Результати дослідження свідчать про те, що найефективніший музичний вплив здійснюється аудіо уривком із «Чарівної флейти» В. А. Моцарта. Встановлено, що під впливом музики підвищуються основні спірографічні показники бронхолегеневої обструкції і, відповідно, змінюються інтегральні характеристики біоелектричної активності головного мозку.

**Висновки.** Результати дослідження свідчать про достовірну нормалізацію показників спірографії у дітей, хворих на бронхіальну астму під впливом обраних музичних мелодій певної частоти. Ефективність впливу звуку на центральні механізми регуляції вентиляційної здатності бронхів може бути використана з профілактичною та лікувальною метою.

**Ключові слова:** вентиляційна функція бронхів; амплітудно-частотні характеристики; електроенцефалографія; біоелектрична активність мозку; абсолютна спектральна густина потужності.

#### Contact Information:

**Larysa Kalashnikova** – Ph.D. in Biology, Associate Professor, Deputy Dean for International Affairs, Faculty of Biomedical Engineering, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** doc\_hom2000@yahoo.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5816-134X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004999145>

**Serhiy Naida** – Doctor of Engineering, Professor, Head of Department of Acoustics and Multimedia Electronic Systems, Faculty of Electronics, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» (Kyiv, Ukraine).

**Email:** naida.s.a@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5060-2929>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1739597>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56587996100>

**Vitaliy Didkovskiy** – Doctor of Engineering, Professor, Department of Acoustics and Multimedia Electronic Systems, Faculty of Electronics, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» (Kyiv, Ukraine).

**Email:** v.didkovskiy@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-0807-822X>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1899624>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004277256>

**Vitaliy Zaets** – Ph.D. in Engineering, Associate Professor, Department of Acoustics and Multimedia Electronic Systems, Faculty of Electronics, National Technical University of Ukraine «Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute» (Kyiv, Ukraine).

**Email:** zaetsv84@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2232-9187>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57196299374>

**Serhiy Bartenev** – M.D. (pediatric pulmonologist), Department of Respiratory Diseases and Respiratory Allergies in Children, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**Email:** sb4198324@gmail.com

#### Контактна інформація:

**Калашнікова Лариса Євгенівна** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біомедицини інженерії, заступник декана з міжнародного співробітництва факультету біомедицини інженерії, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (м. Київ, Україна).

**e-mail:** doc\_hom2000@yahoo.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5816-134X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004999145>

**Найда Сергій Анатолійович** – доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри акустичних та мультимедійних електронних систем факультету електроніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (м. Київ, Україна).

**Email:** naida.s.a@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-5060-2929>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1739597>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56587996100>

**Дідковський Віталій Семенович** – доктор технічних наук, професор кафедри акустичних та мультимедійних електронних систем факультету електроніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (м. Київ, Україна).

**Email:** v.didkovskiy@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-0807-822X>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/1899624>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=7004277256>

**Засць Віталій Пантелєйович** – кандидат технічних наук, доцент кафедри акустичних та мультимедійних електронних систем факультету електроніки Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (м. Київ, Україна).

**Email:** zaetsv84@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2232-9187>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57196299374>

**Бартенєв Сергій Григорович** – пульмонолог-педіатр відділення респіраторних захворювань та респіраторних алергій у дітей Інституту педіатрії, акушерства та гінекології Національної академії наук України (м. Київ, Україна).

**Email:** sb4198324@gmail.com



Received for editorial office on 23/0/2023

Signed for printing on 12/10/2023

УДК: 616.681-053.7:576.2

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.9

**О. М. Горбатюк<sup>1</sup>, М. Ю. Веселий<sup>1</sup>,  
Є. В. Зброжик<sup>2</sup>**

Національний університет охорони здоров'я України  
імені П. Л. Шупика<sup>1</sup>,  
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені  
академіка О. М. Лук'янової НАМН України»<sup>2</sup>  
(м. Київ, Україна)

## ОЦІНКА ПСИХОЛОГІЧНОГО СТАНУ ПАЦІЄНТІВ ДИТЯЧОГО ВІКУ З ПЕРЕКРУТОМ ЯЄЧКА ТА ПСИХОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ

### Резюме

Проблема об'єктивної оцінки стану пацієнта з перекрутом яєчка, який поступив в ургентну клініку, стає все більш актуальною.

**Мета роботи** – оцінка ступеня та динаміки психологічного стану пацієнтів дитячого віку з перекрутом яєчка та психологічна корекція виявлених порушень.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідженні психологічного стану брали участь 27 дітей віком 11-16 років, що перенесли хірургічне втручання з приводу перекруту яєчка та мали психолого-неврологічні порушення з приводу патології та можливих наслідків. Психологічний стан дітей оцінювався шляхом аналізу отриманих при анкетуванні даних. Анкетування було проведено при виписці хворого зі стаціонару та через 1 місяць після операції на тлі проведення психологічної корекції виявлених порушень. Опитувальник діагностує сформований під впливом хвороби патерн відносин до самої хвороби, до її лікування, лікарям і медперсоналу, рідним і близьким, оточуючим, роботі (навчання), самотності і майбутнього, а також до своїх вітальних функцій (самопочуття, настрої, сон, апетит). Анкета, що модифікована до особистісного опитувальника Бехтеревського інституту, має 7 розділів та 7 тверджень, що відображають думку пацієнта з патологією яєчка.

Дослідження схвалено Біоетичною комісією обох закладів, що приймали участь в його проведенні.

При проведенні статистичної обробки отриманих даних із-за малої виборки цифрові дані надані в абсолютних величинах (n) та процентному співвідношенні (%).

Робота виконана в межах НДР «Розробка нових методів лікування та їх оцінка при вродженій та набутій хірургічній патології у дітей» (державний реєстраційний номер 0118U003564).

**Результати дослідження.** Після аналізу отриманих при анкетуванні даних серед досліджуваної групи дітей були виявлені 4 типи відношень: тривожний (n – 10; 37,05 %), obsесивно-фобічний (n – 9; 33,33 %), неврастеничний (n – 4; 14,81 %) та меланхолійний (n – 4; 14,81 %). Основою відновного післяопераційного лікування та реабілітаційних заходів у дітей з патологією яєчка має бути раціональна психотерапія, що направлена на роз'яснення особливостей післяопераційного періоду, послаблення нав'язливих сумнівів з приводу власної неповноцінності та підвищення медико-соціальної адаптації. Після хірургічного втручання, протягом першого місяця післяопераційного періоду, на тлі проведення психологічної корекції, невротичні зміни психіки пройшли у всіх дітей.

**Висновки.** 1. Вплив перекруту яєчка на психологічний стан пацієнтів дитячого віку є значним, що має стати важливим чинником у виборі лікувальної тактики. 2. Психологічний стан дитини з перекрутом яєчка значною мірою впливає на перебіг післяопераційного періоду та процес видужання. 3. Своєчасне ефективне хірургічне втручання з приводу патології яєчка у дітей усуває не тільки низку можливих ускладнень, але і вплив патології на психологічний стан пацієнта. 4. Мультидисциплінарна допомога при перекруті яєчка має відповідати всім принципам пацієнт-орієнтованої моделі та зосереджуватись на індивідуальних потребах пацієнта, особливостях клінічних підходів та факторів ризику. Цей підхід також включає урахування життєвих обставин, залучення пацієнта до прийняття клінічних рішень, надання об'єктивної інформації пацієнту та родині про доступні терапевтичні варіанти, забезпечення медичної та реабілітаційної допомоги.

**Ключові слова:** перекрут яєчка; діти; психологічні порушення; корекція.

### Вступ

Про вплив патології яєчка на психологічний стан пацієнта відомо давно. Ще у 1990 році Zernik H. et al. висловили думку про те, що душевний стан чоловіків досить легко збуджується при будь-яких патологічних станах дітородних органів і може породити думку про чоловіче безсилля [1]. Проблема об'єктивної оцінки стану пацієнта з перекрутом яєчка, який поступив в ургентну клініку, стає все більш актуальною. Сфера застосування систем оцінки стану пацієнта з ургентною хірургічною патологією все більш розширюється і охоплює проблеми діагностики, лікування, прогнозу і спостереження при багатьох захворюваннях, в тому

числі, при ургентній патології статевих органів у дітей та підлітків. У теперішній час запропоновано багато систем оцінки психологічного стану хворого, які досить часто конкурують одна з одною [2, 3, 4, 5].

Пацієнти дитячого віку з перекрутом яєчка складають 10-15 % серед дітей із синдромом набряклої калитки. Більшість авторів виділяють вік 10-16 років у виникненні цієї патології [6, 7]. В останні роки досягнуті значні успіхи у вивченні цього захворювання у дітей, що дозволило переглянути чисельні положення стосовно етіології і патогенезу з урахуванням анатомічних та фізіологічних особливостей дитячого організму у віковому аспекті. Досягнення дитячої хірургії та ане-



стезіології дозволили оптимізувати рекомендації щодо термінів, видів, обсягів хірургічних втручань при перекруті яєчка та ведення пацієнтів у післяопераційному періоді [8, 9, 10, 11]. Проте до сьогоднішнього часу не приділяється достатньо уваги впливу перекруту яєчка у хлопчиків на їх психологічний стан, що є суттєвим прорахунком і важливим напрямом для вивчення. Адже поряд з питаннями хірургічного лікування дітей з перекрутом яєчка у низку важливих питань постала проблема реабілітації цих пацієнтів, основним та майже єдиним заходом якої є протезування втраченого яєчка [12, 13, 14, 15]. Успішне лікування дітей з перекрутом яєчка вимагає наявності фахівців з різних галузей знань. Хвилювання, що часто присутнє у пацієнтів з перекрутом яєчка та у їх батьків, стосується можливої фертильності, тому вірна лікувальна тактика з повноцінною психологічною допомогою має суттєво полегшити стан дитини і зменшити побоювання щодо здоров'я та подальшого життя [16, 17]. Наявність хірургічної патології у підлітків стає додатковим психотравмуючим фактором, який є дуже стресовим для дітей та призводить до зниження самооцінки, викликає фрустрацію, що може проявлятися різноманітними дисфункціональними реакціями. Пацієнти висловлюють стурбованість з приводу свого фізичного стану та страху за своє майбутнє, яке пов'язане з хірургічним втручанням. Ці фактори негативно впливають на активність у пацієнтів дитячого віку з перекрутом яєчка. Така стигматизація може призвести до поведінкових змін, депресії, тривоги та різних неврозоподібних станів. Хворі, які страждають на хірургічну патологію, потребують психологічної допомоги. Метою психологічної корекції у цьому випадку є зміна ставлення хворого до своєї хвороби, до самого себе і до свого оточення. Вона повинна ґрунтуватися насамперед на знанні типів особистості, особливостей, що складаються в процесі хвороби, особистісних відносин, що охоплюють як саму хворобу, так і все, що з нею пов'язано [5].

Врахування порушень психологічного стану пацієнта є необхідністю у хірургічних стаціонарах. В патопсихології у визначенні нормального життя людини дотримуються положення ВООЗ, відповідно до якого під нормою розуміють не тільки відсутність хвороб, але й стан фізичного, соціального і психічного благополуччя [18].

Мета роботи – оцінка ступеня та динаміки психологічного стану пацієнтів дитячого віку з перекрутом яєчка та психологічна корекція виявлених порушень.

Матеріал та методи дослідження. У дослідженні психологічного стану брали участь 27 дітей віком 11-16 років, що перенесли хірургічне втручання з приводу перекруту яєчка та мали психолого-неврологічні порушення з приводу патології та можливих наслідків. У 12 досліджуваних пацієнтів була здійснена орхектомія через тестикулярний некроз на тлі васкулярної обструкції та тестикулярної ішемії. 15 дітей мали післяопераційні ускладнення збереженого яєчка (орхіт, водянку оболонки яєчка, гематоцеле) [19]. Всі пацієнти поступили до хірургічного стаціонару через 8-12 годин від початку захворювання [20].

Психологічний стан дітей оцінювався шляхом аналізу отриманих при анкетуванні даних. Анкетування було проведено при виписці хворого зі стаціонару та через 1 місяць після операції на тлі проведення психологічної корекції виявлених порушень. Анкета була складена відповідно до рекомендацій з психодіагностики дітей та підлітків НПУ імені М. П. Драгоманова та побудована на принципі психології ставлення до самої хвороби, до навчання, майбутнього, оточення тощо [21]. Діагностика типів відносин до хвороби, необхідна для використання диференційованих психокорекційних та реабілітаційних програм, може здійснюватися тим же шляхом, який зазвичай використовується в медичній психології – шляхом розпитування хворого, спостереження за його поведінкою, збирання відомостей від рідних і близьких тощо. Опитувальник діагностує сформований під впливом хвороби патерн відносин до самої хвороби, до її лікування, лікарям і медперсоналу, рідним і близьким, оточуючим, роботі (навчання), самотності і майбутнього, а також до своїх вітальних функцій (самопочуття, настрої, сон, апетит) [22, 23, 24].

Наша анкета, модифікована до особистісного опитувальника Бехтеревського інституту, має 7 розділів та 7 тверджень, що відображають думку пацієнта з патологією яєчка, та виглядає наступним чином.

#### I. САМОПОЧУТТЯ:

1. З тих пір як я захворів в мене майже завжди погане самопочуття.
2. Дурне самопочуття я стараюсь перебороти.
3. Погане самопочуття я стараюсь не показувати іншим.
4. Я стараюсь терпляче переносити біль і фізичні страждання.
5. Моє самопочуття задовольняє мене.
6. З тих пір як я захворів, у мене буває погане самопочуття з приступами роздратованості і почуттям пригнічення.

0. Жодне з визначень мені не підходить.

#### II. НАСТРІЙ:

1. Через хворобу я буваю нетерплячим і роздратованим.
2. У мене настрої погіршуються від невпевненості у майбутньому.
3. У мене бувають приступи роздратованості.
4. Через хворобу у мене завжди тривожний настрій.
5. Мій поганий настрій залежить від поганого самопочуття.
6. Мій настрій задовольняє мене.

0. Жодне з визначень мені не підходить.

#### III. СОН:

1. Якщо мене щось тривожить, я довго не можу заснути.
2. У мене поганий і неспокійний сон і бувають гнітючі сновидіння.
3. Ночами у мене бувають приступи страху.
4. Ночами мене переслідують думки про мою хворобу.
5. З тих пір як я захворів мені сняться різні хвороби.
6. Мій сон задовольняє мене.
0. Жодне з визначень мені не підходить.

#### IV. СТАВЛЕННЯ ДО ХВОРОБИ:

1. Моя хвороба мене лякає.
2. Мені байдуже що зі мною буде.
3. Без кінця думаю про можливі ускладнення через мою хворобу.
4. Я вважаю, що моя хвороба набагато важча, ніж про це кажуть лікарі.
5. Хвороба мене не непокоїть.
6. Вважаю, що небезпечність моєї хвороби лікарі перебільшують.

0. Жодне з визначень мені не підходить.

#### V. СТАВЛЕННЯ ДО РІДНИХ ТА БЛИЗЬКИХ:

1. Я стараюсь рідним та близьким не показувати вигляду який я хворий, щоб не пригнічувати їм настрої.
2. Мене охоплюють думки, що через мою хворобу моїх близьких чекають труднощі та негаразди.
3. Я соромлюсь своєї хвороби.
4. Через хворобу я став тягарем для своїх рідних.
5. Здоровий вигляд близьких викликає у мене неприязнь.
6. Я стараюсь не говорити про мою хворобу.

0. Жодне з визначень мені не підходить.

#### VI. ВІДНОШЕННЯ ДО НАВЧАННЯ:

1. Хвороба робить мене нездатним навчатися.
2. Моє навчання стало для мене зовсім байдужим.
3. Через хворобу мені стало не до навчання.
4. Я стараюсь щоб за місцем навчання не знали і не говорили про мою хворобу.
5. Я вважаю, що не дивлячись на хворобу, потрібно продовжувати навчання.
6. Моє здоров'я не заважає мені навчатися.

0. Жодне з визначень не підходить.

#### VII. ВІДНОШЕННЯ ДО МАЙБУТНЬОГО:

1. Хвороба робить моє майбутнє сумним.
2. Не вважаю, що хвороба може суттєво відобразитися на моєму майбутньому.
3. Через мою хворобу я в постійній тривозі за своє майбутнє.
4. Мені байдуже що буде зі мною в майбутньому.
5. Своє майбутнє я цілком пов'язую з успіхами в навчанні.

6. Коли я думаю про своє майбутнє, мене охоплює смуток та дратівливість на інших людей.

0. Жодне з визначень не підходить.

Пацієнту необхідно вибрати з кожного розділу не більше 3-х тверджень, що заносяться у поданий реєстраційний бланк. За кожне співпадіння вибраної відповіді з нормативною нараховується один бал за тим чи іншим типом психічного реагування. Якщо у нормативному трафареті відмічена кілька типів на одну відповідь, то бали нараховуються за всіма ними. Висновок про переважаючий тип психічного реагування на захворювання робиться шляхом порівняння отриманих даних досліджуваного з мінімальними діагностичними числами. Діагностуються лише ті типи, які виявляються рівними чи переважаючими відповідне мінімальне діагностичне число.

У відповідях на питання анкети брали участь не тільки прооперовані діти, але і батьки. Беззаперечно, що до уваги треба приймати думку батьків, але вони мають бути проінформовані про природу захворювання, необхідність зробленого хірургічного втручання, його цілі, обсяг, наслідки та перспективи лікування.

При проведенні статистичної обробки отриманих даних із-за малої виборки цифрові дані надані в абсолютних величинах (n) та процентному співвідношенні (%).

Дослідження схвалено Біоетичною комісією обох закладів, що приймали участь в його проведенні.

Робота виконана в межах НДР «Розробка нових методів лікування та їх оцінка при вродженій та набутій хірургічній патології у дітей» (державний реєстраційний номер 0118U003564).

Результати дослідження та їх обговорення. Висновок про переважаючий тип психічного реагування дитини на захворювання робиться на основі порівняння отриманих даних досліджуваного пацієнта з мінімальними діагностичними числами. Діагностуються лише ті типи, які виявляються рівними чи переважаючими відповідне мінімальне діагностичне число.

Відповідно до методики проведеного анкетування досліджуваних пацієнтів інтерпретація результатів при виписці пацієнта зі стаціонару виглядає наступним чином:

| Тип реагування на захворювання | Т | М | А | Н | О | С | Я | З | П |
|--------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Мінімальне діагностичне число  | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 3 | 5 | 3 |

Позначення типів: Т – тривожний, М – меланхолійний, А – апатичний, Н – неврастенічний, О – обсессивно-фобічний, С – сенситивний, Я – егоцентричний, З – анозогнозичний, П – паранояльний.

Після аналізу отриманих при анкетуванні даних серед досліджуваної групи дітей були виявлені 4 типи відношень: тривожний (n – 10; 37,05 %), обсессивно-фобічний (n – 9; 33,33 %), неврастенічний (n – 4; 14,81 %) та меланхолійний (n – 4; 14,81 %).

При тривожному психологічному стані діти відчували неспокій стосовно несприятливого перебігу захворювання, можливих ускладнень, неефективності лікування, зміни настрою, вимагали додаткову інформацію про хворобу та існуючі методи лікування, цікавилися результатами аналізів та висновками суміжних спеціалістів. При афективних розладах настрою основне порушення полягало в зміні настрою, частіше в бік пригнічення, з почуттям тривоги.

1/3 пацієнтів з обсессивно-фобічним типом відношень хвилювались стосовно можливих ускладнень хвороби, невдач лікування, а також можливих невдач в житті та навчанні. Ситуаційна психогенна реакція – пацієнт дізнався, що в нього є небезпечно для здоров'я, продовження професійної діяльності або для життя, захворювання.

• При меланхолійному настрої мала місце неввіра в одужання та в ефективність лікування, депресивні висловлювання, песимістичний погляд на все довкола. Астено-іпохондричний синдром – при астенізації з'являється стійке переконання у невилікованості захворювання і безнадійності свого стану. Хворий заглиблюється у свою хворобу, твердо впевнений у тому, що симптоми загрожують його життю.

• *Неврози* при неврастеничному типі відношень – це порушення нервової діяльності та нейровегетативних функцій, що розвиваються переважно в емоційній сфері, під впливом психічних травм або емоційного напруження. Характерні групи клінічної симптоматики: розлади самоконтролю (дискомфорт, головний біль, зниження працездатності, підвищена втомлюваність); емоційні розлади (лабільність настрою, схильність до страхів і побоювань, схильність до депресивних реакцій); розлади ефекторно-вольової сфери (порушення апетиту, недостатній контроль за поведінкою).

Основою відновного післяопераційного лікування та реабілітаційних заходів у дітей з патологією яєчка має бути раціональна психотерапія, що направлена на роз'яснення особливостей післяопераційного періоду, послаблення нав'язливих сумнівів з приводу власної неповноцінності та підвищення медико-соціальної адаптації [25].

Реабілітаційні заходи для психологічної корекції виявлених порушень були проведені у всіх 27 (100 %) пацієнтів. Застосовувались:

1. Раціональна психотерапія – зміна психологічної установки стосовно наявного розладу та корекція помилок у поглядах хворого шляхом раціональних переконань.

2. Індивідуально-орієнтована психотерапія – спрямована на досягнення у хворого усвідомлення причинно-наслідкового зв'язку між його станом та процесом видужання, логічне переконання хворого та навчання пацієнта правильному мисленню, вироблення у хворого адекватного ставлення до хвороби.

3. Підтримуюча психотерапія – відновлення настрою і вироблення впевненості у відсутності серйозних проблем, розуміння зворотності хворобливого стану.

4. Системна сімейна психотерапія полягає у системному підході психологічні проблеми дитини, як симптомом сімейної системи. Основним принципом сімейної психотерапії є те, що порушення взаємостосунків та індивідуальні проблеми членів сім'ї є не персональної провини когось, а результатом порушення взаємосто-

сунків сімейної системи. Сімейна терапія може бути корисна в будь-якій сімейній ситуації, яка викликає стрес, горе, гнів або конфлікт. Це може допомогти дитині та членам сім'ї краще зрозуміти один одного і навчитися справлятися з труднощами разом.

Після хірургічного втручання, протягом першого місяця післяопераційного періоду невротичні зміни психіки пройшли у всіх дітей. Спостереження ілюструють достатньо широкі адаптивні та компенсаторні можливості організму дитини – ступінь клінічних проявів психопатологічних станів прямо пропорційна виду та обсягу хірургічного втручання та його ефективності, адже ситуаційні реакції та психогенні тривожні стани проходять після успішного виликування основного захворювання та вирішення проблеми на тлі проведення психологічної корекції порушень.

### Висновки

1. Вплив перекруту яєчка на психологічний стан пацієнтів дитячого віку є значним, що має стати важливим чинником у виборі лікувальної тактики.

2. Психологічний стан дитини з перекрутом яєчка значною мірою впливає на перебіг післяопераційного періоду та процес видужання.

3. Своєчасне ефективне хірургічне втручання з приводу патології яєчка у дітей усуває не тільки низку можливих ускладнень, але і вплив патології на психологічний стан пацієнта.

4. Мультидисциплінарна допомога при перекруті яєчка має відповідати всім принципам пацієнт-орієнтованої моделі та зосереджуватись на індивідуальних потребах пацієнта, особливостях клінічних підходів та факторів ризику. Цей підхід також включає урахування життєвих обставин, залучення пацієнта до прийняття клінічних рішень, надання об'єктивної інформації пацієнту та родині про доступні терапевтичні варіанти, забезпечення медичної та реабілітаційної допомоги.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Джерело фінансування:** за власний кошт.

### Література:

1. Zepnik H., Bukk A., Sommer G. Hodentraums – Aspekte zur Diagnostic, Therapie und Fertilitat. Z. Klin Med. 1990; 45 (6): 487-490.
2. Сіпливий ВО, Дронов АІ, Конь ЄВ. Оцінка тяжкості стану хірургічного хворого. Київ: Науковий світ; 2004. 101 с.
3. Schein M. Acute surgical disease and scoring systems in daily surgical practice. Br J Surg. 1988;75(8):731-2. doi: 10.1002/bjs.1800750803
4. Пилягіна ГЯ. Медична психологія. Т. 1, Загальна медична психологія. Вінниця: Нова Книга; 2020. 288 с.
5. Когутяк НМ, Мицько ВМ, Сидорик ЮР. Дитяча психологія з практикумом. Комплекс навчально-методичного забезпечення дисципліни. Івано-Франківськ; 2020. 124 с.
6. Friedman A.A., Palmer L. S., Maizels M., Bittman M. E., Avarello J. T. Pediatric acute scrotal pain: a guide to patient assessment and triage. J. Pediatr. Urol. 2016; 12 (20): 72-75.
7. Laher A, Ragavan S, Mehta P, Adam A. Testicular Torsion in the Emergency Room: A Review of Detection and Management Strategies. Open Access Emerg Med. 2020; 12:237-46. doi: 10.2147/OAEM.S236767
8. Muraliharan JS, Jacob TJK, Bollu BK, Graf N, Sebastian T, Thomas G. Surgical management of the acute paediatric scrotum: a three-year single centre experience. ANZ J Surg. 2021;91(11):2514-7. doi: 10.1111/ans.17231
9. Ryan KA, Folkard SS, Bastianpillai C, Green JSA. The management of testicular torsion in the UK: How can we do better? A national quantitative and qualitative analysis of the factors affecting successful testicular salvage. J Pediatr Urol. 2020;16(6):815. e1-8. doi: 10.1016/j.jpuro.2020.08.018
10. Osumah TS, Jimbo M, Granberg CF, Gargollo PC. Frontiers in pediatric testicular torsion: An integrated review of prevailing trends and management outcomes. J Pediatr Urol. 2018;14(5):394-401. doi: 10.1016/j.jpuro.2018.07.002

11. Vasdey N., Chadwick D., Thomas D. The acute pediatric scrotum: presentation, differential diagnosis and management. *Curr Urol.* 2012; 6(2): 57-61. Doi: 10.1159/000343509.
12. Bodiwala D, Summerton DJ, Terry TR. Testicular prostheses: development and modern usage. *Ann R Coll Surg Engl.* 2007;89(4):349-53. doi: 10.1308/003588407X183463
13. Peeraully R, Jancauskaite M, Dawes S, Green S, Fraser N. Does the source of referral affect outcomes for paediatric testicular torsion? *Ann R Coll Surg Engl.* 2019;101(6):411-4. doi: 10.1308/rcsann.2019.0045
14. Howe AS, Vasudevan V, Kongnyuy M, Rychik K, Thomas LA, Matuskova M, et al. Degree of twisting and duration of symptoms are prognostic factors of testis salvage during episodes of testicular torsion. *Transl Androl Urol.* 2017;6(6):1159-66. doi: 10.21037/tau.2017.09.10
15. Mellick LB, Sinex JE, Gibson RW, Mears K. A Systematic Review of Testicle Survival Time After a Torsion Event. *Pediatr Emerg Care.* 2019;35(12):821-5. doi: 10.1097/PEC.0000000000001287
16. Chanchlani R, Acharya H. Acute Scrotum in Children: A Retrospective Study of Cases With Review of Literature. *Cureus [Internet].* 2023[cited 2023 Aug 21];15(3): e36259. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10105644/pdf/cureus-0015-00000036259.pdf> doi: 10.7759/cureus.36259
17. Hu S, Guo M, Xiao Y, Li Y, Luo Q, Li Z, et al. Mapping trends and hotspot regarding testicular torsion: A bibliometric analysis of global research (2000-2022). *Front Pediatr [Internet].* 2023[cited 2023 Aug 21];11:1121677. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2023.1121677/full> doi: 10.3389/fped.2023.1121677
18. Поліщук С. А. Методичний довідник з психодіагностики: навчально-методичний посібник /С.А.Поліщук.- Суми: Університетська книга. 2009. 442с.
19. Barbosa J. A. Development of initial validation of a scoring system to diagnose testicular torsion in children. *The Journal of Urology.* 2013; 189: 1853-1858.
20. Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int.* 2003;92(3):200-3. doi: 10.1046/j.1464-410x.2003.04307.x
21. Алексеева Ю.А., Артемчук О. Г., Шишова О. М. Психодіагностика дітей та підлітків. Навчально-методичний посібник. К: НПУ імені М. П. Драгоманова. 2011-108с.
22. Kaminski J.W., Claussen A. N. Evidence base update for psychosocial treatments of disruptive behaviors in children. *J. Clinical child and adolescent psychology.* 2017; 46(4): 477-499. doi: 10.1080/15374416.2017.1310044.
23. Mellick L.B., Sinex J. E., Gibson R. W., Mears K. A. A systematic review of testicle survival time after a torsion event. *Pediatr. Emerg. Care.* 2019; 35 (12): 821-825.
24. Jaffee S. R. Child maltreatment and risk for psychopathology in childhood and adulthood. *Annual Review Clinical Psychology.* 2017; 13: 525-551. Doi: 10.1146/annurev-clinpsy-03816-045005.
25. Терлецька ЛГ. Психічне здоров'я особистості. Технологія самоаналізу. Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет»; 2016. 150 с.

## ASSESSMENT OF THE PSYCHOLOGICAL STATE OF PATIENTS OF CHILDHOOD AGE WITH TESTICULAR TORSION AND PSYCHOLOGICAL CORRECTION OF ITS DISORDERS

*O. Gorbatyuk<sup>1</sup>, M. Veselyi<sup>1</sup>, Y. Zbrozhyk<sup>2</sup>*

**Shupyk national university of health of Ukraine<sup>1</sup>,  
State institution «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova  
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»<sup>2</sup>  
(Kyiv, Ukraine)**

### Summary.

The issue of objective assessment of a patient's condition with testicular torsion, who has been admitted to an urgent clinic, is becoming increasingly relevant.

**The aim of the study** is to assess the degree and dynamics of psychological condition of pediatric patients with testicular torsion and psychological correction of identified disorders.

**Materials and methods.** The study of psychological state included 27 children aged 11-16 years, who underwent surgery for testicular torsion and had psycho-neurological disorders related to the pathology and possible consequences. The psychological state of the children was evaluated by analyzing the data obtained during the questionnaire. The questionnaire was administered after the patient's discharge from the hospital and one month after the operation, during the psychological correction of the identified disorders. The questionnaire diagnoses the formed pattern of attitudes towards the disease itself, its treatment, doctors and medical staff, family and close people, the environment, work (education), loneliness and the future, as well as towards vital functions such as well-being, mood, sleep and appetite. The questionnaire, modified into a personal survey based on the Bekhterev Institute, consists of 7 sections and 7 statements that reflect the patient's opinion regarding testicular pathology.

**Results.** After analyzing the data obtained from the questionnaire, four types of attitudes were identified in the group of children studied. Anxious: This type of attitude was observed in 10 participants, representing 37.05 % of the group (n = 10). Obsessive-phobic: This type of attitude was found in 9 participants, representing 33.33 % of the group (n = 9). Neurasthenic: A total of 4 participants exhibited this type of attitude, representing 14.81 % of the group (n = 4). Melancholic: This type of attitude was observed in 4 participants, also representing 14.81 % of the group (n = 4).

The basis of postoperative treatment and rehabilitation of children with testicular pathology should be rational psychotherapy aimed at explaining the peculiarities of the postoperative period, removing obsessive doubts about one's own inadequacy, and improving medical-social adaptation. After surgery, in the first month of postoperative period, along with psychological correction, neurotic changes in mental state disappear in all children.

### Conclusions

1. The impact of testicular torsion on the psychological state of pediatric patients is significant, which should become an important factor in choosing the treatment strategy.

2. The psychological state of a child with testicular torsion significantly influences the course of the postoperative period and the recovery process.

3. Timely and effective surgical intervention for testicular pathology in children not only eliminates a range of possible complications but also mitigates the impact of the pathology on the patient's psychological state.

4. Multidisciplinary assistance in the case of testicular torsion should adhere to all the principles of a patient-centered model and focus on the patient's individual needs, the specifics of clinical approaches, and risk factors. This approach also involves considering life circumstances, involving the patient in clinical decision-making, providing objective information to the patient and their family about available therapeutic options, and ensuring medical and rehabilitation support.

**Key words:** Testicular Torsion; Children; Psychological Disorders; Correction.

**Контактна інформація:**

**Горбатюк Ольга Михайлівна** – доктор медичних наук, професор, Заслужений лікар України, професор кафедри дитячої хірургії, анестезіології, ортопедії та травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м. Київ, Україна).

**e-mail:** ol.gorbatyuk@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1472-5737>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/AEA-1722-2022>

**Веселий Микита Юрійович** – аспірант кафедри дитячої хірургії, анестезіології, ортопедії та травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м. Київ, Україна).

**e-mail:** Nyveseliy@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4340-4924>

**Зброжик Євгенія Володимирівна** – кандидат медичних наук, медичний психолог, старший науковий співробітник відділу неонатології НДІ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лукянової» (м. Київ, Україна).

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0006-4896-891X>

**Contact Information:**

**Olga Gorbatyuk** – Doctor of Medical Science, Full Professor, Honored Doctor of Ukraine, Professor of the Department of Pediatric Surgery, Anesthesiology, Orthopedics and Traumatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** ol.gorbatyuk@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1472-5737>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/AEA-1722-2022>

**Mykyta Veselyi** – PhD student at the Department of Pediatric Surgery, Anesthesiology, Orthopedics, and Traumatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** Nyveseliy@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4340-4924>

**Yevgeniia Zbrozhyk** – Candidate of Medical Science, medical psychologist, Senior Researcher of the Department of Neonatology of the SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine» (Kyiv, Ukraine).

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0006-4896-891X>

Надійшло до редакції 23.05.2023 р.

Підписано до друку 15.08.2023 р.



УДК: 616.71-001.5:629.113

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.10

С. О. Гур'єв<sup>1</sup>, В. А. Кушнір<sup>1,2</sup>,  
В. І. Гребенюк<sup>3</sup>, П. Б. Волянський<sup>2</sup>

Державний заклад «Український науково практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України»<sup>1</sup> (м. Київ, Україна),  
Інститут державного управління та наукових досліджень з цивільного захисту<sup>2</sup> (м. Київ, Україна),  
Буковинський державний медичний університет<sup>3</sup> (м. Чернівці, Україна)

## ОЦІНКА КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНОЇ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДОРОЖНЬО-ТРАНСПОРТНОЇ ТРАВМИ У ДІТЕЙ ЯК МЕДИКО-САНІТАРНИЙ НАСЛІДОК НАДЗВИЧАЙНОЇ СИТУАЦІЇ ТЕХНОГЕННОГО ХАРАКТЕРУ

### Резюме

Однією з основних причин смертності у дітей є дорожньо-транспортна травма. В Україні така проблема є досить гострою внаслідок інфраструктурних та соціально-економічних факторів, а з початком повномасштабного російського вторгнення на територію України з лютого 2022 року ця проблема ще більше загострилась.

**Мета дослідження.** Визначити та оцінити клініко-епідеміологічну характеристику дорожньо-транспортної травми (ДТТ) у дітей як медико-санітарного наслідку надзвичайної ситуації.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження ґрунтуються на вивченні та ретроспективному аналізі 259 випадків дорожньо-транспортної травми у дітей, що склало масив дослідження. Формування масиву проводилося методом безворотної рандомізації з 1671 постраждалих унаслідок дорожньо-транспортних пригод (ДТП), які отримали ДТТ в сільській та міській місцевості у 2018-2019 роках. Рандомізація відбувалася за ознакою дитячого віку 0-18 років. Питома вага дитячої ДТТ становила 15,50 % загального масиву постраждалих унаслідок ДТП.

Обсяг масиву дослідження перевищує необхідний та достатній відповідно до закону великих чисел. Методами аналізу були параметричні, непараметричні методи статистичного аналізу, фрактальний аналіз, закони формальної логіки. Аналіз проводився за допомогою комп'ютерних технологій у системі Statistica.

Дане дослідження проведено в рамках виконання дисертаційної роботи на тему «Дорожньо-транспортна травма (клініко-епідеміологічна, клініко-нозологічна характеристика, клінічні особливості перебігу травматичного процесу, принципи надання медичної допомоги)», затвердженої на Вченій раді ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України» (протокол засідання Вченої ради № 6 від 15 грудня 2020 року) з дотриманням умов Гельсінської декларації та схвалено комісією з біоетики ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України» (протокол № 10 від 08 грудня 2020 року).

**Результати дослідження.** В результаті дослідження встановлено, що в загальному масиві переважають особи чоловічої статі (хлопчики) – 52,33 %, а дівчат – 47,67 %. У загальному масиві це складає 12,79 %. У масиві тих, хто загинув, за питомою вагою переважають хлопчики – 81,82 %, а у масиві тих, хто вижив – дівчата (52,00 %). У масиві хлопчиків летальність становить 20,00 %, а у дівчаток – 4,88 %, тобто у хлопчиків ризик загинути у дорожньо-транспортній пригоді у 4 рази вищий, ніж у дівчаток. У загальному масиві дослідження за віковою ознакою найбільшу питому вагу мають діти віком 6-18 років (шкільний період) – 89,19 %, на другому місці – діти віком 3-6 років (дошкільний період), 9,27 %, а найменша питома вага – у дітей віком 0-3 роки (1,54 %). Найвища летальність зафіксована у віковій групі 0-3 роки – 25,00 %, найменша – у віковій групі 3-6 років, 12,50 %. За ознакою участі в русі в загальному масиві найбільша питома вага постраждалих дітей припадає на пасажирів чотириколісного транспорту – 46,51 %, на другому місці – діти-пішоходи з показником 37,21 %, найменшу питому вагу мають водії та пасажирів двоколісного транспорту – 16,28 %. У масиві померлих більше половини займають пішоходи – 54,55 %. Летальність у масиві водіїв та пасажирів двоколісного транспорту становить 7,14 %, у пасажирів чотириколісного транспорту – 10,00 %, а найвища – у пішоходів, 18,75 %.

**Висновки.** Дорожньо-транспортна травма у дітей має певні клініко-епідеміологічні характеристики, що полягають в гендерних і вікових особливостях та участі в русі. У масиві постраждалих переважають хлопчики – 52,33 %, водночас встановлено суттєвий вплив гендерної ознаки на результат перебігу травматичного процесу, причому дівчата мають більший шанс на виживання. Вікова ознака має суттєвий вплив, як на виникнення ДТТ, так і на результат перебігу травматичного процесу. Найбільшу питому вагу серед травмованих мають діти 6-18 років – 89,19 %. Найбільша летальність спостерігається у віковій групі 0-3 роки – 25,00 %. Участь в русі у дітей має сильний вплив, як на формування масиву постраждалих, так і на результат перебігу травматичного процесу. Найбільшу питому вагу мають пасажирів чотириколісного транспорту – 46,51 % та пішоходи – 37,21 %. Найбільша летальність спостерігається у пішоходів – 18,75 %.

**Ключові слова:** дорожньо-транспортна пригода; дорожньо-транспортна травма; діти; клініко-епідеміологічна характеристика; надзвичайна ситуація.

### Вступ

Дорожньо-транспортна травма є однією з основних причин смертності серед населення працездатного віку [1-5], а у дітей є однією із провідних причин смерті й посідає перше місце серед причин насильницької смерті [6-10]. В Україні така проблема є досить

гострою внаслідок інфраструктурних та соціально-економічних причинних факторів.

Розглядаючи проблему дитячої дорожньо-транспортної травми, варто мати на увазі, що дорожньо-транспортні пригоди (ДТП) в Україні відповідно до чинного законодавства відносяться до надзвичайних

ситуацій техногенного характеру п. 1.6 статті 2 Кодексу цивільного захисту України [11].

Також необхідно зауважити, що в останнє десятиліття дорожньо-транспортної травми у дітей як медико-соціального наслідку надзвичайної ситуації практично не розглядалося [12-15]. Особливо важливими недослідженими аспектами даної проблеми є структура, обсяг ураження, та клініко-нозологічна структура, а також вплив клініко-епідеміологічних, клініко-анатомічних та ознаки участі в русі на характер та результат перебігу травматичного процесу в постраждалих дітей внаслідок ДТП [16-20].

Вищезазначене не дозволяє сформуванню сучасні клінічні маршрути та протоколи надання медичної допомоги постраждалим дітям внаслідок ДТП.

**Мета і завдання дослідження** – визначити та оцінити клініко-епідеміологічну характеристику ДТП у дітей, як медико-санітарного наслідку надзвичайної ситуації.

### Матеріал та методи дослідження

Дане дослідження ґрунтується на вивченні та ретроспективному аналізі 259 випадків дорожньо-транспортної травми (ДТТ) у дітей Чернівецької та Київської областей, що склало масив вивчення. Формування масиву вивчення проводилося методом беззворотної рандомізації з масиву 1671 постраждалих унаслідок ДТП, які отримали ДТТ в змішаному масиві сільської та міської місцевості у 2018-2019 роках. Рандомізація відбувалася за ознакою дитячого віку 0-18 років. Таким чином, питома вага дитячої ДТТ склала 15,50 % загального масиву постраждалих унаслідок ДТП. Обсяг масиву дослідження перевищує необхідний та достатній відповідно до закону великих чисел.

Було вивчено та проаналізовано основні клініко-епідеміологічні характеристики: стать, вік та участь у русі постраждалих дитячого віку.

У даному дослідженні була застосована вікова диференціація 0-3 роки (перед-дошкільний період), 3-6 років

(дошкільний період) та 6-18 років (шкільний період), що відповідає соціальній функції життєдіяльності та є найбільш оптимальною для даного дослідження.

Для забезпечення клінічної спрямованості епідеміологічного дослідження було вивчено вплив епідеміологічних ознак на результат перебігу травматичного процесу в постраждалих. Проводився аналіз у результативних групах – тих, що вижили, та загинувших.

Методами аналізу були параметричні, непараметричні методи статистичного аналізу, фрактальний аналіз, закони формальної логіки. Аналіз проводився за допомогою комп'ютерних технологій в системі Statistica.

Дане дослідження проведено в рамках виконання дисертаційної роботи на тему «Дорожньо-транспортна травма (клініко-епідеміологічна, клініко-нозологічна характеристика, клінічні особливості перебігу травматичного процесу, принципи надання медичної допомоги)», затвердженої на Вченій раді ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України» (протокол засідання Вченої ради № 6 від 15 грудня 2020 року) з дотриманням умов Гельсінської декларації та схвалено комісією з біоетики ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України» (протокол № 10 від 08 грудня 2020 року).

### Результати дослідження та їх обговорення

Важливою характеристикою будь-якого захворювання або травми є клініко-епідеміологічна характеристика. Дорожньо-транспортна травма не є виключенням.

Однією з важливих клініко-епідеміологічних характеристик є стать постраждалого.

З метою верифікації впливу статевої ознаки на результат перебігу травматичного процесу у дітей, які отримали травму внаслідок ДТП, проведено аналіз розподілу масиву постраждалих за цими ознаками. Результати такого аналізу наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Аналіз розподілу масиву вивчення за ознакою статі в результативних групах

| Стать    | Результат перебігу травматичного процесу |        |      |                |       |      | Загальний масив |      |
|----------|--|--------|------|----------------|-------|------|-----------------|------|
|          | ті, що вижили                            |        |      | ті, що померли |       |      | %               | ранг |
|          | % *                                      | %**    | ранг | % *            | %**   | ранг |                 |      |
| Хлопчики | 80,00                                    | 48,00  | 2    | 20,00          | 81,82 | 1    | 52,33           | 1    |
| Дівчата  | 95,12                                    | 52,00  | 1    | 4,88           | 18,18 | 2    | 47,67           | 2    |
| Загалом  | 87,21                                    | 100,00 |      | 12,79          | 100,0 |      | 100,0           |      |

Примітки:

\*розподіл масиву постраждалих за результатом перебігу травматичного процесу;

\*\* розподіл масиву постраждалих у статевій групі.

В результаті аналізу даних таблиці 1 встановлено, що в загальному масиві дослідження переважають особи чоловічої статі – 52,33 %, що на 4,66 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 9,78 % більше масиву дівчаток. Також звертає на себе увагу невідповідність рангових місць у масиві тих, хто загинули, загальному масиву та масиву постраждалих, які померли.

У результативній групі з позитивним результатом перебігу травматичного процесу на першому ранго-

вому місці є дівчата – 52,00 %, а у масиві постраждалих з негативним перебігом травматичного процесу – хлопчики (81,82 %).

В загальному масиві постраждалих дітей летальність становить 12,79 %. У масиві хлопчиків летальність становить 20,00 %, що на 7,21 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 56,37 % більше за показник базового рівня. У дівчат летальність становить 4,88 %, що на 7,91 % в абсолютному значенні інтенсив-

ного показника, або 61,85 % менше за показник базового рівня. Таким чином, ознака статті має суттєвий вплив на характер та результат перебігу травматичного процесу в дітей з дорожньо-транспортною травмою, про що зокрема свідчить те, що летальність унаслідок ДТТ у хлопчиків у 4,1 рази перевищує таку у дівчат.

Враховуючи вищенаведені дані, можна дійти висновку, що хлопчики значно частіше отримують дорожньо-транспортну травму за дівчат – це пояснюється більшою фізичною активністю хлопчиків та

значно більшою реалізацією синдрому психофізіологічної дезадаптації.

Іншою важливою ознакою клініко-епідеміологічної характеристики є вік постраждалого. Для верифікації вікової структури ДТТ та впливу ознаки віку на результат перебігу травматичного процесу нами було проведено аналіз розподілу масиву постраждалих дітей за ознакою віку в результативних групах за перебігом травматичного процесу, результати якого наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

**Аналіз розподілу масиву вивчення за ознакою віку в результативних групах та загальному масиві**

| Вік                    | Результат перебігу травматичного процесу |       |      |                |       |      | Загальний масив |      |
|------------------------|--|-------|------|----------------|-------|------|-----------------|------|
|                        | ті, що вижили                            |       |      | ті, що померли |       |      |                 |      |
|                        | % *                                      | %**   | ранг | % *            | %**   | ранг | %               | ранг |
| 0-3 (перед дошкільний) | 75,00                                    | 1,34  | 3    | 25,00          | 2,94  | 3    | 1,54            | 3    |
| 3-6 (дошкільний вік)   | 87,50                                    | 9,33  | 2    | 12,50          | 8,82  | 2    | 9,27            | 2    |
| 6-18 (шкільний вік)    | 87,01                                    | 89,33 | 1    | 12,99          | 88,24 | 1    | 89,19           | 1    |
| Загалом                | -  | 100,0 | -    | -              | 100,0 | -    | 100,0           | -    |

Примітки:

\* розподіл масиву постраждалих за результатом перебігу травматичного процесу;

\*\* розподіл масиву постраждалих у віковій групі.

При ранговому аналізі даних таблиці 2 спостерігається відповідність рангових місць у загальному масиві та у масивах за результатом перебігу травматичного процесу. Крім того, показники за питомою вагою відрізняються незначною мірою.

У загальному масиві дослідження на першому ранговому місці є діти шкільного віку – 89,19 %, на другому ранговому місці – діти дошкільного віку (3-6 років), 9,27 %, а найменшу питому вагу становлять діти переддошкільного віку – 1,54 %. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального становить 57,92, що свідчить про досить високу дисипацію розподілу масиву постраждалих дітей у загальному масиві.

У масиві тих, хто вижив, на першому ранговому місці також є діти шкільного віку (6-18 років), 89,33 %, що на 0,14 % в абсолютному значенні інтенсивного показника або 0,15 % більше показника у загальному масиві. На другому ранговому місці розміщуються діти віком 3-6 років 9,33 %, що на 0,06 в абсолютному значенні інтенсивного показника, або 0,66 більше показника базового рівня. На останньому ранговому місці – постраждали діти віком 0-3 роки (1,34 %), що на 0,2 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 12,99 % менше показника базового рівня. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального становить 66,66, що свідчить про досить високу дисипацію розподілу масиву постраждалих дітей у масиві тих, хто вижив.

У масиві загиблих дітей на першому ранговому місці – постраждали шкільної вікової групи (6-18 років), 88,24 %, що на 0,95 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 1,07 % менше показника базового рівня. На другому ранговому місці розміщуються постраждалі діти дошкільного віку (3-6 років) – 8,82 %, що на 0,45 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 5,10 % менше показника базового рівня. Останнє місце за питомою вагою

займає вікова група 0-3 роки – 2,94 %, що на 1,4 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 90,91 % більше показника базового рівня. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального становить 30,01, що також свідчить про досить високу дисипацію розподілу масиву постраждалих дітей у масиві померлих.

З іншого боку, найбільша летальність спостерігається у віковій групі 0-3 роки й становить 25,00 %. У вікових групах 3-6 років та 6-18 років показники летальності за значенням мають приближені показники – 12,50 % та 12,99 % відповідно.

Висока питома вага дітей шкільного віку в загальному масиві дослідження та в обох результативних групах обумовлена більшою активністю дітей цієї вікової групи, тобто особливостями їх життєдіяльності.

Після поліхоричного аналізу даних Табл. 2 встановлено, що між ознакою віку та результатом перебігу травматичного процесу в постраждалих дітей у ДТТ існує позитивний ( $\varphi^2=0,0020$ ), слабкий ( $C=0,0442$ ), однак недостатньо вірогідний зв'язок ( $\chi^2=0,51$ ), що вказує на вплив інших причинних факторів. Як довів аналіз випадків, це пов'язано з рівнем, своєчасністю та якістю надання медичної допомоги.

Вищевикладене вказує на те, що не вік є визначальним фактором виникнення негативного результату перебігу травматичного процесу в дітей з ДТТ, а саме надання медичної допомоги, яка повинна враховувати особливості анатомічної структури та фізіології дитячого організму.

Досить важливою клініко-епідеміологічною характеристикою ДТТ є участь постраждалого в дорожньому русі. Зважаючи на практично рівнозначну роль та рівень небезпеки водіїв та пасажирів двоколісного транспорту, їх в даному випадку було об'єднано в одну групу. З метою верифікації впливу ознаки участі в русі на виникнення ДТТ та впливу ознаки участі в русі на



результат перебігу травматичного процесу нами проведено інтегральний аналіз розподілу масиву дослі-

дження за цими ознаками, результати якого наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

### Аналіз розподілу масиву вивчення за ознакою участі в русі у результативних групах та загальному масиві

| Участь в русі                              | Ті, що вижили |       |      | Ті, що померли |       |      | Загальний масив |      |
|--|---------------|-------|------|----------------|-------|------|-----------------|------|
|  | % *           | %**   | ранг | % *            | %**   | ранг | %               | ранг |
| Водії та пасажирів двоколісного транспорту | 92,86         | 17,33 | 3    | 7,14           | 9,09  | 3    | 16,28           | 3    |
| Пасажири чотири колісного транспорту       | 90,00         | 48,00 | 1    | 10,00          | 36,36 | 2    | 46,51           | 1    |
| Пішоходи                                   | 81,25         | 34,67 | 2    | 18,75          | 54,55 | 1    | 37,21           | 2    |
| Всього                                     |               | 100,0 |      |                | 100,0 |      | 100,0           |      |

#### Примітки:

\* розподіл масиву постраждалих за результатом перебігу травматичного процесу;

\*\* розподіл масиву постраждалих у результативній групі за ознакою участі в русі.

При аналізі рангових місць у таблиці 3 спостерігається відповідність рангових місць у масиві тих, хто вижив, та у загальному масиві, а у масиві загиблих ранговий розподіл відрізняється. При цьому питома вага рангових місць у масиві тих, хто вижив, та у загальному масиві має максимальну різницю у 2,54 %, що є в межах статистичної похибки.

В загальному масиві на першому ранговому місці перебувають пасажири чотириколісного транспорту з показником 46,51 %, на другому місці – пішоходи, 37,21 %, на останньому ранговому місці – водії та пасажири двоколісного транспорту, 16,28 %. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального в загальному масиві становить 2,86, що вказує на помірну дисипацію розподілу.

Пасажири чотириколісного транспорту в масиві постраждалих, які вижили, також займають перше рангове місце (48,00 %), що на 1,49 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 3,20 % більше показника базового рівня. На другому ранговому місці перебувають пішоходи з показником питомої ваги 34,67 %, що на 2,54 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 6,83 % менше показника базового рівня. Найменшу питому вагу у масиві тих, хто вижив, займають водії та пасажири двоколісного транспорту – 17,33 %, що на 1,05 % в абсолютному значенні інтенсивного показника або на 6,45 % більше показника базового рівня. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального в масиві дітей, які вижили, становить 2,77, що також вказує на помірну дисипацію розподілу.

У масиві постраждалих дітей з негативним перебігом травматичного процесу на першому ранговому місці перебувають пішоходи – 54,55 %, що на 17,34 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 46,60 % більше показника базового рівня. На другому ранговому місці перебувають пасажири чотириколісного транспорту з показником 36,36 %, що на 10,15 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 27,28 % менше показника базового рівня. На останньому ранговому місці перебувають померлі водії та пасажири двоколісного транспорту – 9,09 %, що на 7,19 % в абсолютному значенні інтенсивного показника, або на 44,16 % менше показника базового рівня. Коефіцієнт співвідношення показників максимального до мінімального в масиві померлих становить 6,0, що вказує на високу дисипацію розподілу.

З іншого боку, в масиві водіїв та пасажирів двоколісного транспорту летальність складає 7,14 %, у масиві пасажирів чотириколісного транспорту летальність складає 10,00 %, а у масиві пішоходів летальність найвища й складає 18,75 %.

В результаті поліхоричного аналізу даних Табл. 3 встановлено, що між ознакою участі в русі та результатом перебігу травматичного процесу у постраждалих дітей в ДТП існує позитивний ( $\varphi^2=0,0228$ ), слабкий ( $C=0,1492$ ), однак недостатньо вірогідний зв'язок ( $\chi^2=5,90$ ), що вказує на вплив інших причинних факторів. Вірогідність настає при рівні волі ступеню 2 (за таблицею Snedecor) та припустимої помилки у 5 %, що вказує на інтенсивний вплив одного іншого фактору. При аналізі випадків травмування дітей в ДТП встановлено, що таким фактором є фактор надання медичної допомоги.

Підсумовуючи вищевикладене, варто зауважити, що ДТТ у дітей має певні клініко-епідеміологічні характеристики, які безпосередньо впливають на результат перебігу травматичного процесу в постраждалих. Водночас вплив клініко-епідеміологічних ознак не є вирішальними.

#### Висновки

1. Дорожньо-транспортна травма у дітей має певні клініко-епідеміологічні характеристики, що полягають в гендерних і вікових особливостях та участі в русі.

2. У масиві постраждалих переважають хлопчики – 52,33 %, водночас встановлено суттєвий вплив гендерної ознаки на результат перебігу травматичного процесу, причому дівчата мають більший шанс на виживання.

3. Вікова ознака має суттєвий вплив, як на виникнення дорожньо-транспортної травми, так і на результат перебігу травматичного процесу. Найбільшу питому вагу серед травмованих мають діти 6-18 років – 89,19 %. Найбільша летальність спостерігається у віковій групі 0-3 роки – 25,00 %.

4. Участь в русі у дітей має сильний вплив, як на формування масиву постраждалих, так і на результат перебігу травматичного процесу. Найбільшу питому вагу мають пасажири чотириколісного транспорту – 46,51 % та пішоходи – 37,21 %. Найбільша летальність спостерігається у пішоходів – 18,75 %.

#### Перспективи подальших досліджень:

В перспективі планується вивчити клініко-нозологічну та клініко-анатомічну характеристику дорожньо-транспортної травми у дітей на моделі натурального типу, що

дозволить в подальшому розробити клінічні маршрути постраждалої дитини та обґрунтувати клінічні протоколи надання медичної допомоги на різних етапах.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Джерела фінансування:** самофінансування.

## Література

1. Slootmans F, Bijleveld F. European Commission. Facts and Figures Children. European Road Safety Observatory. Brussels, European Commission, Directorate General for Transport [Internet]. 2022 Jun [cited 2023 Nov 10]. Available from: [https://road-safety.transport.ec.europa.eu/system/files/2022-08/fi\\_children\\_20220706.pdf](https://road-safety.transport.ec.europa.eu/system/files/2022-08/fi_children_20220706.pdf)
2. UNICEF. Child and adolescent injuries. Road traffic injuries and drowning are leading causes of death worldwide [Internet]. 2023 [cited 2023 Nov 10]. Available from: <https://www.unicef.org/health/injuries>
3. Центр громадського здоров'я МОЗ України. Діти: дорожньо-транспортний травматизм [Інтернет]. 2018 Чер 16 [цитовано 2023 Лис 10]. Доступно: <https://phc.org.ua/news/diti-dorozhno-transportniy-travmatizm>
4. Ozturk EA. Burden of deaths from road traffic injuries in children aged 0-14 years in Turkey. *East Mediterr Health J.* 2022;28(4):272-80. doi: 10.26719/emhj.22.013
5. Popa Ş, Ciongradi CI, Sârbu I, Bică O, Popa IP, Bulgaru-Iliescu D. Traffic Accidents in Children and Adolescents: A Complex Orthopedic and Medico-Legal Approach. *Children (Basel)* [Internet]. 2023 [cited 2023 Nov 11];10(9):1446. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9067/10/9/1446> doi: 10.3390/children10091446
6. Padonou C, Bognon G, Alihonou F, Zohoun L, Bavi S, Sagbo G. Factors Associated with Home Accidents in Childhood at Regional Teaching Hospital of Ouémé Plateau. *Open Journal of Pediatrics.* 2022;12:358-63. doi: 10.4236/ojped.2022.122040
7. Naqvi G, Johansson G, Yip G, Rehm A, Carrothers A, Stöhr K. Mechanisms, patterns and outcomes of paediatric polytrauma in a UK major trauma centre. *Ann R Coll Surg Engl.* 2017;99(1):39-45. doi: 10.1308/rcsann.2016.0222
8. Núñez-Samudio V, Mayorga-Marín F, López Castillo H, Landires I. Epidemiological Characteristics of Road Traffic Injuries Involving Children in Three Central American Countries, 2012-2015. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2020 [cited 2023 Nov 11];18(1):37. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/1/37> doi: 10.3390/ijerph18010037
9. Mirahmadzadeh A, Hemmati A, Zahmatkesh S, Saffari M, Bagheri P. Incidence of accidents and injuries in children under 6 years old in southern Iran: a population-based study. *J Inj Violence Res* [Internet]. 2020 [cited 2023 Nov 11];12(2). Available from: <https://jivresearch.org/jivr/index.php/jivr/article/view/1280/860> doi: 10.5249/jivr.v12i2.1280
10. Tetali S, Edwards P, Murthy GV, Roberts I. Road traffic injuries to children during the school commute in Hyderabad, India: cross-sectional survey. *Inj Prev.* 2016;22(3):171-5. doi: 10.1136/injuryprev-2015-041854
11. Верховна рада України. Кодекс цивільного захисту України. Кодекс України № 5403-VI [Інтернет]. 2013 Тра 14 [редаговано 2023 Жов 5; цитовано 2023 Лис 10]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/5403-17#Text>.
12. Lee YY, Fang E, Weng Y, Ganapathy S. Road traffic accidents in children: the 'what', 'how' and 'why'. *Singapore Med J.* 2018;59(4):210-6. doi: 10.11622/smedj.2017114
13. Ghiasvand H, Roshanfekar P, Ali D, Ardakani HM, Stephens AN, Armoon B. Determinants of road traffic injuries in Iranian children; results from a National Representative Demographic- Health Survey 2010. *BMC Pediatr* [Internet]. 2020 [cited 2023 Nov 11];20(1):231. Available from: <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12887-020-02127-4.pdf> doi: 10.1186/s12887-020-02127-4
14. Dai W, Liu A, Kaminga AC, Deng J, Lai Z, Wen SW. Prevalence of Posttraumatic Stress Disorder among Children and Adolescents following Road Traffic Accidents: A Meta-Analysis. *Can J Psychiatry.* 2018;63(12):798-808. doi: 10.1177/0706743718792194
15. Goniewicz K, Goniewicz M, Pawłowski W, Fiedor P, Lasota D. Risk of road traffic accidents in children *Medical Studies/Studia Medyczne* 2017;33(2):155-60. doi: 10.5114/ms.2017.68712
16. Theofilatos A, Antoniou C, Yannis G. Exploring injury severity of children and adolescents in involved in traffic crashes in Greece. *J. Traffic Transp. Eng. (Engl. Ed.).* 2021;8(4):596-604. doi: 10.1016/j.jtte.2020.07.005
17. Çetintaş İ, Akgün Kostak M, Cumur E. The safety measures against home accidents of mothers of 0-6 age group children and related factors. *J Educ Res Nurs.* 2022;19(4): 429-36. doi: 10.5152/jern.2022.33339
18. Al-Balbissi AH. Role of gender in road accidents. *Traffic Inj Prev.* 2003;4(1):64-73. doi: 10.1080/15389580309857
19. Batailler P, Hours M, Maza M, Charnay P, Tardy H, Tourmier C, et al. Health status recovery at one year in children injured in a road accident: a cohort study. *Accid Anal Prev.* 2014;71:267-72. doi: 10.1016/j.aap.2014.06.001
20. Mitchell RJ, Cameron CM, McMaugh A, Lystad RP, Badgery-Parker T, Ryder T. The impact of childhood injury and injury severity on school performance and high school completion in Australia: a matched population-based retrospective cohort study. *BMC Pediatr* [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 11];21(1):426. Available from <https://bmcpediatr.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12887-021-02891-x.pdf> doi: 10.1186/s12887-021-02891-x

## EVALUATION OF THE CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ROAD TRAFFIC INJURIES IN CHILDREN AS A MEDICAL AND SANITARY CONSEQUENCE OF A MAN-MADE EMERGENCY

*S. O. Guryev<sup>1</sup>, V. A. Kushnir<sup>1,2</sup>, V. I. Grebeniuk<sup>3</sup>, P. B. Volianskyi<sup>2</sup>*

**State Institution «Ukrainian Scientific and Practical Center for Emergency Care and Disaster Medicine of the Ministry of Health of Ukraine»**

(Kyiv, Ukraine),

**Institute of Public Administration and Research on Civil Protection<sup>2</sup>**

(Kyiv, Ukraine),

**Bukovinian State Medical University<sup>3</sup>**

(Chernivtsi, Ukraine)

## Summary.

One of the main causes of death among children is road traffic injuries. In Ukraine, such a problem is quite acute due to infrastructural and socio-economic factors, and with the beginning of the full-scale invasion of the Russian Federation into the sovereign territory of Ukraine, this problem has become even more acute.

**The aim of the study** is to determine and evaluate the clinical and epidemiological characteristics of traffic injuries among children as a medical and sanitary consequence of an emergency situation.

**Materials and methods.** The study is based on the study and retrospective analysis of 259 cases of road traffic injuries in children, which formed the body of the study. The formation of the array was carried out by the method of irreversible randomization from 1,671 victims of road traffic accidents who received road traffic injuries in rural and urban areas in 2018-2019. Randomization was carried out according to the age of the child from 0 to 18 years. The specific gravity of children's road traffic injuries was 15.50 % of the total number of road traffic accident victims.

The scope of the research exceeds what is necessary and sufficient according to the law of large numbers. The methods of analysis were parametric, non-parametric methods of statistical analysis, fractal analysis, laws of formal logic. The analysis was carried out using computer technologies in the system Statistica.

The study was conducted within the framework of the Doctoral Thesis «Road Traffic Accident (Clinical-Epidemiological, Clinical-Nosological Characteristics, Clinical Features of the Course of the Traumatic Process, Principles of Medical Care)», approved by the Academic Council of the «Ukrainian Scientific and Practical Center of Emergency Medical Aid and Disaster Medicine of the Ministry of Health of Ukraine» (Protocol of the Meeting of the Scientific Council No. 6, December 2020). of Emergency Medical Aid and Disaster Medicine of the Ministry of Health of Ukraine» (Minutes of the meeting of the Scientific Council No. 6 dated December 15, 2020) in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki and approved by the Bioethics Commission of the «Ukrainian Scientific and Practical Center of Emergency Medical Aid and Disaster Medicine of the Ministry of Health of Ukraine» (Minutes No. 10 dated December 8, 2020).

**Research results.** As a result of the study, it was determined that the majority of the population is male (boys) – 52.33 %. Girls make up 47.67 %. This is 12.79 % of the total mass. In the mass of those who died, boys predominate by specific weight – 81.82 %, and in the mass of those who survived, girls predominate (52.00 %). The mortality rate for boys is 20.00 %, and for girls – 4.88 %, i.e. the risk of dying in a traffic accident is 4 times higher for boys than for girls. In the total body of research by age, children aged 6-18 years (school period) have the highest specific weight – 89.19 %, in second place – children aged 3-6 years (preschool period), 9.27 %, and the lowest specific weight – children aged 0-3 years (1.54 %). The highest mortality was recorded in the age group 0-3 years – 25.00 %, the lowest – in the age group 3-6 years, 12.50 %. According to the sign of participation in traffic in the total array, the largest specific weight of injured children falls on passengers of four-wheeled vehicles – 46.51 %, in second place – children-pedestrians with an indicator of 37.21 %, drivers and passengers of two-wheeled vehicles have the lowest specific weight – 16.28 %. Pedestrians account for more than half of the mass of the dead – 54.55 %. The fatality rate among drivers and passengers of two-wheeled vehicles is 7.14 %, among passengers of four-wheeled vehicles – 10.00 %, and the highest – among pedestrians – 18.75 %.

**Conclusions.** Road traffic injuries in children have certain clinical and epidemiological characteristics, which consist in gender and age characteristics and participation in traffic. In the range of victims, boys predominate – 52.33 %, at the same time, a significant influence of sex on the outcome of the traumatic process has been established, and girls have a greater chance of survival. Age has a significant influence on both the occurrence of road traffic injury and the outcome of the traumatic process. Children aged 6-18 years have the highest specific weight among the injured – 89.19 %. The highest mortality is observed in the age group of 0-3 years – 25.00 %. Participation of children in road traffic has a strong influence both on the formation of the number of victims and on the outcome of the traumatic process. The largest specific weight has four-wheeled vehicle passengers – 46.51 % and pedestrians – 37.21 %. The highest mortality rate is observed among pedestrians – 18.75 %.

**Key words:** Traffic accident; Traffic Injury; Children; Clinical and Epidemiological Characteristics; Emergency Situation.

#### Контактна інформація:

**Гур'єв Сергій Омелянович** – доктор медичних наук, професор, заступник директора з наукової роботи Державного закладу «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф МОЗ України» (м. Київ, Україна).  
e-mail: gurevsergej1959@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0191-945X>

**Кушнір Віталій Андрійович** – кандидат медичних наук, старший науковий співробітник, Інститут державного управління та наукових досліджень з цивільного захисту (м. Київ, Україна).  
e-mail: kv78@i.ua  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4569-7246>

**Гребенюк Володимир Іванович** – кандидат медичних наук, доцент кафедри хірургії № 2, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна).  
e-mail: wlad.grebenuk@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3243-8299>

**Волянський Петро Борисович** – доктор наук з державного управління, професор, начальник Інституту державного управління та наукових досліджень з цивільного захисту (м. Київ, Україна).  
e-mail: drvolianskiy@ukr.net  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9465-6593>

#### Contact Information:

**Sergii Guryev** – Doctor of Medical Science, Professor, Deputy Director of Research State Institution «Ukrainian Scientific and Practical Center for Emergency Care and Disaster Medicine of the Ministry of Health of Ukraine» (Kyiv, Ukraine).  
e-mail: gurevsergej1959@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0191-945X>

**Vitalii Kushnir** – Candidate of Medical Science, Docent, Head of the Pre-medical Training Department, Institute of Public Administration and Research on Civil Protection (Kyiv, Ukraine).  
E-mail: kv78@i.ua  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4569-7246>

**Volodymyr Grebenuk** – Candidate of Medical Science, Docent, Associate Professor of the Department of Surgery № 2, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).  
e-mail: wlad.grebenuk@gmail.com  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3243-8299>

**Petro Volianskiy** – Doctor of Sci, Professor, Head of the Institute of Public Administration and Research on Civil Protection (Kyiv, Ukraine).  
e-mail: drvolianskiy@ukr.net  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9465-6593>



Надійшло до редакції 12.08.2023 р.  
Підписано до друку 15.10.2023 р.

UDC: 617.7-007-681-08

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.11

## FEATURES OF NEUROPROTECTIVE TREATMENT OF CHILDREN WITH PRIMARY CONGENITAL GLAUCOMA

Z. R. Nazirova, D. M. Turakulova

Tashkent Pediatric Medical Institute  
(Tashkent, Republic of Uzbekistan)

### Summary

*Normalization of intraocular pressure is an indispensable condition, but it does not guarantee stabilization of the glaucomatous process. Neuroprotective therapy aimed at maintaining the active function of axons of ganglion cells is of great importance.*

**The aim** of the study was to study the effectiveness of the neuroprotective effect of the Cortexin drug in congenital glaucoma.

**Material and methods.** Thirty-two (64 eyes) children with congenital glaucoma in the compensation stage were included in the study. Of these, 18 children (36 eyes) were included in the main group that received the neuroprotectant Cortexin. The remaining 14 children (28 eyes) were included in the control group and received standard treatment. Research methods: Visometry, ophthalmoscopy, perimetry, tonometry, tonography, ocular ultrasound, gonioscopy.

**Results.** All patients underwent antiglaucomatous surgery and, in the absence of negative dynamics during the year, neuroprotective treatment with Cortexin was performed every three months. To study visual acuity in young children, a computer program was developed and used to determine visual acuity. The computer program «Scale for assessment of visual functions» was certified (No. DGU 11841). Next, the parents of the child were explained how to score. After 1 month and after 3 months of treatment, the parents filled in the table and deducted points. After completion of neuroprotective treatment within one year, we collected data from the questionnaire filled out by the parents and analyzed visual acuity. Data analysis in the main group showed an increase in visual acuity in all stages of glaucoma except the final stage. In children in the control group, visual acuity before surgery was identical to that in the main group. After one year of observation, the increase in visual acuity in the control group was much less than in the main group.

**Conclusion.** Thus, the dynamics of visual acuity improvement was significantly more pronounced in the main group, which indicates the usefulness of including drugs with neuroprotective effect in the complex treatment of glaucomatous neuropathy.

**Key words:** Treatment; Congenital Glaucoma; Neuroprotective therapy.

### Introduction

Pediatric glaucoma is rightly considered to be a difficult disease to cure, mainly due to the peculiarities of the pathology and the specificity of the course of the disease in this group of patients. Primary congenital glaucoma is the most common form of pediatric glaucoma, occurring with an incidence of 1 case per 10,000 newborns, with every 10th blind child permanently losing vision due to glaucoma [1-4].

Signs of the disease can be detected in 60 % of children within the first 6 months of life and in 80 % within the first year of life. When newborns are examined in maternity hospitals, 90 % of them can be diagnosed because of early signs of the disease. The urgency of the glaucoma problem is illustrated by the following facts: only 50 % of glaucoma patients living in developed countries are aware of their disease; 50 % of glaucoma patients in developed countries are untreated and 95 % in developing countries; 50 % of people worldwide have never had their intraocular pressure measured. Studies in recent years have clearly shown that there is no single cause of primary congenital glaucoma, but many «different glaucomas» [5-9]. Most authors believe that this disease is multifactorial with a complex etiopathogenesis that is not fully understood [10-12].

Surgical treatment is the main pathogenetically based treatment aimed at lowering IOP. Therefore, after surgical treatment, during rehabilitation, the main attention is paid to IOP control and eye growth. The condition of the optic nerve – glaucomatous neuropathy – remains unattended. This in turn leads to loss of visual acuity. As a result, more and more ophthalmic researchers have paid attention to the investigation of biomolecular mechanisms behind neuronal survival and the development of further neuroprotective therapies as an adjunct to IOP lowering treatment [13-17].

Neuroprotection is a therapeutic approach aimed at preserving neural structure and function [18-22]. In glaucoma, neuroprotection refers to non-IOP related interventions that can prevent or delay RGC apoptosis independent of IOP. Although it may be difficult to identify a single causative factor for the development of glaucoma, a reasonable approach to glaucomatous optic neuropathy remains to target possible underlying mechanisms of glaucomatous damage, including neurotrophic factor (NTF) deprivation, reactive oxygen species (ROS) generation, oxidative stress, glutamate excitotoxicity, ischemia, glial activation, and genetic determinants. Therefore, understanding the pathogenic factors in glaucoma may further pave the way for the development of more practical neuroprotective methods and subsequent clinical translation. In the field of glaucoma, neuroprotection is defined as any treatment, independent of IOP lowering, that prevents RGC death [23-25]. Glutamate antagonists, Ginkgo biloba extract, neurotrophic factors, antioxidants, calcium channel blockers, brimonidine, anti-glaucoma medications, and nitric oxide synthase inhibitors are among the compounds with possible neuroprotective activity in preclinical studies. A few agents (such as brimonidine or memantine) with neuroprotective effects in experimental studies have progressed to clinical trials; however, the results of clinical trials for these agents have been inconclusive. Nevertheless, the lack of convincing clinical evidence has not prevented the off-label use of some of these agents in glaucoma practice. Stem cell transplantation has been reported to halt experimental neurodegenerative disease processes in the absence of cell replacement. It has been hypothesized that transplantation of certain types of stem cells activates multiple neuroprotective pathways through the secretion of various factors. The advantage of

this approach is a prolonged and targeted effect. Important concerns in this field include secretion of unwanted harmful mediators, graft survival issues, and tumorigenesis [26]. Neuroprotection in glaucoma, whether pharmacological or by stem cell transplantation, is an interesting topic that awaits broad and multidisciplinary collaborative studies to better elucidate its role in clinical practice.

Thus, at the level of IOP control, ocular growth, treatment of glaucomatous neuropathy remains a rather urgent aspect of pediatric ophthalmology. In this regard, the study of the efficacy of neuroprotective drugs in children is of particular importance.

**Aim** of the research was to study the efficacy of neuroprotective effect of the drug «Cortexin» in congenital glaucoma.

**Material and Methods.** 32 (64 eyes) children with congenital glaucoma in the compensation stage were observed. Of these, 18 children (36 eyes) were included in the main group treated with the neuroprotective drug Cortexin. 14 children (28 eyes) were included in the control group and received standard treatment.

All patients underwent standard ophthalmologic examination including visometry, perimetry, ophthalmoscopy, tonometry, tonography, gonioscopy, ocular ultrasound (A, B-scan). In all patients IOP was lowered to a tolerable level and 18 (36 eyes) patients received 10mg of Cortexin in a volume of 1ml injected into the periocular space. The groups were matched for age, stage of disease and degree of IOP decompensation.

**Results and discussion.** All patients underwent antiglaucomatous surgery and were discharged home after IOP normalization under the supervision of a local ophthalmologist. Repeat examination was performed after one month. Tonometry and slit-lamp biomicroscopy were performed. Neuroprotective treatment was recommended in children with normal IOP and age-related eye growth. IOP and eye size were examined every month. In the absence of negative dynamics during the year, neuroprotective treatment with Cortexin was performed every three months. Due to the lack of objective methods for testing visual acuity in young children, a computer program for determining visual acuity was developed and used. The computer program «Scale for Assessment of Visual Functions» was certified (No. DGU 11841). The software product allows to determine visual acuity in children under three years of age with congenital glaucoma. As a basis for the calculations, the indicators of the scale of the questionnaire for evaluation of visual functions in children up to three years of age were used, taking into account the significance of these data.

After surgery, the questionnaire was completed by an ophthalmologist during the first 5 days. Parents were then instructed on how to complete the questionnaire. After 1 month and after 3 months of treatment, the parent completed the chart and derived the scores. At repeated visits at the same time, the parents and the ophthalmologist reviewed the scores and determined visual acuity.

The scale for evaluation of visual functions in infants consists of seven evaluation signs: recognizes his mother,

imitates some adult movements, looks at toys in proximity, recognizes a favorite toy in proximity, follows objects, recognizes parents in a photo, the angle of strabismus and the caliber of nystagmus decrease. In the absence of a sign the score is not determined, in the appearance of a moderate degree 1 point, in the pronounced manifestation of the sign 2 points. The maximum score was 14 points.

When analyzing the stage of glaucoma in the main group it was found: initial stage – in 4 eyes (11,2 %), developed – in 8 eyes (22,7 %), very advanced – in 18 eyes (50,1 %) and final stage – in 6 eyes (16,7 %).

Analyzing the stage of glaucoma in the control group it was found: early stage – in 4 eyes (14,3 %), advanced – in 5 eyes (17,9 %), very advanced – in 15 eyes (53,6 %) and final stage – 14,2 %, 4 eyes.

Analysis of visual acuity before surgical treatment showed that in children in the main group with the initial stage in 6 eyes – 57 % (8 points), in two patients visual acuity was 42 % (6 points).

In the advanced stage in five patients visual acuity was 42.8 % (6 points), in eight patients – 28 % (4 points).

Twenty-six children had a visual acuity of 36 % (5 points) in the advanced stage. In nine children it was 21 % (3 points). In the final stage all children had visual acuity below 14 % (2 points).

After antiglaucomatous surgery and neuroprotective treatment for one year, we collected questionnaire data completed by parents and analyzed visual acuity. The analysis of the visual acuity data of the children in the main group showed a sharp increase in visual acuity in 4 eyes in the initial stage, the values increased compared to before surgery and neuroprotective treatment and averaged 85 % (12 points). In the advanced stage, the average visual acuity was 76 % (11 points). In the most advanced stage, the average was 34 % (5 points). In the end stage, visual acuity did not change (14 % – 2 points).

In children in the control group, visual acuity before surgical treatment was identical to that in the main group. After one year of follow-up, the average visual acuity in the early glaucoma control group was 71 % (10 points).

In the advanced stage, visual acuity averaged 57 % (8 points). In the most advanced stage, visual acuity averaged 28 % (4 points). In the end stage, visual acuity did not change (14 % – 2 points).

**Conclusion.** Thus, the dynamics of visual acuity improvement was significantly more pronounced in patients of the main group, which indicates the expediency of including drugs with neuroprotective effect in the complex treatment of glaucomatous neuropathy.

The results of the questionnaire on visual acuity in small children objectively prove the improvement of visual functions with the use of Cortexin. The use of Cortexin in children with primary congenital glaucoma did not cause any complications or side effects.

**Conflict of interest:** The Authors declare no conflict of interest.

**Sources of funding:** self-financing.

## References:

1. Bayoumi NH. Deep sclerectomy in pediatric glaucoma filtering surgery. *Eye (Lond)*. 2012;26(12):1548-53. doi: 10.1038/eye.2012.215
2. Shakir M, Bokhari A, Kamil Z, Zafar S. Combined trabeculotomy and augmented trabeculectomy in primary congenital glaucoma. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2013;23(2):116-9.
3. Jiang X, Varma R, Wu S, Torres M, Azen SP, Francis BA, et al. Baseline risk factors that predict the development of open-angle glaucoma in a population: the Los Angeles Latino Eye Study. *Ophthalmology*. 2012;119(11):2245-53. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.05.030
4. Chauhan BC, Mikelberg FS, Artes PH, Balazsi AG, LeBlanc RP, Lesk MR, et al. Canadian Glaucoma Study: 3. Impact of risk factors and intraocular pressure reduction on the rates of visual field change. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(10):1249-55. doi: 10.1001/archophthalmol.2010.196
5. Quaranta L, Biagioli E, Riva I, Rulli E, Poli D, Katsanos A, et al. Prostaglandin analogs and timolol-fixed versus unfixed combinations or monotherapy for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2013;29(4):382-9. doi: 10.1089/jop.2012.0186
6. Goldberg I, Gil Pina R, Lanzagorta-Aresti A, Schiffman RM, Liu C, Bejanian M. Bimatoprost 0.03 %/timolol 0.5 % preservative-free ophthalmic solution versus bimatoprost 0.03 %/timolol 0.5 % ophthalmic solution (Ganfort) for glaucoma or ocular hypertension: a 12-week randomised controlled trial. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(7):926-31. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-304064
7. Colás-Tomás T, Gutiérrez-Díaz E, Tejada-Palacios P, Barceló-Mendiguchía A, Mencía-Gutiérrez E. Intermediate results on the use of drainage devices for paediatric glaucoma. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2012;87(2):38-43. doi: 10.1016/j.oftal.2011.07.011
8. Kirwan C, O'Keefe M, Lanigan B, Mahmood U. Ahmed valve drainage implant surgery in the management of paediatric aphakic glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(7):855-8. doi: 10.1136/bjo.2004.056143
9. Khan AO, Almobarak FA. Comparison of polypropylene and silicone Ahmed valve survival 2 years following implantation in the first 2 years of life. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(6):791-4. doi: 10.1136/bjo.2008.151258
10. Konstas AG, Holló G, Mikropoulos DG, Haidich AB, Dimopoulos AT, Empeplidis T, et al. 24-hour efficacy of the bimatoprost-timolol fixed combination versus latanoprost as first choice therapy in subjects with high-pressure exfoliation syndrome and glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2013;97(7):857-61. doi: 10.1136/bjophthalmol-2012-302843
11. García-López A, Paczka JA, Jiménez-Román J, Hartleben C. Efficacy and tolerability of fixed-combination bimatoprost/timolol versus fixed-combination dorzolamide/brimonidine/timolol in patients with primary open-angle glaucoma or ocular hypertension: a multicenter, prospective, crossover study. *BMC Ophthalmol* [Internet]. 2014[cited 2023 Nov 10];14:161. Available from: <https://bmcophthalmol.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/1471-2415-14-161.pdf> doi: 10.1186/1471-2415-14-161
12. Brief G, Lammich T, Nagel E, Pfennigsdorf S, Spraul CW, Ho S. Fixed combination of bimatoprost and timolol in patients with primary open-angle glaucoma or ocular hypertension with inadequate IOP adjustment. *Clin Ophthalmol*. 2010;4:1125-9. doi: 10.2147/OPHTH.S13074
13. Susanna R Jr, De Moraes CG, Cioffi GA, Ritch R. Why Do People (Still) Go Blind from Glaucoma? *Transl Vis Sci Technol* [Internet]. 2015[cited 2023 Nov 10];4(2):1. Available from: <https://tvst.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2212990> doi: 10.1167/tvst.4.2.1
14. Calkins DJ, Horner PJ. The cell and molecular biology of glaucoma: axonopathy and the brain. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(5):2482-4. doi: 10.1167/iovs.12-9483i
15. Lawlor M, Danesh-Meyer H, Levin LA, Davagnanam I, De Vita E, Plant GT. Glaucoma and the brain: Trans-synaptic degeneration, structural change, and implications for neuroprotection. *Surv Ophthalmol*. 2018;63(3):296-306. doi: 10.1016/j.survophthal.2017.09.010
16. Lebrun-Julien F, Di Polo A. Molecular and cell-based approaches for neuroprotection in glaucoma. *Optom Vis Sci*. 2008;85(6):417-24. doi: 10.1097/OPX.0b013e31817841f7
17. Morgan JE. Retina ganglion cell degeneration in glaucoma: an opportunity missed? A review. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012;40(4):364-8. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02789.x
18. Porciatti V, Ventura LM. Retinal ganglion cell functional plasticity and optic neuropathy: a comprehensive model. *J Neuroophthalmol*. 2012;32(4):354-8. doi: 10.1097/WNO.0b013e3182745600
19. Liu M, Duggan J, Salt TE, Cordeiro MF. Dendritic changes in visual pathways in glaucoma and other neurodegenerative conditions. *Exp Eye Res*. 2011;92(4):244-50. doi: 10.1016/j.exer.2011.01.014
20. Francardo V, Schmitz Y, Sulzer D, Cenci MA. Neuroprotection and neurorestoration as experimental therapeutics for Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2017;298(Pt B):137-47. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.10.001
21. Calkins DJ. Critical pathogenic events underlying progression of neurodegeneration in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(6):702-19. doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.07.001
22. Abbott CJ, Choe TE, Burgoyne CF, Cull G, Wang L, Fortune B. Comparison of retinal nerve fiber layer thickness in vivo and axonal transport after chronic intraocular pressure elevation in young versus older rats. *PLoS One* [Internet]. 2014[cited 2023 Nov 10];9(12): e114546. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114546> doi: 10.1371/journal.pone.0114546
23. Porciatti V, Nagaraju M. Head-up tilt lowers IOP and improves RGC dysfunction in glaucomatous DBA/2J mice. *Exp Eye Res*. 2010;90(3):452-60. doi: 10.1016/j.exer.2009.12.005
24. Pfennigsdorf S, de Jong L, Makk S, Fournichot Y, Bron A, Morgan-Warren RJ, et al. A combined analysis of five observational studies evaluating the efficacy and tolerability of bimatoprost/timolol fixed combination in patients with primary open-angle glaucoma or ocular hypertension. *Clin Ophthalmol*. 2013;7:1219-25. doi: 10.2147/OPHTH.S41885
25. Izzotti A, Saccà SC, Longobardi M, Cartiglia C. Sensitivity of ocular anterior chamber tissues to oxidative damage and its relevance to the pathogenesis of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(11):5251-8. doi: 10.1167/iovs.09-3871
26. Osborne NN, Ugarte M, Chao M, Chidlow G, Bae JH, Wood JP, et al. Neuroprotection in relation to retinal ischemia and relevance to glaucoma. *Surv Ophthalmol*. 1999;43(S1): S102-28. doi: 10.1016/s0039-6257(99)00044-2

ОСОБЛИВОСТІ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО ЛІКУВАННЯ ДІТЕЙ  
З ПЕРВИННОЮ ВРОДЖЕНОЮ ГЛАУКОМОЮ

З. Р. Назірова, Д. М. Туракулова

Ташкентський педіатричний медичний інститут  
(Ташкент, Республіка Узбекистан)**Резюме.**

Нормалізація внутрішньоочного тиску є обов'язковою умовою, але не гарантує стабілізацію глаукомного процесу. Важливе значення надається нейропротекторній терапії, спрямованій на збереження активної функції аксонів гангліонарних нервових клітин.

**Метою дослідження** стало вивчення ефективності препарату нейропротекторної дії «Кортексин» при вродженій глаукомі.

**Матеріал і методи дослідження.** Під спостереженням знаходилися 32 (64 очей) дитини з вродженою глаукомою в стадії компенсації. З них 18 дітей (36 очей) увійшли до основної групи, яким застосовувався нейропротектор Кортексин. Інші 14 (28 очей) дітей увійшли до групи контролю, яким проводилося стандартне лікування. Методи дослідження: візометрія, офтальмоскопія, периметрія, тонометрія, тонографія, УЗД очного яблука, гоніоскопія.

**Результати.** Всім пацієнтам була проведена антиглаукоматозна операція і за відсутності негативної динаміки протягом року кожні три місяці проводилось нейропротекторне лікування із застосуванням препарату Кортексин. Для дослідження гостроти зору у дітей молодшого віку було розроблено та використано комп'ютерну програму для визначення гостроти зору. Отримано свідчення комп'ютерної програми «Шкала оцінки зорових функцій» (№ DGU 11841). Далі батькам дитини пояснювали, як ставити бали. Батьки після 1 місяця та після 3-х місяців курсу лікування заповнювали таблицю та виводили бали.

Після завершення нейропротекторного лікування протягом одного року нами було зібрано дані опитувальника, заповнені з боку батьків, та проведено аналіз гостроти зору. Аналіз даних в основній групі показав підвищення гостроти зору на всіх стадіях глаукоми, окрім термінальної. У дітей контрольної групи гострота зору до хірургічного втручання була ідентична основній групі. Після одного року спостереження в контрольній групі зростання гостроти зору відзначалося набагато менше, ніж в основній групі.

**Висновок.** Таким чином, динаміка підвищення гостроти зору у пацієнтів основної групи була достеменно більш виражена, що свідчить про цілеобразність включення в комплексне лікування глаукомної нейропатії препаратів нейропротекторної дії.

**Ключові слова:** лікування; вроджена глаукома; нейропротекторна терапія.

**Contact information:**

**Zulfiya Nazirova** – Doctor of Medical Sciences, Department of Ophthalmology, Pediatric Ophthalmology, Tashkent Pediatric Medical Institute (Tashkent, Republic of Uzbekistan).

**e-mail:** namozov.azizjon@mail.ru

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0474-1036>

**Контактна інформація:**

**Назірова Зулфія** – доктор медичних наук, кафедра офтальмології, дитячої офтальмології, Ташкентський педіатричний медичний інститут (м. Ташкент, Республіка Узбекистан).

**e-mail:** namozov.azizjon@mail.ru

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0474-1036>



Received for editorial office on 12/08/2023  
Signed for printing on 15/10/2023

UDC: 617.7-007.681-053.1-089.48  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.12

## ALGORITHM FOR MANAGEMENT OF CHILDREN AFTER ANTI-GLAUCOMATOSUS SURGERY

*D. M. Turakulova, Z. R. Nazirova*

Tashkent Pediatric Medical Institute  
(Tashkent, Republic of Uzbekistan)

### Summary

*The prevalence of glaucoma in children is 1:10000-1:12000. In the structure of blindness in children, the proportion of the pathology under consideration ranges from 2 to 15 %. The goal of surgical treatment of glaucoma is to achieve the target elevated intraocular pressure (IOP) without the use of medications. Early complications include shallow anterior chamber syndrome, hyphema, ciliochoroidal detachment, excessive hypotension and hypertension. The probability of these complications is quite high: according to some data it can reach 50 %, which shows the relevance of this problem.*

**Aims.** *To study the frequency and nature of early postoperative complications and to analyze the results of treatment in children with primary congenital glaucoma.*

**Material and methods.** *The total number of children was 50 (91 eyes) who underwent anti-glaucomatous surgery and early postoperative complications were revealed.*

**Results.** *Analysis of the structure of early postoperative complications after anti-glaucoma surgery showed that on the first day, the total number of patients with complications was 61.54 %. On the third day, the total number of patients with complications decreased to 39.56 %. Of these patients, the largest number were patients with hypotension with CCO 32.97 %, hyphema was –19.78 % in the early postoperative period and ophthalmohypertension was –17.58 %. On the seventh day, the number of complications was 9.9 % of patients who were recommended to continue conservative treatment in inpatient conditions.*

**Conclusion.** *In the early postoperative period after conservative treatment, the number of complications decreased to 90.1 %. None of these patients required repeat surgery. Patients were discharged home under the supervision of a local ophthalmologist.*

**Key words:** *Primary Congenital Glaucoma; Anti-glaucomatous surgery; Early Postoperative Complications.*

### Introduction

The most important medical and social problem in modern ophthalmology is the early diagnosis and treatment of glaucoma. Despite advances in the diagnosis and treatment of this disease, glaucoma remains one of the leading causes of irreversible vision loss in people worldwide [1-6]. Glaucoma is the leading cause of blindness and primary visual impairment. The underlying pathomechanism of primary congenital glaucoma is anterior chamber angle dysgenesis and elevated intraocular pressure. Pediatric glaucoma is one of the most challenging diseases to treat. This is because the patient is a child with a long life expectancy, the disease is potentially sight-threatening, and treatment, especially surgery, is often disappointing. The term pediatric glaucoma encompasses a variety of conditions. Primary congenital glaucoma is the most common form and is considered the second leading cause of preventable blindness in children [7,8]. Other forms of pediatric glaucoma include juvenile glaucoma, with onset between 4 and 16 years of age, and secondary forms of glaucoma, including pseudophakic glaucoma, which occurs in children who have undergone surgery for pediatric cataract, glaucoma due to systemic disease, as in Sturge Weber patients; glaucoma due to ocular anomalies, as in aniridia and Peter's anomaly; and glaucoma associated with acquired conditions, such as steroid, traumatic, and uveitic glaucoma. Clinical symptoms include photophobia, lacrimation, blepharospasm, increased globe size, corneal edema and enlargement, and RPE excavation [9-12].

Intraocular pressure (IOP) elevation, axial length increase, optic nerve cupping, and corneal changes, including corneal edema and Haab's striae, are the clinical hallmarks of pediatric glaucoma. Retinal ganglion cell loss

occurs as a consequence of IOP elevation. The modifiable risk factor for glaucoma progression is considered to be elevated intraocular pressure (IOP). Therefore, the main principle of glaucoma treatment is to systematically lower the IOP to a safe level. The main goal of glaucoma surgery is to achieve an individualized target IOP without the use of additional medications [13-17]. Sinusotrabeulotomy is considered the gold standard of congenital glaucoma surgery. In addition, in pediatric patients undergoing trabeculectomy, mitomycin C (MMC) may increase the rate of complications, including avascular, thin blebs and endophthalmitis, which have been reported at a rate as high as 6.7 %. Although GDD implantation in children is more challenging than in adults, GDD may be an appropriate option for IOP control in children, especially when initial angle surgery has failed, and may be considered a viable alternative to trabeculectomy. The valved Ahmed GDD is more commonly used than the non-valved Baerveldt GDD for the treatment of pediatric glaucoma [18-20]. Both the Ahmed and Baerveldt GDD are effective in lowering IOP, with final IOP ranging from 12.27 to 21.3 (42-59) and 13.8-18 in studies using the Ahmed and Baerveldt GDD, respectively. At one year, the success rate has been reported to range from 50-94.7 % and 72-94.5 % for the Ahmed and Baerveldt GDD, respectively. Although GDDs are considered the best option for the treatment of refractory, uncontrolled pediatric glaucoma, it is important to note that they can lead to several complications [21, 22].

As with any surgical procedure, sinusotrabeulotomy has the potential for a number of complications, which can be divided into intraoperative, early, and late postoperative complications [23]. Early complications include shallow anterior chamber syndrome, hyphema,



ciliochorioid detachment (CCD), excessive hypotension, and hypertension. The probability of these complications is quite high: according to some data, it can reach up to 50 %, which shows the relevance of this problem [24-27].

**Aim of the research.** To study the incidence and nature of early postoperative complications in children with primary congenital glaucoma in order to analyze treatment outcomes.

**Materials and Methods.** From 2021 to 2023, 50 children (91 eyes) aged from 20 days to 3 years were operated on at the Eye Department of the TashPMI Clinic. Children with secondary, combined glaucoma and children with systemic diseases were not included in the group. All children were hospitalized on an emergency basis. After thorough preparation, all patients underwent antiglaucomatous surgery. Of the children examined, 56 % (28) were boys and 44 % (22) were girls.

**Results and Discussion.** The distribution of the patients according to the stage of the disease showed that 12 eyes (13.19 %) were in the initial stage, 18 eyes (19.78 %) in the advanced stage, 50 eyes (54.95 %) in the very advanced stage and 11 eyes (12.08 %) in the terminal stage.

Visual acuity in patients varied from light perception with correct/incorrect projection to 0.09. Tonometric intraocular pressure (IOP) ranged from 28 to 44 mm Hg, depending on the stage of VH, with a mean value of  $36.26 \pm 1.2$  mm Hg. The size of the patients' eyes exceeded the age norm and ranged from 22 to 28 mm (mean  $25.7 \pm 1.8$  mm).

A study of the hydrodynamic parameters of the children's eyes showed that the mean true IOP (P0) was  $23.7 \pm 1.0$  mmHg. The coefficient of ease of outflow of intraocular fluid (C) averaged  $0.11 \pm 0.02$  mm<sup>3</sup>/min/mmHg, the minute volume of aqueous humor was  $2.5 \pm 0.5$  mm<sup>3</sup>/min, the Becker coefficient was  $194 \pm 5.0$ .

Ophthalmoscopy of the fundus revealed the following changes: enlargement of the optic nerve head (ONH) in 21 (23 %) cases, oblique optic nerve head in 24 (26 %) cases, vertically oval optic nerve head in 15 (16 %) cases, pallor of the optic nerve head in 32 (35 %) cases. The ratio of excavation to disc area (E/D) was on average  $0.64 \pm 0.04$ : in patients with advanced stage of E/D – on average  $0.42 \pm 0.01$ ; in advanced stage these indicators were  $0.62 \pm 0.03$ ; in terminal stage –  $0.8 \pm 0.02$ . In 17 (34 %) cases fundus details could not be examined due to the presence of keratopathy.

Gonioscopy revealed the following changes in the patients: in advanced stage, grade I goniodysgenesis was observed in 2 (10 %) cases, grade II – in 10 (50 %), grade III – in 7 (35 %). In advanced stage, grade II goniodysgenesis was observed in 7 (31 %) cases, grade III – in 3 (14 %). In the terminal stage, grade II goniodysgenesis was observed in 1 (13 %) case, grade III – in 3 (38 %). In the remaining 17 (34 %) cases the UPC could not be visualized due to the presence of keratopathy.

Intraocular pressure examination was performed before surgery under intubation anesthesia. The results of this examination showed that all children had elevated intraocular pressure with a mean of 30 mmHg. Gonioscopy

revealed the presence of mesenchymal tissue in the corner of the anterior chamber, attachment of the iris to the posterior third of the trabecular meshwork. All children underwent antiglaucomatous surgery, which included a one-stage effect on the outflow pathway in 3 directions: Burian sinus trabeculotomy into the scleral sinus, cyclodialysis-cycloretraction with autoscleral pedicle into the suprachoroidal space, basal iridectomy with sclerectomy under the scleral flap into the episcleral venous system.

The most common complications in the early postoperative period (up to 7 days) were CCHO, hyphema, IOP elevation, small anterior chamber syndrome and hypotony. On the first postoperative day hypotony – (–)1.0 and chorioidal edema were diagnosed in 40 (43.96 %) eyes with a typical clinical picture for such a complication. IOP elevation up to (+)1.0 was detected in 16 eyes in 17.58 % of cases. The probable cause of IOP elevation after surgery was viscoelastic and the presence of sterile air introduced into the anterior chamber to restore it in the final stage of surgery. As it was resorbed, the IOP returned to the planned level. Normal IOP was observed in 35 eyes (38.46 %).

On the third postoperative day, 6 (6.59 %) eyes still had high intraocular pressure. In 30 (32.97 %) eyes the intraocular pressure was in the normal range and in 25 (27.47 %) eyes it decreased to (–)0.5. 30 (32.97 %) eyes showed marked hypotony less than (–)1.0 and these children were found to have CCHO on B-scan. Therefore, they were prescribed conservative treatment (atropine, caffeine, dexamethasone in age-appropriate doses).

On the seventh postoperative day, ocular hypertension persisted in 3 (3.30 %) eyes and IOP lowering medication was recommended. In 25 (27.47 %) eyes IOP was normal, in 57 (62.64 %) eyes IOP was (–)0.5 and these children were discharged home under the supervision of the local ophthalmologist. Hypotony was pronounced in 6 (6.59 %) eyes. It developed against the background of small anterior chamber syndrome and unsuccessful conservative treatment. They were recommended to continue inpatient conservative treatment.

Thus, the total number of patients with CCHO was 32.97 % on the third day after surgery, which decreased to 6.59 % on the seventh day after conservative treatment.

Any manifestation of blood in the anterior chamber from the formation to the level was considered as hyphema. A total of 18 eyes (19.78 %) had hyphema on the first day, 12 (13.18 %) had hyphema on the third day, and 6 (6.59 %) had hyphema with marked hypotony on the seventh day.

**Conclusion.** Analysis of the structure of early postoperative complications showed that the largest number of patients with hypotension with CCHO 32.97 %, hyphema was noted in the early postoperative period – 19.78 % of patients and ocular hypertension in 17.58 % of cases.

After antiglaucoma surgery, early postoperative complications such as hyphema, CCHO and ocular hypertension occurred in 61.53 % of patients. On the third day, the number of complications decreased to –39.56 %. On the seventh day, 9.9 % of eyes had complications and were recommended to continue conservative treatment in the hospital.

In the early postoperative period after conservative treatment, the number of complications decreased to 90.1 %. These patients did not require repeat surgery. Patients were discharged home under the supervision of a local ophthalmologist.

**Conflict of interest:** The Authors declare no conflict of interest.

**Sources of funding:** self-financing.

### References:

- Boimer C, Birt CM. Preservative exposure and surgical outcomes in glaucoma patients: The PESO study. *J Glaucoma*. 2013;22(9):730-5. doi: 10.1097/IJG.0b013e31825af67d
- Edmunds B, Thompson JR, Salmon JF, Wormald RP. The National Survey of Trabeculectomy. III. Early and late complications. *Eye (Lond)*. 2002;16(3):297-303. doi: 10.1038/sj.eye.6700148
- Sidoti PA, Belmonte SJ, Liebmann JM, Ritch R. Trabeculectomy with mitomycin-C in the treatment of pediatric glaucomas. *Ophthalmology*. 2000;107(3):422-9. doi: 10.1016/s0161-6420(99)00130-x
- Vijaya L, Manish P, Ronnie G, Shantha B. Management of complications in glaucoma surgery. *Indian J Ophthalmol*. 2011;59(S):S131-40. doi: 10.4103/0301-4738.73689
- Hoskins HD Jr, Shaffer RN, Hetherington J. Anatomical classification of the developmental glaucomas. *Arch Ophthalmol*. 1984;102(9):1331-6. doi: 10.1001/archophth.1984.01040031081030
- Yeung HH, Walton DS. Clinical classification of childhood glaucomas. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(6):680-4. doi: 10.1001/archophth.2010.96
- Hoguet A, Grajewski A, Hodapp E, Chang TC. A retrospective survey of childhood glaucoma prevalence according to Childhood Glaucoma Research Network classification. *Indian J Ophthalmol*. 2016;64(2):118-23. doi: 10.4103/0301-4738.179716
- Elgin U, Şen E, Uzel M, Yılmazbaş P. Comparison of Refractive Status and Anterior Segment Parameters of Juvenile Open-Angle Glaucoma and Normal Subjects. *Turk J Ophthalmol*. 2018;48(6):295-8. doi: 10.4274/tjo.68915
- Turalba AV, Chen TC. Clinical and genetic characteristics of primary juvenile-onset open-angle glaucoma (JOAG). *Semin Ophthalmol*. 2008;23(1):19-25. doi: 10.1080/08820530701745199
- Wiggs JL, Del Bono EA, Schuman JS, Hutchinson BT, Walton DS. Clinical features of five pedigrees genetically linked to the juvenile glaucoma locus on chromosome 1q21-q31. *Ophthalmology*. 1995;102(12):1782-9. doi: 10.1016/s0161-6420(95)30793-2
- Kwun Y, Lee EJ, Han JC, Kee C. Clinical Characteristics of Juvenile-onset Open Angle Glaucoma. *Korean J Ophthalmol*. 2016;30(2):127-33. doi: 10.3341/kjo.2016.30.2.127
- Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, Drack AV, Johnson AT, Streb LM, et al. Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nat Genet*. 1993;4(1):47-50. doi: 10.1038/ng0593-47
- Stone EM, Fingert JH, Alward WL, Nguyen TD, Polansky JR, Sunden SL, et al. Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science*. 1997;275(5300):668-70. doi: 10.1126/science.275.5300.668
- Wang H, Li M, Zhang Z, Xue H, Chen X, Ji Y. Physiological function of myocilin and its role in the pathogenesis of glaucoma in the trabecular meshwork (Review). *Int J Mol Med*. 2019;43(2):671-81. doi: 10.3892/ijmm.2018.3992
- Suzuki Y, Shirato S, Taniguchi F, Ohara K, Nishimaki K, Ohta S. Mutations in the TIGR gene in familial primary open-angle glaucoma in Japan. *Am J Hum Genet*. 1997;61(5):1202-4. doi: 10.1086/301612
- Nag A, Lu H, Arno M, Iglesias AI, Bonnemaier P, Broer L, et al. Evaluation of the Myocilin Mutation Gln368Stop Demonstrates Reduced Penetrance for Glaucoma in European Populations. *Ophthalmology*. 2017;124(4):547-53. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.11.018
- Kim BS, Savinova OV, Reedy MV, Martin J, Lun Y, Gan L, et al. Targeted Disruption of the Myocilin Gene (Myoc) Suggests that Human Glaucoma-Causing Mutations Are Gain of Function. *Mol Cell Biol*. 2001;21(22):7707-13. doi: 10.1128/MCB.21.22.7707-7713.2001
- Bayoumi NH. Deep sclerectomy in pediatric glaucoma filtering surgery. *Eye (Lond)*. 2012;26(12):1548-53. doi: 10.1038/eye.2012.215
- Shakir M, Bokhari A, Kamil Z, Zafar S. Combined trabeculectomy and augmented trabeculectomy in primary congenital glaucoma. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2013;23(2):116-9.
- Colás-Tomás T, Gutiérrez-Díaz E, Tejada-Palacios P, Barceló-Mendiguchía A, Mencía-Gutiérrez E. Intermediate results on the use of drainage devices for paediatric glaucoma. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2012;87(2):38-43. doi: 10.1016/j.oftal.2011.07.011
- Kirwan C, O'Keefe M, Lanigan B, Mahmood U. Ahmed valve drainage implant surgery in the management of paediatric aphakic glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(7):855-8. doi: 10.1136/bjo.2004.056143
- Khan AO, Almobarak FA. Comparison of polypropylene and silicone Ahmed valve survival 2 years following implantation in the first 2 years of life. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(6):791-4. doi: 10.1136/bjo.2008.151258
- Van Overdam KA, De Faber JT, Lemij HG, De Waard PW. Baerveldt glaucoma implant in paediatric patients. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(3):328-32. doi: 10.1136/bjo.2005.078832
- Ayaki M, Iwasawa A, Inoue Y. Toxicity of antiglaucoma drugs with and without benzalkonium chloride to cultured human corneal endothelial cells. *Clin Ophthalmol*. 2010;4:1217-22. doi: 10.2147/OPHTH.S13708
- Urban B, Bakunowicz-Lazarczyk A, Michalczyk M, Kretowska M. Evaluation of corneal endothelium in adolescents with juvenile glaucoma. *J Ophthalmol [Internet]*. 2015[cited 2023 Nov 10];2015:895428. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/joph/2015/895428/> doi: 10.1155/2015/895428
- Tsai JC, Chang HW, Kao CN, Lai IC, Teng MC. Trabeculectomy with mitomycin C versus trabeculectomy alone for juvenile primary open-angle glaucoma. *Ophthalmologica*. 2003;217(1):24-30. doi: 10.1159/000068250
- Sidoti PA, Belmonte SJ, Liebmann JM, Ritch R. Trabeculectomy with mitomycin-C in the treatment of pediatric glaucomas. *Ophthalmology*. 2000; 107(3):422-9. doi: 10.1016/s0161-6420(99)00130-x

## АЛГОРИТМ ВЕДЕННЯ ДІТЕЙ ПІСЛЯ АНТИГЛАУКОМАТОЗНОЇ ХІРУРГІЇ

*Д. М. Туракулова, З. Р. Назирова*Ташкентський педіатричний медичний інститут  
(м. Ташкент, Республіка Узбекистан)**Резюме.**

Поширеність глаукоми у дітей віком коливається не більше 1:10000-1:12000. У структурі сліпоти у дітей питома вага даної патології коливається від 2 до 15 %. Мета хірургічного лікування глаукоми – досягнення цільового внутрішньоочного тиску без використання лікарських засобів. До ранніх ускладнень відносять синдром дрібної передньої камери, гіфему, циліохороїдальне відшарування, надмірну гіпотонію та гіпертензію. Імовірність виникнення цих ускладнень досить висока – за деякими даними, вона може сягати понад 50 %, що показує актуальність цієї проблеми.

**Мета дослідження.** Вивчити частоту народження та характер ранніх післяопераційних ускладнень для проведення аналізу результатів лікування у дітей з первинною вродженою глаукомою.

**Методи дослідження.** Загальна кількість склали 50 дітей (91 очей), яким проведено антиглаукоматозна операція та виявлено ранні післяопераційні ускладнення.

**Результати дослідження.** Аналіз структури ранніх післяопераційних ускладнень після антиглаукоматозних операцій показав, що на перший день загальна кількість пацієнтів із ускладненнями становила 61,54 %. На третій день пацієнти з ранніми післяопераційними ускладненнями становили до 39,56 % випадків. Найбільшу кількість склали пацієнти з гіпотонією при ССО – 32,97 %, гіфема у ранньому післяопераційному періоді зустрічалася у 19,78 % та офтальмогіпертензія – у 17,58 %. На сьомий день у 9,9 % пацієнтів відзначали ранні післяопераційні ускладнення, яким було рекомендовано продовжити консервативне лікування в стаціонарних умовах.

**Висновок.** У ранньому післяопераційному періоді після проведення консервативного лікування кількість ускладнень зменшилась до 90,1 %. Ці пацієнти не потребували повторного хірургічного втручання. Хворих було виписано додому під наглядом офтальмолога за місцем проживання.

**Ключові слова:** первинна вроджена глаукома; антиглаукоматозна операція; ранні післяопераційні ускладнення.

**Contact information:**

**Zulfiya Nazirova** – Doctor of Medical Sciences, Department of Ophthalmology, Pediatric Ophthalmology, Tashkent Pediatric Medical Institute (Tashkent, Republic of Uzbekistan).

**e-mail:** namozov.azizjon@mail.ru

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0474-1036>

**Контактна інформація:**

**Назірова Зульфія** – доктор медичних наук, кафедра офтальмології, дитячої офтальмології, Ташкентський педіатричний медичний інститут (м. Ташкент, Республіка Узбекистан).

**e-mail:** namozov.azizjon@mail.ru

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0474-1036>



Received for editorial office on 12/08/2023  
Signed for printing on 15/10/2023

UDC: 616-071+616.8-009.7+613.95+616-089.168.1  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.13

## CLINICAL AND LABORATORY CHANGES IN POSTSURGICAL PAIN MARKERS IN CHILDREN

*Semkovych Ya. V.*

Communal Non-Profit Enterprise «Ivano-Frankivsk  
Regional Children's Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk  
Regional Council» (Ivano-Frankivsk, Ukraine)

### Summary

*Postoperative pain in children remains a significant problem in pediatric intensive care, possibly related to an imperfect algorithm for its management. Prolonged postoperative pain delays recovery and rehabilitation, increases treatment costs, and prolongs opioid use. Inadequate perioperative pain management can lead to a variety of postoperative complications, the prediction of which remains elusive despite the use of commonly accepted clinical, laboratory, and instrumental indicators.*

*The aim of this study was to evaluate clinical and laboratory changes in children after abdominal surgery and their correlation with acute pain scales.*

**Material and Methods.** *The study included 83 children aged 7-18 years who underwent abdominal surgery under opioid anesthesia.*

*Inclusion criteria: age 7-18 years; indication for surgery for acute appendicitis; American Society of Anesthesiologists (ASA) Anesthesia Risk Score I and II; parental consent for the children to participate in the study.*

*Acute pain intensity was measured using the Visual Analog Scale (VAS) and the Face, Legs, Activity, Cry, Consolability (FLACC) scale. Key vital signs assessed included heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure, and oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>). In addition, laboratory indicators including leukocyte count, blood glucose level, erythrocyte sedimentation rate, and TLR-4 and CD40L levels were determined.*

*All clinical and laboratory studies were conducted in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki «Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects» (Minutes of the Ethics Committee No. 2, dated February 24, 2002).*

*Statistical analysis was performed on a personal computer using Statistica 10 software, using parametric and nonparametric statistical methods.*

*The study is a part of the research project of the Department of Children's Diseases of the Postgraduate Medical Education Faculty of the Ivano-Frankivsk National Medical University «Health Status and Adaptation of Children from the Precarpathian Region with Somatic Diseases, Their Prevention» 2021-2026, state registration number 0121U111129; the author is a co-researcher.*

**Results.** *The mean age of the children was 13.8±0.23 years, while the mean body weight was 40.9±1.6 kg. Gender assessment showed no differences between boys and girls (55.4 % and 44.6 %, respectively, p>0.05).*

*The study showed very strong positive correlations (r=0.9-1.0) between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and heart rate, blood glucose levels; strong positive correlations (r=0.7-0.9) with total leukocyte count and erythrocyte sedimentation rate; moderate positive correlations (r=0.5-0.7) with serum TLR4 and CD40L levels; weak positive correlations (r<0.5) with diastolic blood pressure, SpO<sub>2</sub>, and opioid and non-opioid analgesic administration.*

**Conclusions.** *The observed positive correlations between acute pain scores on the VAS and FLACC scale and pro-inflammatory indicators may support the theory of involvement of these markers in the generation of acute pain in pediatric patients. However, further research is needed to investigate the mechanisms of acute postoperative pain generation, to identify markers related to nociception in chronic pain, and to develop preventive strategies for these conditions in children.*

**Key words:** *children; acute postoperative pain; CD40L system; TLR4; FLACC scale; Visual Analog Scale.*

### Introduction

Postoperative pain in children remains a significant problem in pediatric intensive care, possibly related to an imperfect algorithm for its management. Prolonged postoperative pain delays recovery and rehabilitation, increases treatment costs, and prolongs opioid use [1-3]. Inadequate perioperative pain management can lead to a variety of postoperative complications, the prediction of which remains elusive despite the use of commonly accepted clinical, laboratory, and instrumental indicators [4-7].

Toll-like receptor 4 (TLR4) expression may serve as a specific marker of acute postoperative pain. According to the literature, opioid exposure induces neuroinflammatory responses via glial TLR4 expression [8]. TLR4 stimulation leads to overproduction of pro-inflammatory mediators underlying inflammatory and autoimmune diseases, including sepsis, neuropathic pain and neurodegenerative diseases [9]. To date, opioid agonists have been shown to act as TLR4 agonists, while opioid antagonists such as naloxone act as TLR4 antagonists [10]. In addition, opioids

can induce paradoxical hyperalgesia, a phenomenon that is directly dependent on the baseline level of TLR4 [11]. The results of recent studies also indicate the impact of TLR4 stimulation on the induction, conversion and modulation of chronic pain [12]. There is evidence that opioids, including morphine, can induce neuroinflammatory responses, in part mediated via glial TLR4 expression [13-15]. The interaction of TLRs in response to opioids results in paradoxical hyperalgesia, a state of increased pain sensitization induced by opioid exposure [16].

Experimental models of peripheral nerve injury have shown that the CD40/CD40 ligand (CD40L) system plays an important role in the generation of neuropathic pain associated with increased chemokine (CCL2) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) expression [17-23]. However, the available literature on the pronociceptive effects of the CD40-CD40L system in the experiment is quite limited, and its role in the development of pain syndrome in clinical medicine, especially in anesthesia practice, remains unstudied.

**The aim** of this study was to evaluate clinical and laboratory changes in children after abdominal surgery and their correlation with acute pain assessment scales.

**Material and Methods.** The study included 83 children aged 7-18 years who underwent abdominal surgery under opioid anesthesia in the surgical department of the municipal non-profit enterprise «Ivano-Frankivsk Regional Children's Clinical Hospital of the Ivano-Frankivsk Regional Council», Ivano-Frankivsk, Ukraine, in 2020-2022.

Inclusion criteria were as follows: age 7-18 years; indication for surgery for acute appendicitis; American Society of Anesthesiologists (ASA) anesthesia risk score of I and II; parental consent for children's participation in the research.

Exclusion criteria included children under 7 years of age; ASA anesthesia risk score of III and higher; mental disorders; neoplasms or tumors; previous abdominal surgery; chronic pain for six months prior to surgery; parent/guardian refusal to enroll their children in the research.

Acute pain intensity was measured using the Visual Analog Scale (VAS) [24] and the Face, Legs, Activity, Cry, Consolability (FLACC) scale [25]. The VAS and FLACC scale scores were obtained on days 1, 3, and 6 after surgery.

During the first six days after surgery, the children's vital signs, including heart rate (HR), respiratory rate (RR), systolic and diastolic blood pressure (SBP, DBP), and oxygen saturation (SpO<sub>2</sub>), were monitored. In addition, laboratory indicators including leukocyte count, blood glucose level, and erythrocyte sedimentation rate (ESR) were determined.

The level of TLR4 was measured in the blood of 48 patients using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit from Elabscience, lot TM5TMWVDI (USA), according to the manufacturer's instructions at hospital discharge, three months, and six months after surgery. The results obtained were determined by the absorbance of the studied samples on the microtiter plate reader «HumaReader» (Germany) at a wavelength of 450 nm. The minimum possible concentration of determination is 1 pg/ml.

Serum CD40L levels were measured in 30 patients using the Human CD40L (Cluster of Differentiation 40 Ligand) ELISA Kit, Catalog No: EH0086 (Fine Biotech, Wuhan, China) according to the manufacturer's instructions during surgery, 24 hours after surgery, and at hospital discharge.

All clinical and laboratory studies were conducted in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki «Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects». In accordance with the law,

a written informed consent was signed by each subject (parents/guardians) prior to participation in the study. The manuscript was approved by the Ethics Committee of the Municipal Non-Profit Enterprise «Ivano-Frankivsk Regional Children's Clinical Hospital of the Ivano-Frankivsk Regional Council», as evidenced by the extract from the Minutes of the Committee Meeting No. 2 dated February 24, 2002.

Statistical analysis was performed on a personal computer using the statistical software packages MS Excel and SPSS22 for Windows. If the data were normally distributed (Shapiro-Wilk test  $>0.05$ ), parametric statistical methods were used, calculating the arithmetic mean (M) and the standard error of the mean (m). The dependent samples t-test was used to compare quantitative indicators with a normal distribution. The relationship between indicators was determined using Pearson's correlation coefficient. The difference between parameters was considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

If the data followed a non-normal distribution (Shapiro-Wilk test  $<0.05$ ), non-parametric statistical methods were used, calculating the median (Me), lower quartile (LQ) and upper quartile (UQ). The Wilcoxon signed-rank test was used to assess differences between nonparametric indicators. The relationship between indicators was determined using Spearman's correlation. Parameter differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

The study is a part of the research project of the Department of Children's Diseases of the Postgraduate Medical Education Faculty of Ivano-Frankivsk National Medical University «Health Status and Adaptation of Children from the Precarpathian Region with Somatic Diseases, Their Prevention» 2021-2026, state registration number 0121U111129; the author is a co-researcher.

**Results and Discussion.** The mean age of the children was  $13.8 \pm 0.23$  years, while the mean body weight was  $40.9 \pm 1.6$  kg. Gender assessment showed no differences between boys and girls (55.4 % and 44.6 %, respectively,  $p > 0.05$ ).

Analysis of acute pain assessment in children using the VAS and FLACC scale showed a decrease in pain intensity during the first six days after surgery (Table 1).

No statistically significant difference was found in the main vital signs (RR, SBP, DBP, and SpO<sub>2</sub>) over the course of treatment. However, a statistically significant decrease in HR was observed on the sixth day after surgery compared to the first day (Table 2).

**Table 1**

**Acute pain assessment on the VAS and FLACC scale (n=83, M $\pm$ m)**

| Day after surgery        | VAS (points)  | FLACC (points)  |
|--------------------------|---|---|
| 1                        | 6.81 $\pm$ 0.09   | 6.69 $\pm$ 0.11   |
| 2                        | 5.87 $\pm$ 0.1  | 5.87 $\pm$ 0.12   |
| 3                        | 5.04 $\pm$ 0.11   | 5.07 $\pm$ 0.12   |
| 4                        | 4.06 $\pm$ 0.14   | 4.25 $\pm$ 0.13   |
| 5                        | 3.34 $\pm$ 0.11   | 3.49 $\pm$ 0.13   |
| 6                        | 2.51 $\pm$ 0.14   | 2.77 $\pm$ 0.13   |
| Dependent samples t-test | P <sub>1-4</sub> =0.038<br>P <sub>1-5</sub> =0.01<br>P <sub>1-6</sub> =0.005<br>P <sub>2-6</sub> =0.027 | P <sub>1-5</sub> =0.017<br>P <sub>1-6</sub> =0.008<br>P <sub>2-6</sub> =0.038 |

**Table 2**

**Changes in patients' vital signs over the course of treatment (n=83, M±m)**

| Indicator            | Day after surgery | Indicator value | Dependent samples t-test  |
|----------------------|-------------------|-----------------|---|
| HR, bpm              | Day 1             | 96.15±1.64      | P <sub>1:3</sub> >0.05<br>P <sub>1:6</sub> <0.001<br>P <sub>3:6</sub> >0.05 |
|                      | Day 3             | 93.9±1.35       |   |
|                      | Day 6             | 87.79±1.06      |   |
| RR, bpm              | Day 1             | 21.09±0.24      | P <sub>1:3</sub> >0.05<br>P <sub>1:6</sub> >0.05<br>P <sub>3:6</sub> >0.05  |
|                      | Day 3             | 21.07±0.23      |   |
|                      | Day 6             | 20.67±0.17      |   |
| SBP, mm Hg           | Day 1             | 108.64±1.13     | P <sub>1:3</sub> >0.05<br>P <sub>1:6</sub> >0.05<br>P <sub>3:6</sub> >0.05  |
|                      | Day 3             | 108.79±0.93     |   |
|                      | Day 6             | 107.13±0.85     |   |
| DBP, mm Hg           | Day 1             | 67.09±0.94      | P <sub>1:3</sub> >0.05<br>P <sub>1:6</sub> >0.05<br>P <sub>3:6</sub> >0.05  |
|                      | Day 3             | 69.22±0.86      |   |
|                      | Day 6             | 68.14±1.01      |   |
| SpO <sub>2</sub> , % | Day 1             | 97.77±0.07      | P <sub>1:3</sub> >0.05<br>P <sub>1:6</sub> >0.05<br>P <sub>3:6</sub> >0.05  |
|                      | Day 3             | 97.83±0.08      |   |
|                      | Day 6             | 97.75±0.09      |   |

Analysis of correlations between acute pain scores on the VAS and FLACC scale and vital signs in pediatric

patients on days 1, 3, and 6 postoperatively is presented in Table 3.

**Table 3**

**Correlation coefficients between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and vital signs in children, p<0.05**

| Indicator            | Day after surgery | VAS  | FLACC |
|----------------------|-------------------|------|-------|
| RR, bpm              | Day 1             | 0.95 | 0.95  |
|                      | Day 3             | 0.96 | 0.96  |
|                      | Day 6             | 0.97 | 0.98  |
| DBP, mm Hg           | Day 1             | 0.36 | 0.36  |
|                      | Day 3             | 0.36 | 0.36  |
|                      | Day 6             | 0.42 | 0.41  |
| SpO <sub>2</sub> , % | Day 1             | 0.39 | 0.39  |
|                      | Day 3             | 0.36 | 0.36  |
|                      | Day 6             | 0.38 | 0.39  |

Analysis of the mean total blood leukocyte count showed statistically significant differences in this indicator during the course of treatment, namely 16.79±0.51 g/L on day 1, 12.99±0.41 g/L on day 3, and 9.13±0.28 g/L on day 6 after surgery (p<sub>1:3</sub><0.001, p<sub>1:6</sub><0.001). The mean ESR was 8.04±0.32 mm/h, 9.79±0.41 mm/h, and 8.91±0.33 mm/h on days 1, 3, and 6 after surgery, respectively (p<sub>1:3</sub>=0.001). The mean incidence of pathologically elevated ESR (>12 mm/h) in the children studied did not show statistically significant changes during the first six days after surgery

(8.4 %, 8.4 %, and 12.0 % of cases on day 1, day 3, and day 6, respectively). Evaluation of blood glucose level in children also showed changes in this indicator during the course of treatment, namely 5.97±0.11 mmol/l on day 1, 5.57±0.08 mmol/l on day 3, and 4.99±0.04 mmol/l on day 6 after surgery (p<sub>1:3</sub><0.001, p<sub>1:6</sub><0.001, p<sub>2:3</sub><0.001).

Correlations between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and paraclinical indicators in patients on days 1, 3, and 6 postoperatively are shown in Table 4.

**Table 4**

**Correlation coefficients between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and paraclinical indicators in children, p<0.05**

| Indicator                  | Day after surgery | VAS  | FLACC |
|----------------------------|-------------------|------|-------|
| Total leukocyte count, g/L | Day 1             | 0.83 | 0.83  |
|                            | Day 3             | 0.96 | 0.91  |
|                            | Day 6             | 0.93 | 0.93  |
| ESR, mm/h                  | Day 1             | 0.84 | 0.84  |
|                            | Day 3             | 0.84 | 0.84  |
|                            | Day 6             | 0.84 | 0.84  |
| Glucose, mmol/l            | Day 1             | 0.98 | 0.98  |
|                            | Day 3             | 0.99 | 0.99  |
|                            | Day 6             | 0.99 | 0.99  |

Perioperative pain management in children is often ineffective, with up to 50 % of patients experiencing inadequate pain control and severe side effects from opioid analgesics. According to the literature, an increase in opioid use increases the prevalence of chronic pain [24]. The study analyzed the frequency of opioid and non-opioid analgesic administration to children in the perioperative period. In the analgesic regimen, fentanyl was administered to 82 (98.8 %) children, promedol to 19 (22.9 %) children, omnopon to 5 (6.02 %) children, morphine to one (1.2 %) child, and ketamine to 29 (34.9 %) children. The following non-opioid analgesics were also used for pain relief Analgin in 63 (75.9 %) cases and acetaminophen in 57 (68.6 %) cases. On the first postoperative day, statistically significant positive correlations ( $p < 0.05$ ) were found between the acute pain score on the VAS and the administration of ketamine ( $r = 0.41$ ); on the sixth postoperative day, statistically significant positive correlations ( $p < 0.05$ ) were found between the acute pain score on the VAS and the administration of Omnopon ( $r = 0.77$ ) and acetaminophen ( $r = 0.39$ ). For the FLACC scale, statistically significant positive correlations ( $p < 0.05$ ) were found on the first postoperative

day with the administration of Fentanyl ( $r = 0.26$ ), Promedol ( $r = 0.53$ ) and Paracetamol ( $r = 0.31$ ); on the third postoperative day with the administration of Promedol ( $r = 0.48$ ) and Paracetamol ( $r = 0.33$ ); on the sixth postoperative day with the administration of Paracetamol ( $r = 0.3$ ).

The mean ICU length of stay was  $0.94 \pm 0.07$  days, the mean surgical length of stay was  $8.11 \pm 0.38$  days, and the mean total hospital length of stay was  $9.08 \pm 0.43$  days. Statistically significant positive correlations ( $p < 0.05$ ) were found between the VAS acute pain score on the first day after surgery and the ICU length of stay ( $r = 0.39$ ) and the total hospital stay ( $r = 0.28$ ). These correlations remained positive on postoperative days 3 ( $r = 0.43$  and  $r = 0.48$ ) and 6 ( $r = 0.27$  and  $r = 0.23$ ).

In addition, the absolute levels of serum TLR4 in children at discharge (mean day  $9.08 \pm 0.43$ ), three and six months after surgery were examined (Fig. 1). The mean level of this membrane protein in children who underwent surgery for acute appendicitis was  $18.13 \pm 0.41$  pg/ml at discharge,  $54.3 \pm 1.74$  pg/ml three months after surgery, and  $102.17$  pg/ml six months after surgery ( $p < 0.001$  across all groups).

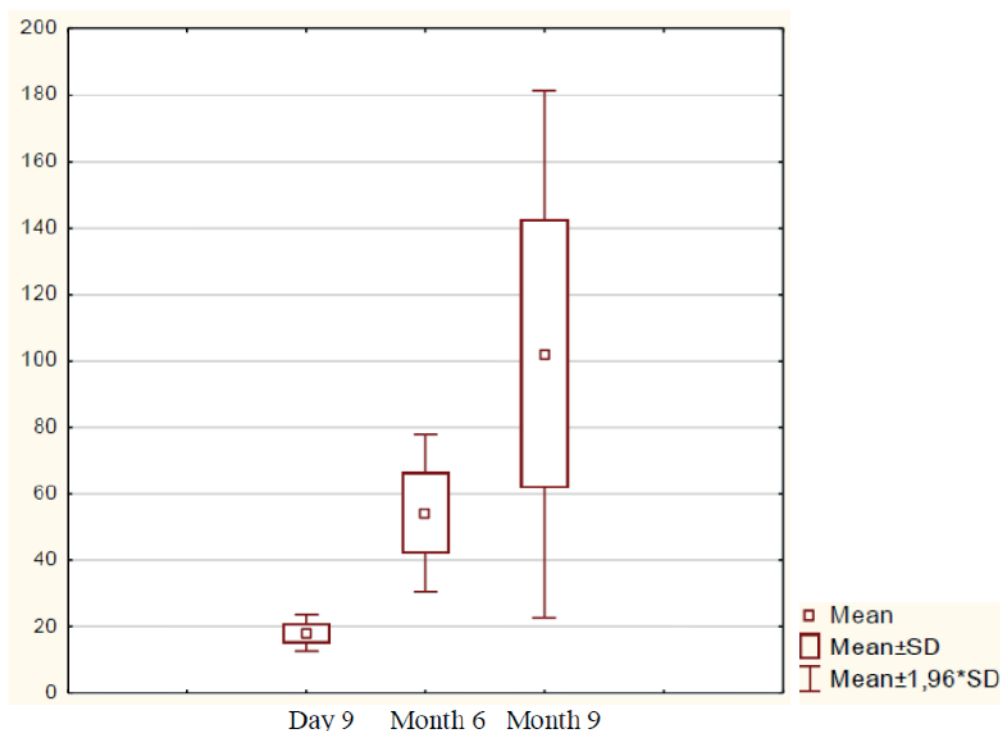


Fig. 1. Serum TLR4 level in pediatric patients (pg/ml),  $n = 48$

The mean acute pain score on the VAS was  $3.08 \pm 0.13$  points one day after surgery,  $2.54 \pm 0.13$  points three months after surgery, and  $1.98 \pm 0.12$  points six months after surgery ( $p < 0.001$  across all groups); the mean FLACC

scale score was  $3.39 \pm 0.12$  points,  $2.62 \pm 0.13$  points, and  $2.14 \pm 0.14$  points, respectively ( $p < 0.001$  across all groups). A correlation between serum TLR4 levels and the given acute pain assessment scales is shown in Table 5.

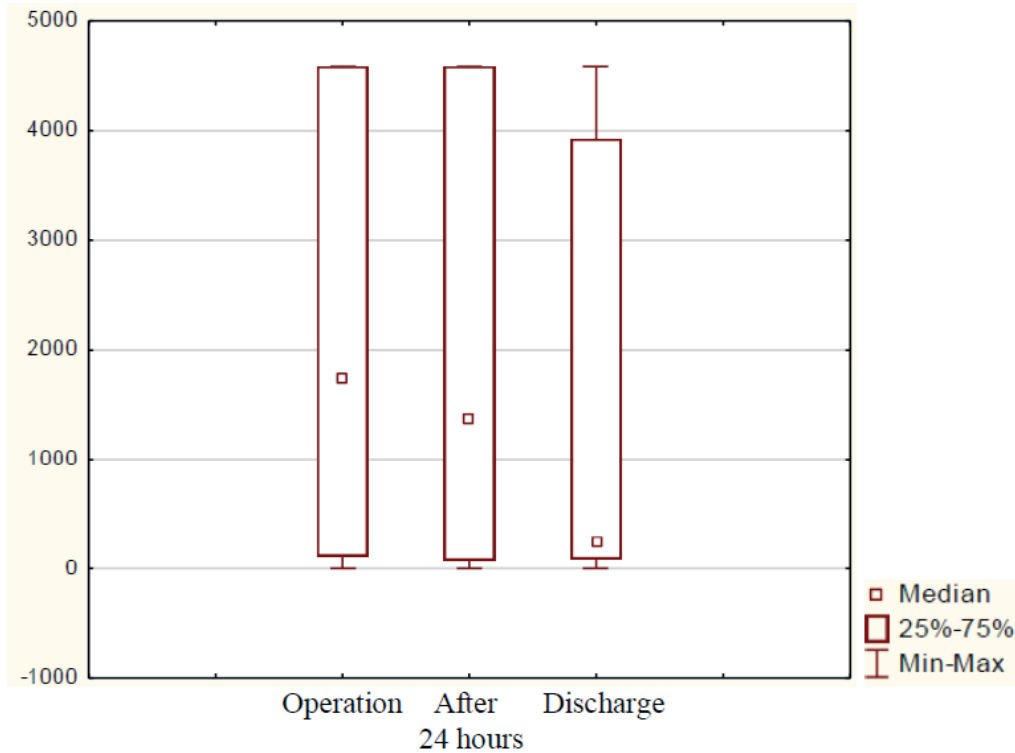
Table 5

Correlation coefficients between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and serum TLR4 levels in children,  $p < 0.05$

| Indicator                                | VAS   |       |           | FLACC |       |           |
|--|-------|-------|-----------|-------|-------|-----------|
|  | Day 1 | Day 3 | Discharge | Day 1 | Day 3 | Discharge |
| TLR4 level at discharge, pg/ml           | 0.31  | 0.43  | 0.39      | 0.48  | 0.49  | 0.59      |
| TLR4 level 3 months after surgery, pg/ml | 0.46  | 0.55  | 0.47      | 0.63  | 0.63  | 0.64      |
| TLR4 level 6 months after surgery, pg/ml | 0.37  | 0.46  | 0.39      | 0.61  | 0.53  | 0.58      |

The mean serum CD40L level in children was 2213.9 [114.9; 4582.5] pg/mL during surgery, 2125.3 [79.4; 4582.5]

pg/mL 12 hours after surgery, and 1508.4 [88.3; 3922.5] pg/mL on the day of discharge,  $p < 0.05$  in all groups (Fig. 2).



**Fig. 2. Serum CD40L level in pediatric patients (pg/ml), n=30**

The mean acute pain score on the VAS was 5.06 [3.0; 7.0] points within the first hours after surgery, 3.36 [3.0; 4.0] points at 24 hours after surgery, and 2.3 [2.0; 3.0] points at discharge; the mean FLACC scale score was 5.23

[3.0; 7.0] points, 3.23 [3.0; 3.0] points, and 2.2 [2.0; 2.0] points, respectively ( $p < 0.001$  in all groups). Correlations between serum CD40L levels and the acute pain scales are shown in Table 6.

**Table 6**

**Correlation coefficients between acute pain assessment scores on the VAS and FLACC scale and serum CD40L levels in children,  $p < 0.05$**

| Indicator                                 | VAS     |                        |           | FLACC   |                        |           |
|---|---------|------------------------|-----------|---------|------------------------|-----------|
|   | Surgery | 24 hours after surgery | Discharge | Surgery | 24 hours after surgery | Discharge |
| CD40L level during surgery, pg/ml         | 0.66    | 0.38                   | 0.42      | 0.75    | 0.43                   | 0.51      |
| CD40L level 24 hours after surgery, pg/ml | 0.68    | 0.49                   | 0.43      | 0.78    | 0.46                   | 0.58      |
| CD40L level at discharge, pg/ml           | 0.75    | 0.38                   | 0.37      | 0.67    | 0.53                   | 0.42      |

**Conclusions.** Our study revealed various statistically significant differences between acute pain assessment on VAS and FLACC scale and clinical and paraclinical indicators in children operated for acute appendicitis at different postoperative intervals, showing very strong positive correlations ( $r=0.9-1.0$ ) between the given scales and heart rate, blood glucose levels; strong positive correlations ( $r=0.7-0.9$ ) with total leukocyte count and ESR; moderate positive correlations ( $r=0.5-0.7$ ) with serum TLR4 and CD40L levels; weak positive correlations ( $r < 0.5$ ) with DBP, SpO2 and administration of opioid and non-opioid analgesics. Positive correlations between acute pain assessment score on the VAS and FLACC

scale and pro-inflammatory indicators are noteworthy, as it may support the theory of involvement of these markers in the generation of acute pain in the pediatric patient group. The results obtained indicate the potential for further exploration of the mechanisms underlying acute postoperative pain, the identification of markers related to nociception in chronic pain, and the development of preventive strategies for these conditions in pediatric patients.

**Conflict of Interests:** none.

**Funding Sources:** self-funding.

**References:**

1. Semkovych Ya, Dmytriiev D, Dobrovanov O, Vidiscak M, Supinova M. Acute and chronic pain in children. A modern view of the issue. *Lec Obz.* 2022;71(9):338-42.
2. Dmytriiev D, Dmytriiev K, Stoliarchuk O, Semenenko A. Multiple organ dysfunction syndrome: What do we know about pain management? A narrative review. *Anaesth Pain Intensive Care.* 2019;23(1):84-91.



3. Dmytriiev D. Assessment and treatment of postoperative pain in children. *Anaesth Pain Intensive Care*. 2018;22(3):392-400.
4. Reust C, Williams A. Acute abdominal pain in children. *Am Fam Physician*. 2016;93(10):830-36.
5. Saito JM. Beyond appendicitis: evaluation and surgical treatment of pediatric acute abdominal pain. *Curr Opin Pediatr*. 2012;24(3):357-64. doi: 10.1097/MOP.0b013e328352704e
6. Zaletskyi BV, Dmytriiev DV. Modern methods of regional anesthesia of the perioperative period in children in abdominal surgery. A review. *Pain Anaesth Int Care*. 2019;3:7-11. doi: 10.25284/2519-2078.3(88).2019.177371
7. McBain R, Rose AJ, LaRoche MR. The U. S. opioid epidemic: One disease, diverging tales. *Prev Med*. 2018;112:176-8. doi: 10.1016/j.ypmed.2018.04.023
8. Grace PM, Strand KA, Galer EL, Urban DJ, Wang X, Baratta MV, et al. Morphine paradoxically prolongs neuropathic pain in rats by amplifying spinal NLRP3 inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(24): E3441-50. doi: 10.1073/pnas.1602070113
9. Baral P, Udit S, Chiu IM. Pain and immunity: implications for host defence. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(7):433-47. doi: 10.1038/s41577-019-0147-2
10. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011;34(5):637-50. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006
11. Lacagnina MJ, Watkins LR, Grace PM. Toll-like receptors and their role in persistent pain. *Pharmacol Ther*. 2018;184:145-58. doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.10.006
12. Trotta T, Porro C, Calvello R, Panaro MA. Biological role of Toll-like receptor-4 in the brain. *J Neuroimmunol*. 2014;268(1-2):1-12. doi: 10.1016/j.jneuroim.2014.01.014
13. Thomas D, Wessel C. The state of innovation in highly prevalent chronic disease. Volume II: Pain and Addiction Therapeutics. *BIO*. 2018;2:1-15.
14. Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, Ohtsuka M, Miyazaki M. Immunosuppression following surgical and traumatic injury. *Surg Today*. 2010;40(9):793-808. doi: 10.1007/s00595-010-4323-z
15. Zychowska M, Rojewska E, Makuch W, Przewlocka B, Mika J. The influence of microglia activation on the efficacy of amitriptyline, doxepin, milnacipran, venlafaxine and fluoxetine in a rat model of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*. 2015;749:115-23. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.11.022
16. Booth J, Wilson H, Jimbo S, Mutwiri G. Modulation of B cell responses by Toll-like receptors. *Cell Tissue Res*. 2011;343(1):131-40. doi: 10.1007/s00441-010-1031-3
17. Semkovich Y, Dmytriiev D. Elevated serum TLR4 level as a potential marker for postsurgical chronic pain in pediatric patients with different approaches to analgesia. *Front Med*. 2022;9:897533. doi: 10.3389/fmed.2022.897533
18. Cao L, Malon JT. Anti-nociceptive role of CXCL1 in a murine model of peripheral nerve injury-induced neuropathic pain. *Neuroscience*. 2018;372:225-36. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.12.048
19. Jurga AM, Rojewska E, Piotrowska A, Makuch W, Pilat D, Przewlocka B, et al. Blockade of Toll-like receptors (TLR2, TLR4) attenuates pain and potentiates buprenorphine analgesia in a rat neuropathic pain model. *Neural Plast*. 2016;5238730. doi: 10.1155/2016/5238730
20. Malon JT, Maddula S, Bell H, Cao L. Involvement of calcitonin gene-related peptide and CCL2 production in CD40-mediated behavioral hypersensitivity in a model of neuropathic pain. *Neuron Glia Biol*. 2011;7(2-4):117-28. doi: 10.1017/S1740925X12000026
21. Bian ZM, Field MG, Elner SG, Kahlenberg JM, Elner VM. Distinct CD40L receptors mediate inflammasome activation and secretion of IL-1beta and MCP-1 in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res*. 2018;170:29-39. doi: 10.1016/j.exer.2018.02.014
22. Fan H, Huang L, Yang D, Zhang C, Zeng Q, Yin G, et al. Respiratory infections in X-linked hyper-IgM syndrome with CD40LG mutation: a case series of seven children in China. *BMC Pediatr*. 2022;22:675. doi: 10.1186/s12887-022-03726-z
23. Marsman C, Verstegen NJ, Streutker M, Jorritsma T, Boon L, Brinke AT, et al. Termination of CD40L co-stimulation promotes human B cell differentiation into antibody-secreting cells. *Eur J Immunol*. 2022;52(10):1662-75. doi: 10.1002/eji.202249972
24. Le May S, Ballard A, Khadra C, Gouin S, Plint AC, Villeneuve E, et al. Comparison of the psychometric properties of 3 pain scales used in the pediatric emergency department: Visual Analogue Scale, Faces Pain Scale-Revised, and Colour Analogue Scale. *Pain*. 2018;159(8):1508-17. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001236
25. Malviya S, Voepel-Lewis T, Burke C, Merkel S, Tait AR. The revised FLACC observational pain tool: improved reliability and validity for pain assessment in children with cognitive impairment. *Pediatric Anesthesia*. 2006;16:258-265. doi: 10.1111/j.1460-9592.2005.01773.x

## КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ЗМІНИ МАРКЕРІВ БОЛЮ У ДІТЕЙ В ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОМУ ПЕРІОДІ

*Я. В. Семкович*

**КНП «Івано-Франківська обласна дитяча клінічна лікарня Івано-Франківської обласної ради»  
(м. Івано-Франківськ, Україна)**

### Резюме.

Післяопераційний біль у дітей до цього часу є суттєвою проблемою для педіатричної інтенсивної терапії, що може бути пов'язано з недосконалим алгоритмом його менеджменту. Тривалий післяопераційний біль призводить до подовження термінів госпіталізації, підвищення вартості лікування, збільшення часу реабілітації та тривалості застосування опіоїдів. Неадекватне періопераційне знеболення може спричинити велику кількість післяопераційних ускладнень, прогнозування яких за допомогою загально прийнятих клінічних, лабораторних та інструментальних показників на сьогодні не вдається.

**Метою даного дослідження** було оцінити клініко-лабораторні зміни у дітей, яким проведено операції на органах черевної порожнини, та їх кореляційний зв'язок зі шкалами для оцінки гострого болю.

**Матеріал та методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 83 дитини віком 7-18 років, яким проводилось оперативне втручання на органах черевної порожнини із застосуванням загальноприйнятого опіоїдного знеболення.

Критерії включення: вік 7-18 років; покази до проведення оперативного втручання з приводу гострого апендициту; ступінь анестезіологічного ризику за шкалою ASA (American Society of Anesthesiologists) I-II ступенів; згода батьків/опікунів на залучення дитини у дослідження.

Для визначення інтенсивності гострого болю у дітей використовували візуально-аналогову шкалу (ВАШ) та шкалу FLACC, для оцінки основних вітальних функцій визначали частоту серцевих скорочень, частоту дихання, систолічний та діастолічний артеріальний тиск, рівень сатурації крові. Також проводили визначення лабораторних показників: рівня лейкоцитів, глюкози в крові, швидкості осідання еритроцитів, рівень білків TLR-4 та CD40L.

Усі клінічні та лабораторні дослідження проводилися відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини як об'єкт дослідження» (протоколу комісії з біоетики № 2 від 24.02.2022 року).

Статистичний аналіз здійснювали на персональному комп'ютері за допомогою комп'ютерної програми Statistica 10 з використанням методів параметричної та непараметричної статистики.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри дитячих хвороб ПО ІФНМУ: «Стан здоров'я та особливості адаптації дітей Прикарпаття із соматичними захворюваннями, їх профілактика», номер державної реєстрації 0121U111129, терміни виконання 2021-2026 рр., автор є співвиконавцем теми.

**Результати дослідження.** Середній вік дітей склав  $13,8 \pm 0,23$  роки, а вага –  $40,9 \pm 1,6$  кг. Оцінка гендерної приналежності не виявила різниці між хлопчиками та дівчатками (55, 4 та 44,6 %,  $p > 0,05$ ).

У ході дослідження встановлено дуже сильні позитивні кореляції ( $r = 0,9-1,0$ ) між бальною оцінкою гострого болю за шкалами ВАШ та FLACC та частотою серцевих скорочень, рівнем глюкози у крові; сильні позитивні кореляції ( $r = 0,7-0,9$ ) – з загальним рівнем лейкоцитів та швидкістю осідання еритроцитів; позитивні кореляції середньої сили ( $r = 0,5-0,7$ ) – з рівнями TLR-4 та CD40L у крові, позитивні кореляції слабкої сили ( $r < 0,5$ ) – з рівнем діастолічного артеріального тиску,  $SpO_2$ , призначенням наркотичних та ненаркотичних анальгетиків.

**Висновок.** Встановлені позитивні кореляційні залежностей між бальною оцінкою гострого болю ВАШ і FLACC з прозапальними показниками може підтверджувати теорію участі даних маркерів у формуванні гострого болю у педіатричній групі пацієнтів. Але необхідно продовжувати дослідження щодо вивчення механізмів формування гострого післяопераційного болю, виявлення маркерів ноцицепції хронічного болю та розробки шляхів профілактики даних станів у дітей.

**Ключові слова:** діти; гострий післяопераційний біль; система CD40L; TLR-4; FLACC; візуально-аналогова шкала оцінки болю.

#### Contact Information:

**Yaroslav Semkovych** – Candidate of Medical Science, Medical Director of Communal Non-Profit Enterprise «Ivano-Frankivsk Regional Children's Clinical Hospital of Ivano-Frankivsk Regional Council», Docent, Associate Professor, Department of Anesthesiology and Intensive Care of the Ivano-Frankivsk National Medical University (Ivano-Frankivsk, Ukraine).

**e-mail:** semkovych.doc@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8319-022X>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/AAY-7049-2020>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57853725600>

#### Контактна інформація:

**Семкович Ярослав Васильович** – кандидат медичних наук, медичний директор КНП «Івано-Франківська обласна дитяча клінічна лікарня», доцент кафедри анестезіології та інтенсивної терапії Івано-Франківського національного медичного університету (м. Івано-Франківськ, Україна)

**e-mail:** semkovych.doc@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8319-022X>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/AAY-7049-2020>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57853725600>



Received for editorial office on 13/08/2023

Signed for printing on 10/10/2023

УДК: 618.2:6616.151.5:[616.98:578.834.1]-06  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.14

SARS-COV-2 ТА ГІПЕРКОАГУЛЯЦІЯ  
У ВАГІТНИХ

**А. В. Бойчук, Ю. Б. Якимчук,  
О. М. Якимчук**

Тернопільський національний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль, Україна)

### **Резюме**

Глобальна пандемія, яка була спричинена вірусом SARS-CoV-2, створила безпрецедентні як медичні так і соціальні проблеми. Вірус має здатність спричиняти протромботичний стан, який у певних випадках призводить до важких тромботичних ускладнень. Перед науковцями світу повстало завдання у глибокому дослідженні коагуляційної здатності плазми крові та проркоагулянтної ролі тромбоцитів у розвитку патогенних механізмів пошкодження ендотелію, великих судинних тромбозів та системних мікроангіопатій. Ці дослідження стануть в пригоді клініцистам для вдосконалення патогенетично-обґрунтованих схем лікування даного захворювання та профілактики грізних ускладнень.

**Метою** дослідження було визначити вплив вірусу SARS-COV-2 на деякі показники згортальної системи крові у вагітних із постковідним синдромом.

**Матеріал та методи дослідження.** З листопада 2020 по січень 2022 року нами проведено проспективне когортне дослідження 50 вагітних жінок (основна група) із SARS-CoV-2, підтвердженим методом полімеразно-ланцюгової реакції. Групу контролю склали 25 жінок з фізіологічною вагітністю, що перебували на стаціонарному лікуванні у комунальне некомерційне підприємство «Тернопільська міська комунальна лікарня № 2». Проведення даного дослідження було затверджено Етичною комісією Тернопільського національного медичного університету імені І. Горбачевського – протокол № 61 від 13 листопада 2020 р. Вагітні обстежувались у терміні від 30 до 34 тижнів гестації. У відібраних зразках крові досліджували: кількість тромбоцитів, показники коагулограми: міжнародне нормалізоване відношення, протромбіновий та тромбіновий час, протромбіновий індекс, активований частковий тромбoplastиновий час, рівень фібриногену та D-димеру). Дослідження виконані на аналізаторі Coag Chrom 3003.

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel та «Statistica–10».

Дослідження виконано в межах НДР «Вдосконалення діагностики та лікування вагітних з обтяженим соматичним анамнезом» кафедри акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, державний реєстраційний номер N 0121U100153, термін виконання 2021-2023).

**Результати дослідження.** В 5 % вагітних основної групи спостерігалось достовірне зменшення абсолютної кількості тромбоцитів менше, ніж 100 000/мкл, та у 70 % пацієнтів цієї групи кількість тромбоцитів була менше 150 000/мкл і лише 25 % вагітних цієї групи кількість тромбоцитів відповідала нормальним показникам. У контрольній групі лише у 16 % показники тромбоцитів були в межах 150-180/, а у 84 % вагітних цієї групи показники кількості тромбоцитів відповідали нормі. Показники протромбінового часу були незначно довшими у пацієнток із COVID-19 (15,6 с; 14,4-16,3), порівняно з контрольною групою (13,6 с; 13,0-14,3), ( $P>0,05$ ). У вагітних із SARS-CoV-2 спостерігали концентрацію фібриногену у 1,63 рази вищу, у порівнянні із контрольною групою ( $P<0,05$ ). Показники активованого часткового тромбoplastинового часу та міжнародного нормалізованого відношення у групі пацієнток із COVID-19 був довшим, порівнюючи з контрольною групою, хоча різниця не була статистично значущою ( $P>0,05$ ). Спостерігалось достовірне ( $P<0,05$ ) пришвидження тромбінового часу у 82 % вагітних основної групи у порівнянні з контролем.

Підвищення концентрації D-димеру було найбільш значущим відхиленням від норми. Так, при оцінці показників лабораторних досліджень основних параметрів гемостазу у 26 % пацієнток із COVID-19 було D-димер зріс у п'ять разів, а у 20 % у 8-10 разів більше, ніж у здорових вагітних. Отже, вірус SARS-CoV-2 має негативну дію на основні показники як про- так і антикоагулянтної системи гомеостазу. І особливо небезпечним ці зміни є для вагітних жінок, адже мікро та макротромбози плаценти та пуповини ведуть до життєвонебезпечних станів для плода.

Вірус SARS-CoV-2 веде до гіперкоагуляції у системі гомеостазу вагітних у порівнянні з жінками контрольної групи, які не були інфіковані коронавірусом.

**Висновок:** Отже, результати наших досліджень дозволяють патогенетично обґрунтувати необхідність тривалого застосування антикоагулянтної терапії вагітних з постковідним синдромом.

**Ключові слова:** тромбоцити; вагітність; SARS-CoV-2.

### **Вступ**

Глобальна пандемія, яка була спричинена вірусом SARS-CoV-2, створила безпрецедентні медичні та соціальні проблеми [1, 7, 8, 15]. Аналізуючи світову літературу щодо питання впливу SARS-CoV-2 на ендотелій та імунні клітини, переважна більшість досліджень підтверджує дію вірусу, що супроводжується масивною секрецією прозапальних цитокінів, призводить до пошкодження ендотелію, активації лейкоцитів і підвищеного споживання тромбоцитів [2, 13, 16, 20].

Важкі тромботичні ускладнення є наслідком вірусом-індукованим протромботичним станом, який деколи називають імунотромбозом [4]. Так як тромбоцити є головними клітинами гемостазу та патологічного тромбозу, тому є цікавим вивчення ролі тромбоцитів в механізмах гіперкоагуляції, спричиненим COVID-19, як одним із патологічних механізмів гіперкоагуляції. Більшістю авторів, які досліджували функцію тромбоцитів при COVID-19 показали кореляцію між гіперактивованим станом тромбоцитів та важкістю пере-

бігу захворювання. Дуже цікавим є повідомлення про пряме інфікування тромбоцитів вірусом SARS-CoV-2. Таке вірусне інфікування тромбоцитів веде до стану гіперагрегації [4, 14, 18, 19].

Таким чином, глибоке дослідження функції тромбоцитів та коагуляційної здатності плазми крові в патогенетичних механізмах пошкодження ендотелію, тромбозу та системної мікроангіопатії відкриває нові важливі можливості для вдосконалення та патогенетичного обґрунтування та створення нових схем лікування.

Актуальним і до кінця не вивченим на сьогодні є механізми розвитку ускладнень, викликаних коронавірусною інфекцією у вагітних [15, 21, 22, 23, 24].

Поява коагулопатії – основна патогенетична ознака несприятливого прогнозу для пацієнтів з SARS-CoV-2.

Відомо, що лише 5 % із усіх захворювань на з SARS-CoV-2, мають важкий перебіг захворювання, що очевидно, залежить від коморбідності захворювань організму людини. У зв'язку з цим зростає важливість вивчення факторів ризику виникнення захворювання [1, 8, 9, 12, 25, 27].

Серед основних ускладнень вагітності при постковідному синдромі належить перинатальній смертності внаслідок плацентарної дисфункції в стадії декомпенсації та гострої серцево-судинної патології внутрішньоутробного плода (тромбозу плацентарних судин, пуповини та інш.), варто звернути увагу на порушення в системі гомеостазу, яка відіграє вирішальну роль в патогенезі перинатальних ускладнень [5, 6, 10, 14, 26].

Кількість тромбоцитів у матері поступово знижується протягом вагітності з першого, другого та третього триместру. Ми розуміємо, що при гестаційних захворюваннях, таких як преєклампсія та гестаційний цукровий діабет, материнські тромбоцити сприяють ендovasкулярній інфільтрації трофобласта і, таким чином, викликають патологічні зміни в плаценті [1, 12, 19]. При гестаційному цукровому діабеті кілька факторів прискорюють агрегацію тромбоцитів і мікросудинний тромбоз у плаценті. Тромбоцити активуються прозапальними цитокінами, які індукують їх зв'язування з цитотрофобластом плаценти [3, 13, 17]. Вагітні з вродженою чи набутою, внаслідок ковіду, тромбофілією входять до несприятливого перебігу вагітності. Існує залежність між спадковими гіперкоагуляціями, антифосфоліпідним синдромом і особливостями плацентарного кровообігу, ускладненнями вагітностями (гестози, невиношування, дистрес плода, передчасне відшарування нормально розміщеної плаценти, внутрішньоутробна загибель плода) [5, 10, 11].

**Метою** дослідження було визначити вплив вірусу SARS-COV-2 на деякі показники згортальної системи крові у вагітних із постковідним синдромом.

**Матеріал та методи дослідження.** З листопада 2020 по січень 2022 року нами проведено проспективне когортне дослідження 50 вагітних жінок (основна група) із SARS-CoV-2, підтвердженим методом полімеразно-ланцюгової реакції. Групу контролю склали 25 жінок з фізіологічною вагітністю, що перебували

на стаціонарному лікуванні у комунальне некомерційне підприємство «Тернопільська міська комунальна лікарня № 2». Проведення даного дослідження було затверджено Етичною комісією Тернопільського національного медичного університету імені І.Горбачевського – протокол № 61 від 13 листопада 2020 р. Вагітні обстежувались у терміні від 30 до 34 тижнів гестації. У відібраних зразках крові досліджували: кількість тромбоцитів, показники коагулограми: міжнародне нормалізоване відношення, протромбіновий та тромбіновий час, протромбіновий індекс, активований частковий тромбопластиновий час, рівень фібриногену та D-димеру). Дослідження виконані на аналізаторі Coag Chrom 3003.

Всі учасники були поінформовані про цілі, організацію, методи дослідження та підписали інформовану згоду на участь у ньому, а також вжито всіх заходів для забезпечення анонімності пацієнтів.

При виконанні роботи були дотримані основні положення міжнародних стандартів етичних норм, якості наукових досліджень та належної клінічної практики GCP (1996 р.), Declaration of Helsinki «World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects» (2001 р.).

Було досліджено: кількість тромбоцитів (Т), показники коагулограми (міжнародне нормалізоване відношення (МНІ), протромбіновий (РТЧ) та тромбіновий час (ТЧ), протромбіновий індекс (ПТІ), активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), рівень фібриногену та D-димеру). Дослідження виконані на аналізаторі Coag Chrom 3003.

Нами проведено статистичний аналіз за допомогою програмного забезпечення Microsoft Exel та «Statistica –10».

Дослідження виконано в межах НДР «Вдосконалення діагностики та лікування вагітних з обтяженим соматичним анамнезом» кафедри акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, державний реєстраційний номер N 0121U100153, термін виконання 2021-2023).

### Результати дослідження та їх обговорення

Коронавірусна хвороба діагностована у 25 вагітних (41,7 %) у легкій формі (HQM – Home Quarantined with Mild symptoma (хворі з легким перебігом, що лікувались дома), 14 (23,3 %) мали пневмонію та були госпіталізовані (HMO – Hospitalized with Medirate course (госпіталізовані пацієнти з симптомами середньої тяжкості)) та 21 (35,0 %) мали пневмонію та потребували кисневої підтримки (HVS – Hospitalized oxygen-dependent patients with Severe symptoms (госпіталізовані кисневозалежні пацієнти з тяжкими симптомами)) (табл. 1).

Основними скаргами пацієнок були гарячка у 68,3 % (41 вагітна), кашель – у 70,0 % (42 вагітні), міалгія – у 58,3 % (35 вагітних), головний біль – 71,7 % (43 вагітні), біль у горлі. – у 40,0 % (24 вагітні), загальна слабкість у 61,7 % (37 вагітних). У 6 вагітних (10,0 %) обстежених захворювання мало легкий безсимптомний перебіг.

Таблиця 1

## Розподіл вагітних за ступенем тяжкості перебігу SARS-CoV-2

|                    | I група<br>(перший триместр) | II група<br>(другий триместр) | III група<br>(третій триместр) | Загальна кількість |
|--------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| HQM                | 10                           | 10                            | 5                              | 25                 |
| HMO                | -                            | 8                             | 6                              | 14                 |
| HSV                |                              | 7                             | 14                             | 21                 |
| Загальна кількість | 10                           | 25                            | 25                             | 60                 |

HQM – Home Quarantined with Mild disease course, (хворі з легким перебігом, що лікувались дома),  
HMO – Hospitalized with Moderate course, (госпіталізовані пацієнти з симптомами середньої тяжкості).  
HSV – Hospitalized oxygen-dependent patients with Severe symptoms, (госпіталізовані кисневозалежні пацієнти з тяжкими симптомами).

У 5 % вагітних основної групи спостерігалось достовірне зменшення абсолютної кількості тромбоцитів менше, ніж 100 000/мкл, та у 70 % пацієнтів цієї групи кількість тромбоцитів була менше 150 000/мкл і лише 25 % вагітних цієї групи кількість тромбоцитів відповідала нормальним показникам. У контрольній групі лише у 16 % показники тромбоцитів були в межах 150-180/, а у 84 % вагітних цієї групи показники кількості тромбоцитів відповідали нормі. Показники протромбінового часу були незначно довшими у пацієнок із COVID-19 (15,6 с; 14,4-16,3), порівняно з контрольною групою (13,6 с; 13,0-14,3), ( $P>0,05$ ). У вагітних із SARS-CoV-2 спостерігали концентрацію фібриногену у 1,63 рази вищу, у порівнянні із контрольною групою ( $P<0,05$ ). Показники активованого часткового тромбoplastинового часу та міжнародного нормалізованого відношення у групі пацієнок із COVID-19 був довшим, порівнюючи з контрольною групою, хоча різниця не була статистично значущою ( $P>0,05$ ). Спостерігалось достовірне ( $P<0,05$ ) пришвидшення тром-

бінового часу у 82 % вагітних основної групи у порівнянні з контролем.

Підвищення концентрації D-димеру було найбільш значущим відхиленням від норми. Так, при оцінці показників лабораторних досліджень основних параметрів гемостазу у 26 % пацієнок із COVID-19 було D-димер зріс у п'ять разів, а у 20 % у 8-10 разів більше, ніж у здорових вагітних. Отже, вірус SARS-CoV-2 має негативну дію на основні показники як про- так і антикоагулянтної системи гомеостазу. І особливо небезпечним ці зміни є для вагітних жінок, адже мікро та макротромбози плаценти та пуповини ведуть до життєвонебезпечних станів для плода.

Вірус SARS-CoV-2 веде до гіперкоагуляції у системі гомеостазу вагітних у порівнянні з жінками контрольної групи, які не були інфіковані коронавірусом.

Результати дослідження показників D-димеру у периферійній крові вагітних контрольної групи та у вагітних з позитивним SARS-CoV-2 в першому, другому та третьому триместрі вагітності представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

## Показники D-димеру у периферійній крові вагітних контрольної групи та у вагітних з позитивним SARS-CoV-2 в першому, другому та третьому триместрі вагітності (M±m)

| Показники             | Здорові вагітні  | Вагітні з позитивним SARS-CoV-2 |                     |                     |
|-----------------------|--|---------------------------------|---------------------|---------------------|
|                       | 3 триместрі<br>n=10  | 1 триместрі<br>n=10             | 2 триместрі<br>n=15 | 3 триместрі<br>n=15 |
| D-димер,<br>мкгФЕО/мл | 0,56±±0,16   | 1,82±0,91                       | 22,15±3,11          | 25,51±3,25          |
|                       |  | $P_1>0,05$                      | $P_1<0,001$         | $P_1<0,01$          |
|                       |  |                                 | $P_2<0,001$         | $P_2<0,001$         |
| $P_1$                 | достовірність між показниками у вагітних фізіологічним перебігом та 1,2,3 групами пацієнтів з SARS-CoV-2 |                                 |                     |                     |
| $P_2$                 | достовірність між показниками 1 групи та 2 і 3 групами пацієнтів з SARS-CoV-2                            |                                 |                     |                     |
| $P_3$                 | достовірність між показниками 2 та 3 групами пацієнтів з SARS-CoV-2                                      |                                 |                     |                     |

При аналізі результатів D-димеру в групі контролю нами виявлено, що його рівень у пацієнтів з фізіологічним перебігом вагітності він становив (0,56±±0,16) мкг ФЕО/мл. В першій групі вагітних рівень D-димеру дещо зростав (1,82±0,91) мкг ФЕО/мл, але достовірно не відрізнявся від групи здорових вагітних ( $P_1>0,05$ ).

У пацієнтів з позитивним SARS-CoV-2 в другому триместрі вагітності результатів D-димеру становив (22,15±3,11) мкг ФЕО/мл, що достовірно  $P_1<0,001$ ,  $P_2<0,001$  відрізнялося від показників контрольної групи та першої групи відповідно. В третій групі вагіт-

них показник D димеру склав (25,51±3,25) мкг ФЕО/мл, достовірно ( $P_1<0,001$ ,  $P_2<0,001$ ) відрізнялося від показників контрольної групи та першої групи відповідно. Достовірних відмінностей між показниками другої та третьої групи не було ( $P_3>0,05$ ).

Отже, одним із механізмом розвитку ускладнень, викликаних коронавірусною інфекцією у вагітних жінок, є гіперкоагуляторний синдром, що є основною патогенетичною ознакою несприятливого прогнозу для пацієнтів з SARS-CoV-2. Тому, застосування низькомолекулярних гепаринів у вагітних з постковідним син-

дромом є патогенетично обґрунтованим способом профілактики тромботичних ускладнень у вагітних жінок.

Вибираючи дози і тривалість антикоагулянтної терапії ми спиралися саме на рівні показників Д-димеру. Якщо рівень Д-димера перевищували 0,5 мкгФЕО/мл, вагітним призначали підшкірні ін'єкції надропарину кальцію (фраксіпарін), низькомолекулярного гепарину (НМГ) у стандартних дозах під контролем лабораторних показників.

Застосування НМГ в якості препарату вибору в комплексному лікуванні вагітних з постковідним синдромом і високим рівнем молекулярних маркерів тромбозів є патогенетично обґрунтованим і дозволяє пролонгувати вагітність, профілакувати дистрес плода та попередити репродуктивні втрати.

Підвищення концентрації Д-димеру було найбільш значущим відхиленням від норми. Так, при оцінці показників лабораторних досліджень основних параметрів гемостазу у 26 % пацієток із COVID-19 було Д-димер зріс у п'ять разів, а у 20 % у 8-10 разів більше, ніж у здорових вагітних. Отже, вірус SARS-CoV-2 має негативну дію на основні показники як про- так і антикоагулянтної системи гомеостазу. І особливо небезпечним ці зміни є для вагітних жінок, адже мікро та макротромбози плаценти та пуповини ведуть до життєвонебезпечних станів для плода.

Вірус SARS-CoV-2 веде до гіперкоагуляції у системі гомеостазу вагітних у порівнянні з жінками контрольної групи, які не були інфіковані коронавірусом.

#### Література:

1. Aabakke AJM, Petersen TG, Wøjdemann K, Ibsen MH, Jonsdottir F, Rønneberg E, et al. Risk factors for and pregnancy outcomes after SARS-CoV-2 in pregnancy according to disease severity: A nationwide cohort study with validation of the SARS-CoV-2 diagnosis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2023;102(3):282-93. doi: 10.1111/aogs.14512
2. Aimes RT, Zijlstra A, Hooper JD, Ogbourne SM, Sit ML, Fuchs S, et al. Endothelial cell serine proteases expressed during vascular morphogenesis and angiogenesis. *Thromb Haemost.* 2003;89(3):561-72.
3. Alzamora MC, Paredes T, Caceres D, Webb CM, Valdez LM, La Rosa M. Severe COVID-19 during Pregnancy and Possible Vertical Transmission. *Am J Perinatol.* 2020;37(8):861-5. doi: 10.1055/s-0040-1710050
4. Bikdeli B, Madhavan MV, Gupta A, Jimenez D, Burton JR, Der Nigoghossian C, et al. Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research. *Thromb Haemost.* 2020;120(7):1004-24. doi: 10.1055/s-0040-1713152
5. Blitz MJ, Gerber RP, Gulersen M, Shan W, Rausch AC, Prasannan L, et al. Preterm birth among women with and without severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(12):2253-9. doi: 10.1111/aogs.14269
6. Görlinger K, Levy JH. COVID-19-associated Coagulopathy. *Anesthesiology.* 2021;134(3):366-9. doi: 10.1097/ALN.0000000000003688
7. Carbone L, Trinchillo MG, Di Girolamo R, Raffone A, Saccone G, Iorio GG, et al. COVID-19 vaccine and pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Int J Gynaecol Obstet.* 2022;159(3):651-61. doi: 10.1002/ijgo.14336
8. Castro P, Matos AP, Werner H, Lopes FP, Tonni G, Araujo Júnior E. Covid-19 and Pregnancy: An Overview. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2020;42(7):420-6. doi: 10.1055/s-0040-1713408
9. Dashraath P, Wong JLL, Lim MXK, Lim LM, Li S, Biswas A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;222(6):521-31. doi: 10.1016/j.ajog.2020.03.021
10. Di Toro F, Gjoka M, Di Lorenzo G, De Santo D, De Seta F, Maso G, et al. Impact of COVID-19 on maternal and neonatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(1):36-46. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.007
11. Einarsdóttir K, Swift EM, Zoega H. Changes in obstetric interventions and preterm birth during COVID-19: A nationwide study from Iceland. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021;100(10):1924-30. doi: 10.1111/aogs.14231
12. Facciola A, Micali C, Visalli G, Venanzi Rullo E, Russotto Y, Laganà P, et al. COVID-19 and pregnancy: clinical outcomes and scientific evidence about vaccination. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(7):2610-26. doi: 10.26355/eurrev\_202204\_28499
13. GUO D, Lv Y, Qi Y, Pan S. Increased circulating microparticles and inflammatory factors aggravate coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Res Square [Internet].* 2020[cited 2023 Oct 17]. Available from: <https://europepmc.org/article/ppr/ppr138335> doi: 10.21203/rs.3.rs-19182/v1
14. Iba T, Levy JH, Levi M, Connors JM, Thachil J. Coagulopathy of Coronavirus Disease 2019. *Crit Care Med.* 2020;48(9):1358-64. doi: 10.1097/CCM.0000000000004458
15. Jamieson DJ, Rasmussen SA. An update on COVID-19 and pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2):177-86. doi: 10.1016/j.ajog.2021.08.054
16. Levi M, Iba T. COVID-19 coagulopathy: is it disseminated intravascular coagulation? *Intern Emerg Med.* 2021;16(2):309-12. doi: 10.1007/s11739-020-02601-y

**Висновок.** Падіння рівня тромбоцитів нижче 150 000/мкл у вагітних з постковідним синдромом (75 %) було у 4,6 разів вище, ніж у контрольній групі вагітних (16 %). Така ж тенденція спостерігалася і щодо підвищення концентрації Д-димеру. Вірус SARS-CoV-2 спричиняє у вагітних достовірне збільшення концентрації фібриногену у порівнянні із показниками у групі пацієнтів з фізіологічним перебігом вагітності. Гіперагрегація та гіперкоагуляція суттєво змінюють гомеостаз організму вагітних на фоні хвороби та патогенетично обґрунтовують необхідність тривалого застосування антикоагулянтної терапії у вагітних з постковідним синдромом.

#### Перспективи подальших досліджень.

Частина популяції мають не лише явні, але й приховані розлади гемостазу різного виду тромбофілії, такі як антифосфоліпідний синдром та гіпергомоцистеїнемія, що і потрапляють в групи ризику тромботичних ускладнень. Тому, важливим є вивчення цих коморбідних станів у вагітних з постковідним синдромом.

**Конфлікт інтересів:** автори не мають конфлікту інтересів, про який слід повідомляти.

**Джерела фінансування:** автори заявили, що це дослідження не отримало фінансової підтримки.

17. Menter T, Mertz KD, Jiang S, Chen H, Monod C, Tzankov A, et al. Placental Pathology Findings during and after SARS-CoV-2 Infection: Features of Villitis and Malperfusion. *Pathobiology*. 2021;88(1):69-77. doi: 10.1159/000511324
18. Moser G, Guettler J, Forstner D, Gauster M. Maternal Platelets – Friend or Foe of the Human Placenta? *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019[cited 2023 Oct 17];20(22):5639. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/22/5639> doi: 10.3390/ijms20225639
19. Salabei JK, Fishman TJ, Asnake ZT, Ali A, Iyer UG. COVID-19 Coagulopathy: Current knowledge and guidelines on anticoagulation. *Heart Lung*. 2021;50(2):357-60. doi: 10.1016/j.hrtlng.2021.01.011
20. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417-8. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5
21. Wainstock T, Yoles I, Sergienko R, Sheiner E. Prenatal maternal COVID-19 vaccination and pregnancy outcomes. *Vaccine*. 2021;39(41):6037-40. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.09.012
22. Wang CL, Liu YY, Wu CH, Wang CY, Wang CH, Long CY. Impact of COVID-19 on Pregnancy. *Int J Med Sci*. 2021;18(3):763-7. doi: 10.7150/ijms.49923
23. Wastnedge EAN, Reynolds RM, van Boeckel SR, Stock SJ, Denison FC, Maybin JA, et al. Pregnancy and COVID-19. *Physiol Rev*. 2021;101(1):303-18. doi: 10.1152/physrev.00024.2020
24. Wei SQ, Bilodeau-Bertrand M, Liu S, Auger N. The impact of COVID-19 on pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *CMAJ*. 2021;193(16):E540-8. doi: 10.1503/cmaj.202604
25. Wong YP, Khong TY, Tan GC. The Effects of COVID-19 on Placenta and Pregnancy: What Do We Know So Far? *Diagnostics (Basel)* [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 17];11(1):94. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-4418/11/1/94> doi: 10.3390/diagnostics11010094
26. Yamada S, Asakura H. Coagulopathy and Fibrinolytic Pathophysiology in COVID-19 and SARS-CoV-2 Vaccination. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 18];23(6):3338. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/6/3338> doi: 10.3390/ijms23063338
27. Якимчук ЮБ, Бойчук АВ, Якимчук ОМ. Концентрації Д-димеру, фолієвої кислоти та гомоцистеїну у вагітних із постковідним синдромом. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2023;3(49):78-82. doi: 10.24061/2413-4260.XIII.3.49.2023.11

## SARS-COV-2 AND HYPERCOAGULATION IN PREGNANT WOMEN

*A. Boychuk, Y. Yakymchuk, O. Yakymchuk*

**I. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
(Ternopil, Ukraine)**

### Summary.

The global pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has created unprecedented medical and social problems. The virus has the ability to induce a prothrombotic state, which in certain cases has led to severe thrombotic complications. Scientists all over the world were faced with the task of studying in detail the coagulation capacity of blood plasma and the procoagulant role of platelets in the development of pathogenic mechanisms of endothelial damage, major vascular thrombosis and systemic microangiopathies. These studies will be useful for clinicians to improve pathogenetic-based treatment schemes for this disease and to prevent serious complications.

**The aim** of the study was to determine the effect of the SARS-CoV-2 virus on some parameters of the blood coagulation system in pregnant women with post-covid syndrome.

**Method and materials.** From November 2020 to January 2022, we conducted a prospective cohort study of 50 pregnant women (main group) with SARS-CoV-2 confirmed by the polymerase chain reaction method. The control group consisted of 25 women with physiological pregnancy who were undergoing inpatient treatment at the communal non-profit enterprise «Ternopil City Communal Hospital No. 2». The conduct of this study was approved by the Ethics Committee of Ternopil National Medical University named after I. Gorbachevsky – protocol No. 61 dated November 13, 2020. Pregnant women were examined between 30 and 34 weeks of gestation. In the selected blood samples, the number of platelets, coagulogram indicators: international normalized ratio, prothrombin and thrombin time, prothrombin index, activated partial thromboplastin time, fibrinogen and D-dimer levels were studied. The studies were performed on a Coag Chrom 3003 analyzer.

Microsoft Excel and Statistica-10 software were used for statistical analysis.

The study was conducted within the framework of the National Development Program «Improvement of diagnosis and treatment of pregnant women with a burdened somatic history» of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Postgraduate Education, Ternopil National Medical University named after I. Ya. Gorbachevsky, state registration number N 0121U100153, performance period 2021-2023).

**Results.** A significant decrease in the absolute platelet count to less than 100,000/ $\mu$ L was observed in 5 % of the pregnant women in the main group, and in 70 % of the patients in this group, the platelet count was less than 150,000/ $\mu$ L, and only 25 % of the pregnant women in this group had platelet counts within the normal range. In the control group, only 16 % of the platelets were in the 150-180 range, and 84 % of the pregnant women in this group had platelet counts within the normal range. Prothrombin time indicators were slightly longer in patients with COVID-19 (15.6 s; 14.4-16.3) compared with the control group (13.6 s; 13.0-14.3), ( $P>0.05$ ). In pregnant women with SARS-CoV-2, the concentration of fibrinogen was 1.63 times higher than in the control group ( $P<0.05$ ). The indicators of activated partial thromboplastin time and international normalized ratio were longer in the group of patients with COVID-19 compared with the control group, although the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). A significant ( $P<0.05$ ) acceleration of the thrombin time was observed in 82 % of the pregnant women in the main group compared to the control group.

An increase in D-dimer concentration was the most significant abnormality. Thus, when evaluating the indicators of laboratory studies of the main parameters of hemostasis in 26 % of patients with COVID-19, D-dimer increased five times, and in 20 % it was 8-10 times more than in healthy pregnant women. Thus, the SARS-CoV-2 virus has a negative effect on the main indicators of both the procoagulant and anticoagulant systems of homeostasis. And these changes are particularly dangerous for pregnant women, because micro- and macrothrombosis of the placenta and umbilical cord lead to life-threatening conditions for the fetus.

The SARS-CoV-2 virus leads to hypercoagulation in the homeostatic system of pregnant women compared to control women who were not infected with the coronavirus.

**Conclusion:** Thus, the results of our research allow us to pathogenetically justify the need for long-term use of anticoagulant therapy in pregnant women with post-CoV syndrome.

**Key words:** Platelets; Pregnancy; SARS-CoV-2.

**Контактна інформація:**

**Бойчук Алла Володимирівна** – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** boychuk\_alla@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-2191-0383>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/W-1870-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6603457364>

**Якимчук Юлія Богданівна** – доктор філософії, асистент кафедри терапії та сімейної медицини факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** yakymchuk@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-3905-1310>

**Якимчук Олександр Миколайович** – доктор філософії, асистент кафедри анестезіології та інтенсивної терапії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль, Україна).

**e-mail:** yakymchuk\_om@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-6369-042X>

**Contact Information:**

**Alla Boychuk** – Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of the Obstetrics and Gynaecology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** boychuk\_alla@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-2191-0383>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/W-1870-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6603457364>

**Yuliia Yakymchuk** – PhD, Assistant Professor of the Therapeutics and Family Medicine Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** yakymchuk@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-3905-1310>

**Oleksandr Yakymchuk** – PhD, Assistant Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, I. Gobachevsky Ternopil National Medical University (Ternopil, Ukraine).

**e-mail:** yakymchuk\_om@tdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-6369-042X>

Надійшло до редакції 12.07.2023 р.

Підписано до друку 10.10.2023 р.





UDC: 618.3:616.12-008.331.1-085

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.15

V. L. Vashchenko

Poltava State Medical University, Ministry of Health of Ukraine (Poltava, Ukraine)

POSSIBILITIES OF CORRECTING  
CELLULAR-HUMORAL IMMUNE  
DISORDERS AND CYTOKINE STATUS  
IN HIGH-RISK PREGNANT WOMEN  
FOR THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA

**Summary**

The development of pre-eclampsia is associated with immunological interactions between the foreign maternal and fetal tissues, which are characterized by a predominance of the influence of type 1 T-helper cells, leading to increased production of highly aggressive pro-inflammatory cytokines. However, the mechanism of cellular-humoral immune and cytokine changes leading to the manifestation of pre-eclampsia is not fully understood and no corrective measures have been developed.

**Purpose.** To investigate the changes in the cellular-humoral immunity and cytokine profile in a cervical mucus of pregnant women at high risk for developing PE and to find out the effectiveness of the proposed secondary prevention of PE in the normalization of these indicators.

**Method and Materials.** The main group (MG) consisted of 91 pregnant women with risk factors for pre-eclampsia who had impaired blood flow in the uterine spiral arteries at 18-20 weeks of pregnancy. Among them, 59 patients (MG-II) received secondary prevention of pre-eclampsia from 18-20 weeks until delivery using metformin, vitamin D3, and corvutin, while the remaining 32 patients (MG-I) declined preventive measures. The control group (CG) consisted of 30 healthy pregnant women.

The research was regulated by the rules of humane treatment of patients in accordance with the requirements of the Tokyo Declaration of the World Medical Association, the international recommendations of the Helsinki Declaration on Human Rights, the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine, and the laws of Ukraine.

TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$  and IL-10 levels were determined in cervical mucus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); peripheral blood lymphocyte CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ levels were assessed by indirect immunofluorescence. The CD4/CD8 ratio was calculated as an immunoregulatory index. Blood serum immunoglobulin (Ig) levels were determined by competitive enzyme-linked immunosorbent assay (A, M, and G). The concentration of circulating immune complexes (CIC) in blood serum was measured by the immunoturbidimetric assay.

The data were analyzed by mathematical-statistical methods, calculating the mean (M), variance ( $\sigma$ ), and standard error (m), applying Student's t-test, and performing correlation analysis using the statistical program «STATISTICA» (StatSoft Inc., USA).

The paper is an excerpt from the initiative scientific research project of the Department of Obstetrics and Gynecology № 2 of the Poltava State Medical University entitled «Optimization of approaches to management of pregnancy in women at high risk of obstetric and perinatal pathology» (state registration number 0122U201228, duration: 10.2022-09.2027).

**Results.** In women at high risk of developing pre-eclampsia (MG-I), a significant decrease in the concentration of T helper cells (CD4+), an increase in T suppressor/killer cells (CD8+), a decrease in the immunoregulatory index, a decrease in B cells (CD22+) and an increase in CIC were observed. In addition, CIC greater than 100 IU/ml strongly correlated with the development of pre-eclampsia. IgM levels were significantly elevated in women with pre-eclampsia, indicating possible trophoblastic stimulation of their immune system, while IgG levels were significantly reduced. Women with pre-eclampsia had a significant predominance of pro-inflammatory cytokines and a deficiency of anti-inflammatory cytokines. In women of the MG-II group who received the proposed complex of secondary prevention of pre-eclampsia, the content of T-helper cells (CD4+) and T-suppressor/killer cells (CD8+) was normalized. The immunoregulatory index increased significantly, and the number of CD22+ cells was about the level observed in healthy pregnant women. The concentrations of IgA and IgG increased to the levels observed in the control group, while the level of IgM decreased. The level of CIC decreased in pregnant women with MG-II, in contrast to the levels observed in women with MG-I. The levels of pro-inflammatory cytokines INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  decreased after preventive treatment. However, the levels of the anti-inflammatory cytokine IL-10 increased significantly in MG-II, leading to a significant reduction in the TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio ( $p < 0.001$ ).

**Conclusions.** Pregnant women with a history of increased risk factors for PE and a decrease in the intensity of blood flow in the spiral arteries of the uterus at 18-20 weeks of gestation have a pronounced imbalance of the T-cell subpopulation, which is accompanied by a decrease in the production of T-helpers (CD4+) and an increase in the synthesis of T-suppressors/killers (CD8+), which causes a decrease in the immunoregulatory index. This is accompanied by the development of a cytokine imbalance with a predominance of pro-inflammatory cytokines and a deficiency of anti-inflammatory cytokines, and is also associated with a significant decrease in the concentration of IgG and a decrease in the number of B cells. Such changes are a consequence of the exhaustion of the reactivity of the humoral link of the general immunity, creating the conditions for the frequent manifestation of PE, which occurs in almost half of such women. The application of our proposed improved method of secondary prevention of pulmonary embolism in pregnant women with a high risk of developing this disease leads to significant positive changes in the work of the immune system and a corresponding improvement in clinical results. It makes it possible to reduce the frequency of PE development by 1.4 times and to prevent the occurrence of its severe forms by 2.6 times.

**Key words:** Preeclampsia; Cellular-humoral Immunity; Cytokines.

**Introduction**

Despite the long-standing concern of researchers on the problem of pre-eclampsia (PE), this pathology continues

to occupy a prominent position in the structure of perinatal and maternal morbidity and mortality, and its pathogenesis is not fully understood [1-4]. Therefore, obstetrics still

lacks an effective treatment and prevention scheme for this disease [5-7].

Nowadays, one of the most accepted theories regarding the development of PE is the one that links the pathogenic processes of its development to the improper transformation of spiral vessels during the replacement of their endothelium by trophoblast cells [8-10]. In this case, the vascular endothelium remains sensitive to the action of numerous pressor factors, and a high-resistance blood flow prone to vasospasm is formed in the uteroplacental complex [11-15]. Immunological factors and changes in cytokine balance play an important role in this process [16-18].

During physiological pregnancy, trophoblast cells, which are foreign to the mother's body, initiate a series of immunological reactions, during which the level of production of proinflammatory cytokines of the Th1 type by monocytes decreases [19-21] and, on the contrary, the production of Th2 cytokines increases [16-22].

It is believed that the development of PE is associated with immunologic interactions between the foreign maternal and fetal tissues, with a predominant influence of type 1 T-helper cells, leading to increased production of highly aggressive pro-inflammatory cytokines [22]. However, the specific factors that initiate the switch in the immune response are still unknown. There is no formulated unified mechanism for the complex cellular-humoral immune and cytokine changes that lead to the manifestation of PE, nor are there reliable markers or predictors of these changes, nor have corrective measures been developed. Therefore, there is an urgent need for further investigation into the clinical and immunological mechanisms underlying the development of PE.

**Purpose.** To investigate the changes in the cellular-humoral immunity and cytokine profile in a cervical mucus of pregnant women at high risk for developing PE and to find out the effectiveness of the proposed secondary prevention of PE in the normalization of these indicators.

**Method and Materials.** We studied the cellular-humoral immunity and cytokine status in 121 pregnant women at 28-32 weeks of gestation. The main group (MG) consisted of 91 pregnant women with risk factors for the development of pulmonary embolism based on their medical history. The Doppler ultrasound performed at 18-20 weeks of pregnancy showed slow blood flow in the uterine spiral arteries. The MG patients were divided into two subgroups: 32 patients (MG-I) who declined our proposed secondary prevention of PE [7], and the other 59 patients (MG-II) who received enhanced secondary prevention of pre-eclampsia from 18-20 weeks of pregnancy until delivery, using metformin at a dose of 2000 mg/day, vitamin D3 at a dose of 4000 IU/day, and corvutin administered by 10-day monthly courses of intravenous infusions at a dose of 500 mg/day. The control group (CG) consisted of 30 healthy pregnant women with no risk factors for pulmonary embolism and no impairment of blood flow in the uterine spiral arteries.

The research was conducted in accordance with the rules of humanitarian treatment of patients, the provisions of the

Tokyo Declaration of the World Medical Association, the requirements of the international recommendations of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine, the laws of Ukraine, and the requirements of the Ethical Code of Ukrainian Physicians.

At 28-34 weeks of gestation, the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$ , IL-10) in cervical mucus were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using standard commercial kits from Vector BEST. Rates of cellular-humoral immunity were determined in blood samples. Lymphocyte phenotyping in peripheral blood was carried out by indirect immunofluorescence using commercial erythrocyte diagnostic kits for CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ antibody classes from Granum, RPL, LTD (Ukraine, Kharkiv). At present, monoclonal antibodies (MAb) of CD3+ class are considered to characterize the total population of T lymphocytes, CD4+ for T helper/inducer population, CD8+ for T suppressor/killer population, CD22+ for B cells. The immunoregulatory index CD4/CD8 was calculated, which indicates the ratio of lymphocytes with helper and suppressor activity. The functional activity of T lymphocytes was assessed using the lymphocyte blast transformation reaction (LBTR) with phytohemagglutinin (PHA) as a non-specific mitogen. [19]. Serum immunoglobulin (Ig) levels were determined using a test system based on the principle of competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with immobilized antigens (A, M and G) and [20]. The concentration of circulating immune complexes (CIC) in blood serum was determined by the method of immunoturbidimetric analysis (reagent kit of «CIC-HEMA» company).

The obtained data were processed using methods of mathematical statistics, calculating the mean (M), variance ( $\sigma$ ), standard errors of the mean (m), applying the Student's t-test and correlation analysis using the statistical software «STATISTICA» (StatSoft Inc., USA).

The paper is an excerpt from the initiative scientific research project of the Department of Obstetrics and Gynecology #2 of the Poltava State Medical University entitled «Optimization of approaches to management of pregnancy in women at high risk of obstetric and perinatal pathology» (state registration number 0122U201228, duration: 10.2022-09.2027) [1].

## Results and Discussion

The concentration of leukocytes in the blood of women with MG-I (total) was  $6.3 \pm 0.3 \cdot 10^9/L$  and did not differ significantly from the values in women with MG-I with PE or from the values in CG. The absolute lymphocyte count in all patients in MG-I was  $1.7 \pm 0.05 \cdot 10^9/L$  ( $p < 0.05$ ), which was almost similar to the values of this indicator in healthy pregnant women. The absolute number of T lymphocytes (CD3+) was  $1.0 \pm 0.04 \cdot 10^9/L$  ( $p < 0.05$ ), with a tendency to decrease compared to control values.

Among T cells, a decrease in the number of T helper cells was observed in women with MG-I (overall) with  $0.50 \pm 0.03 \cdot 10^9/L$  ( $p > 0.05$ ) and in patients with MG-I with PE ( $0.40 \pm 0.02 \cdot 10^9/L$  ( $p < 0.001$ )). In healthy pregnant women this indicator was  $0.58 \pm 0.03 \cdot 10^9/L$ . However,

the number of T-suppressor/killer cells increased in MG-I, especially in women with PE ( $0.48 \pm 0.05 \cdot 10^9/L$ ). At the same time, the values in healthy women were  $0.37 \pm 0.02$  per  $10^9/L$  ( $p < 0.05$ ).

The immunoregulatory index, i.e. the ratio of CD4+ to CD8+ cells, was significantly decreased in women with MG-I. In patients with PE from this group it was  $0.83 \pm 0.07$  compared to  $1.56 \pm 0.10$  in healthy pregnant women ( $p < 0.001$ ).

We also observed a decrease in the absolute number of CD22+ cells in patients with MG-I, which was  $0.60 \pm 0.02 \cdot 10^9/L$  in the whole group ( $p < 0.05$ ) and  $0.57 \pm 0.04 \cdot 10^9/L$  ( $p < 0.050$ ) in women with PE. In pregnant women in the control group, the value was  $0.68 \pm 0.03 \cdot 10^9/L$ .

Apparently, patients with MG-I who did not receive the proposed treatment experienced a significant decrease in T-helper cells (CD4+) along with a significant increase in the concentration of T-suppressor/killer cells (CD8+). This led to a decrease in the immunoregulatory index, a decrease in the number of B cells (CD22+) and a tendency toward a decrease in the absolute number of T lymphocytes (CD3+). Pre-eclampsia occurred in 43.8 % of the cases in the women of this group.

The concentration of IgA tended to decrease in MG-I ( $1.89 \pm 0.04$  g/L vs.  $2.08 \pm 0.11$  g/L in CG;  $p > 0.1$ ) compared to control values. IgM levels in women with PE of MG-I were significantly elevated ( $1.66 \pm 0.03$  g/L vs.  $1.49 \pm 0.06$  g/L in CG;  $p < 0.02$ ), indicating trophoblastic stimulation of the immune system in these women [14]. IgG levels were significantly reduced both in the total MG-I ( $11.06 \pm 0.3$  g/L compared to the normal range of  $13.97 \pm 0.4$  g/L;  $p < 0.001$ ) and in pregnant women with PE ( $9.28 \pm 0.4$  g/L;  $p < 0.001$ ). The decrease in IgG concentration correlated with a decrease in B lymphocytes (CD22+) both in the MG-I as a whole ( $r=0.47$ ;  $p < 0.05$ ) and in patients in this group who developed PE ( $r=0.58$ ;  $p < 0.01$ ).

It should be noted that in healthy pregnant women, the concentration of IgG in blood serum increases. This is associated with increased synthesis. In women with PE, we observed a significant decrease in Ig G. We hypothesize that this decrease is caused by exhaustion of the reactivity of the humoral part of the general immune system in PE [17].

We also observed an increase in CIC in MG-I ( $95.5 \pm 4.6$  IU/ml compared to the normal range of  $84.1 \pm 3.5$  IU/ml;  $p < 0.05$ ), especially in pregnant women with PE ( $103.7 \pm 5.1$  IU/ml). An increase in CIC above 100 IU/ml was associated with the development of PE ( $r=0.76$ ,  $p < 0.05$ ).

Significant increases in pro-inflammatory cytokine levels, particularly  $INF-\gamma$  and  $TNF-\alpha$ , were also observed in patients in the above group. At this time point, the level of  $INF-\gamma$  in cervical mucus in women with MG-I was  $13.06 \pm 0.70$  pg/mL compared to  $10.42 \pm 0.51$  pg/mL in the control group ( $p < 0.01$ ), and the concentration of  $TNF-\alpha$  in MG-I was  $7.05 \pm 0.54$  pg/mL compared to  $3.40 \pm 0.24$  pg/mL in the control group ( $p < 0.001$ ). In women with PE of MG-I, the level of pro-inflammatory cytokines was significantly increased not only compared to women in the control group but also compared to the total group of pregnant women of MG-I ( $INF-\gamma$  was  $15.80 \pm 0.85$  pg/ml;  $TNF-\alpha$  was  $8.79 \pm 0.48$  pg/ml).

In contrast to the increased levels of pro-inflammatory cytokines, the concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-10 was significantly decreased in the studied pregnant women. It was  $4.90 \pm 0.25$  pg/ml in women with PE compared to  $9.56 \pm 0.63$  pg/ml in the control group and  $6.14 \pm 0.19$  pg/ml overall in the MG-I ( $p < 0.001$ ). This indicates immunosuppression in pregnant women with PE, which likely contributes to the inability of trophoblast cells to fully invade the uterine spiral arteries, leading to the development of endothelial dysfunction.

The changes in the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines caused the increase in the  $TNF-\alpha/IL-10$  ratio. It was 3.2 times higher in total MG-I ( $1.15 \pm 0.06$  vs.  $0.36 \pm 0.02$  in the control group;  $p < 0.001$ ) and 5 times higher in pregnant women with MG-I who developed PE ( $1.80 \pm 0.09$ ;  $p < 0.001$  in the same comparison).

We hypothesize that the excessive release of pro-inflammatory cytokines in the presence of deficient anti-inflammatory cytokines, along with increased levels of T-suppressor/killer cells and increased production of IgM, indicates an exaggerated inflammatory response in the maternal organism, likely directed against foreign fetal antigens [16-18]. This response leads to incomplete invasion of trophoblast cells into the spiral arteries of the uterus, resulting in systemic endothelial dysfunction and the development of pre-eclampsia [18-20].

Application of the proposed treatment in women with MG-II contributed to significant improvement in rates of cellular-humoral immunity and cytokine profile. The levels of CD4+ T-helper cells and CD8+ T-suppressor/killer cells in women with MG-II were almost similar to the levels observed in the control group. Despite a slight increase in CD4+ cells in MG-II compared to MG-I, the immunoregulatory index, which was significantly decreased in MG-I women ( $1.22 \pm 0.06$  compared to  $1.56 \pm 0.10$  in CG;  $p < 0.02$ ), increased slightly in MG-II and reached  $1.35 \pm 0.11$  (compared to  $1.56 \pm 0.10$  in healthy pregnant women;  $p > 0.1$ ). The increased absolute level of CD22+ in women with MG-I, MG-II was not significantly different from that observed in healthy pregnant women ( $0.65 \pm 0.07$ ).

In MG-II women, the concentration of IgA, which showed a tendency to decrease in MG-I ( $1.89 \pm 0.04$  g/L compared to  $2.08 \pm 0.11$  g/L in CG;  $p > 0.1$ ), was  $1.97 \pm 0.09$  g/L, which was not significantly different from the values in healthy pregnant women. The level of IgM in the MG-II women was  $1.38 \pm 0.07$  g/L, which was also not significantly different from the control values ( $p > 0.1$ ). The level of IgG, which was significantly lower in untreated women ( $11.06 \pm 0.3$  g/L compared to the normal range of  $13.97 \pm 0.4$  g/L;  $p < 0.001$ ), increased to  $12.8 \pm 0.6$  g/L in treated pregnant women of MG-II, which was significantly higher than the level of this immunoglobulin in MG-I, but did not reach the level observed in CG ( $p < 0.01$ ). The concentration of CIC in pregnant women with MG-II was decreasing, in contrast to the levels in women with MG-I ( $90.4 \pm 5.6$  IU/ml vs.  $95.5 \pm 4.6$  IU/ml, respectively;  $p > 0.02$ ).

After the preventive treatment, the levels of the pro-inflammatory cytokines  $INF-\gamma$  and  $TNF-\alpha$ , which were elevated in patients with MG-I, decreased. The level of  $INF-\gamma$  in cervical mucus was  $11.30 \pm 0.70$  pg/mL in MG-II

compared to  $13.06 \pm 0.70$  pg/mL in MG-I ( $p < 0.02$ ), and the amount of TNF- $\alpha$  was  $4.04 \pm 0.82$  pg/mL in MG-II compared to  $7.05 \pm 0.54$  pg/mL in MG-I ( $p < 0.001$ ). On the contrary, the concentration of the anti-inflammatory cytokine IL-10 increased significantly in MG-II, reaching  $8.93 \pm 0.54$  pg/ml, compared to  $6.14 \pm 0.19$  pg/ml in pregnant women of MG-I ( $p < 0.001$ ). The TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio was significantly decreased in MG-II compared to MG-I ( $0.45 \pm 0.10$  vs.  $1.15 \pm 0.06$ ;  $p < 0.001$ ).

Thus, in contrast to the suppression of cellular-humoral immunity and the imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines observed in women who did not receive the improved prevention of the development of PE proposed by us, in the group of pregnant women who received it, we noted an improvement in indicators of immunity and their normalization to levels typical of healthy pregnant women. This was associated with a more favorable course of pregnancy. Thus, the improved approach to the prevention of the occurrence of PE made it possible to reduce the frequency of the development of PE by 1.4 times. The frequency of severe pulmonary embolism in women who received the proposed complex of preventive measures decreased by 2.6 times compared to the frequency of severe forms of this complication in patients who did not receive the indicated treatment.

### Conclusions:

1. Pregnant women with a history of increased risk factors for PE and a decrease in the intensity of blood flow in the spiral arteries of the uterus at 18-20 weeks of gestation have a pronounced imbalance of the T-cell subpopulation, which is accompanied by a decrease in

the production of T-helpers (CD4+) and an increase in the synthesis of T-suppressors/killers (CD8+), which causes a decrease in the immunoregulatory index. This is accompanied by the development of a cytokine imbalance with a predominance of pro-inflammatory cytokines and a deficiency of anti-inflammatory cytokines, and is also associated with a significant decrease in the concentration of IgG and a decrease in the number of B cells. Such changes are a consequence of the exhaustion of the reactivity of the humoral link of the general immunity, creating the conditions for the frequent manifestation of PE, which occurs in almost half of such women.

2. The application of our proposed improved method of secondary prevention of pulmonary embolism in pregnant women with a high risk of developing this disease leads to significant positive changes in the work of the immune system and a corresponding improvement in clinical results. It makes it possible to reduce the frequency of PE development by 1.4 times and to prevent the occurrence of its severe forms by 2.6 times.

**Prospects for further research.** The identified features of immunosuppressive mechanisms in pregnant women with PE call for further research to investigate alterations in nitric oxide metabolism in this patient population.

**Conflict of Interests.** The authors have no conflicts of interest to declare.

**Founding source.** This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or non-profit sectors.

### References:

- Likhachov V, Taranovska O. Changes in the intensity of uterine circulation in pregnant women with a history of chronic endometritis. *Neonatol. hir. perinat. med.* 2023;13(2(48)):78-84. doi: 10.24061/2413-4260.XIII.2.48.2023.11
- Erez O, Romero R, Jung E, Chaemsaithong P, Bosco M, Suksai M, et al. Preeclampsia and eclampsia: the conceptual evolution of a syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2S): S786-803. doi: 10.1016/j.ajog.2021.12.001
- Lemish NY. Perebih vahitnosti ta polohiv u zhinok iz preeklampsieiu [The course of pregnancy and childbirth in women with preeclampsia]. *Ukrains'kyi zhurnal Zdorov'ia zhinky.* 2023;1(164):39-44. doi: 10.15574/HW.2023.164.39 (in Ukrainian).
- Boutin A, Gasse C, Demers S, Giguère Y, Tétu A, Bujold E. Maternal Characteristics for the Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women: The Great Obstetrical Syndromes (GOS) Study. *J Obstet Gynaecol Can.* 2018;40(5):572-8. doi: 10.1016/j.jogc.2017.07.025
- Zhabchenko I, Zadorozhna T, Tertychna-Teliuk S, Likhachov V, Korniets N, Oleshko V, et al. Platsentarni porushennia u vahitnykh – peremischenykh osib v umovakh persystentnoho stresu [Placental disorders in displaced pregnant women who are in persistent stress]. *Reproduktyvna endokrynolohiia.* 2023;67:107-13. doi: 10.18370/2309-4117.2023.67.107-113 (in Ukrainian).
- Boutin A, Gasse C, Guerby P, Giguère Y, Tétu A, Bujold E. First-Trimester Preterm Preeclampsia Screening in Nulliparous Women: The Great Obstetrical Syndrome (GOS) Study. *J Obstet Gynaecol Can.* 2021;43(1):43-9. doi: 10.1016/j.jogc.2020.06.011
- Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. NICE guideline [Internet]. National Institute for Health and Care Excellence; 2019 [updated 2023 April 17; cited 2023 Sep 10]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng133>
- Barrientos G, Pussetto M, Rose M, Staff AC, Blois M, Toblli JE. Defective trophoblast invasion underlies fetal growth restriction and preeclampsia-like symptoms in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Mol Hum Reprod.* 2017;23(7):509-19. doi: 10.1093/molehr/gax024
- Brosens I, Puttemans P, Benagiano G. Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(5):437-56. doi: 10.1016/j.ajog.2019.05.044
- Makarov O, Likhachov V, Taranovskaya O, Dobrovolska L, Vashchenko V. Role of uterine blood flow disturbances in the development of late gestosis. *Wiad. Lek.* 2018;71(9):1719-21.
- Davydova YuV, Lymans'ka AYU, Ohorodnyk AO, Butenko LP. Rol' endotelial'noi dysfunktsii v henezi preeklampsii ta shliakhy profilaktyky yii vynykennia v nastupnii vahitnosti [The role of endothelial dysfunction in the genesis of preeclampsia and ways to prevent its occurrence in the next pregnancy]. *Perynatolohiia ta pediatriia.* 2019;2(78):13-8. doi: 10.15574/PP.2019.78.13 (in Ukrainian).
- Skrypnyk I, Maslova G, Lymanets T, Gusachenko I. L-arginine is an effective medication for prevention of endothelial dysfunction, a predictor of anthracycline cardiotoxicity in patients with acute leukemia. *Exp Oncol.* 2017;39(4):308-11.
- Markin LB, Popovych OI, Popovych AI. Doplerometrychne doslidzhennia matkovo-platsentarno-plodovoho krovoplynu u vahitnykh z pervynnoiu arterialnoiu hipotoniieiu [Dopplerometric examination uterine-placental-fetal hemodynamic in pregnant women

with arterial hypotension]. Aktualni pytannia pediatrii, akusherstva ta hinekolohii. 2017;(1):100-4. doi: 10.11603/24116-4944.2017.1.7397 (in Ukrainian)

14. Bartmann C, Seegerer SE, Rieger L, Kapp M, Sütterlin M, Kämmerer U. Quantification of the predominant immune cell populations in decidua throughout human pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 2014;71(2):109-19. doi: 10.1111/aji.12185

15. Demers S, Boutin A, Gasse C, Drouin O, Girard M, Bujold E. First-Trimester Uterine Artery Doppler for the Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women: The Great Obstetrical Syndrome Study. Am J Perinatol. 2019;36(09):930-5. doi: 10.1055/s-0038-1675209

16. Vashchenko VL, Likhachev VK, Dobrovol'ska LM, Taranov'ska OO. Vplyv vtorynnoyi profilaktyky rozvytku preeklampsii u zhink hrupy vysokoho ryzyku na pokaznyky fetoplatsentarnoho krovotoku. [The effect of secondary prevention of preeclampsia in high-risk women on indicators of fetoplacental blood flow]. Visnyk problem biolohii i medytsyny. 2020;3(1):94-7. doi: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-94-97 (in Ukrainian).

17. Konkov DG, Bulavenko OV, Dudnyk VM, Buran VV. Suchasni aspekty patohenetychno obumovlenoi profilaktyky preeklampsii [The modern features of pathogenesis-induced prevention of preeclampsia]. Perynatolohiya y pedyatryia. 2016;1:46-50. doi: 10.15574/PP.2016.65.46

18. Boutin A, Demers S, Gasse C, Giguère Y, Tétu A, Laforest G, et al. First-Trimester Placental Growth Factor for the Prediction of Preeclampsia in Nulliparous Women: The Great Obstetrical Syndromes Cohort Study. Fetal Diagn Ther. 2019;45(2):69-75. doi: 10.1159/000487301

19. Barkovsky DE. Neuroimmunoendokrynni markery prohnozuvannia preeklampsii [Neuroimmunoendocrine markers of predicting of preeclampsia]. Patologia. 2018;15(3):302-8. doi: 10.14739/2310-1237.2018.3.151718 (In Ukrainian).

20. Faas MM, Spaans F, de Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. Front. Immunol [Internet]. 2014[cited 2023 Oct 28];5:298. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00298/full> doi: 10.3389/fimmu.2014.00298

21. Townsend R, O'Brien P, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. Integr Blood Press Control. 2016;9:79-94. doi: 10.2147/IBPC.S77344

22. Burgess A, McDowell W, Ebersold S. Association Between Lactation and Postpartum Blood Pressure in Women with Preeclampsia. MCN Am J Matern Child Nurs. 2019;44(2):86-93. doi: 10.1097/NMC.0000000000000502

## МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ КЛІТИННО-ГУМОРАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ У ВАГІТНИХ ГРУПИ ВИСОКОГО РИЗИКУ ПО ВИНИКНЕННЮ ПРЕЕКЛАМПСІЇ

*В. Л. Ващенко*

Полтавський державний медичний університет МОЗ України  
(м. Полтава, Україна)

### Резюме.

Розвиток пreeклampsії пов'язан з імунологічними відносинами між чужорідними тканинами матері та плоду, які перебігають з превалюванням впливу Т-хелперів 1 типу, внаслідок чого зростає вироблення високоагресивних прозапальних цитокінів. Однак досі не вивчений механізм клітинно-гуморальних імунних та цитокінових змін, що приводять до маніфестації пreeклampsії, не розроблені засоби її корекції.

**Мета дослідження.** Дослідити зміни клітинно-гуморального імунітету та цитокінового профілю у цервікальному слизі вагітних з високим ризиком розвитку ПЕ та з'ясувати ефективність запропонованої вторинної профілактики ПЕ у нормалізації цих показників.

**Матеріал та методи дослідження.** Основну групу (ОГ) склали 91 вагітна з наявністю факторів ризику пreeклampsії, які в 18-20 тижнів вагітності мали сповільнений кровотоку в басейні спіральних артерій матки. 59 пацієток (ОГ-II) з 18-20 тижнів до розродження отримували вторинну профілактику пreeклampsії з використанням метформіну, вітаміну D3 та корвітину; інші 32 пацієтки (ОГ-I) відмовились від профілактики. Контрольну групу (КГ) склали 30 здорових вагітних.

Дослідження регламентувалися Правилами гуманного ставлення до пацієнта згідно з вимогами Токійської декларації Всесвітньої медичної асоціації, Міжнародними рекомендаціями Гельсінської декларації з прав людини, Конвенцією Ради Європи щодо прав людини і біомедицини, Законами України.

Визначали: TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$ , IL-10 у цервікальному слизі за допомогою імуноферментного аналізу; рівень лімфоцитів периферичної крові класів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ методом непрямої імунофлюоресценції з розрахунком імунорегуляторного індексу CD4/CD8; рівень сироваткових імуноглобулінів (Ig) методом імуноферментного аналізу; сироватковий рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦК) методом імуногематричного аналізу.

Дані обробляли шляхом розрахунку середніх вибірових значень (M), дисперсії ( $\sigma$ ) та помилок середніх значень (m), з оцінкою критерію Ст'юдента та проведенням кореляційного аналізу за допомогою статистичної програми «STATISTICA» («StatSoft Inc.», США).

Стаття виконана як фрагмент ініціативної науково-дослідної роботи, яка проводиться співробітниками кафедри акушерства та гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація підходів до ведення вагітності у жінок груп високого ризику по виникненню акушерської та перинатальної патології» (№ держреєстрації 0122U201228, термін виконання 10.2022-09.2027).

**Результати дослідження.** У жінок з високим ризиком розвитку пreeклampsії (ОГ-I) виявлене зменшення рівнів Т-хелперів (CD4+), підвищення кількості Т-супресорів/кілерів (CD8+), зниження імунорегуляторного індексу, зменшення кількості В-клітин (CD22+) та зростання ЦК. При цьому сироватковий рівень ЦК, що перевищував 100 од/мл, був тісно пов'язаний з розвитком пreeклampsії. У пацієток з пreeклampsією достовірно зростала концентрація IgM зменшувалася кількість IgG, що може бути пов'язаним з трофобластичною стимуляцією імунної системи цих пацієток. Окрім цього, знайдені зрушення балансу цитокінів цервікального слизу, що проявляються значним домінуванням прозапальних цитокінів при недостатку протизапальних. У жінок ОГ-II після застосування запропонованого комплексу вторинної профілактики пreeклampsії нормалізувався вміст Т-хелперів

(CD4+) та Т-супресорів/кілерів (CD8+); достовірно збільшився імунорегуляторний індекс, кількість CD22+ наближалася до значень у здорових вагітних. Концентрація IgA та IgG підвищувалася до рівня, притаманних контрольній групі. Зменшувався рівень Ig M. Кількість ЦІК у вагітних ОГ-II знижувалася, на відміну від показників у жінок ОГ-I. Рівні цитокінів INF-γ та TNF-α після проведеного профілактичного лікування, знижувалися. Натомість концентрація протизапального цитокіну IL-10 в ОГ-II достовірно зростала, що призвело до достовірного зниження коефіцієнту TNF-α/IL-10 ( $p < 0,001$ ).

**Висновки.** Вагітні з факторами підвищеного ризику ПЕ в анамнезі і зниженням інтенсивності кровоплину в спіральних артеріях матки в 18-20 тижневому терміні гестації мають виражений дисбаланс субпопуляції Т-клітин, що супроводжується зниженням вироблення Т-хелперів (CD4+) і підвищенням синтезу Т-супресорів/кілерів (CD8+), що викликає зменшення імунорегуляторного індексу. Це супроводжується розвитком цитокінового дисбалансу з превалюванням прозапальних і дефіцитом протизапальних цитокінів, а також поєднується з суттєвим падінням концентрації IgG і зниженням кількості В-клітин. Такі зміни є наслідком виснаження реактивності гуморальної ланки загального імунітету і створюють передумови для частішої маніфестації ПЕ, притаманної таким жінкам майже в половині випадків. Застосування запропонованого нами удосконаленого методу вторинної профілактики виникнення ПЕ у вагітних з високим ризиком розвитку цього захворювання призводить до позитивних змін у роботі системи імунітету і відповідного покращення клінічних наслідків. Воно дає змогу в 1,4 рази знизити частоту розвитку ПЕ і в 2,6 рази профілактує виникнення тяжких її форм.

**Ключові слова:** пре еклампсія; клітинно-гуморальний імунітет; цитокіни.

**Contact Information:**

**Victoria Vashchenko** – PhD, MD, Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology № 2, Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine).

**e-mail:** vlvashchenko@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-6897-6339>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/ABD-4253-2020>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205712938>

**Контактна інформація:**

**Ващенко Вікторія Леонідівна** – доктор філософії, асистент кафедри акушерства і гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

**e-mail:** vlvashchenko@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-6897-6339>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/ABD-4253-2020>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57205712938>



Received for editorial office on 23/07/2023  
Signed for printing on 10/10/2023

UDC: 618.2:618.14-092-071

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.16

V. Likhachov, O. Taranovska

Poltava State Medical University of Ministry of Health of Ukraine (Poltava, Ukraine)

## CHANGES IN CYTOKINE BALANCE IN PREGNANT WOMEN WITH CHRONIC ENDOMETRITIS IN THE PAST MEDICAL HISTORY AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA

**Summary**

Few data regarding the levels of TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  and IL-10 in the cervical mucus of pregnant women with the past medical history of chronic endometritis have been found. The abovementioned cytokines have the impact on the course of pregnancy as well as the processes of trophoblast invasion into the spiral arteries of the uterus. Deviations in their levels at the early stages of pregnancy may be associated with the development of preeclampsia at later stages.

**Purpose:** to assess the levels of TNF, INF- $\gamma$  and cytokine IL-10 in the cervical mucus of pregnant women with a past medical history of chronic endometritis. Additionally, the study aims to determine their role in the development of preeclampsia and evaluate the effectiveness of comprehensive preconception treatment in preventing cytokine imbalance and the occurrence of gestational complications.

**Method and Materials.** 135 pregnant women with the past medical history of chronic endometritis have been supervised during their pregnancy and received preconception treatment (Group I), as well as 168 women, whose pregnancy occurred in the presence of untreated chronic endometritis (Group II). The control group (CG) involved 20 healthy women. Preconception treatment included the administration of azithromycin, hormonal therapy with Femoston-Comb 2/10, and L-arginine aspartate in combination with folate prophylaxis.

During the study, the principles of patient-centered care were followed in accordance with the requirements of the Tokyo Declaration of the World Medical Association, the International Recommendations of the Helsinki Declaration on Human Rights, the Convention on Human Rights and Biomedicine of the Council of Europe, the Laws of Ukraine, the Orders of the Ministry of Health of Ukraine and the requirements of the Ethical Code of the Ukrainian physician.

The cytokine (TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$ , IL-10) analysis in the cervical mucus was performed at 5-, 17-18 and 32 weeks of pregnancy, using the enzyme-linked immunosorbent assay method with corresponding standard commercial reagent kits from the «Vector BEST» company. The obtained data were processed using mathematical statistical methods, calculating the mean sample values ( $M$ ), variance ( $\sigma$ ) and standard errors of the means ( $m$ ). Student's  $t$ -test was used for assessment and the likelihood ratio was calculated using the «STATISTICA» software (StatSoft Inc., USA).

The paper is an excerpt from the initiative scientific research project of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 2 at Poltava State Medical University, entitled «Optimization of approaches to the management of pregnancy in women at high risk of obstetric and perinatal pathology» (State registration number 0122U201228, duration: 10.2022-09.2027).

**Results.** In pregnant women with a past medical history of chronic endometritis an increase in the levels of INF- $\gamma$  in cervical mucus by 2.1 times at 5-6 weeks ( $p < 0.001$ ), by 2.4 times at 17-18 weeks ( $p < 0.001$ ) and by 1.7 times at 32 weeks of pregnancy ( $p < 0.001$ ) compared to corresponding levels of this cytokine in healthy pregnant women, has been detected. Similarly, TNF- $\alpha$  was by 4.3 times greater at 5-6 weeks of pregnancy compared to the values in the control group ( $p < 0.001$ ), by 3.3 times greater at 17-18 weeks of pregnancy ( $p < 0.001$ ) and by 4.4 times at 32 weeks of pregnancy ( $p < 0.001$ ). All pregnant women with a past medical history of chronic endometritis who had levels of INF- $\gamma$  in the cervical mucus greater than 66.4 pg/ml and/or levels of TNF- $\alpha$  greater than 90.9 pg/ml at 5-6 weeks of pregnancy subsequently manifested preeclampsia (OR 2.01; 95 % CI [1.1-7.12];  $p < 0.05$  and OR 1.8; 95 % CI [1.2-6.29];  $p < 0.05$  respectively). The level of IL-10 in their cervical mucus was by 4 times higher than the control values at 5-6 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ); by 3.1 times higher at 17-18 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ) and by 3 times higher at 32 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ). This compensates for the increase in pro-inflammatory cytokines, allowing the TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio to remain at a level characteristic of healthy women throughout pregnancy. In treated women, the concentration of INF- $\gamma$  is by 1.8 times lower than in untreated patients at 5-6 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ), by 2.1 times at 17-18 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ), and by 1.4 times at 32 weeks of pregnancy ( $p < 0.0001$ ). Similarly, TNF- $\alpha$  in cervical mucus was found to be lower by 3.6 times ( $p < 0.01$ ), 2.6 times ( $p < 0.0001$ ), and 4 times ( $p < 0.001$ ) respectively, in the specified terms. This helps to avoid excessive production of the anti-inflammatory cytokine IL-10.

**Conclusions.** In women who got pregnant with untreated chronic endometritis, an increased production of cytokines INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  at the early stages of pregnancy has been established. Comprehensive pregravidar treatment of chronic endometritis allows for the normalization of levels of anti-inflammatory cytokines INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  at the beginning of gestation, which creates conditions for preventing the development of preeclampsia. This leads to a 1.9 times reduction in the frequency of this complication (OR 2.3; 95 % CI [1.25-4.31];  $p < 0.05$ ), a 1.8 times decrease in the frequency of severe forms of preeclampsia (OR 4.64; 95 % CI [1.23-17.48];  $p < 0.05$ ) and a delay in the average onset of its manifestations by 4.9 weeks ( $p < 0.0001$ ).

**Key words:** Preeclampsia; Chronic Endometritis; INF- $\gamma$ ; TNF- $\alpha$ ; Trophoblast Invasion into the Spiral Arteries of the Uterus.

**Introduction**

The onset of pregnancy in women diagnosed with chronic endometritis (CE) can be associated with a high risk (from 33 % to 87 % of cases) of pregnancy loss [1-3].

The development of CE is associated with a number of pathological processes that significantly affect the functional state of the uterine mucosa, thereby creating unfavorable conditions for the onset of pregnancy [4,

5]. These are primarily related to destructive changes in endometrial cells that occur during prolonged inflammation [6], impaired microcirculation in the basin of the uterine spiral arteries [4], inadequate transformation of the uterine mucosa during the menstrual cycle [4-7], as well as a decrease in the synthesis of  $\alpha 2$ -microglobulin of fertility (also known as glycodelin-A) [7, 8].

In our previous studies, a decrease in the level of fertility  $\alpha 2$ -microglobulin (glycodelin-A) was demonstrated in women with CE both in the preconception stage and during the first weeks of pregnancy [2, 7]. Adequate synthesis levels create favorable conditions for implantation and embryonic development [8, 9], as well as ensure adequate progression of trophoblast invasion into the uterine spiral arteries, which is a necessary step in the formation of adequate feto-maternal blood flow [10, 11]. The processes of trophoblast invasion into the spiral arteries of the uterus are crucial for the entire process of pregnancy, and their disruption leads to the development of serious obstetric pathologies (such as pregnancy loss, pre-eclampsia, intrauterine growth restriction, placental abruption) [11-14]. The influence of glycodelin-A on the invasive properties of trophoblasts is related to its ability to alter the intensity of cytokine synthesis: high concentrations promote increased production of IL-6, while reducing its level induces macrophages to increased production of  $\text{INF-}\gamma$  and  $\text{TNF-}\alpha$  [15-17]. The latter, in addition to their ability to potentiate aggressive immune responses, have a significant limiting effect on the processes of spiral vascular transformation [17, 18].  $\text{TNF-}\alpha$  from decidual macrophages promotes the transformation of invasive trophoblasts into non-invasive ones, inhibits the migration of trophoblast cells, reduces their viability, thereby decreasing their resistance to the lytic effects of NK cells [18, 19].  $\text{INF-}\gamma$  stimulates NK cells and cytotoxic T lymphocytes, leading to the formation of lymphokine-activated killer cells capable of damaging trophoblasts, and also inhibits the production of a number of trophoblast growth factors [17-19]. Elevated levels of IL-10, as the major anti-inflammatory cytokine, protect the fertilized egg from maternal antigenic immune aggression and are essential for successful pregnancy [20-22].

We did not find any studies on the levels of  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{INF-}\gamma$  and IL-10 in women who became pregnant with CE. The role of variations in the levels of these cytokines in the early stages of pregnancy in the development of pre-eclampsia in later stages has not been studied.

**Aim:** to assess the levels of pro-inflammatory cytokines (TNF,  $\text{INF-}\gamma$ ) and anti-inflammatory cytokine (IL-10) in the cervical canal mucus of pregnant women with a past medical history of chronic endometritis. Additionally, the study aims to determine their role in the development of preeclampsia and evaluate the effectiveness of comprehensive preconception treatment in preventing cytokine imbalance and the occurrence of gestational complications.

**Materials and Methods.** 135 pregnant women with a history of CE were followed during pregnancy and treated for CE in the pre-pregnancy period (group I), and

168 women whose pregnancy occurred in the presence of untreated CE (group II). The control group (CG) included 20 healthy women who had not been diagnosed with CE prior to pregnancy.

The proposed comprehensive preconception treatment for CE was aimed at improving the chances of pregnancy. It included administration of azithromycin to eliminate intrauterine infection as a cause of inflammatory response in the endometrium and a source of stimulation for excessive production of pro-inflammatory cytokines in CE [23]; Hormonal therapy with Femoston-Comb 2/10 for at least 3 months prior to pregnancy to synchronize phase changes in the uterine mucosa and restore the associated synthesis of glycodelin-A by the endometrial glands; L-arginine aspartate at a dose of 6 g per day for 2 months to restore normal endometrial blood supply [24]. In addition, folate prophylaxis was administered at a dose of 400 mcg/day. At the onset of pregnancy, patients were prescribed drug support with dydrogesterone at a dose of 20 mg/day from the time of conception confirmation until 17-18 weeks of pregnancy. L-arginine aspartate was also prescribed at a dose of 6 g per day in two 28-day courses during the formation of the first (from 5-6 to 8-9 weeks of pregnancy) and second (from 12-13 to 16-17 weeks of pregnancy) waves of trophoblast invasion into the spiral arteries of the uterus [12]. In accordance with current guidelines, pre-eclampsia prophylaxis was performed by administering acetylsalicylic acid at a dose of 100 mg/day from the 12th to the 36th week of pregnancy and calcium supplements at a dose of 1.5 g of elemental calcium per day from the 16th week of pregnancy until delivery. The dose of folic acid has been increased to 800 mcg/day during aspirin prophylaxis [25].

During the study, the principles of patient-centered care were followed in accordance with the requirements of the Tokyo Declaration of the World Medical Association, the international recommendations of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Convention on Human Rights and Biomedicine of the Council of Europe, the laws of Ukraine, the regulations of the Ministry of Health of Ukraine, and the requirements of the Ethical Code of the Ukrainian Physician.

The analysis of cytokines ( $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{INF-}\gamma$ , IL-10) in cervical mucus was carried out by the method of enzyme-linked immunosorbent assay with corresponding standard commercial reagent kits of the company «Vector BEST» according to the manufacturer's instructions. The levels of the above-mentioned cytokines were determined at 5-6 weeks of gestation (at the beginning of gestational remodeling of the spiral arteries) and at 17-18 weeks of gestation (when trophoblast invasion into the vessel wall is complete). In addition, the cytokine profile of the studied women was examined separately at 32 weeks of pregnancy (the time when clinical manifestations of pre-eclampsia typically occur) [14]. The data obtained were processed using mathematical-statistical methods, calculating sample means (M), variance ( $\sigma$ ) and standard errors of means (m). The Student's t-test was used for evaluation and the likelihood ratio was calculated using the «STATISTICA» software (StatSoft Inc., USA).



The paper is an excerpt from the initiative scientific research project of the Department of Obstetrics and Gynecology <sup>1</sup> 2 of the Poltava State Medical University entitled «Optimization of approaches to pregnancy management in women at high risk of obstetric and perinatal pathology» (state registration number 0122U201228, duration: 10.2022-09.2027).

### Results and Discussion

In group II pregnant women with CE, we observed a statistically significant increase in the levels of pro-inflammatory cytokines, which was already evident at 5-6 weeks of pregnancy and progressed over time. Specifically,

in early pregnancy, the level of INF- $\gamma$  was 2.1 times higher than the control values, reaching  $62.8 \pm 9.0$  pg/mL (vs.  $29.1 \pm 4.1$  pg/mL in the control group;  $p < 0.001$ ). At 17-18 weeks' gestation, this indicator was  $80.8 \pm 10.4$  pg/mL (2.4 times higher than the control values ( $33.1 \pm 5.2$  pg/mL);  $p < 0.001$ ), and at 32 weeks' gestation, it was  $38.8 \pm 4.1$  pg/mL. This was 1.7 times higher than in healthy pregnant women ( $22.2 \pm 3.9$  pg/ml;  $p < 0.001$ ). Similarly, TNF- $\alpha$  was 4.3 times higher than control levels at 5-6 weeks of pregnancy ( $88.1 \pm 8.5$  pg/ml vs.  $20.4 \pm 3.0$  pg/ml;  $p < 0.001$ ), 3.3 times at 17-18 weeks ( $96.8 \pm 3.5$  pg/ml vs.  $29.2 \pm 3.1$  pg/ml;  $p < 0.001$ ) and 4.4 times at 32 weeks ( $100.7 \pm 3.9$  pg/ml vs.  $22.4 \pm 5.5$  pg/ml;  $p < 0.001$ ).

Table 1

The level of pro- and anti-inflammatory cytokines in cervical mucus in pregnant women with a history of chronic endometritis

| term        | INF- $\gamma$ (pg/ml) |                                |  | TNF $\alpha$ (pg/ml) |                               |  | IL-10 (pg/ml)      |                               |  |
|-------------|-----------------------|--------------------------------|--|----------------------|-------------------------------|--|--------------------|-------------------------------|--|
|             | Control group n=20    | Group I n=119                  | Group II n=116                                       | Control group n=20   | Group I n=119                 | Group II n=116                                       | Control group n=20 | Group I n=119                 | Group II n=116   |
| 5-6 weeks   | 29,1 $\pm$ 4,1        | 33,4 $\pm$ 4,8<br>$p^* > 0,25$ | 62,8 $\pm$ 9,0<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,001$  | 20,4 $\pm$ 3,0       | 24,3 $\pm$ 6,3<br>$p^* > 0,5$ | 88,1 $\pm$ 8,5<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,001$  | 25,6 $\pm$ 2,9     | 28,3 $\pm$ 2,7<br>$p^* > 0,2$ | 102,1 $\pm$ 2,2<br>$p^* < 0,0001$<br>$p^{**} < 0,0001$ |
| 17-18 weeks | 33,1 $\pm$ 5,2        | 37,6 $\pm$ 4,3<br>$p^* > 0,5$  | 80,8 $\pm$ 10,4<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,001$ | 29,2 $\pm$ 3,1       | 36,6 $\pm$ 4,6<br>$p^* > 0,1$ | 96,8 $\pm$ 3,5<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,001$  | 32,7 $\pm$ 1,5     | 30,4 $\pm$ 4,9<br>$p^* > 0,5$ | 104,0 $\pm$ 4,1<br>$p^* < 0,0001$<br>$p^{**} < 0,0001$ |
| 32 week     | 22,2 $\pm$ 3,9        | 26,8 $\pm$ 3,6<br>$p^* > 0,25$ | 38,8 $\pm$ 4,1<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,05$   | 22,4 $\pm$ 5,5       | 25,1 $\pm$ 5,3<br>$p^* > 0,5$ | 100,7 $\pm$ 3,9<br>$p^* < 0,001$<br>$p^{**} < 0,001$ | 27,3 $\pm$ 3,9     | 27,9 $\pm$ 5,1<br>$p^* > 0,5$ | 83,5 $\pm$ 3,4<br>$p^* < 0,0001$<br>$p^{**} < 0,0001$  |

Note:  $p^*$  – from the CG in the same term;  $p^{**}$  - in comparison with the Group I

The increase in pro-inflammatory cytokine levels in group II women was accompanied by an increase in the concentration of anti-inflammatory IL-10. Specifically, the level of IL-10 in their cervical mucus was  $102.1 \pm 2.2$  pg/ml at 5-6 weeks of pregnancy (4 times higher than the control values ( $25.6 \pm 2.9$  pg/ml;  $p < 0.0001$ ));  $104.0 \pm 4.1$  pg/ml at 17-18 weeks' gestation (3.1-fold higher than in CG ( $32.7 \pm 1.5$  pg/ml;  $p < 0.0001$ )) and  $83.5 \pm 3.4$  pg/ml at 32 weeks' gestation (3-fold higher in the same comparison ( $27.3 \pm 3.9$  pg/ml;  $p < 0.0001$ )). This counterbalances the increase in pro-inflammatory cytokines, allowing the TNF-alpha/IL-10 ratio to remain at levels characteristic of healthy women throughout pregnancy:  $0.83 \pm 0.06$  at 5-6 weeks (compared to  $0.8 \pm 0.02$  in CG ( $p > 0.5$ )) and  $0.93 \pm 0.06$  at 17-18 weeks (compared to  $0.82 \pm 0.04$  in CG ( $p > 0.1$ )).

Only at 32 weeks of gestation, in women with untreated CE, the TNF-alpha/IL-10 ratio increased to  $1.2 \pm 0.05$  ( $p < 0.001$  vs. CG). This was associated with the fact that some women in this group had clinical manifestations of PE; this index increased to  $1.93 \pm 0.04$  ( $p < 0.0001$  compared to CG). In the same patients whose pregnancy progressed without this complication, the TNF- $\alpha$ /IL-10

index was  $0.94 \pm 0.04$ , which was not significantly different from the values in the CG ( $p > 0.5$ ).

We found that the concentration of cytokines regulating invasive processes in the uterine spiral arteries (especially INF- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ ) [16] was significantly higher in early pregnancy in women of group II, whose pregnancies were complicated by the development of preeclampsia in later stages. All women with an increase in INF- $\gamma$  in cervical mucus greater than 66.4 pg/ml at 5-6 weeks' gestation subsequently developed PE (OR 2.01; 95 % CI [1.1-7.12];  $p < 0.05$ ). An increase in TNF- $\alpha$  levels greater than 90.9 pg/ml in cervical mucus at this time also correlated with the manifestation of PE (OR 1.8; 95 % CI [1.2-6.29];  $p < 0.05$ ).

At this time, the level of INF- $\gamma$  in women in group II who later developed PE was  $70.5 \pm 3.7$  pg/mL at 5-6 weeks of gestation, which was 2.4 times higher than the level in healthy pregnant women in the control group ( $29.1 \pm 4.1$  pg/mL;  $p < 0.001$ ). In group II women whose pregnancies were complicated by PE at later stages, TNF- $\alpha$  was  $90.9 \pm 3.1$  pg/ml at 5-6 weeks of pregnancy, which was 4.5 times higher than the levels in the control group ( $20.4 \pm 3.0$  pg/ml;  $p < 0.001$ ).

However, the more pronounced the increase in proinflammatory cytokine levels, the more severe the PE

tended to be during pregnancy. In patients in group II who developed severe PE at a later stage, INF- $\gamma$  was  $79.5 \pm 3.0$  pg/ml at the beginning of pregnancy. This was 20 % higher than in patients with moderate PE ( $66.4 \pm 3.2$  pg/ml;  $p < 0.002$ ), 34 % higher than in patients from group II whose pregnancies proceeded without PE ( $59.2 \pm 4.3$  pg/ml;  $p < 0.001$ ), and 2.7 times higher than in healthy pregnant women ( $29.1 \pm 4.1$  pg/ml;  $p < 0.001$ ). The change in TNF- $\alpha$  levels in cervical mucus at 5-6 weeks of pregnancy was less pronounced: in women with moderate pre-eclampsia, the level of this cytokine was  $90.1 \pm 2.8$  pg/ml, which was 4.4 times higher than in healthy pregnant women ( $20.4 \pm 3.0$  pg/ml;  $p < 0.001$ ) and only 7 % higher than in patients from group II whose pregnancies proceeded without preeclampsia ( $83.8 \pm 2.1$  pg/ml;  $p > 0.5$ ). There was no significant difference in this indicator compared to patients with severe PE ( $93.4 \pm 2.4$  pg/ml;  $p > 0.2$ ). The level of TNF- $\alpha$  in cervical mucus was 4.5 times higher in women who developed severe PE at later stages compared to the control values ( $93.4 \pm 2.4$  pg/ml vs.  $20.4 \pm 3.0$  pg/ml;  $p < 0.01$ ), whereas the levels were 11.4 % higher in women without PE ( $93.4 \pm 2.4$  pg/ml vs.  $83.8 \pm 2.1$  pg/ml;  $p < 0.01$ ).

At 17-18 weeks' gestation, the level of INF- $\gamma$  was  $87.3 \pm 2.8$  pg/mL in group II women who later developed signs of PE, which was 2.6 times higher than the control values ( $33.1 \pm 5.2$  pg/mL;  $p < 0.001$ ) and 12 % higher than in group II women who did not develop pre-eclampsia during pregnancy ( $77.8 \pm 3.3$  pg/mL;  $p < 0.05$ ). In patients with severe pre-eclampsia, the concentration of this cytokine at 17-18 weeks' gestation was 8.4 % higher than in patients with moderate pre-eclampsia ( $p < 0.02$ ) and 20 % higher than in patients without pre-eclampsia ( $p < 0.0002$ ).

At 17-18 weeks' gestation, the level of TNF- $\alpha$  was  $103.2 \pm 3.8$  pg/mL in group II women whose pregnancies were subsequently complicated by pre-eclampsia, which was 3.5 times higher than in the control group ( $29.2 \pm 3.1$  pg/mL;  $p < 0.0001$ ) and 13 % higher than in group II women whose pregnancies were without pre-eclampsia ( $91.5 \pm 2.3$  pg/mL;  $p < 0.01$ ).

In all women in group II whose pregnancy progressed to the third trimester, including those who subsequently developed preeclampsia, the level of IL-10 in cervical mucus was high at both 5-6 weeks and 17-18 weeks of pregnancy and was significantly higher than the control values. Notably, the TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio at this gestational age remained within normal limits both in women whose pregnancies were complicated by pre-eclampsia and in those who did not have such complications.

We observed an increase in the TNF- $\alpha$ /IL-10 index only at 32 weeks of gestation in women in group II who either had signs of pre-eclampsia at the time of examination or manifested it in the following weeks, which was 2.3 times higher than the control level ( $1.93 \pm 0.04$  vs.  $0.83 \pm 0.05$ ;  $p < 0.0001$ ) and 2 times higher than the values in women who became pregnant with diagnosed CE but did not develop PE ( $0.94 \pm 0.04$ ;  $p < 0.001$ ).

The above changes were associated with an insufficient amount of IL-10 in patients with preeclampsia. At this time, in women of group II without pre-eclampsia, at 32 weeks of pregnancy, the values of this indicator ( $101.2 \pm 4.1$  pg/ml) increased by 3.7 times compared to the control values

( $27.3 \pm 3.9$  pg/ml), providing an adequate balance between pro- and anti-inflammatory cytokines ( $p < 0.0001$ ). However, in women with moderate pre-eclampsia, such an increase was 1.7 times higher ( $48.2 \pm 2.3$  pg/ml,  $p < 0.01$ ), and in women with severe pre-eclampsia, it was 1.5 times higher ( $43.1 \pm 1.9$ ;  $p < 0.05$ ). Consequently, the level of IL-10 was found to be 2.1 times lower in women with pre-eclampsia than in patients without such complications ( $46.3 \pm 2.1$  pg/ml vs.  $101.2 \pm 4.1$  pg/ml;  $p < 0.001$ ), which is probably related to the depletion of compensatory mechanisms aimed at balancing Th1- and Th2-dependent cytokines. This indicates immunosuppression, which likely contributes to the development of endothelial dysfunction and subsequent manifestation of clinical symptoms of pre-eclampsia [21].

We evaluated the levels of TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  and IL-10 in cervical mucus of women treated for CE before pregnancy (group I). It was found that the level of INF- $\gamma$  in treated women was  $33.4 \pm 4.8$  pg/mL at 5-6 weeks of pregnancy,  $37.6 \pm 4.3$  pg/mL at 17-18 weeks, and  $26.8 \pm 3.6$  pg/mL at 32 weeks. This was 1.8-fold ( $p < 0.0001$ ), 2.1-fold ( $p < 0.0001$ ) and 1.4-fold ( $p < 0.0001$ ) lower than in untreated patients, respectively. The values were not significantly different from those of healthy pregnant women ( $p > 0.2$  in all comparisons at the corresponding gestational ages). Similarly, TNF- $\alpha$  levels were lower than those observed in women in group II: by 3.6-fold at 5-6 weeks of pregnancy ( $24.3 \pm 6.3$  pg/mL;  $p < 0.01$ ), by 2.6-fold at 17-18 weeks ( $36.6 \pm 4.6$  pg/mL;  $p < 0.0001$ ), and by almost 4-fold at 32 weeks of pregnancy ( $25.1 \pm 5.3$  pg/mL;  $p < 0.001$ ).

Apparently, preconception treatment for CE prevents the increased synthesis of pro-inflammatory cytokines, capable of inhibiting trophoblast invasion into the uterine spiral arteries both in the early weeks of pregnancy and later, avoiding excessive production of the anti-inflammatory cytokine IL-10. At 5-6 weeks of pregnancy, its level ( $28.3 \pm 2.7$  pg/ml) corresponds to that of healthy women ( $25.6 \pm 2.9$  pg/ml;  $p > 0.2$ ) and is 3.6 times ( $102.1 \pm 2.2$  pg/ml;  $p < 0.0001$ ) lower than in untreated patients of group II. At 17-18 weeks of pregnancy, the levels of this cytokine ( $30.4 \pm 4.9$  pg/mL) are almost similar to the control levels ( $32.7 \pm 4.5$ ;  $p > 0.5$ ) and 3.4 times lower compared to untreated women ( $p < 0.0001$ ). The TNF- $\alpha$ /IL-10 index was similar to control levels, at  $0.85 \pm 0.04$  at the beginning of pregnancy ( $0.8 \pm 0.02$ ;  $p > 0.2$  in the control group) and  $0.84 \pm 0.08$  in the second trimester ( $0.82 \pm 0.04$ ;  $p > 0.5$  in the control group). Stable levels of the anti-inflammatory cytokine in the first half of pregnancy prevent its depletion at 32 weeks' gestation, as observed in women in group II. The level of IL-10 in cervical mucus of women in group I at the same gestational age remains at the level typical for healthy patients ( $27.9 \pm 5.1$  pg/ml in group I vs.  $27.3 \pm 3.9$  pg/ml in control group;  $p > 0.5$ ), and in group II this level is 2.9 times lower ( $83.5 \pm 3.4$  pg/ml;  $p < 0.0001$ ). Thus, the TNF- $\alpha$ /IL-10 ratio in treated women remains at the control level on average across groups ( $0.89 \pm 0.1$ ), whereas in untreated patients it increases to  $1.2 \pm 0.05$  at 32 weeks' gestation ( $p < 0.01$ ), contributing to the clinical manifestations of complicated pregnancy.

In conclusion, in women with untreated CE, the production of cytokines that limit trophoblast invasion of the uterine spiral arteries increases in early pregnancy,

setting the stage for the development of pre-eclampsia. In women whose pregnancy occurred after comprehensive treatment of CE, the levels of these cytokines remain within normal ranges, promoting a physiological course of pregnancy in this group of women. This is evidenced by the significant difference in the clinical course of pregnancy between Group I and Group II women. The incidence of this complication was 17 % in group I women who received treatment in the preconception period and continued to receive medication and pre-eclampsia prophylaxis during pregnancy, compared with 32.1 % in untreated women (OR 2.3; 95 % CI [1.25-4.31];  $p < 0.05$ ). Among them, moderate manifestations of this complication were observed in 17 women (85 % of cases among individuals in this group with pre-eclampsia), while in group II there were 27 women (73 % of 37 patients with pre-eclampsia; OR 2.51; 95 % CI [1.25-5.04];  $p < 0.05$ ). Severe pre-eclampsia complicated pregnancy in 3 women in group I (15 % of women with pre-eclampsia) and in 10 women (27 % of women with pre-eclampsia) in group II (OR 4.64; 95 % CI [1.23-17.48];  $p < 0.05$ ). The mean onset of pre-eclampsia was  $34.3 \pm 0.4$  weeks in group I and  $29.4 \pm 0.6$  weeks in group II.

**Conclusions.** The onset of pregnancy (5-6 weeks) in women with untreated chronic endometritis is accompanied by increased levels of cytokines (INF- $\gamma$  by 2 times ( $p < 0.001$ ) and TNF- $\alpha$  by 4.3 times ( $p < 0.001$ )) in cervical mucus that limit trophoblast invasion into the uterine spiral arteries. The priority of inhibitory cytokines that limit trophoblast invasion during the first wave of gestational transformation of the uterine spiral arteries is particularly pronounced in pregnant women whose further gestational

process is complicated by the development of pre-eclampsia. An increase in INF- $\gamma$  levels in cervical mucus greater than 66.4 pg/ml (OR 2.01; 95 % CI [1.1-7.12];  $p < 0.05$ ) and an increase in TNF- $\alpha$  levels in cervical mucus greater than 90.9 pg/ml (OR 1.8; 95 % CI [1.2-6.29];  $p < 0.05$ ) at 5-6 weeks of gestation can be considered as predictors for the development of pre-eclampsia in women who became pregnant with chronic endometritis [23].

The level of IL-10 in cervical mucus at the beginning of pregnancy is 4 times higher in pregnant women with CE compared to the control level ( $p < 0.0001$ ). This is related to the need to maintain cytokine balance in the presence of high production of proinflammatory cytokines.

Women who received comprehensive pre-gravidar treatment for chronic endometritis before pregnancy have lower levels of antiinflammatory cytokines (INF- $\gamma$  by 1.8 times ( $p < 0.001$ ); TNF- $\alpha$  by 3.6 times ( $p < 0.001$ )) in cervical mucus at 5-6 weeks of gestation. This creates conditions for preventing the development of pre-eclampsia.

Comprehensive antepartum treatment and drug support during pregnancy, combined with protocol-based pre-eclampsia prevention measures in women with chronic endometritis, allow a 1.9-fold reduction in the incidence of this complication (OR 2.3; 95 % CI [1.25-4.31];  $p < 0.05$ ), a 1.8-fold reduction in the incidence of severe forms of pre-eclampsia (OR 4.64; 95 % CI [1.23-17.48];  $p < 0.05$ ), and a 4.9-week delay in the mean onset of pre-eclampsia ( $p < 0.0001$ ) compared to untreated women.

**Conflict of interest:** none.

**Financing:** self-financing.

#### References:

1. Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, de Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2021;115(3):546-60. doi 10.1016/j.fertnstert.2020.12.010
2. Taranovska OO, Likhachov VK, Dobrovolska LM, Makarov OG, Shymanska YV. Possibility for non-invasive diagnosis of chronic endometritis in women at risk during pregravid preparation. *Wiad Lek*. 2019;72(1):64-7.
3. Xu Y, Mei J, Diao L, Li Y, Ding L. Chronic endometritis and reproductive failure: role of syndecan-1. *Am J Reprod Immunol [Internet]*. 2020[cited 2023 Sep 10];84(3): e13255. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/aji.13255> doi:10.1111/aji.13255
4. Groth JV. Chronic endometritis and the plasma cell, fact versus fiction. *Fertil Steril [Internet]*. 2018[cited 2023 Nov 10];109(5):788. Available from: [https://www.fertstert.org/article/S0015-0282\(18\)30192-4/fulltext](https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(18)30192-4/fulltext) doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.02.116
5. Hirata K, Kimura F, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, Hanada T, et al. Histological diagnostic criterion for chronic endometritis based on the clinical outcome. *BMC Womens Health [Internet]*. 2021[cited 2023 Nov 10];21(1):94. Available from: <https://bmcmwomenshealth.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12905-021-01239-y.pdf> doi: 10.1186/s12905-021-01239-y
6. Dorostghoal M, Ghaffari HO, Marmazi F, Keikah N. Overexpression of endometrial estrogen receptor-alpha in the window of implantation in women with unexplained infertility. *J Fertil Steril*. 2018;12(1):37-42. doi: 10.22074/ijfs.2018.5118
7. Taranovska OO, Likhachov VK, Dobrovolska LM, Makarov OG, Shymanska YV. The role of secreting function of decidua in the development of complications of gestation process in pregnant women with a past history of chronic endometritis. *Wiad Lek*. 2020;73(11):2416-20.
8. Guo J, Feng Q, Chaemsaitong P, Appiah K, Sahota DS, Leung BW, et al. Biomarkers at 6 weeks' gestation in the prediction of early miscarriage in pregnancy following assisted reproductive technology. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2023;102(8):1073-83. doi: 10.1111/aogs.14618
9. Löb S, Vattai A, Kuhn C, Schmoedel E, Mahner S, Wöckel A, et al. Pregnancy Zone Protein (PZP) is significantly upregulated in the decidua of recurrent and spontaneous miscarriage and negatively correlated to Glycodelin A (GdA). *J Reprod Immunol [Internet]*. 2021[cited 2023 Nov 10];143:103267. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165037820301881?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.jri.2020.103267
10. Huang CC, Hsueh YW, Chang CW, Hsu HC, Yang TC, Lin WC, et al. Establishment of the fetal-maternal interface: developmental events in human implantation and placentation. *Front Cell Dev Biol [Internet]*. 2023[cited 2023 Nov 10];11:1200330. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2023.1200330/full> doi: 10.3389/fcell.2023.1200330
11. Windsperger K, Dekan S, Pils S, Golletz C, Kunihs V, Fiala C, et al. Extravillous trophoblast invasion of venous as well as lymphatic vessels is altered in idiopathic, recurrent, spontaneous abortions. *Hum Reprod*. 2017;32(6):1208-17. doi: 10.1093/humrep/dex058

12. Barrientos G, Pussetto M, Rose M, Staff AC, Blois SM, Toblli JE. Defective trophoblast invasion underlies fetal growth restriction and preeclampsia-like symptoms in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Mol Hum Reprod.* 2017;23(7):509-19. doi: 10.1093/molehr/gax024
13. Boutin A, Demers S, Gasse C, Giguère Y, Tétu A, Laforest G, et al. First-trimester placental growth factor for the prediction of preeclampsia in nulliparous women: the great obstetrical syndromes cohort study. *Fetal Diagn Ther.* 2019;45(2):69-75. doi: 10.1159/000487301
14. Boutin A, Gasse C, Demers S, Giguère Y, Tétu A, Bujold E. Maternal characteristics for the prediction of preeclampsia in nulliparous women: the great obstetrical syndromes (GOS) study. *J Obstet Gynaecol Can.* 2018;40(5):572-8. doi: 10.1016/j.jogc.2017.07.025
15. Pollheimer J, Vondra S, Baltayeva J, Beristain AG, Knöfler M. Regulation of placental extravillous trophoblasts by the maternal uterine environment. *Front Immunol [Internet].* 2018[cited 2023 Nov 10];9:2597. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02597/full> doi: 10.3389/fimmu.2018.02597
16. Lee CL, Chiu PC, Lam KK, Siu SO, Chu IK, Koistinen R, et al. Differential actions of glycodefin-A on Th-1 and Th-2 cells: a paracrine mechanism that could produce the Th-2 dominant environment during pregnancy. *Hum Reprod.* 2011;26(3):517-26. doi: 10.1093/humrep/deq381
17. Lee CL, Lam EY, Lam KK, Koistinen H, Seppälä M, Ng EH, et al. Glycodefin-A stimulates interleukin-6 secretion by human monocytes and macrophages through L-selectin and the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J Biol Chem.* 2012;287(44):36999-7009. doi: 10.1074/jbc.M112.385336
18. Komsa-Penkova R, Danailova A, Krumova S, Georgieva G, Giosheva I, Gartcheva L, et al. Altered thermal behavior of blood plasma proteome related to inflammatory cytokines in early pregnancy loss. *Int J Mol Sci [Internet].* 2022[cited 2023 Nov 10];23(15):8764. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/15/8764> doi: 10.3390/ijms23158764
19. Begum A, Mishra A, Das CR, Das S, Dutta R, Kashyap N, et al. Impact of TNF- $\alpha$  profile in recurrent pregnancy loss pathogenesis: a patient based study from Assam. *J Reprod Immunol [Internet].* 2021[cited 2023 Nov 10];148:103430. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165037821001601?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.jri.2021.103430
20. Wang W, Sung N, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. T Helper (Th) cell profiles in pregnancy and recurrent pregnancy losses: Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Tfh Cells. *Front Immunol [Internet].* 2020[cited 2023 Nov 10];11:2025. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.02025/full> doi: 10.3389/fimmu.2020.02025
21. Dos Santos Fagundes I, Brendler EP, Nunes Erthal I, Eder Ribeiro RJ, Caron-Lienert RS, Machado DC, et al. Total Th1/Th2 cytokines profile from peripheral blood lymphocytes in normal pregnancy and preeclampsia syndrome. *Hypertens Pregnancy.* 2022;41(1):15-22. doi: 10.1080/10641955.2021.2008424
22. Gu H, Li L, Du M, Xu H, Gao M, Liu X, et al. Key gene and functional pathways identified in unexplained recurrent spontaneous abortion using targeted RNA sequencing and clinical analysis. *Front Immunol [Internet].* 2021[cited 2023 Nov 10];12:717832. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.717832/full> doi: 10.3389/fimmu.2021.717832
23. Kitaya K, Tanaka SE, Sakuraba Y, Ishikawa T. Multi-drug-resistant chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure: trend over the decade and pilot study for third-line oral antibiotic treatment. *J Assist Reprod Genet.* 2022;39(8):1839-48. doi: 10.1007/s10815-022-02528-7
24. Skrypnyk I, Maslova G, Lymanets T, Gusachenko I. L-arginine is an effective medication for prevention of endothelial dysfunction, a predictor of anthracycline cardiotoxicity in patients with acute leukemia. *Exp Oncol.* 2017;39(4):308-11. doi: 10.31768/2312-8852.2017.39(4):308-311
25. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management NICE guideline [Internet]. National Institute for Health and Care Excellence; 2019 [updated 2023 Apr 17; cited 2023 Sep 10]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng133>

## ЗМІНИ БАЛАНСУ ЦИТОКІНІВ У ВАГІТНИХ З ХРОНІЧНИМ ЕНДОМЕТРИТОМ В АНАМНЕЗІ ТА ЇХ РОЛЬ У ФОРМУВАННІ ПРЕЕКЛАМПСІЇ

*В. Ліхачов, О. Тарановська*

Полтавський державний медичний університет МОЗ України  
(м. Полтава, Україна)

### Резюме.

Існує дефіцит даних щодо рівнів TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  та IL-10 у цервікальному слизі жінок, які завагітніли на фоні хронічного ендометриту. Ці цитокіни впливають на перебіг вагітності та процеси інвазії трофобласта в спіральні артерії матки. Девіації їх рівнів на ранніх термінах вагітності можуть бути пов'язані з виникненням гестаційних ускладнень, зокрема з розвитком преєклампсії в більш віддалених термінах.

**Мета і завдання дослідження:** Вивчити рівень прозапальних (TNF, INF- $\gamma$ ) і протизапального (IL-10) цитокінів в слизі цервікального каналу у вагітних з хронічним ендометритом в анамнезі; визначити їх роль у формуванні преєклампсії; оцінити ефективність комплексного преконцепційного лікування у попередженні цитокінового дисбалансу і профілактиці гестаційних ускладнень.

**Матеріал та методи дослідження.** Спостерігали за перебігом вагітності у 135 жінок, які до мали хронічний ендометрит в анамнезі і преконцепційно отримували його лікування (I група), та у 168 пацієнток, вагітність яких настала на фоні нелікуваного хронічного ендометриту (II група). Групу контролю склали 20 здорових пацієнток. Преконцепційне лікування включало призначення азитроміцину, гормональну терапію препаратом фемостон 2/10 та L-аргініна аспартат на фоні фолатопрофілактики.

При виконанні досліджень керувались Правилами гуманного ставлення до пацієнта згідно з вимогами Токійської декларації Всесвітньої медичної асоціації, Міжнародними рекомендаціями Гельсінської декларації з прав людини, Конвенцією Ради Європи щодо прав людини і біомедицини, Законами України, наказами МОЗ України та вимогами Етичного Кодексу лікаря України.

Дослідження цитокінів (TNF- $\alpha$ , INF $\gamma$ , IL-10) у цервікальному слизі в 5-6 тижнів, в 17-18 та в 32 тижні вагітності проводили методом імуноферментного аналізу. Показники статистично обробляли з розрахунком середніх вибірових значень (M),

дисперсії ( $\sigma$ ) та помилок середніх значень ( $m$ ), оцінкою критерію Ст'юдента та розрахунку вірогідності шансів за допомогою програми «STATISTICA» («StatSoft Inc.», США).

Стаття є фрагментом ініціативної НДР кафедри акушерства і гінекології № 2 Полтавського державного медичного університету «Оптимізація підходів до ведення вагітності у жінок груп високого ризику по виникненню акушерської та перинатальної патології» (№ держреєстрації 0122U201228, термін виконання 10.2022-09.2027).

**Результати дослідження.** У вагітних з хронічним ендометритом в анамнезі має місце збільшення кількості INF- $\gamma$  в цервікальному слизі в 2,1 рази в 5-6 тижнів ( $p < 0,001$ ), в 2,4 рази в 17-18 тижнів ( $p < 0,001$ ) та в 1,7 разів в 32 тижні вагітності ( $p < 0,001$ ) порівняно з відповідними рівнями цього цитокіну у здорових вагітних. Аналогічно TNF- $\alpha$  перевищував значення в ГК у 4,3 рази в терміні 5-6 тижнів вагітності ( $p < 0,001$ ), в 3,3 рази – в терміні 17-18 тижнів ( $p < 0,001$ ) та в 4,4 рази – в 32 тижні ( $p < 0,001$ ). Усі вагітні з хронічним ендометритом в анамнезі, які в 5-6 тижнів вагітності мали в цервікальному слизі рівень INF- $\gamma$  більше 66,4 пг/мл і/або рівень TNF- $\alpha$  – більше 90,9 пг/мл, в подальшому мали маніфестацію прееклампсії (ВШ 2,01; ДІ 95 % [1,1-7,12];  $p < 0,05$  і ВШ 1,8; ДІ 95 % [1,2-6,29];  $p < 0,05$  відповідно). При цьому, чим більш виразним було зростання рівнів прозапальних цитокінів, тим більш тяжкою виявилася ПЕ в перспективі гестаційного процесу. Рівень IL-10 у їх цервікальному слизі був вище контрольних значень у 4 рази в 5-6 тижнів вагітності ( $p < 0,0001$ ); у 3,1 рази у 17-18 тижнів ( $p < 0,0001$ ), та у 3 рази в 32 тижні ( $p < 0,0001$ ). У пролікованих жінок концентрація INF- $\gamma$  є меншою, ніж у нелікованих пацієнток в 1,8 рази в 5-6 тижнів вагітності ( $p < 0,0001$ ), в 2,1 рази в 17-18 тижнів ( $p < 0,0001$ ), та в 1,4 рази в 32 тижні ( $p < 0,0001$ ). Аналогічно TNF- $\alpha$  в цервікальному слизі виявився нижчим в 3,6 рази ( $p < 0,01$ ), в 2,6 рази ( $p < 0,0001$ ) та в 4 рази ( $p < 0,001$ ) відповідно у зазначені терміни

**Висновки.** У жінок, що завагітніли на фоні нелікованого хронічного ендометриу, на ранніх етапах вагітності збільшується вироблення цитокінів INF- $\gamma$  і TNF- $\alpha$ , які лімітують процеси інвазії трофобласту в спіральні артерії матки і створюють передумови для формування прееклампсії. Комплексне прегравідарне лікування хронічного ендометриу дає можливість нормалізувати рівні протизапальних цитокінів INF- $\gamma$  та TNF- $\alpha$  на початку гестації, що створює передумови для запобігання розвитку прееклампсії. Це дає можливість зменшити частоту виникнення цього ускладнення в 1,9 рази (ВШ 2,3; ДІ 95 % [1,25-4,31];  $p < 0,05$ ), знизити частоту тяжких форм прееклампсії в 1,8 разів (ВШ 4,64; ДІ 95 % [1,23-17,48];  $p < 0,05$ ), відтермінувати середній термін маніфестації її проявів на 4,9 тижнів ( $p < 0,0001$ ).

**Ключові слова:** пре еклампсія; хронічний ендометрит; INF- $\gamma$ ; TNF- $\alpha$ ; інвазія трофобласта в спіральні артерії матки.

#### Contact information:

**Volodimir Likhachov** – Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology № 2, Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4823-2X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57205560361>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/ABD-4253-2020>

**Olena Taranovska** – Candidate of Medical Sciences, Docent, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology № 2, Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

**e-mail:** [elenagudyma31@gmail.com](mailto:elenagudyma31@gmail.com)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-3409-7130>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57206904238>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/ABD-4306-2020>

#### Контактна інформація:

**Ліхачов Володимир Костянтинович** – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри акушерства та гінекології № 1, Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4823-2X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57205560361>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/ABD-4253-2020>

**Тарановська Олена Олексіївна** – кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри акушерства та гінекології № 1, Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

**e-mail:** [elenagudyma31@gmail.com](mailto:elenagudyma31@gmail.com)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-3409-7130>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/detail.uri?authorId=57206904238>

**Researcher ID:** <https://www.researchid.com/rid/ABD-4306-2020>



Received for editorial office on 23/07/2023

Signed for printing on 10/10/2023

UDC: 618.39-021.3-084:612.826.33  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.17

FUNCTIONAL STATE OF THE PINEAL GLAND  
IN WOMEN WITH THREATENED ABORTION  
IN THE FIRST TRIMESTER – FURTHER  
PROSPECTS OF PREGNANCY

*A. V. Pushkashu*

Bukovinian State Medical University  
(Chernivtsi, Ukraine)

**Summary**

*Melatonin is an important hormone for normal pregnancy development, but the influence of serotonin remains poorly understood. Low melatonin production can lead to spontaneous abortion by stimulating progesterone secretion and inhibiting prostaglandin synthesis. Melatonin has an effect on the induction and blocking of apoptosis of the villous cytotrophoblast and promotes the development of the syncytiotrophoblast. Analysis of the frequency of positive pregnancy showed a significant impact on the course of pregnancy and childbirth, compliance with sleep and rest also contribute to a positive effect, but there is no general concept, which makes the subject relevant.*

**The aim of the study.** *To evaluate the functional state of the pineal gland, in particular, the amount of melatonin and serotonin in the blood of pregnant women at 10-12 weeks of gestation with a threat of abortion, which was manifested by bloody discharge or formation of retrochorionic hematoma, and the consequences of pregnancy.*

**Materials and methods.** *Two groups were formed: I main group – 40 pregnant women with a threat of abortion and formation of retrochorionic hematoma, II control group – 44 healthy pregnant women. Obstetric examination, enzyme-linked immunosorbent assay for determination of melatonin, serotonin, chorionic gonadotropin, and ultrasound were performed.*

*Informed consent of pregnant women was obtained with adequate explanation of the purpose, objectives, methods and scope of laboratory and instrumental research methods.*

*The study protocol was approved by the Commission on Biomedical Ethics of the Bukovinian State Medical University, 2015 (minutes of the Commission meeting No 2 from the 19.10.2023 year). The study was conducted in accordance with the basic provisions of GCP (1996), the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997), the Declaration of Helsinki of the World Medical Association for the Ethical Principles of Scientific Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), the Order of the Ministry of Health of Ukraine 690 of September 23, 2009 (as amended by the Order of the Ministry of Health of Ukraine 523 of July 12, 2012).*

*Statistical analysis was performed using generally accepted methods of variance statistics. Reliability was assessed by Student's t-test. Differences were considered significant if the significance level was  $p \leq 0.05$ . We also performed correlation analysis in Microsoft Excel, using the method of squares (Pearson's method) to determine the correlation coefficient.*

*The work is a fragment of the research work of the Department of Obstetrics and Gynecology, UDC 618.1-053.34 + 618.1-0536 / .8]. –07-084-08 «Prevention, diagnosis and treatment of disorders of the perinatal period and reproductive system of women and adolescent girls» (No. 201110H, state registration number 0111U006499. The term of implementation is 02.2011-12.2015).*

**Results of the study.**

*According to the obtained results, retrochorionic hematoma up to 1 cm is detected three times more often than over 1 cm, while the level of melatonin is not significantly lower; but with retrochorionic hematoma over 1 cm a significant decrease is observed in cases of further normal pregnancy and childbirth. With further complications of pregnancy in retrochoroidal hematoma up to 1 cm, there is a significant significant decrease in melatonin ( $p < 0.001$ ), in contrast to retrochoroidal hematoma over 1 cm, where no significant difference was found in the complicated course of pregnancy ( $p > 0.05$ ).*

*Serotonin levels were elevated in all subgroups regardless of hematoma size and subsequent pregnancy outcome.*

**Conclusions.** *In case of threatened abortion in the first trimester with formation of retrochorionic hematoma, the risk of complicated pregnancy remains in 60.87 % of cases. Determination of pineal hormones revealed a significant increase in serotonin with a simultaneous significant decrease in melatonin, while maintaining a positive relationship between the hormones, indicating a disruption of melatonin synthesis in the central nervous system. This is confirmed by the normal level of chorionic gonadotropin and the preservation of embryonic viability. Since the disruption of hormone formation in the pineal gland has been established, adherence to the recommendations for adequate rest may positively affect the further outcome of pregnancy and childbirth.*

**Key words:** *Melatonin; Serotonin; Retrochorionic Hematoma; Threatened Abortion*

**Introduction**

The pineal gland (epiphysis) belongs to the midbrain and functions as an endocrine gland whose main functions are to regulate circadian (daily) biological rhythms, normalize immune responses, endocrine connections, metabolism, neutralize the effects of stress hormones, and adapt the body to changing light conditions that determine its activity. The main hormones of the pineal gland (PG) are melatonin (MT) and serotonin (ST).

It is believed that the cells of the pineal gland secrete ST during the day and begin to synthesize MT in the dark, while information about the level of external illumination is transmitted from the retina to the pineal gland via sympathetic fibers, which is important for the normal functioning of the gland.

MT, also known as 5-methoxy-N-acetyltryptamine, is a neuroendocrine hormone produced mainly in the pineal gland that is regulated by light levels and follows a circadian

rhythm [1, 2]. It is an endogenously produced indolamine containing two functional groups: a 5-methoxy group and an N-acetyl side chain, which determine its specificity and amphiphilicity. MT biosynthesis starts with its precursor tryptophan and consists of four enzymatic steps. In the biosynthesis of MT, serotonin N-acetyltransferase is the rate-limiting enzyme and ST is an important intermediate [3, 4, 5]. The half-life of MT in the circulation is usually short, ranging from 30 to 60 minutes [6]. It has amphiphilic properties that allow MT to easily diffuse and cross all membranes. Approximately 70 % of MT binds to albumin, and the remaining 30 % diffuses into surrounding tissues after release into the bloodstream [7]. Due to its multiple actions, MT acts as a circadian regulator, natural antioxidant, anti-inflammatory and anti-neoplastic agent, among many other functions [8, 9]. Regarding the anti-inflammatory and circadian regulatory functions, a study by Hobson et al. 2018 shows a correlation between the circadian clock and the immune system. It is emphasized that MT is powerful in terms of circadian regulation of lymphocyte proliferation, enhancing phagocytosis and stimulating cytokine production, which is essential for the normal development of pregnancy. Thus, in the context of obstetrics and fetal growth, MT is important for the prevention of preterm labor, gestational diabetes, and pre-eclampsia [10, 11, 12].

The majority of endogenous MT production occurs in the pineal gland, which is regulated by light levels. However, studies by McCarthy R, 2019 using human placenta and ovarian tissue report melatonin-synthesizing enzymes capable of converting ST to MT. Such non-pineal sources are not regulated by light and therefore do not show circadian fluctuations. However, no systematic evaluation of the metabolism of endogenous circulating MT during the course of pregnancy and identification of the placenta as a source of MT during pregnancy has been reported [26].

Low production of MT in the pineal gland may lead to spontaneous abortion in cases where uterine abnormalities and/or chromosomal abnormalities have been excluded. Recurrent pregnancy loss is thought to be associated with oxidative damage and immunologic imbalance; in this context, MT acts as a direct potent free radical scavenger with immunomodulatory effects. In addition, MT stimulates progesterone secretion and inhibits the synthesis of prostaglandins, which are potent inducers of miscarriage and preterm labor [13, 14, 15].

MT has an effect on inducing and blocking apoptosis of the villous cytotrophoblast, promotes the development of syncytiotrophoblast through paracrine, autocrine and/or intracrine action of MT1 and MT2 receptors in the placenta [16, 17, 18], which are used by the placenta to maintain the balance between villous cytotrophoblast and syncytiotrophoblast. This is how the placenta develops normally. The fusion of villous cytotrophoblasts forms a syncytiotrophoblast through a regulated MT process [19].

In addition, placental MT interacts with MT1 and MT2 receptors and reactive oxygen species to reduce oxidative damage to the placenta. Because MT protects the placenta from antioxidant effects, it has been recognized as a regulator of placental homeostasis [20]. In the first

trimester of pregnancy, the MT1 receptor is more important in promoting synchronization of the villous cytotrophoblast by protecting trophoblastic cells from oxidative damage and promoting apoptosis in altered cells [21].

The involvement of ST in pregnancy is not well understood. ST is a phylogenetically ancient neurotransmitter that is widely distributed in key brain regions and influences emotional state, impulsivity, learning and memory, attention, sleep, aggression, and neurovegetative control [22]. It is also found in enterochromaffin cells of the intestine – apodocytes, a set of which is a special endocrine organ belonging to the APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) system, blood platelets, mast cells of connective tissue, bronchial epithelium, ovaries, thyroid cells, which also belong to the APUD system [23]. It is believed that the threat of miscarriage increases the number of ST, which may lead to the induction of habitual abortions [24].

The evidence base for the effectiveness of MT and ST is currently being formed, however, an analysis of the frequency of positive pregnancy in patients showed a significant impact on the course of pregnancy and childbirth, the presence of complications in the case of synthesis disorders [25, 26]. Compliance with sleep and rest regimens also contributes to a positive effect.

**The aim of this study** was to assess the functional state of the gonads, in particular the amount of MT and ST in the blood of pregnant women at 10-12 weeks' gestation with threatened abortion, manifested by bloody discharge or formation of retrochorionic hematoma (RCH), and the outcome of pregnancy.

**Materials and methods.** To achieve this goal, we formed two groups: I Main Group (MG) – 40 pregnant women with signs of threatened abortion, especially the presence of bloody discharge or RHG, II Control Group (CG) – 44 pregnant women without complications in the first trimester of pregnancy. As known from the studies of De Almeida Chuffa et al. 2019, the main functions of MT, such as decidualization and implantation, are important, which makes this period crucial for the normal development of pregnancy, so the results can be used to predict the further course of pregnancy and birth outcomes [7]. The two groups are representative in terms of age, lifestyle, and obstetric and gynecologic history.

In the course of the study, we used a general clinical examination (clarification of complaints, anamnesis, general somatic medical examination), obstetric examination, special research methods to determine the number of MT, ST, ultrasound to determine the condition of the fetus, the size of the RCH. Chorionic gonadotropin (hCG) measurement to determine the functional state of the chorion.

Preparation of patients to determine the amount of MT, ST, hCG according to the general rules. Time of sampling: 8.00-9.00 a.m., material: blood serum.

Melatonin and serotonin ELISA kits are designed for determination of MT and ST levels in blood of pregnant women. The principle of analysis is based on enzyme-linked immunosorbent assay.

Determination of free beta-hCG is part of prenatal screening in the first trimester at 10-12 weeks of gestation, calculated by PRISCA or ASTRAIA programs. It is used for early confirmation of pregnancy and dynamic monitoring of its course, assessment of the risk of fetal anomalies and complicated pregnancy.

Considering that the determination of hCG, MT and ST in CG was performed at 10-12 weeks of pregnancy during the first prenatal screening, the results of the study were compared for data reliability with similar indicators of 23 pregnant women in MG who presented with complaints at 10-12 weeks of pregnancy.

Statistical analysis was performed using generally accepted methods of variance statistics. Reliability was assessed using Student's t-test. Differences were considered significant at a significance level of  $p \leq 0.05$ . Correlation analysis was also performed in Microsoft Excel, using the method of squares (Pearson's method) to determine the correlation coefficient.

Informed consent of pregnant women was obtained with adequate explanation of the purpose, objectives, methods and scope of laboratory and instrumental research methods.

The study protocol was approved by the Commission on Biomedical Ethics of the Bukovinian State Medical University, 2015 (minutes of the Commission meeting No 2 from the 19.10.2023 year). The study was conducted in accordance with the basic provisions of GCP (1996), the Convention of the Council of Europe on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997), the Declaration of

Helsinki of the World Medical Association for the Ethical Principles of Scientific Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), the Order of the Ministry of Health of Ukraine 690 of September 23, 2009 (as amended by the Order of the Ministry of Health of Ukraine 523 of July 12, 2012). The work is a fragment of the research work «Prevention, diagnostics and treatment of perinatal and reproductive disorders of women and adolescent girls» (No. 201110H, state registration number 0111U006499).

**Results of the study and their discussion.** Determination of MT, ST was performed in pregnant from MG and CG. To determine the functional state of chorion, hCG was evaluated.

According to the studies of Ejaz, 2020 [9], placental synthesis of MT was established, so it is obvious that in case of impaired blood supply to the chorion, the level of hormones formed in it should decrease. However, the results obtained were somewhat different, indicating the possibility of compensatory extraplacental synthesis of MT.

The results of pregnancy and childbirth in both groups are not encouraging: we considered the CG as a group of healthy pregnant women whose first trimester of pregnancy was uneventful, but the results of further pregnancy and childbirth did not differ significantly between groups. In this regard, we formed subgroups according to the subsequent normal course of pregnancy and childbirth and the complicated course of pregnancy and childbirth. The complications are shown in Table 1.

**Table 1**

**The results of pregnancy and childbirth**

|   | Main Group (n=23) | Control Group (n=44)   |
|---|-------------------|--|
| Normal delivery                             | 9 (39,13 %)       | 21 (47,72 %)   |
| Premature rupture of the membranes          | 3 (13,04 %)       | 4 (9,09 %)   |
| Abnormalities of labor activity             | 2 (8,7 %)         | 7 (15,91 %)  |
| Polyhydramnios                              | 1 (4,35 %)        | 1 (2,27 %)   |
| Preterm labor                               | 1 (4,35 %)        | 3 (6,82 %)   |
| Premature detachment of the normal placenta | 1 (4,35 %)        | 2 (4,55 %)<br>(MT level was significantly reduced in one case) |
| Placental dysfunction                       | 3 (13,04 %)       | -  |
| Fetal growth retardation syndrome           | 1 (4,35 %)        | -  |
| Childbirth Distress                         | 1 (4,35 %)        | 4 (9,09 %)   |
| Gestosis                                    | 1 (4,35 %)        | 1 (2,27 %)   |

From the results obtained, it can be concluded that there is a slight difference in the number of complications between the two groups, except for placental dysfunction and fetal growth retardation syndrome, which were found only in MG, and gestosis, which was found twice as often in MG. However, obstructed labor and abnormal uterine activity were twice as common in CG. Thus, complications related to placental function were observed in MG, confirming the results of our study on the effect of MT on chorionic and placental development.

Pregnancy and delivery were completed by cesarean section in 12 cases of CG (27.3 %), half of which were emergency cesarean sections (50 %). The situation is similar in MG: 12 cases of cesarean section (30 %), but one case of

emergency cesarean section (8.3 %). The main indications for cesarean section in both groups were uterine scarring, abnormal uterine contractions that could not be corrected by medication, and breech presentation. In both groups, cesarean section was performed with premature abruption of the normally positioned placenta. There were no significant differences in the number or outcome of operative deliveries.

As a result of the study, it was found that the level of MT and ST depends on the size of the RCH, so we calculated the PG hormones depending on the size of the RCH – up to 1 cm and more than 1 cm (Table 2).

To determine the reliability of the indicators, the results were compared with the CG, where pregnancy and delivery were normal.



According to the results obtained, the presence of RCH up to 1 cm was found to be three times more frequent, while the level of MT was not significantly lower compared to CG ( $p > 0.05$ ), but in the case of RCH over 1 cm and dangerous for the embryo, a significant decrease was observed in the

case of further normal pregnancy and delivery. With further pregnancy complications, a significant decrease in MT was observed for RCH up to 1 cm ( $p < 0.001$ ), in contrast to RCH over 1 cm, where no significant difference was found for complicated pregnancies ( $p > 0.05$ ).

Table 2

**Comparative characteristics of melatonin (pg/ml) and serotonin (ng/ml) in the main and control groups with different sizes of retrochorionic hematoma in normal and complicated pregnancy and delivery**

|           | CG (n=44: -21 with normal course, -23 with complicated course) | MG RCH up to 1 cm (n=17: -6 with normal course, -11 with complicated course) | MG RCH over 1 cm (n=6: -3 with normal course, -3 with complicated course) |
|-----------|--|--|---|
| Melatonin | -124,9 ± 15,84<br>-123,7 ± 14,29                               | -82,99 ± 27,52<br>-68,7 ± 7,1**  | -86,35 ± 7,55*<br>-101,6 ± 33,32  |
| Serotonin | -354,48 ± 61,57<br>-654 ± 138,57*                              | -537,13 ± 168,76<br>-690,03 ± 105,2**  | -783,89 ± 160,93**<br>-622,17 ± 147,65*                                   |

Note^ \* $p < 0,05$  \*\* $p < 0,001$

In his study, McCarthy, 2019, argues that just as placental MT can cross into maternal blood, maternal plasma MT can cross into the placenta unchanged. In the placenta, MT is thought to protect the mononuclear villous cytotrophoblasts from apoptosis, allowing them to continuously regenerate and fuse with the syncytiotrophoblast layer, keeping it healthy. This layer is in direct contact with the mother's blood and ensures the exchange of gases, nutrients and wastes. One possible explanation for the initial decrease in serum melatonin levels in the first trimester is that placental mitochondria and polymorphonuclear leukocytes generate large amounts of superoxide free radicals, which may lead to a temporary decrease in maternal serum melatonin levels to protect developing tissues from oxidative stress [22]. The results of our study partially confirmed the data of

the study – in MG with RCH up to 1 cm with subsequent complicated pregnancy and delivery, the level of MT is significantly reduced, so the next task of our study was to determine ST, which is an intermediate hormone for the synthesis of MT.

The amount of ST, in contrast to melatonin, is increased in all subgroups, despite the fact that ST is an intermediate hormone in the synthesis of MT, so we determined the correlation in the subgroups. An almost twofold increase in ST in MG compared to CG, where pregnancy and labor were uncomplicated, was observed both at RCH over 1 cm and at RCH less than 1 cm. An increase in ST was also observed in CG where pregnancy and labor were complicated. The results of the correlation analysis are presented in Table 3.

Table 3

**Results of correlation analysis of melatonin (pg/ml) and serotonin (ng/ml) in the main and control groups with different sizes of retrochorionic hematoma in normal and complicated pregnancy and delivery**

|                                      | CG        | MG RCH up to 1 cm | MG RCH over 1 cm |
|--------------------------------------|-----------|-------------------|------------------|
| With normal course of pregnancy      | R = -0,14 | R = -0,05         | R = 0,97         |
| With complicated course of pregnancy | R = 0,39  | R = -0,3          | R = 0,77         |

Positive correlations were found in CG with complicated course of second half of pregnancy, delivery and strong positive correlations in case of RCH over 1 cm, regardless of further course of pregnancy. Therefore, we can conclude that MT synthesis in the CNS is impaired. Our opinion is confirmed by the results of hCG, which in pregnant women from MG was  $53.63 \pm 2.56$  ng/ml and in CG –  $45.85 \pm 3.71$  ng/ml. Thus, no significant difference was found ( $p=0.05$ ) despite the presence of RCH. Also, no significant difference was found in the subsequent normal and complicated course of pregnancy.

Normal hCG levels may be evidence of chorionic function and pregnancy maintenance despite a significant decrease in MT. A significant increase in the level of ST and an insufficient level of MT may indicate a disturbance in the synthesis of MT of central genesis, while an increase in MT at an RCH over 1 cm may be

due to an increase in synthesis in the CNS as a stress response to compensate and normalize the fetal state in extreme conditions of blood supply disruption for further pregnancy development. The results obtained are important for the development of recommendations for the observance of sleep and rest regimens for the full formation of MT in the CNS.

### Conclusions.

1. In the case of threatened abortion in the first trimester with the formation of retrochorionic hematoma, the risk of complicated pregnancy remains in 60.87 % of cases.

2. Determination of pineal hormones revealed a significant increase in serotonin with a simultaneous significant decrease in melatonin with a positive relationship between the hormones, indicating a disorder

of melatonin synthesis in the central nervous system. This is confirmed by the normal level of chorionic gonadotropin and the preservation of embryonic viability.

3. Since the formation of hormones in the pineal gland has been found to be impaired, adherence to the recommendations for adequate rest can positively influence the subsequent outcome of pregnancy and childbirth.

## References:

- Hobson SR, Gurusinge S, Lim R, Alers NO, Miller SL, Kingdom JC, et al. Melatonin improves endothelial function in vitro and prolongs pregnancy in women with early-onset preeclampsia. *J Pineal Res* [Internet]. 2018[cited 2023 Nov 11];65(3): e12508. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpi.12508> doi: 10.1111/jpi.12508
- Dou Y, Lin B, Cheng H, Wang C, Zhao M, Zhang J, et al. The reduction of melatonin levels is associated with the development of preeclampsia: a meta-analysis. *Hypertens Pregnancy*. 2019;38(2):65-72. doi: 10.1080/10641955.2019.1581215
- Chuffa LGA, Lupi LA, Cuciolo MS, Silveira HS, Reiter RJ, Seiva FRF. Melatonin Promotes Uterine and Placental Health: Potential Molecular Mechanisms. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];21(1):300. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/1/300> doi: 10.3390/ijms21010300
- Huang B, Wang YK, Qin LY, Wei Q, Liu N, Jiang M, et al. A functional polymorphism rs10830963 in melatonin receptor 1B associated with the risk of gestational diabetes mellitus. *Biosci Rep* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];39(12): BSR20190744. Available from: <https://portlandpress.com/bioscirep/article-pdf/39/12/BSR20190744/864294/bsr-2019-0744.pdf> doi: 10.1042/BSR20190744
- Lim AJR, Indran IR, Kramer MS, Yong EL. Phenotypic spectrum of polycystic ovary syndrome and their relationship to the circadian biomarkers, melatonin and cortisol. *Endocrinol Diabetes Metab* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];2(3): e00047. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/edm2.47> doi: 10.1002/edm2.47
- Cox B, Tsamou M, Vrijens K, Neven KY, Winckelmans E, de Kok TM, et al. A Co-expression Analysis of the Placental Transcriptome in Association With Maternal Pre-pregnancy BMI and Newborn Birth Weight. *Front Genet* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];10:354. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2019.00354/full> doi: 10.3389/fgene.2019.00354
- Bae H, Yang C, Lee JY, Park S, Bazer FW, Song G, Lim W. Melatonin improves uterine-conceptus interaction via regulation of SIRT1 during early pregnancy. *J Pineal Res* [Internet]. 2020[cited 2023 Nov 11];69(2): e12670. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jpi.12670> doi: 10.1111/jpi.12670
- Gomes PRL, Motta-Teixeira LC, Gallo CC, Carmo Buonfiglio DD, Camargo LS, Quintela T, et al. Maternal pineal melatonin in gestation and lactation physiology, and in fetal development and programming. *Gen Comp Endocrinol* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 11];300:113633. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648020303865?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113633
- Ejaz H, Figaro JK, Woolner AMF, Thottakam BMV, Galley HF. Maternal Serum Melatonin Increases During Pregnancy and Falls Immediately After Delivery Implicating the Placenta as a Major Source of Melatonin. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 11];11:623038. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.623038/full> doi: 10.3389/fendo.2020.623038
- Wilkinson D, Shepherd E, Wallace EM. Melatonin for women in pregnancy for neuroprotection of the fetus. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2016[cited 2023 Nov 11];3(3): CD010527. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD010527.pub2/full> doi: 10.1002/14651858.CD010527.pub2
- Langston-Cox A, Marshall SA, Lu D, Palmer KR, Wallace EM. Melatonin for the Management of Preeclampsia: A Review. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 11];10(3):376. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/3/376> doi: 10.3390/antiox10030376
- Lee JY, Li S, Shin NE, Na Q, Dong J, Jia B, et al. Melatonin for prevention of placental malperfusion and fetal compromise associated with intrauterine inflammation-induced oxidative stress in a mouse model. *J Pineal Res* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];67(3): e12591. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jpi.12591> doi: 10.1111/jpi.12591
- Ma Q, Reiter RJ, Chen Y. Role of melatonin in controlling angiogenesis under physiological and pathological conditions. *Angiogenesis*. 2020;23(2):91-104. doi: 10.1007/s10456-019-09689-7
- Nagasawa Y, Nanami M, Kuragano T, Ishihara M. Melatonin and gestational hypertension. *Hypertens Res*. 2021;44(11):1540-2. doi: 10.1038/s41440-021-00722-1
- Sun Y, Wang C, Zhang N, Liu F. Melatonin ameliorates hypertension in hypertensive pregnant mice and suppresses the hypertension-induced decrease in Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in uterine arteries. *Hypertens Res*. 2021;44(9):1079-86. doi: 10.1038/s41440-021-00675-5
- Thakor AS, Herrera EA, Serón-Ferré M, Giussani DA. Melatonin and vitamin C increase umbilical blood flow via nitric oxide-dependent mechanisms. *J Pineal Res*. 2010;49(4):399-406. doi: 10.1111/j.1600-079X.2010.00813.x
- Tordjman S, Chokron S, Delorme R, Charrier A, Bellissant E, Jaafari N, et al. Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Curr Neuropharmacol*. 2017;15(3):434-43. doi: 10.2174/1570159X14666161228122115
- Mokhtari F, Akbari Asbagh F, Azmoodeh O, Bakhtiyari M, Almasi-Hashiani A. Effects of Melatonin Administration on Chemical Pregnancy Rates of Polycystic Ovary Syndrome Patients Undergoing Intrauterine Insemination: A Randomized Clinical Trial. *Int J Fertil Steril*. 2019;13(3):225-9. doi: 10.22074/ijfs.2019.5717
- Magnus MC, Wilcox AJ, Morken NH, Weinberg CR, Håberg SE. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study. *BMJ* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];364: 1869. Available from: <https://www.bmj.com/content/364/bmj.1869.long> doi: 10.1136/bmj.1869
- Fernando S, Wallace EM, Vollenhoven B, Lolatgis N, Hope N, Wong M, et al. Melatonin in Assisted Reproductive Technology: A Pilot Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018[cited 2023 Nov 11];9:545. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00545/full> doi: 10.3389/fendo.2018.00545
- Hsu CN, Huang LT, Tain YL. Perinatal Use of Melatonin for Offspring Health: Focus on Cardiovascular and Neurological Diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];20(22):5681. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/22/5681> doi: 10.3390/ijms20225681

**Prospects for further research.** Translating research into practice.

**Conflicts of interest.** The authors declare no competing interests.

**Funding sources.** The article was published without financial support.

22. McCarthy R, Jungheim ES, Fay JC, Bates K, Herzog ED, England SK. Riding the Rhythm of Melatonin Through Pregnancy to Deliver on Time. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];10:616. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2019.00616/full> doi: 10.3389/fendo.2019.00616
23. Mathiesen L, Bay-Richter C, Wegener G, Liebenberg N, Knudsen LE. Maternal stress and placental function; ex vivo placental perfusion studying cortisol, cortisone, tryptophan and serotonin. *PLoS One* [Internet]. 2020[cited 2023 Nov 11];15(6): e0233979. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0233979> doi: 10.1371/journal.pone.0233979
24. Khan HL, Bhatti S, Abbas S, Kaloglu C, Qurat-Ul-Ain Zahra S, Khan YL, et al. Melatonin levels and microRNA (miRNA) relative expression profile in the follicular ambient microenvironment in patients undergoing in vitro fertilization process. *J Assist Reprod Genet.* 2021;38(2):443-59. doi: 10.1007/s10815-020-02010-2
25. Lee JY, Song H, Dash O, Park M, Shin NE, McLane MW, et al. Administration of melatonin for prevention of preterm birth and fetal brain injury associated with premature birth in a mouse model. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 11];82(3): e13151. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aji.13151> doi: 10.1111/aji.13151
26. Laste G, Silva AAD, Gheno BR, Rychcik PM. Relationship between melatonin and high-risk pregnancy: A review of investigations published between the years 2010 and 2020. *Chronobiol Int.* 2021;38(2):168-81. doi: 10.1080/07420528.2020.1863975

## ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ШИШКОВИДНОГО ТІЛА У ЖІНОК ІЗ ЗАГРОЗЛИВИМ АБОРТОМ В ПЕРШОМУ ТРИМЕСТРІ – ПОДАЛЬШІ ПЕРСПЕКТИВИ ВАГІТНОСТІ

*А. В. Пушкашу*

Буковинський державний медичний університет  
(м. Чернівці, Україна)

### Резюме.

Мелатонін є важливим гормоном, який забезпечує нормальний розвиток вагітності, однак вплив серотоніну при цьому залишається недостатньо вивченим. Низька продукція мелатоніну може спричинити розвиток спонтанного абортів, так як він стимулює секрецію прогестерону та пригнічує синтез простагландинів. Мелатонін має вплив на індукцію та блокування апоптозу ворсинчастого цитотрофобласта, сприяє розвитку синцитіотрофобласту. Аналіз частоти позитивного перебігу вагітності показав суттєве значення впливу на перебіг вагітності та пологів, дотримання режиму сну та відпочинку також сприяють позитивному ефекту, проте загальної концепції, не існує, що робить тему актуальною.

**Мета дослідження.** Оцінити функціональний стан шишковидного тіла, зокрема кількість мелатоніну та серотоніну у крові вагітних у терміні 10-12 тижнів вагітності із загрозою переривання вагітності, яка проявлялася кров'янистими виділеннями чи формуванням ретрохоріальної гематоми та наслідки вагітності.

**Матеріали та методи.** Сформовано дві групи: I основна – 40 вагітних з загрозою переривання вагітності та формуванням ретрохоріальної гематоми, II контрольна – 44 здорових вагітних. Проведено акушерське дослідження, імуноферментне для визначення мелатоніну, серотоніну, хоріонічного гонадотропіну, УЗД.

Передбачено інформаційну згоду вагітних при відповідному роз'ясненні мети, завдань, методів та обсягу лабораторних та інструментальних методів дослідження.

Протокол дослідження схвалено Комісією з питань біомедичної етики Буковинського державного медичного університету, 2015 (протокол засідання комісії № 2 від 19.10.2023 року).

Дослідження виконувалися із дотриманням основних положень GCP (1996 рік), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 4 квітня 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2008 рр.), наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 523 від 12.07.2012).

Статистичний аналіз виконували за загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Достовірність оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Відмінності визнавали істотними при рівні значимості  $p \leq 0,05$ . Нами проведено також кореляційний аналіз системи Microsoft Excel, для визначення коефіцієнта кореляції застосували метод квадратів (метод Пірсона).

Робота є фрагментом НДР кафедри акушерства та гінекології, УДК 618.1-053.34 + 618.1-0536/.8]–07-084-08 «Профілактика, діагностика та лікування розладів перинатального періоду та репродуктивної системи жінок і дівчат-підлітків» (№ 201110Н, номер державної реєстрації 0111U006499. Термін виконання 02.2011-12.2015).

**Результати дослідження.** Згідно отриманих результатів ретрохоріальна гематома до 1 см виявляється втричі частіше, ніж більше 1 см, при цьому рівень мелатоніну не є достовірно нижчий, однак при ретрохоріальній гематомі, яка більше 1 см спостерігається достовірно зниження у випадках подальшого нормального перебігу вагітності та пологів. При подальшому ускладненому перебігу вагітності при ретрохоріальній гематомі до 1 см спостерігається значно виражене достовірно зниження мелатоніну ( $p < 0,001$ ), на відміну від ретрохоріальної гематоми більше 1 см, де при ускладненому перебігу вагітності не виявлено достовірної різниці ( $p > 0,05$ ). Кількість серотоніну є підвищеною у всіх підгрупах, незалежно від розмірів гематоми та подальшого перебігу вагітності.

**Висновки.** У випадку загрози переривання вагітності у першому триместрі з утворенням ретрохоріальної гематоми у подальшому зберігаються ризики ускладненого перебігу вагітності у 60,87 % випадків. При визначенні гормонів шишковидного тіла встановлено наявність достовірного збільшення серотоніну з одночасним достовірним зниженням мелатоніну зі збереженням позитивного взаємозв'язку між гормонами, що свідчить про порушення синтезу мелатоніну у ЦНС. Підтвердженням є нормальний рівень хоріонічного гонадотропіну та збереження життєздатності ембріонів. Оскільки встановлено порушення утворення гормонів у шишковидному тілі, дотримання рекомендацій щодо повноцінного відпочинку може позитивно вплинути на подальші результати вагітності та пологів.

**Ключові слова:** мелатонін; серотонін; ретрохоріальна гематома; загроза переривання вагітності.

**Contact Information:**

**Anastasiia Pushkashu** –postgraduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**Contact Address:** Teatralna Square, 2, Chernivtsi, 58000, Ukraine.

**Contact Phone:** +380509148333

**e-mail:** anastasiia.pushkashu@gmail.com

**Відомості про автора:**

**Пушкашу Анастасія Василівна** – аспірант кафедри акушерства та гінекології, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна).

**Контактна адреса:** площа Театральна, 2, м. Чернівці, 58002, Україна.

**Контактний телефон:** +380509148333

**e-mail:** anastasiia.pushkashu@gmail.com



Received for editorial office on 23/07/2023

Signed for printing on 10/10/2023

UDC: 611.714/716.068.013

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.18

## PECULIARITIES OF THE IDENTIFICATION OF DIFFERENT TYPES OF TISSUES DURING 3D-RECONSTRUCTION OF HUMAN MICROSCOPIC STRUCTURES

**R. R. Dmytrenko, O. A. Koval,  
L. A. Andrushchak, I. S. Makarchuk,  
O. V. Tsyhykalo**

Bukovinian State Medical University  
(Chernivtsi, Ukraine)

### Summary

*3D reconstruction is an informative, objective method of morphological research that consists in transforming a series of successive sections (histological, macroscopic, anatomical sections, computed tomography (CT), etc.) into a virtual three-dimensional (digital) image that can be studied in different projections and measure volumes, areas, diameters, angles, save, copy, edit.*

**The aim of the study.** *The aim of this work was to compare the effectiveness of 3D reconstruction methods of various tissues and microscopic anatomical structures of the human body in the prenatal period of development.*

**Material and methods.** *The research was carried out on 6 series of consecutive histological sections of human embryos at the age of 4 to 6 weeks of intrauterine development (IUD), 15 samples of organ complexes of the head, limbs and trunk of human fetuses at the age of 7 to 12 weeks of IUD, human fetuses aged 4-9 months of IUD by the method of making histological (5), as well as histotopographic sections (10) directly from the paraffin block and their digitization, and 14 CT of human fetuses aged 4 to 9 months of IUD.*

*The studies were conducted in accordance with the most important regulations of the resolution of the First National Bioethics Congress «General Ethical Principles of Experiments on Animals» (2001), ICH GCP (1996), the European Union Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used in Experimental and Other Scientific Research (March 18, 1986). 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (18.03.1986), the Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), EU Directives № 609 (24.11.1986), Orders of the Ministry of Health of Ukraine № 690 dated 23.09.2009, № 944 dated 14.12.2009, № 616 dated 03.08.2012.*

*The work is carried out within the framework of the initiative research work of the Department of Histology, Cytology and Embryology of the Bukovinian State Medical University «Structural and functional peculiarities of tissues and organs in ontogenesis, regularities of variant, constitutional, gender, age and comparative human morphology». State registration number: 0121U110121. Terms of execution: 01.2021-12.2025.*

**Results.** *3D reconstruction of series of consecutive histological sections is effective for the study of embryonic specimens, organ complexes of prefetuses and certain microscopic structures of human fetuses due to easy identification of histological structures, however, it is necessary to improve the methods of alignment of histological sections both in the correct sequence of the series and in the natural position. 3D reconstruction of histotopographic sections is recommended for the study of specimens of organ complexes of human prefetuses and fetuses. 3D reconstruction of CT sections is an effective and highly accurate tool for the study of X-ray contrast anatomical structures in the fetal period of IUD (bone tissue, contrasting blood vessels), allows using a certain research algorithm to detect and measure ossification centers and syntopy of blood vessels with bones.*

**Conclusions.** *For wide application in morphology, the method of 3D reconstruction requires technical improvement of the software-hardware complex for reconstruction, namely: automation of segmentation of sections, as well as improvement of methods of polychrome marking of anatomical structures for their clear differentiation.*

**Key words:** *3D Reconstruction; Bone Tissue Research; Human Prenatal Development; Human Fetuses.*

### Introduction

Three-dimensional (3D) computer reconstruction of anatomical structures has become a classic method of morphological research in recent decades [1-3]. The method is used to reproduce and study the shape of rather small structures in cases where the specimen is ineffective or impossible due to the small size of the structures or their close syntopy [4]. Before the advent of computer technologies for image acquisition and processing, anatomists used graphic and three-dimensional (plastic or wax) reconstructions [5]. The first known reconstructions of microscopic anatomical structures were made by the scientist Born G. (1876, 1893) from serial histological sections. Further improvement of the reconstruction technique by Gaupp E. (1893); Turkevich M. G. (1967), Kuhn H.-J. (1971) included

graphic reconstruction in the complex of morphological research methods [6, 7].

It is known that the first 3D computer reconstruction was performed in 1984 due to the development of computer technologies [8, 9]. Since then, anatomists, histologists, topographical anatomists, embryologists have included it in the complex of morphological research methods as a rather informative and objective method [10, 11]. In addition, this technology corresponds to the main principles of modern diagnostic medical imaging, therefore it contributes to the improvement of interpretation of non-invasive diagnostic methods [12].

Thus, 3D reconstruction is an informative, objective method of morphological research, which consists in transforming a series of successive sections (histological, macroscopic, anatomical sections, CT, etc.) into a virtual

three-dimensional (digital) image that can be studied in different projections and measure volume, area, diameter, angles, save, copy, edit [13]. Therefore, the reconstruction is the basis for creating educational visual materials, modeling anatomical variants, the course of the pathological process, age-related changes, organ movements, etc. [14, 15].

Modern medical diagnostic imaging techniques (CT, MRI, USD) are based on obtaining a 3D image from a series of successive «virtual» slices, which of course do not involve tissue destruction. Their interpretation requires exhaustive knowledge of the real anatomical structure, especially for objective monitoring of intrauterine development (IUD) [16, 17].

3D reconstruction of microscopic structures is a valuable method for morphological studies of the early period of human and animal ontogeny [18, 19, 20]. The microscopic size of fetal organs and structures compared to an adult organism provides the technical possibility to embed them in a single paraffin block and reconstruct them from serial sections in anatomical continuity for the study of form and syntopy. Such a research method is technically extremely difficult to carry out on an adult organism, since the same organ complex as that taken from a fetus, in which all variants of structure and topography of the structures have already been determined by the 4<sup>th</sup> month of development, has much larger dimensions, which makes the study of syntopy impossible.

**The aim of the study.** The aim of this paper was to compare the effectiveness of 3D reconstruction methods of various tissues and microscopic anatomical structures of the human body in the prenatal period of development.

### Material and methods

The research was conducted on 6 series of consecutive histological sections of human embryos aged 4 to 6 weeks of IUD, 15 samples of organ complexes of the head, limbs and trunk of human prefetuses aged 7 to 12 weeks of IUD, human fetuses aged 4 to 9 months of IUD by the method of making histological (5), as well as histotopographic sections (10) directly from the paraffin block and their digitization, and 14 CT of human fetuses aged 4 to 9 months of IUD.

Histological specimens of human embryos were stained with hematoxylin and eosin, digitized using a photographic device consisting of a microscope MBR-1 with a lens Will Wetzlar 4/0.10, adapter M42-M4/3, digital camera Olympus PEN E-Pl 1. The surface of sections of paraffin blocks with embedded specimens of human prefetuses was photographed using the camera Canon G7, macro lens (Industar-100U 4/110), fixed on the feed mechanism of the microtome object holder. Digital photographs of histologic specimens, oriented in the natural position, were compared using a graphic editor. Long structures such as the rudiment of the spinal column, major blood vessels and the largest organs (stomach, liver, heart, etc.) were used as landmarks. Segmentation and rendering of virtual 3D reconstructions from both digital photomicrographs and DICOM CT files were performed using 3D-Doctor software (Able Software Corp.).

The studies were conducted in accordance with the most important regulations of the resolution of the First National Bioethics Congress «General Ethical Principles of Experiments on Animals» (2001), ICH GCP (1996), the European Union Convention on Human Rights and Biomedicine (April 4, 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used in Experimental and Other Scientific Research (March 18, 1986). 1997) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (18.03.1986), the Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects (1964-2008), EU Directives № 609 (24.11.1986), Orders of the Ministry of Health of Ukraine № 690 dated 23.09.2009, № 944 dated 14.12.2009, № 616 dated 03.08.2012.

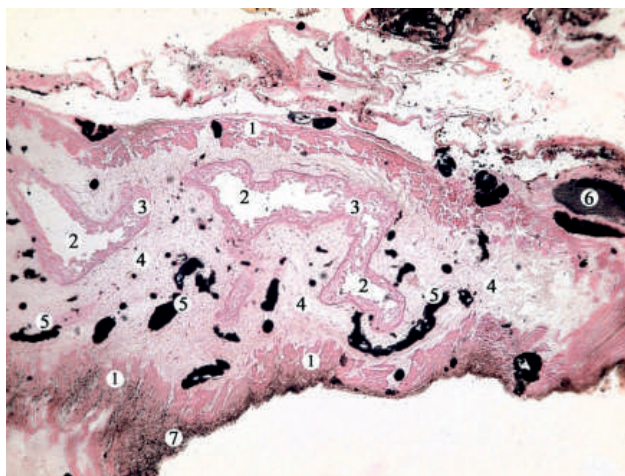
The work is carried out within the framework of the initiative research work of the Department of Histology, Cytology and Embryology of the Bukovinian State Medical University «Structural and functional peculiarities of tissues and organs in ontogenesis, regularities of variant, constitutional, gender, age and comparative human morphology». State registration number: 0121U110121. Terms of execution: 01.2021-12.2025.

### Results and their discussion

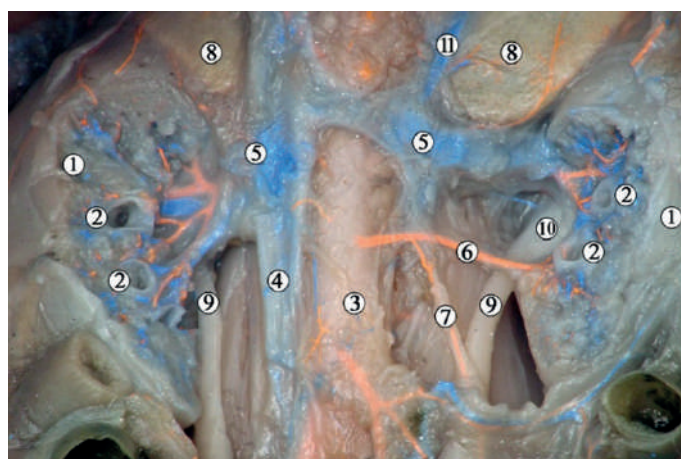
According to the technology of obtaining and preparing digital images of a series of consecutive sections, which are loaded into the software for further stages of creating a 3D reconstruction, we divided the material into three groups: 1) microphotographs of a series of consecutive histological sections; 2) a series of microphotographs of the surface of the paraffin block; 3) DICOM CT files of fetuses.

The stages of 3D reconstruction from serial histological sections are as follows: 1) specimen preparation (injection of blood vessels, tubular and hollow organs, placement of landmarks); 2) obtaining a series of consecutive sections (microtomy); 3) digitization of sections (photography); 4) alignment of images of histological sections of a series in natural anatomical position; 5) selection of sections for reconstruction by area, number and step; 6) calibration of the morphometric block of the reconstruction software; 7) segmentation (manual delineation of the contours of the anatomical structures under study); 8) rendering (construction of a reconstruction model using information about the volume or contours of the object); 9) study, morphometry and animation of the reconstruction model for demonstration.

**Creating of 3D-reconstruction from a series of consecutive histological sections.** The undeniable advantage of using histological specimens for 3D reconstruction is their high level of information and detail, which allows easy identification of various tissues and organs according to their classical description and appearance given in histological, cytological and embryological atlases. For differentiation of blood vessels, injection of blood vessels and hollow organs with polychrome and X-ray contrast compositions was used (Fig. 1). This technique can be used for histological examination of organ complexes of human fetuses from the 4<sup>th</sup> month of gestation (Fig. 2).



**Fig. 1. Longitudinal section of the cystic duct of a 5-month-old human fetus (235,0 mm PCL). Injection of the venous system with a red lead. Hematoxylin-eosin. Photomicrograph. 40x: 1 – muscular membrane; 2 – lumen; 3 – mucous membrane; 4 – submucous membrane; 5 – venous plexus; 6 – branch of the gallbladder vein**



**Fig. 2. Organs of the retroperitoneal space of a 6-month-old human fetus (180.0 mm PCL). Polychrome injection of blood vessels. Photo of macrospecimen. 2x: 1 – kidneys; 2 – major calices; 3 – abdominal aorta; 4 – inferior vena cava; 5 – renal veins; 6 – aberrant left inferior renal artery; 7 – left ovarian artery; 8 – adrenal glands; 9 – ureters; 10 – left renal pelvis; 11 – left adrenal vein**

Among the anatomical structures of human embryos and fetuses, during their segmentation, epithelial layers, skeletal muscles and heart, cartilaginous tissues and ossification centers, glands, blood vessels, nervous tissues, hollow and parenchymal organs, mesenchymal layers are identified. This makes it possible to obtain detailed 3D reconstructions for studying the peculiarities of the microscopic structure of organ complexes during IUD (Fig. 3).

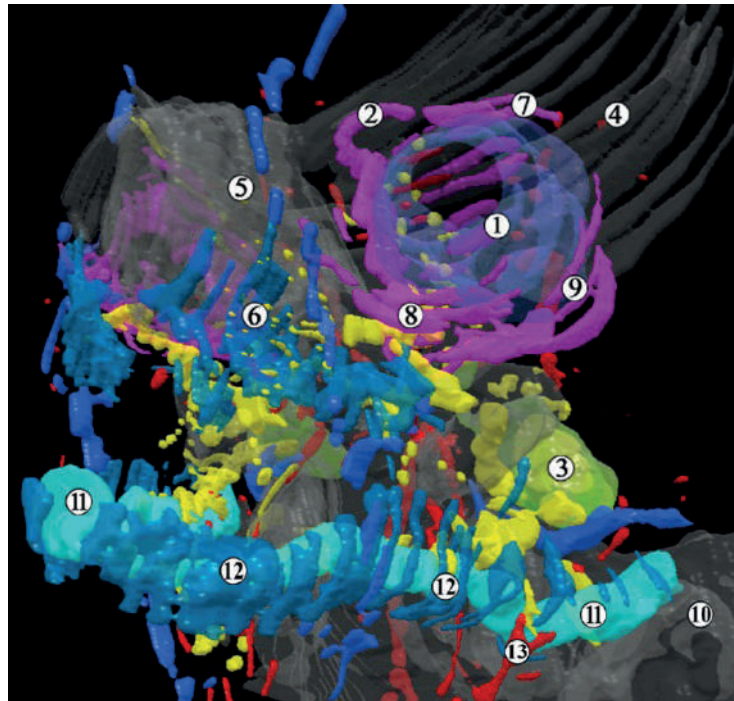
The quality of reconstructions from a series of histologic sections depends on a number of factors: 1) tissue changes during preservation, fixation, dehydration, clarification, and paraffin embedding; 2) tissue distortion due to microtomy (usually the histological section is shortened in the direction of movement of the microtome blade, which is partially or completely eliminated by straightening the sections in a water bath); 3) the accuracy of forming a series in the correct sequence of sections; 4) the accuracy of aligning (matching) the sections in their natural orientation; 5) the quality of surface generation,

which depends on the accuracy of manual outlining of anatomical structures.

The histologic examination of preparations of human fetuses and organocomplexes has certain technological limitations that are characteristic of classical histotechnique: 1) the maximum size of a paraffin block with an embedded organocomplex should not exceed 15-20 mm in width or length due to difficulties with microtomy and obtaining low quality sections; 2) a longer flotation of sections in a water bath is required for their complete alignment and to avoid deformation that occurs during microtomy; 3) automation of staining of histological sections is necessary due to their large number, i.e. it is necessary to use a stainer or cassettes for 10-20 slides; 4) possible errors in marking or in the correct sequence of placing the sections on the slides, which leads to distortions of the 3D reconstruction model, distortions in the form of a step effect can also be caused by the displacement of the specimen holder during the restart of its feeding mechanism; 5) industrial microscopes with built-in digital cameras usually do not capture large areas

of histological sections, therefore in case of photographing sections larger than 5.0x5.0 mm, a microscope with x2-x4 objectives and an adapter with a mirrorless digital camera installed at the attachment point of the tube was used with an eyepiece, while the image from the microlens was projected directly onto the photomatrix without any additional optical elements. It should be noted that the photomatrix of digital single lens reflex or mirrorless

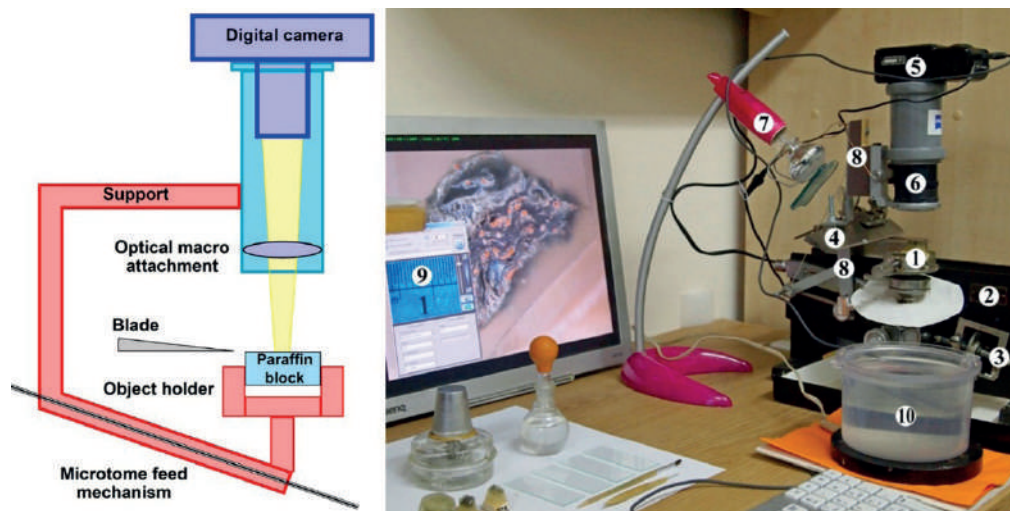
(single lens non-reflex) cameras, in which it is possible to detach the lens, has much larger physical dimensions than CCD cameras of microscopes, which allows to fit more structures or even the entire surface of the paraffin block into the photoframe window. This is important when studying organ complexes of human fetuses, body parts of prefetuses or whole embryos, where it is necessary to cover relatively large areas of the specimen with a microlens.



**Fig. 3.** 3D-reconstruction of the head of a 7-week-old human embryo (19.0 mm PCL). Left anterior-lateral projection. 25x: 1 – eyeball rudiment; 2 – superior oblique muscle; 3 – trigeminal ganglion; 4 – frontal bone rudiment; 5 – nasal capsule; 6 – centers of ossification of the maxilla; 7 – superior rectus muscle; 8 – inferior rectus muscle; 9 – lateral rectus muscle; 10 – otic capsule; 11 – Meckel's cartilage; 12 – centers of ossification of the mandible

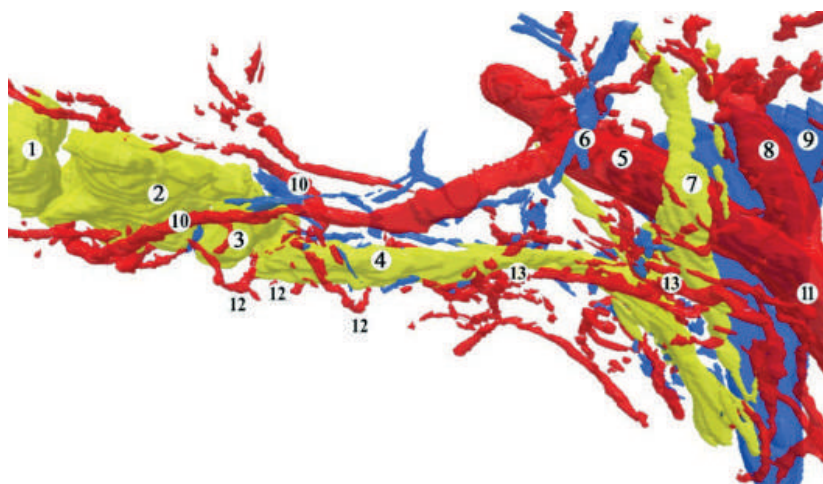
*Creation of 3D reconstructions from a series of consecutive images of the surface of a paraffin block.* This technique involves the creation of 3D reconstructions of the organ complexes of human fetuses

by photographing the surface of a paraffin block after each microtome section. Actually, histotopographic sections were digitized using special photographic equipment (Figs. 4, 5).



**Fig. 4.** Scheme (left) and software-hardware complex (right) for 3D-reconstruction of microscopic structures based on a series of microtome sections: 1 – paraffin block with specimen; 2 – microtome; 3 – feed mechanism; 4 – microtome blade; 5 – digital camera; 6 – macroscopic lens; 7 – lighting device with infrared filter





**Fig. 5. 3D-reconstruction of serial frontal histotopographic sections of the human fetus (130.0 mm PCL). Anterior view. 30x: 1 – mucous membrane of the fundus of gallbladder; 2 – mucous membrane of the body of gallbladder; 3 – Hartmann's pouch and the neck of gallbladder; 4 – cystic duct; 5 – right branch of the hepatic artery proper; 6 – cystic artery and vein; 7 – common hepatic duct; 8 – left branch of the hepatic artery proper; 9 – portal vein; 10 – branch of the cystic artery; 11 – hepatic artery proper; 12 – spiral arteries of the cystic duct; 13 – anastomoses (arterial circle) of the cystic duct**

This method of 3D reconstruction has certain advantages, but it is not without its disadvantages. The advantages include the following:

1. Since the photographic device is rigidly attached to the feed mechanism of the sliding microtome, it is impossible to shift the optical axis, thus ensuring the exact alignment of the sections, which is practically impossible to achieve when photographing histological specimens.

2. In parallel, histologic specimens are also prepared from microtome paraffin sections.

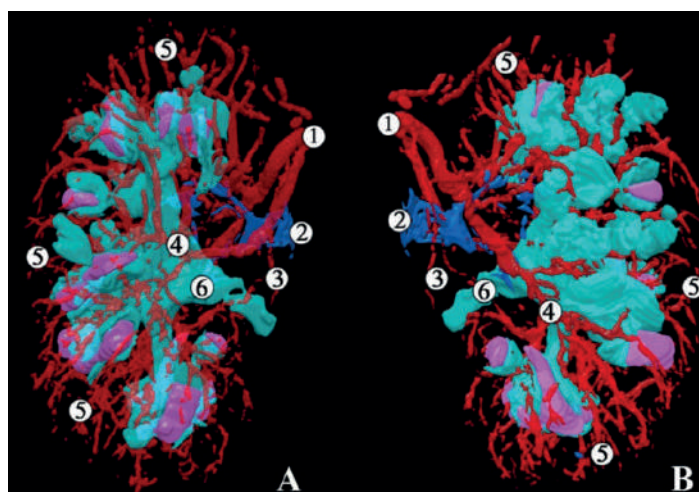
3. It is possible to use paraffin blocks with relatively large organ complexes – up to 40 mm in length and up to 25 mm in width (when using a conventional sled microtome).

4. Photographs are taken using a special tripod, a macro lens and a compact digital camera in semi-automatic mode with remote control using appropriate software and a personal computer.

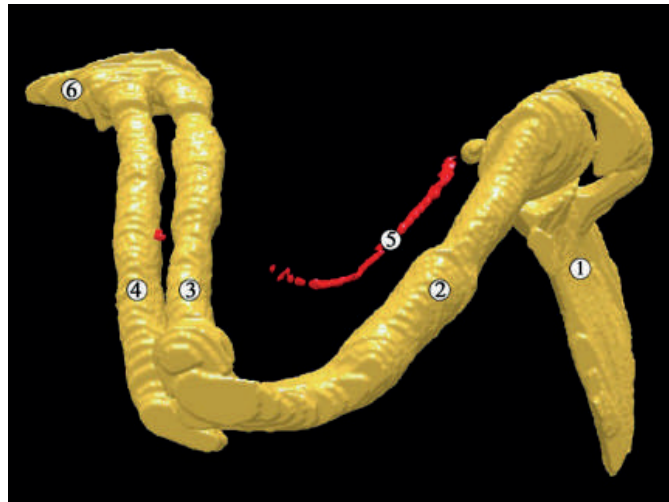
The main disadvantage of the method of 3D reconstruction of histotopographic sections is the low

clarity and detail of the obtained images, which makes the identification of histological structures difficult and requires professional knowledge of embryology, histology and anatomy. To improve the quality and clarity of the images, their batch processing is usually performed in a graphic editor. Despite its shortcomings, this technique makes it possible to identify microscopic anatomical structures (Fig. 5), study their shape and syntopy, and perform morphometry.

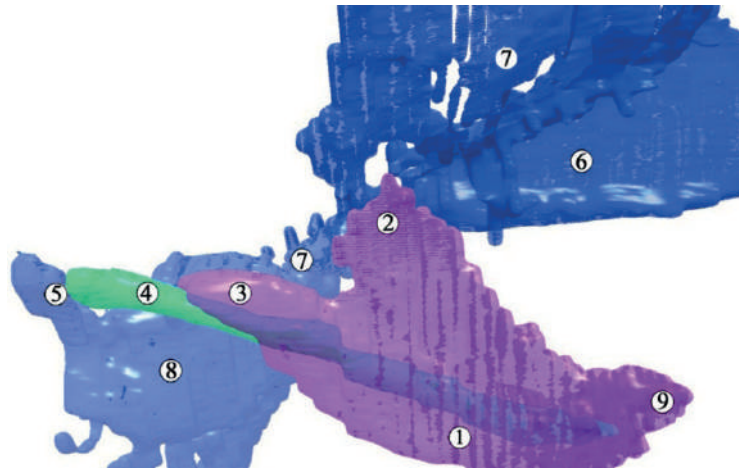
A significant advantage of the method is the possibility of automatic segmentation of blood vessels contrasted with dyes (Fig. 6), which is performed using 3D-Doctor and similar software. During manual segmentation, in addition to hollow and parenchymal organs, nerves, cartilage, bone tissue, muscles and glands are well identified. When studying the development of bones, it is possible to clearly determine the external contours of the cartilaginous rudiments of bones and centers of osteogenesis (Fig. 7, 8).



**Fig. 6. 3D-reconstruction of the left kidney of a 7-month-old human fetus (260.0 mm PCL). Polychrome injection of arteries. A – posterior projection; B – anterior projection. The papillary parts of the renal pyramids are reproduced in pink. 7x: 1 – renal artery; 2 – renal vein; 3 – pelvic and ureteric branches; 4 – interlobular arteries; 5 – arcuate and interlobular arteries; 6 – renal pelvis**



**Fig. 7. 3D-reconstruction of the cartilage rudiments of the left upper limb of an 8-week-old human fetus (30.0 mm PCL). Left side projection. 30x: 1 – scapula; 2 – humerus; 3 – radius; 4 – ulna; 5 – brachial artery; 6 – rudiments of carpal bones**



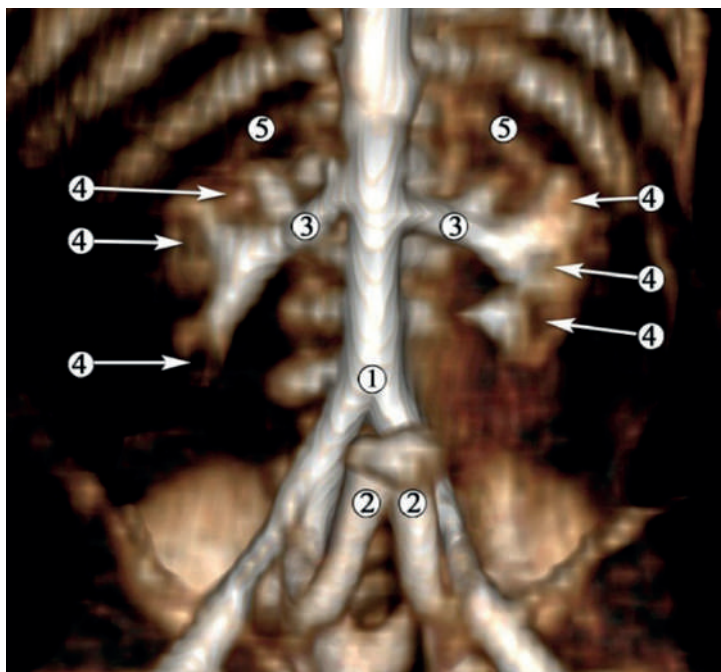
**Fig. 8. 3D-reconstruction of the structures of the anterior part of the head of an 11-week-old human fetus (55.0 mm PCL). Right projection. 25x: 1 – body of mandible; 2 – coronoid process; 3 – condylar process; 4 – Meckel's cartilage; 5 – head of malleus; 6 – nasal septum; 7 – rudiments of the basicranium; 8 – otic capsule; 9 – Mental protuberance**

*Creation of 3D reconstruction from a series of DICOM CT files.* During a CT scan, a series of DICOM PACS images are created that carry information about each virtual slice of the anatomical specimen. The resolution of modern CT allows the identification of structures with a resolution of up to 0.5 mm. Therefore, it is advisable to use this method on relatively large macro specimens of human fetuses when studying the shape, structure and syntopy of radiolucent organs and organ complexes. Not only bone tissue, but also blood vessels can be studied on CT scans of human fetuses contrasted with a composition based on red lead. In addition to specialized software for studying CT and automated creation of 3D reconstructions, such as RadiAnt Dicom Viewer (Medixant), we used 3D-Doctor, which has the ability to work with DICOM files. The interactive segmentation of fetal structures with different radiodensities allows the determination of contrasting structures (Fig. 9), the spatial shape of bone rudiments, and the location and shape of ossification centers (Fig. 10). The software automatically outlines the contours of bone rudiments according to the gradients of the Hounsfield

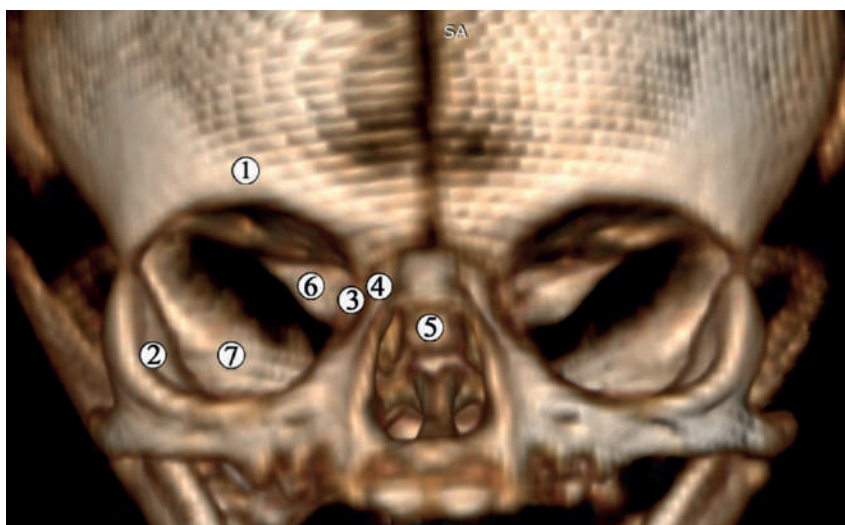
scale, allowing visualization and morphometry of both the entire bone rudiment and ossification centers.

The advantages of the method of 3D reconstruction from a series of DICOM CT files include accuracy of matching, automatic calibration of slices, detailing of structures with high x-ray density, interactivity, and thus speed of rendering. Disadvantages include those characteristic of X-ray techniques.

The most difficult stage of 3D reconstruction is to outline the contours of the anatomical structures. This process requires time, professional knowledge and skills, a graphic manipulator pen or a special computer with a touch screen. This stage is the most difficult during 3D reconstruction of a series of successive images of the surface of the paraffin block. The final stage of creating a 3D reconstruction is rendering (application of a visualization algorithm). It is performed automatically by the software. The created reconstruction model is studied in different projections and its individual elements are measured. The next stage of work with 3D reconstruction can be its 3D printing [18].



**Fig. 9. CT of a 5-month-old human fetus (155.0 mm PCL). Injection of the arterial system with a composition of red lead. Anterior projection. 3x: 1 – bifurcation of the aorta; 2 – umbilical arteries; 3 – renal arteries; 4 – contours of the minor renal calices; 5 – XII rib.**



**Fig. 10. CT of the head of a 6-month-old human fetus (200.0 mm PCL). Anterior projection. 3x: 1 – frontal bone; 2 – zygomatic bone; 3 – ethmoidal bone; 4 – frontal process of the maxilla; 5 – body of sphenoid bone; 6 – lesser wing of sphenoid bone; 7 – greater wing of sphenoid bone.**

The prospects for improving 3D reconstruction methods, in our opinion, are as follows: 1) 3D reconstruction of a series of consecutive histological sections requires the use of effective landmarks for the correct alignment of the sections; 2) 3D reconstruction of a series of consecutive images of the surface of the paraffin block requires the use of total staining of the specimen before it is embedded in the paraffin block for a more contrasting image of organs and histological tissues; 3) 3D reconstruction of a series of DICOM CT files requires an increase in resolution (the thickness of

the CT slices is less than 1.0 mm). Considering the fact that the tracing of anatomical structures remains the most difficult stage of 3D reconstruction, it is advisable to further develop software using elements of artificial intelligence, in particular to identify and automate the segmentation of sections of certain anatomical structures and tissues [21-26].

Taking into account all the advantages and disadvantages of the applied 3D reconstruction methods, they can be presented in the form of a table according to the degree of objectivity and automatic realization (Table).

Table

Comparative characteristics of 3D-reconstruction methods

| Stages  | Alignment of slices | Calibration of slices (determination of pixel and voxel sizes) | Recognition of microstructures | Segmentation (selection of contours of microstructures) | Detailing | Accuracy of morphometry |
|---|---------------------|--|--------------------------------|---|-----------|-------------------------|
| 3D reconstruction of serial histological sections                       | –                   | –  | +                              | –   | +         | +                       |
| 3D reconstruction of serial images of the surface of the paraffin block | +                   | –  | –                              | –   | –         | –                       |
| 3D reconstruction of serial CT scans                                    | +                   | +  | –                              | +   | –         | +                       |

Notes: (+) – objective factor, automatic execution; (–) – subjective factor, manual implementation.

Conclusions

1. 3D reconstruction of series of consecutive histological sections is effective for the study of embryo specimens, organ complexes of prefetuses and certain microscopic structures of human fetuses due to easy identification of histological structures, however, it is necessary to improve the methods of alignment of histological sections both in the correct sequence of the series and in the natural position in two-dimensional coordinate system.

2. 3D reconstruction of histotopographic sections (images of the surface of the paraffin block) is advisable to use in the study of samples of organ complexes of human fetuses and fetuses, allows identification of individual parenchymal and hollow organs and blood vessels, especially if their injection is performed before fixation of the sample.

3. 3D reconstruction of CT sections is an effective and highly accurate tool for the study of x-ray contrast anatomical structures in the fetal period of human development (bone tissue, contrast blood vessels). The method allows to detect and measure ossification centers and syntopy of blood vessels with bones using a certain research algorithm.

4. The choice of the technique of 3D reconstruction of microscopic structures in the prenatal period of human ontogenesis depends on the age period of the research material, which is caused by certain technological limitations of the specific technique: 3D reconstruction of a series of histological sections is recommended for the study of embryos and fetuses, as well as individual structures and organs of fetuses; 3D reconstruction of a series of histotopographic sections – for the study of organ complexes of human prefetuses and fetuses; 3D reconstruction of CT slices – for the study of individual structures of human fetuses.

**Prospects for further research.** Improving the technique of 3D reconstruction of organ complexes embedded in a paraffin block requires the development of methods for total staining of specimens, which will greatly facilitate both the preparation of serial histological sections and the delineation of the contours of anatomical structures on the images of histotopographic sections.

**Conflict of interest:** The Authors declare no conflict of interest.

**Sources of funding:** self-financing.

References:

- Raiola M, Sendra M, Torres M. Imaging Approaches and the Quantitative Analysis of Heart Development. J Cardiovasc Dev Dis [Internet]. 2023[cited 2023 Oct 19];10(4):145. Available from: <https://www.mdpi.com/2308-3425/10/4/145> doi: 10.3390/jcdd10040145
- Liu W, Wang X, Wang Y, Wang Y, Zhang J, Shi B, et al. Three-dimensional reconstruction of systematic histological sections: application to observations on palatal shelf elevation. Int J Oral Sci [Internet]. 2021[cited 2023 Oct 19];13(1):17. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41368-021-00122-8> doi: 10.1038/s41368-021-00122-8
- Utsunomiya N, Katsube M, Yamaguchi Y, Yoneyama A, Morimoto N, Yamada S. The first 3D analysis of the sphenoid morphogenesis during the human embryonic period. Sci Rep [Internet]. 2022[cited 2023 Oct 19];12(1):5259. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-08972-w> doi: 10.1038/s41598-022-08972-w
- Tomalty D, Giovannetti O, Velikonja L, Balamane S, Morcos M, Adams MA. Three-dimensional reconstruction of the innervation of the female pelvis: A review of current methods. Clin Anat. 2023;36(5):696-707. doi: 10.1002/ca.24023
- Caon M. Voxel-based computational models of real human anatomy: a review. Radiat Environ Biophys. 2004;42(4):229-35. doi: 10.1007/s00411-003-0221-8
- Haas A, Fischer MS. Three-dimensional reconstruction of histological sections using modern product-design software. Anat Rec. 1997;249(4):510-6. doi: 10.1002/(SICI)1097-0185(199712)249:4<510::AID-AR11>3.0.CO;2-R
- Machin GA, Sperber GH, Ongaro I, Murdoch C. Computer graphic three-dimensional reconstruction of normal human embryo morphogenesis. Anat Embryol (Berl). 1996;194(5):439-44. doi: 10.1007/BF00185991
- Moons T. 3D Reconstruction from Multiple Images Part 1: Principles. Foundations and Trends® in Computer Graphics and Vision. 2008;4(4):287-404. doi: 10.1561/0600000007

9. Nagaoka T, Watanabe S, Sakurai K, Kunieda E, Watanabe S, Taki M, et al. Development of realistic high-resolution whole-body voxel models of Japanese adult males and females of average height and weight, and application of models to radio-frequency electromagnetic-field dosimetry. *Phys Med Biol*. 2004;49(1):1-15. doi: 10.1088/0031-9155/49/1/001
10. Ogoke O, Guiggey D, Mon T, Shamul C, Ross S, Rao S, et al. High resolution, serial imaging of early mouse and human liver bud morphogenesis in three dimensions. *bioRxiv [Internet]*. 2019[cited 2023 Oct 19]:803478. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/803478v3.full> doi: 10.1101/803478
11. Nakano S, Kodama R, Yamaguchi Y, Takakuwa T, Yamada S. MCA-Based Embryology and Embryo Imaging. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p.121-30. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5\_14
12. Alomar A, Morales A, Vellvé K, Porras AR, Crispi F, Linguraru MG, et al. Reconstruction of the fetus face from three-dimensional ultrasound using a newborn face statistical shape model. *Comput Methods Programs Biomed [Internet]*. 2022[cited 2023 Oct 19];221:106893. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169260722002759?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.cmpb.2022.106893
13. Spaletta G, Sofroniou M, Barbaro F, di Conza G, Mosca S, Toni R. A Computational Template for Three-Dimensional Modeling of the Vascular Scaffold of the Human Thyroid Gland. *Tissue Eng Part A*. 2023;29(1-2):47-57. doi: 10.1089/ten.TEA.2022.0148
14. Balaya V, Guimiot F, Bruzzi M, El Batti S, Guedon A, Lhuairé M, et al. Feasibility of a fetal anatomy 3D atlas by computer-assisted anatomic dissection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];49(9):101880. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468784720302312?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101880
15. Fiorentino G, Parrilli A, Garagna S, Zuccotti M. Three-dimensional imaging and reconstruction of the whole ovary and testis: a new frontier for the reproductive scientist. *Mol Hum Reprod [Internet]*. 2021[cited 2023 Oct 19];27(3): gaab007. Available from: <https://academic.oup.com/molehr/article-pdf/27/3/gaab007/36645326/gaab007.pdf> doi: 10.1093/molehr/gaab007
16. Katsube M. Morphometric Analysis for the Morphogenesis of the Craniofacial Structures and the Evolution of the Nasal Protrusion in Humans. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p. 247-52. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5\_32
17. Katsube M, Yamada S, Yamaguchi Y, Takakuwa T, Yamamoto A, Imai H, et al. Critical Growth Processes for the Midfacial Morphogenesis in the Early Prenatal Period. *Cleft Palate Craniofac J*. 2019;56(8):1026-37. doi: 10.1177/1055665619827189
18. Azkue JJ. External surface anatomy of the postfolding human embryo: Computer-aided, three-dimensional reconstruction of printable digital specimens. *J Anat*. 2021;239(6):1438-51. doi: 10.1111/joa.13514
19. Takakuwa T. Skeletal System Analysis during the Human Embryonic Period Based on MCA. In: Hashizume M, editor. *Multidisciplinary Computational Anatomy*. Singapore: Springer; 2022. p.113-9. doi: 10.1007/978-981-16-4325-5\_13
20. Holroyd NA, Walsh C, Gourmet L, Walker-Samuel S. Quantitative Image Processing for Three-Dimensional Episcopic Images of Biological Structures: Current State and Future Directions. *Biomedicines [Internet]*. 2023[cited 2023 Oct 19];11(3):909. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/3/909> doi: 10.3390/biomedicines11030909
21. Potrusil T, Heshmat A, Sajedi S, Wenger C, Johnson Chacko L, Glueckert R, et al. Finite element analysis and three-dimensional reconstruction of tonotopically aligned human auditory fiber pathways: A computational environment for modeling electrical stimulation by a cochlear implant based on micro-CT. *Hear Res [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];393:108001. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378595520302720?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.heares.2020.108001
22. Salah M, Tayebi L, Moharamzadeh K, Naini FB. Three-dimensional bio-printing and bone tissue engineering: technical innovations and potential applications in maxillofacial reconstructive surgery. *Maxillofac Plast Reconstr Surg [Internet]*. 2020[cited 2023 Oct 19];42(1):18. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270214/pdf/40902\\_2020\\_Article\\_263.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7270214/pdf/40902_2020_Article_263.pdf) doi: 10.1186/s40902-020-00263-6
23. Gul M, Arif A, Ghafoor R. Role of three-dimensional printing in periodontal regeneration and repair: Literature review. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(6):504-10. doi: 10.4103/jisp.jisp\_46\_19
24. Lin K, Sheikh R, Romanazzo S, Roohani I. 3D Printing of Bioceramic Scaffolds-Barriers to the Clinical Translation: From Promise to Reality, and Future Perspectives. *Materials (Basel) [Internet]*. 2019[cited 2023 Oct 19];12(17):2660. Available from: <https://www.mdpi.com/1996-1944/12/17/2660> doi: 10.3390/ma12172660
25. Scheitz CJF, Peck LJ, Groban ES. Biotechnology software in the digital age: are you winning? *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2018;45(7):529-34. doi: 10.1007/s10295-018-2009-5
26. Maroulakos M, Kamperos G, Tayebi L, Halazonetis D, Ren Y. Applications of 3D printing on craniofacial bone repair: A systematic review. *J Dent*. 2019;80:1-14. doi: 10.1016/j.jdent.2018.11.004

## ОСОБЛИВОСТІ ІДЕНТИФІКАЦІЇ РІЗНИХ ТИПІВ ТКАНИН ПІД ЧАС 3D-РЕКОНСТРУКЦІЇ МІКРОСКОПІЧНИХ СТРУКТУР ЛЮДИНИ

*Р. Р. Дмитренко, О. А. Коваль, Л. А. Андрущак, І. С. Макаручук, О. В. Цигикало*

**Буковинський державний медичний університет  
(м. Чернівці, Україна)**

### Резюме.

3D-реконструювання є інформативним, об'єктивним методом морфологічного дослідження, який полягає у перетворенні серії послідовних зрізів (гістологічних, макроскопічних, анатомічних розпилів, комп'ютерних томограм тощо) у віртуальне об'ємне (цифрове) зображення, яке можна вивчати в різних проєкціях та вимірювати об'єм, площу, діаметри, кути, зберігати, копіювати, редагувати.

**Мета дослідження** – порівняти ефективність методик 3D-реконструювання різних тканин та мікроскопічних анатомічних структур організму в пренатальному періоді розвитку людини.

**Матеріал і методи дослідження.** Нами досліджено 6 серій послідовних гістологічних зрізів зародків людини віком від 4 до 6 тижнів внутрішньоутробного розвитку, 15 препаратів органоконструкцій голови, кінцівок та тулуба передплідів людини віком від 7 до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку, плодів людини віком 4-9 місяців ВУР методом виготовлення гістологічних

(5), а також гістотопографічних зрізів (10) безпосередньо з парафінового блоку та їх оцифровки, та 14 КТ плодів людини віком від 4 до 9 місяців ВУР.

Дослідження проводилося відповідно до основних положень Резолюції Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001), ІСН GCP (1996), Конвенції Європейського Союзу про права людини та біомедицину (1997), а також Гельсінської декларації про етичні принципи медичних досліджень із залученням людей (1964-2008), Директив ЄС № 609 (1986), Наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009, № 944 від 14.12.2009, № 616 від 03.08.2012.

Робота виконується в рамках ініціативної науково-дослідної роботи кафедри гістології, цитології та ембріології закладу вищої освіти «Буковинський державний медичний університет» «Структурно-функціональні особливості тканин і органів в онтогенезі, закономірності варіантної, конституційної, статеві-вікової та порівняльної морфології людини». Державний реєстраційний номер: 0121U110121. Терміни виконання: 01.2021-12.2025.

**Результати дослідження.** 3D-реконструювання серій послідовних гістологічних зрізів ефективно для дослідження препаратів зародків, органокомплексів передплідів та певних мікроскопічних структур плодів людини завдяки легкій ідентифікації гістологічних структур, однак потребує удосконалення способів зіставлення гістологічних зрізів у природній позиції. 3D-реконструювання гістотопографічних зрізів доцільно застосовувати при дослідженні препаратів органокомплексів передплідів та плодів людини. 3D-реконструювання серійних КТ-зрізів – ефективний та високоточний інструмент дослідження рентген-контрастних анатомічних структур у плодovому періоді ВУР (кісткової тканини, контрастованих кровоносних судин), дозволяє при використанні певного алгоритму дослідження виявляти та вимірювати осередки скостеніння та синтопію кровоносних судин з кістками.

**Висновки.** Для широкого застосування в морфології метод 3D-реконструювання вимагає технічного удосконалення програмно-апаратного комплексу для реконструювання, а саме: автоматизації етапів реконструкції, зокрема, сегментації зрізів, а також удосконалення методик поліхромного маркування структур анатомічного препарату для їхнього чіткого диференціювання.

**Ключові слова:** 3D-реконструювання; дослідження кісткової тканини; пренатальний розвиток людини; плоди людини.

**Contact Information:**

**Roman Dmytrenko** – Candidate of Medical Science, Docent, Associate Professor, Department of Dentistry and Maxillofacial surgery of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**e-mail:** dmytrenko\_roman@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1657-0927>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/D-5584-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57206893715>

**Oleksandr Koval** – Candidate of Medical Science, Postdoctoral Student of the Department of Anatomy, Clinical Anatomy and Operative Surgery of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**e-mail:** koval190488@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9434-8213>

**Ludmyla Andrushchak** – PhD, Assistant Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**e-mail:** andrushchak.liudmyla@bsmu.edu.ua

**ORSID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6408-431X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57212558699>

**Ihor Makarchuk** – Postgraduate student of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

**email:** neolith.rv@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-5209-7287>

**Olexandr Tsyhykalo** – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** tsyhykalo.olexandr@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-2302-426X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195933570>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/C-3676-2017>

**Контактна інформація:**

**Дмитренко Роман Романович** – кандидат медичних наук, доцент кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**e-mail:** dmytrenko\_roman@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1657-0927>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/D-5584-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57206893715>

**Коваль Олександр Анатолійович** – кандидат медичних наук, докторант кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**e-mail:** koval190488@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-9434-8213>

**Андрущак Людмила Анатоліївна** – доктор філософії, асистент кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**e-mail:** andrushchak.liudmyla@bsmu.edu.ua

**ORSID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-6408-431X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57212558699>

**Макарчук Ігор Святославович** – аспірант кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

**email:** neolith.rv@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-5209-7287>

**Цигикало Олександр Віталійович** – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна)

**e-mail:** tsyhykalo.olexandr@bsmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-2302-426X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57195933570>

**Researcher ID:** <http://www.researcherid.com/rid/C-3676-2017>



Received for editorial office on 13/07/2023  
Signed for printing on 10/10/2023

UDC: 611.311.2.018.7:611.314.16.013]-053.2

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.19

CHARACTERISTICS OF THE GINGIVAL  
EPITHELIUM OF CHILDREN'S THIRD  
MOLARS AT DIFFERENT STAGES OF ROOT  
FORMATION**T. I. Murynyuk**Bukovinian State Medical University of the Ministry  
of Health of Ukraine (Chernivtsi, Ukraine)**Summary**

*Extraction of impacted and dystopic third molars is a rather traumatic manipulation accompanied by a large bone defect and wound infection. Therefore, it is advisable to perform hermectomy, which has a number of advantages over typical and atypical methods of tooth extraction. An important stage of any surgical intervention is the postoperative period, which is characterized by a certain duration and the presence of complications, which is due, among other things, to the regenerative potential of tissues, especially epithelial tissues.*

*Aim of the study is to evaluate the condition of the gingival epithelium in the area of third molars in children who have to have these teeth extracted for orthodontic reasons, taking into account the stage of tooth formation, i. e. its root.*

**Material and Methods.** *Third molar extraction for orthodontic indications was performed in 95 children aged 11 to 18 years. Clinical and radiologic examinations were performed in three groups: Group I (n=30) – children aged 11-13 years; Group II (n=35) – children aged 13-16 years, and Group III (n=30) – children aged 16-18 years. During surgery, gingival tissue was taken from the adjacent areas for examination. The material was fixed, dehydrated, and paraffin-embedded for histologic processing. Immunohistochemical techniques were performed according to the manufacturer's protocols. Specifically, immunohistochemical detection of Ki-67 antigen was performed with primary antibodies against it. Digital copies of the images were analyzed using the specialized computer program ImageJ v1.52 (freeware, USA). The obtained digital data were statistically processed.*

*The digital data obtained were statistically processed. A preliminary test for normality of the distribution was carried out using the Shapiro-Wilks method. According to this criterion, the hypothesis of normality of the distribution was not rejected for all the statistical samples studied (at the significance level of  $p=0.05$ ), so we used mainly parametric methods of statistical analysis: calculation of the arithmetic mean and its error, unpaired two-sided Student's *t*-test. However, because the statistical samples were small, the non-parametric Mann-Whitney test was used in addition to the Student's *t*-test.*

*The study was conducted as part of the complex research work of the Department of Pediatric Dentistry of the Bukovinian State Medical University on the topic «Development of methods of prevention and treatment of the main dental diseases in children, taking into account the risk factors of their development» (state registration number: 0121U110122). The conducted research complied with bioethical norms, as stated in the conclusions of the Bioethics Commission of the Bukovinian State Medical University (№ 1 dated 17.09.2020).*

**Conclusions.** *Thus, the histological and immunohistochemical study of the gingiva in the area of the third molar allows us to conclude that during the formation of the root of this tooth, a number of changes occur in the epithelial cover of the gingiva, namely: an increase in the number of epithelial layers with a decrease in their proliferative activity. The obtained data indicate a decrease in the regenerative potential of the multilayered squamous epithelium with increasing age of the child and the degree of third molar formation, which is reflected in the clinical picture of the course of surgical intervention.*

**Key words:** *Children; Tooth Extraction Surgery; Third Molars: Gingival Epithelium.*

**Introduction**

Third molar retention and dystopia occurs in 35-50 % of the population and is one of the prerequisites for the development of a number of orthodontic problems. Extraction of these teeth has a preventive effect on the development of dentoalveolar anomalies and deformities and is a prerequisite for the stability of orthodontic treatment [1, 2]. However, the extraction of retained and dystopic third molars is a rather traumatic manipulation associated with a large bone defect and wound infection [3-6]. Therefore, according to many scientists [7-8], it is advisable to perform a hermectomy, which has a number of advantages over typical and atypical methods of tooth extraction. In addition, the third molar follicular tissue removed during surgery is a valuable source of stem tissue, which is currently widely used in experimental and practical medicine [9-20].

An important phase of any surgical procedure is the post-operative period, which is characterized by a certain duration and the presence of complications, due in part to the regenerative potential of tissues, especially epithelial tissues.

**Aim of the study** is to evaluate the state of gingival epithelial coverage in the area of third molars in children who

have had these teeth extracted for orthodontic reasons, taking into account the stage of tooth formation, namely the root.

**Material and Methods**

Third molar extraction for orthodontic indications was performed in 95 children aged 11 to 18 years. The clinical examination of the children was carried out using conventional methods. Radiographic assessment of the condition of the third molar ridges was performed according to the Demirjian method [21], which is currently widely used internationally [22, 23]. Clinically and radiographically, three observation groups were identified: I (n=30) – children aged 11-13 years whose third molar was at the stage of weakly mineralized rudiment (Demirjian stage D); II (n=35) – children aged 13-16 years whose third molar was at the stage of mineralized rudiment and the initial stages of root formation (Demirjian stages E and F) and III (n=30) – children aged 16-18 years whose third molar was at the final stages of root formation (Demirjian stages G and H).

During surgery, gingival tissue was taken from adjacent areas for examination. The material was fixed in neutral pH buffered 10 % formalin solution for 20-22 hours. After fixation, the gingiva was dehydrated in an isopropyl alcohol system and embedded in paraffin at 560C for

further histological processing. Standard serial histological sections of 5 µm thickness were prepared using a rotary microtome. After deparaffinization, haematoxylin and eosin staining was performed on histological sections [24], and immunohistochemical techniques were performed on other serial sections according to the manufacturer's protocols. In particular, immunohistochemical detection of Ki-67 antigen was performed using primary antibodies against this antigen. Visualization of the primary antibodies was performed using a polymeric imaging system with diaminobenzidine dye, which gives a brown color to the sites of the studied antigens. Digital copies of the image were analyzed using a specialized computer program ImageJ v1.52 (freeware, USA) [25].

The digital data obtained were statistically processed. A preliminary test for normality of the distribution was carried out using the Shapiro-Wilks method. According to this criterion, the hypothesis of normality of the distribution was not rejected for all the statistical samples studied (at the significance level of  $p=0.05$ ), so we used mainly parametric methods of statistical analysis: calculation

of the arithmetic mean and its error, unpaired two-sided Student's t-test. However, because the statistical samples were small, the non-parametric Mann-Whitney test was used in addition to the Student's t-test [26].

The study was conducted as part of the complex research work of the Department of Pediatric Dentistry of the Bukovinian State Medical University on the topic «Development of methods of prevention and treatment of the main dental diseases in children, taking into account the risk factors of their development» (state registration number: 0121U110122). The conducted research complied with bioethical norms, as stated in the conclusions of the Bioethics Commission of the Bukovinian State Medical University (№ 1 dated 17.09.2020).

### Results and discussion

The table shows the digital data of the thickness of the squamous epithelium and the proliferative activity of the gingival epithelium, especially the basal layer of the epithelial surface, according to the age of the patients.

**Table**

**Characteristics of the gingival epithelium in the area of the third molars at different stages of root formation**

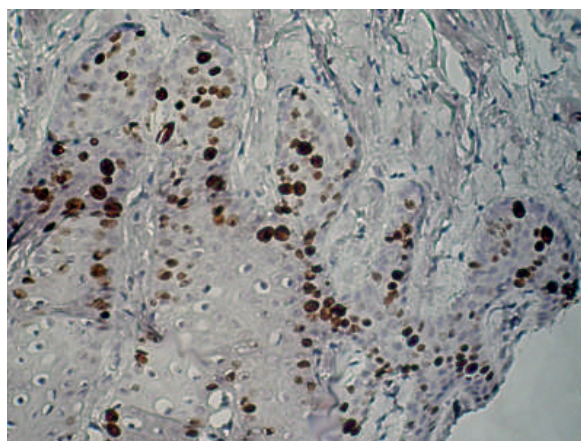
| Observation Groups   | Group I |         | Group II |         | Group III |  |
|--|---------|---------|----------|---------|-----------|--|
| The stage of embryo formation according to Demirjian                                 | D       | E       | F        | G       | H         |  |
| Gingival epithelial thickness (µm)   | 102±2,6 | 128±2,7 | 159±3,8  | 201±4,0 | 289±4,3   |  |
| Percentage of Ki-67 positive cells in the basal layer of the gingival epithelium (%) | 52±0,9  | 44±0,7  | 33±0,6   | 27±0,6  | 19±0,4    |  |

In general, it should be noted that the thickness of the epithelial layer varied considerably from patient to patient, but the table shows the averages obtained from several dozen measurements in each histological section, which reflect the average trends well.

The table clearly shows that the thickness of the epithelium in the stages of root formation gradually increases from stage D to stage H. At the same time, it should be noted that the thickness of the gingival epithelial layer in children of group I is on average lower ( $p<0.05$  according to both the non-parametric Mann-Whitney test and the parametric Student's t-test) than in children of group II and III, and in children of group II it is lower than in children of group III ( $p<0.05$  according to both

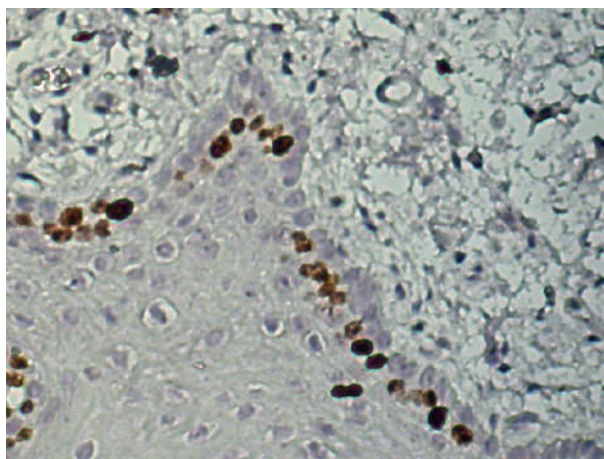
the non-parametric Mann-Whitney test and the parametric Student's t-test) than in children of groups II and III, and in children of group II it is lower than in children of group III ( $p<0.05$  according to the above-mentioned criteria for statistical evaluation of differences in mean trends).

When analyzing the digital data in the table, it was clear that the data on the proliferative activity of the epithelium (based on immunohistochemical examination of the Ki-67 antigen in cell nuclei) were opposite to the data on the thickness of the epithelium. In particular, the proliferative activity of the epithelium, which was observed only in the basal layer, decreased with increasing stage of tooth formation. This is illustrated in Figures 1-5. It was highest in children in group I and lowest in group III.

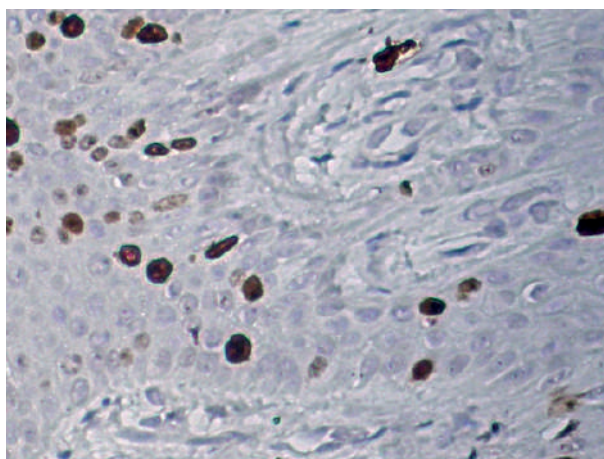


**Fig. 1. Gingival epithelium of a 12-year-old patient at the stage of root formation «D». Ki-67-positive epithelial cell nuclei are brown. Immunohistochemical technique using primary antibodies against Ki-67, polymer detection system and diaminobenzidine visualization with nuclei stained with haematoxylin. Optical magnification 200x (approx. 20x, Ob.10x)**

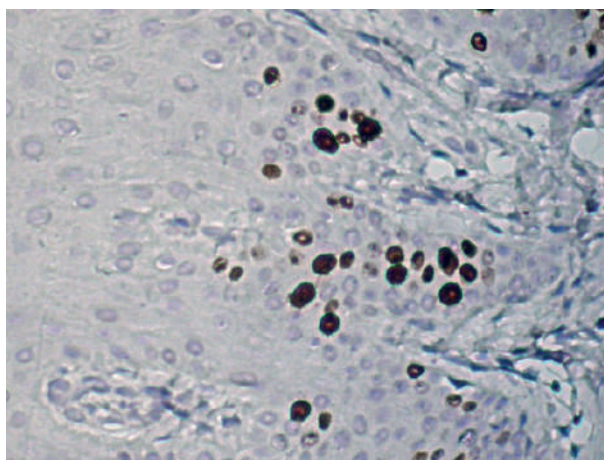




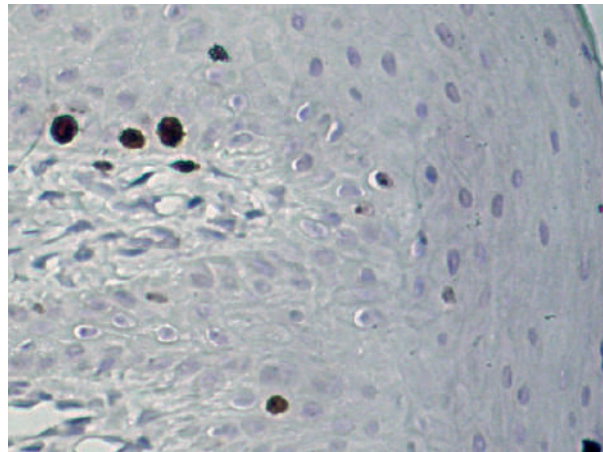
**Fig. 2.** Gingival epithelium of a 13-year-old patient at the stage of root formation «E». Ki-67-positive epithelial cell nuclei are brown. Immunohistochemical technique using primary antibodies against Ki-67, polymer detection system and diaminobenzidine visualization with nuclei stained with haematoxylin. Optical magnification 200x (approx. 20x, Ob.10x)



**Fig. 3.** Gingival epithelium of a 15-year-old patient at the stage of root formation «F». Ki-67-positive epithelial cell nuclei are brown. Immunohistochemical technique using primary antibodies against Ki-67, polymer detection system and diaminobenzidine visualization with nuclei stained with haematoxylin. Optical magnification 200x (approx. 20x, Ob.10x)



**Fig. 4.** Gingival epithelium of a 16-year-old patient at the stage of root formation «G». Ki-67-positive epithelial cell nuclei are brown. Immunohistochemical technique using primary antibodies against Ki-67, polymer detection system and diaminobenzidine visualization with nuclei stained with haematoxylin. Optical magnification 200x (approx. 20x, Ob.10x)



**Fig. 5. Gingival epithelium of an 18-year-old patient at the stage of root formation «H». Ki-67-positive epithelial cell nuclei are brown. Immunohistochemical technique using primary antibodies against Ki-67, polymer detection system and diaminobenzidine visualization with nuclei stained with hematoxylin. Optical magnification 200X (approx. 20X, Ob.10X)**

**Conclusions.** Thus, the histological and immunohistochemical study of the gum in the area of the third molar allows us to conclude that during the formation of the root of this tooth, a number of changes occur in the epithelial cover of the gum, namely: an increase in the number of epithelial layers against the background of a decrease in their proliferative activity. The established data indicate a decrease in the regenerative potential of the squamous epithelium with increasing age of the child and the degree

of formation of the third molar, which is reflected in the clinic.

**Prospects for further research.** To study the connective tissue structures underlying the squamous epithelium, including multipotent mesenchymal cells.

**Conflict of interest:** none.

**Funding sources:** self-funded.

#### References:

1. Pan'kevych AI, Kolisnyk IA, Hohol' AM. Dyferentsiiiovanyi pidkhid do operatsii atypovoho vydalennia zubiv mudrosti [Differentiated approach to the surgical extraction of wisdom teeth]. *Ukrains'kyi stomatolohichnyi al'manakh*. 2019;4:24-8. (In Ukrainian)
2. Kuroiedova VD, Vyzhenko YeLe. Pozytsiia tretikh moliariv ta yikhnikh zachatkiv za danymy ortopantomohram u patsiientiv iz dystal'nym prykusom [Position of the third molars and their germs for data ortopantomogram in patients with distal occlusion]. *Ukrains'kyi stomatolohichnyi al'manakh*. 2015;2:60-4. (In Ukrainian)
3. Hohol' AM, Pan'kevych AI, Kolisnyk IA. Vybir metodu atypovoho vydalennia tretikh nyzhnikh moliariv u zalezhnosti vid yikh polozhennia v aspekti profilaktyky pisliaoperatsiinykh sensorykh porushen' [Choice the method of surgical extraction of lower wisdom teeth depending on their position to prevention of postoperative sensory disturbances]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2016;2(1):179-83. (In Ukrainian)
4. Brunello G, De Biagi M, Crepaldi G, Rodrigues FI, Sivoilella S. An Observational Cohort Study on Delayed-Onset Infections after Mandibular Third-Molar Extractions. *Int J Dent [Internet]*. 2017[cited 2023 Oct 30];2017:1435348. Available from: <https://downloads.hindawi.com/journals/ijd/2017/1435348.pdf> doi: 10.1155/2017/1435348
5. Bouloux GF, Busaidy KF, Beirme OR, Chuang SK, Dodson TB. What is the risk of future extraction of asymptomatic third molars? A systematic review. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015;73(5):806-11. doi: 10.1016/j.joms.2014.10.029
6. Agrawal A, Yadav A, Chandel S, Singh N, Singhal A. Wisdom tooth – complications in extraction. *J Contemp Dent Pract*. 2014;15(1):34-6. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1484
7. Tkachenko PI, Hohol' AM, Pan'kevych AI, Kolisnyk IA, Dobroskok VO. Koronektomiia yak sposib khirurgichnoho likuvannia retenovanykh tretikh nyzhnikh moliariv [Coronectomy as a method for surgical treatment of impacted mandibular third molars: indications and own clinical studies of postoperative period]. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2019;2(68):117-21. doi: 10.26724/2079-8334-2019-2-68-117-121 (In Ukrainian)
8. Frenkel B, Givol N, Shoshani Y. Coronectomy of the mandibular third molar: a retrospective study of 185 procedures and the decision to repeat the coronectomy in cases of failure. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015;73(4):587-94. doi: 10.1016/j.joms.2014.10.011
9. Hodovanets' OI, Kitsak TS, Hal'chuk KL, Sauka OE. Odontohenni stovburovi klityny ta perspektyvy yikh vykorystannia v praktytsi (ohliad literatury) [Odontogenic stem cells and their prospects in practical use (literature review)]. *Bukovyns'kyi medychnyi visnyk*. 2021;4:117-22. doi: 10.24061/2413-0737.xxv.4.100.2021.20 (In Ukrainian)
10. Bakopoulou A. Prospects of Advanced Therapy Medicinal Products-Based Therapies in Regenerative Dentistry: Current Status, Comparison with Global Trends in Medicine, and Future Perspectives. *J Endod*. 2020;46(9S): S175-88. doi: 10.1016/j.joen.2020.06.026
11. Dzobo K, Thomford NE, Senthebane DA, Shipanga H, Rowe A, Dandara C, et al. Advances in Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Innovation and Transformation of Medicine. *Stem Cells Int [Internet]*. 2018[cited 2023 Oct 30];2018:2495848. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/sci/2018/2495848/> doi: 10.1155/2018/2495848
12. Tatullo M. About stem cell research in dentistry: many doubts and too many pitfalls still affect the regenerative dentistry. *Int J Med Sci*. 2018;15(14):1616-8. doi: 10.7150/ijms.27908

13. Mozaffari MS, Emami G, Khodadadi H, Baban B. Stem cells and tooth regeneration: prospects for personalized dentistry. *EPMA J.* 2019;10(1):31-42. doi: 10.1007/s13167-018-0156-4
14. Lima RL, Holanda-Afonso RC, Moura-Neto V, Bolognese AM, DosSantos MF, Souza MM. Human dental follicle cells express embryonic, mesenchymal and neural stem cells markers. *Arch Oral Biol.* 2017;73:121-8. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.10.003
15. Ikeda E, Yagi K, Kojima M, Yagyu T, Ohshima A, Sobajima S, et al. Multipotent cells from the human third molar: feasibility of cell-based therapy for liver disease. *Differentiation.* 2008;76(5):495-505. doi: 10.1111/j.1432-0436.2007.00245.x
16. Yalvaç ME, Yilmaz A, Mercan D, Aydin S, Dogan A, Arslan A, et al. Differentiation and neuro-protective properties of immortalized human tooth germ stem cells. *Neurochem Res.* 2011;36(12):2227-35. doi: 10.1007/s11064-011-0546-7
17. Amrollahi P, Shah B, Seifi A, Tayebi L. Recent advancements in regenerative dentistry: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2016;69:1383-90. doi: 10.1016/j.msec.2016.08.045
18. Hu L, Liu Y, Wang S. Stem cell-based tooth and periodontal regeneration. *Oral Dis.* 2018;24(5):696-705. doi: 10.1111/odi.12703
19. Enezei HH, Qabbani AA, Ahmad A, Khamis MF, Hassani A, Hamad A. The Effect of Strontium on Osteoblastogenesis and Osteoclastogenesis in Dental Stem Cells-induced Epidermal Growth Factor at Molecular Level: In Vitro Study. *J Hard Tissue Biology.* 2020;29(1):1-8.
20. Bashir NZ. The role of insulin-like growth factors in modulating the activity of dental mesenchymal stem cells. *Arch Oral Biol [Internet].* 2021[cited 2023 Oct 30];122:104993. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S000399692030371X?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104993
21. Jain V, Kapoor P, Miglani R. Demirjian approach of dental age estimation: Abridged for operator ease. *J Forensic Dent Sci [Internet].* 2016[cited 2023 Oct 30];8(3):177. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5210113/pdf/JFDS-8-177a.pdf> doi: 10.4103/0975-1475.195103
22. Mónico LS, Tomás LF, Tomás I, Varela-Patiño P, Martin-Biedma B. Adapting Demirjian Standards for Portuguese and Spanish Children and Adolescents. *Int J Environ Res Public Health [Internet].* 2022[cited 2023 Oct 30];19(19):12706. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/19/12706> doi: 10.3390/ijerph191912706
23. AlOtaibi NN, AlQahtani SJ. Performance of different dental age estimation methods on Saudi children. *J Forensic Odontostomatol.* 2023;41(1):27-46.
24. Bahrii MM, Dibrova VA, redactory. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen': monohrafiia [Methods of morphological research: a monograph].* Vinnytsia: Nova knyha; 2016. 328 s. (In Ukrainian)
25. Ferreira T, Rasband W. Image J. User Guide: IJ 1.42r [Internet]. New York: National Institute of Health; 2012 [cited 2023 Oct 30]. 185 p. Available from: <https://imagej.net/ij/docs/guide/user-guide.pdf>
26. Hammer Ø. PAST: Paleontological Statistics, Version 4.14. Reference manual [Internet]. Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2023[cited 2023 Oct 30]. 311 p. Available from: <https://www.nhm.uio.no/english/research/resources/past/downloads/past4manual.pdf>

## ХАРАКТЕРИСТИКА ЕПТЕЛІУ ЯСЕН У ДІТЕЙ У ДІЛЯНЦІ ТРЕТІХ МОЛЯРІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ФОРМУВАННЯ КОРЕНЯ ЗУБА

Т. І. Муринок

Буковинський державний медичний університет МОЗ України  
(м. Чернівці, Україна)

### Резюме.

Екстракція ретинуваних та дистопованих третіх молярів є достатньо травматичною маніпуляцією, яка супроводжується великим дефектом кісткової тканини та інфікуванням рани. Тому доцільним є проведення герметомії, яка має низку переваг перед типовим і атипичним методами видалення зубів. Важливим етапом будь-якого оперативного втручання є післяопераційний період, котрий характеризується певною тривалістю та наявністю ускладнень, що серед іншого обумовлено регенераторним потенціалом тканин, насамперед епітеліальних.

**Мета дослідження** – оцінити стан епітеліального покриву ясен у ділянці третіх молярів у дітей, що потребують операції видалення цих зубів за ортодонтними показаннями, з урахуванням стадії формування зуба, а саме його кореня.

**Матеріали та методи.** Проведено операцію видалення третіх молярів за ортодонтними показаннями 95 дітям у віці від 11 до 18 років. Клініко-рентгенологічно виділено три групи спостереження: I (n=30) – діти віком 11-13 років; II (n=35) – діти віком 13-16 років, та III (n=30) – діти віком 16-18 років. Під час оперативного втручання відбувався забір ясен з прилеглих ділянок для дослідження. Матеріал фіксували, зневоднювали, парафінізували для подальшої гістологічної обробки. Застосовували імуногістохімічні методики у відповідності до протоколів, наданих виробником. Зокрема, було провели імуногістохімічне визначення антигенів Ki-67 з первинними антитілами проти нього. Цифрові копії зображення аналізували за допомогою спеціалізованої комп'ютерної програми ImageJ v1.52 (freeware, США). Отримані цифрові дані оброблені статистично.

Отримані цифрові дані оброблені статистично. Застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за методом Shapiro-Wilks. Для всіх вивчених статистичних вибірок згідно з цим критерієм гіпотеза про нормальність розподілу не була відхилена (на рівні значущості  $p=0,05$ ), тому використовували переважно параметричні методи статистичного аналізу: обрахування середньої арифметичної та її похибки, непарний двобічний критерій Стьюдента. Однак, з причини, що статистичні вибірки були невеликими, то разом з критерієм Стьюдента застосовували й непараметричний критерій Mann-Whitney.

Дослідження проводилось як фрагмент комплексної науково-дослідної роботи кафедри стоматології дитячого віку Буковинського державного медичного університету на тему «Розробка методів профілактики та лікування основних стоматологічних захворювань у дітей з урахуванням факторів ризику їх розвитку» (державний реєстраційний номер: 0121U110122). Проведені дослідження відповідали біоетичним нормам, що зазначено у висновках комісії з біоетики Буковинського державного медичного університету № 1 від 17.09.2020 р.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що товщина епітелію ясен у дітей у ділянці третіх молярів поступово зростає від  $(102 \pm 2,6)$  мкм на стадії формування кореня «D» до  $(289 \pm 4,3)$  мкм на стадії «H». Водночас, варто зазна-

чити, що у дітей віком 11-13 років товщина епітеліального покриття ясен на етапах формування кореня зуба є у середньому є меншою, аніж у дітей віком 13-16 та 16-18 років ( $p < 0,05$ ), а в дітей 13-16 років менша, ніж у дітей 16-18 років ( $p < 0,05$ ).

Встановлено, що проліферативна активність епітелію за даними імуногістохімічного дослідження антигену Ki-67 в клітинних ядрах має протилежну залежність від товщини епітеліального шару. Зокрема, найвищою вона є на стадії формування «D» – ( $52 \pm 0,9$ ) %, а найнижчою – ( $19 \pm 0,4$ ) %, – на стадії «H».

**Висновки.** Отже, проведене гістологічне та імуногістохімічне дослідження ясен в ділянці третього моляра дозволяє прийти до висновку, що в ході формування кореня цього зуба відбувається низка змін в епітеліальному покритті ясен, а саме: збільшення кількості шарів епітелію на тлі зменшення його проліферативної активності. Встановлені дані свідчать про зниження регенераторного потенціалу багатошарового плоского епітелію зі збільшенням віку дитини та ступеня сформованості третього моляра, що знаходить своє відображення в клінічній картині перебігу оперативного втручання.

**Ключові слова:** діти; операція видалення зуба, треті моляри, епітелій ясен.

**Contact Information:**

**Taras Muryniuk** – Postgraduate Student of the Department of Pediatric Dentistry, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

**e-mail:** [muryniuk\\_taras@bsmu.edu.ua](mailto:muryniuk_taras@bsmu.edu.ua)

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8367-7580>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57211591392>

**Контактна інформація:**

**Муринюк Тарас Іванович** – аспірант кафедри стоматології дитячого віку, Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці, Україна)

**e-mail:** [muryniuk\\_taras@bsmu.edu.ua](mailto:muryniuk_taras@bsmu.edu.ua)

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-8367-7580>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57211591392>



Received for editorial office on 11/07/2023  
Signed for printing on 10/10/2023

## АНАЛІТИЧНІ ОГЛЯДИ

UDC: 616-053.2/31-056.7:615

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.20

*O. O. Skavinska*<sup>1</sup>, *Yu. I. Cherniavska*<sup>2</sup>,  
*L. Ye. Fishchuk*<sup>1</sup>, *V. I. Pokhylko*<sup>2</sup>,  
*O. H. Yevseienkova*<sup>3</sup>, *Z. I. Rossokha*<sup>1</sup>

SI «Reference Center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine»<sup>1</sup> (Kyiv, Ukraine), Poltava State Medical University<sup>2</sup> (Poltava, Ukraine), Shupyk National Healthcare University Ukraine<sup>3</sup> (Kyiv, Ukraine)

MODERN ASPECTS  
 OF PHARMACOGENETICS: FROM THEORY  
 TO PRACTICE IN PERINATOLOGY AND  
 PEDIATRICS

**Summary**

*Pharmacogenetic testing (PT) is a modern tool in the doctor's practice, which allows to make the right clinical decision in difficult cases, when the expected result of medical measures is not achieved. It is clear that certain metabolic processes in the human body, as well as a number of diseases, are genetically programmed. Therefore, despite the large number of unexplained mechanisms of individual response to drugs, genetic testing occupies one of the leading positions among methods of selecting drug therapy in complex clinical cases.*

*However, the successful implementation of this promising method must overcome a number of obstacles, including limited evidence of effectiveness, ethical, legal, and social factors. The purpose of this review is to highlight modern concepts and practical aspects of the use of PT. The article addresses the problem of expanding the indications for PT when it is not limited to preventive use only. PT allows to identify drugs associated with an increased risk of causing side effects, with a narrow therapeutic index, to reduce the number of drugs in treatment, to choose the dosage of the drug. A variety of PT platforms can be used in a physician's office, which can be broadly divided into two categories – genotyping-based tests and sequencing-based tests. Depending on the gene being tested, different algorithms can be used to generate results. Some gene variants can be described in terms of metabolic activity or general function, while others can only be described as present or absent. Results for gene variants can also be reported as normal, intermediate or low function for the corresponding gene. Pharmacogenetic clinical decision support systems (CDSS) are computer-based systems that assist healthcare providers in prescribing medications at the point of care. These systems provide physicians and other healthcare providers with appropriately filtered pharmacogenetic information, such as drug-gene interaction alerts or patient-specific treatment recommendations. A pharmacogenetic CDSS can either be integrated into a local hospital information system or used as a stand-alone application such as a web service or mobile application. Pharmacogenetics can increase the quantity and quality of information available to pregnant women and their physicians about medication use during pregnancy. Implementation of PT recommendations into routine pediatric practice requires carefully coordinated strategies at the national, regional, and health system levels. To date, pharmacogenetics provides mosaic information on the association between response to drug therapy and genetic background. It is expected that the next step will be a study in a larger group of participants to investigate the contribution of epigenetic factors and to provide clinical recommendations for adjusting or selecting therapy based on the personal characteristics of the patient.*

**Key words:** *Pharmacogenetic Testing; Genotyping; Sequencing; Clinical Decision-Making Systems; Pregnant Women and Children.*

**Introduction**

Pharmacogenetics is a branch of medicine that studies the genetically determined responses of the body to the administration of drugs. The term «pharmacogenetics» was first proposed in 1959 by the German scientist Friedrich Vogel, who drew attention to the involvement of genetic factors in the body's response to external substances, especially drugs [1].

Today, it is generally known that the response of the human body to treatment with pharmaceutical drugs is often controlled by genes encoding proteins that participate in the metabolism of these drugs, their transformation, and determine the peculiarities of their pharmacokinetics and pharmacodynamics [2]. The disadvantage of a significant part of research in the field of pharmacogenetics is the incorrect interpretation of results due to biased experimental design, insufficient observation period, small sample size,

disregard of population differences, etc. Therefore, the challenge of today is the need to develop and conduct valid research in this field.

In clinical practice, the physician adheres to national standards and protocols of specialized medical care based on the principles of evidence-based medicine [3]. However, the physician, guided by alternative drugs that are not prohibited by the instructions for use, may significantly change the therapy, taking into account the individual needs of each patient, his financial capabilities, preferences and lifestyle. Another reason for changing the therapy is side effects and lack of effectiveness of drugs. Despite the fact that the causes of resistance to the action of drugs are still not studied, there is an assumption about the genetic determinism of this phenomenon, which has already been proven by the example of several genetically determined types of nitrate metabolism in the body and explains the different duration of

tolerance to drugs of the nitrate group during the treatment of cardio-vascular diseases. [4]. It is clear that certain metabolic processes of the human body, as well as a number of diseases, are genetically programmed. Therefore, despite the large number of unexplained mechanisms of individual response to drugs, genetic testing occupies one of the leading positions among the methods of drug therapy selection in complex clinical cases.

This article discusses the achievements of pharmacogenomics in the field of health care and personalized medicine. Also, this review summarizes information about pharmacogenomics and modern directions of pharmacogenetic testing, its clinical application, practical approaches, and aims to outline the problems and drawbacks of this method.

### Technical features of pharmacogenetic testing

Pharmacogenetic testing (PT) consists in determining the genetic characteristics of patients in order to select an effective drug, its effective dose and determine the treatment regimen. It should be noted that PT has been available for clinical use for about 20 years. A variety of PT platforms can be used in a physician's office and can be broadly divided into two categories – genotyping-based tests and sequencing-based tests.

Genotyping-based tests identify specific gene variants that are associated with a particular drug response and predict the phenotype of the patient/subject based on the identified genotype of the patient/subject. The use of such tests is particularly effective for well-studied and common gene variants. The disadvantage is that the rate of such gene variants usually varies between populations. Therefore, the safety and efficacy of drug use may vary greatly depending on the ethno-geographic origin of the patient [5]. In addition, tests based on genotyping cannot detect gene variants that were not included in the original design of the test, which significantly reduces the ability to predict the efficacy of a specific drug. Another disadvantage is that the determination of the phenotype may be incorrect. For example, a patient/subject is tested for the CYP2C9 gene only for the rs1799853 variant (also known as the CYP2C9\*2 variant). The result of this test can determine the genotype \*1/\*1. However, this patient/subject is a carrier of the \*3/\*3 genotype for the rs1057910 variant of the CYP2C9 gene (also known as the CYP2C9\*3 variant), which is not included in the design of this PT. Therefore, this patient/subject will be erroneously identified as a «wild-type» carrier (or a carrier of the \*1/\*1 genotype) and, accordingly, will be predicted to be a «normal metabolizer,» i.e., to have an enzyme with normal activity [6].

Sequencing-based tests, on the other hand, can detect all variants anywhere in a sequenced region of a gene, including new ones not previously identified. The use of this type of test is particularly effective for highly variable genes. However, this type of test is characterized by a difficult interpretation of the results because the identified gene variants often have an unknown/conflicting effect on drug metabolism or are generally newly detected with uncertain effects. There may also be technical difficulties related to pseudogenes, gene conversion, etc. [7]. Another major disadvantage of sequencing-based PT is its high

cost. Nevertheless, the use of both types of tests in modern clinical practice for diagnostic and preventive purposes (in phenotypically healthy individuals with risk factors) is increasing.

It is clear that there are differences in the results of PT laboratories using different methods. However, you should be aware that results from laboratories using the same methods may differ. For example, laboratories using genotyping-based tests may identify different variants of the same gene. And laboratories using sequencing-based tests may sequence different regions of the same gene. Such a difference in laboratory results is not a false result of PT, but is related to the development of new modern testing methods and their lack of proper standardization [7].

### Time and the contingent for pharmacogenetic testing

In the past, testing was done only when a specific treatment was to be prescribed (in which case the test could become the basis for drug selection and dosing) or when the patient reported a specific adverse reaction to the drug in their medical history. Since such a PT is performed when a specific patient is referred and there is a need to prescribe certain medications, it is called a «point-of-care test» [8]. In this case, the timing of the test is very important. In most cases, the time required to perform PT in the laboratory is several days to several weeks. In some cases, such time frames are unacceptable for effective implementation in daily clinical practice. An example is the scheduling of the antiplatelet drug clopidogrel, which is based on the determination of variants of the CYP2C19 gene, where the patient's genotype must be known before starting therapy [9]. To solve this problem, biotech companies are developing special genotyping platforms that allow rapid analysis of samples directly at the point-of-care [10]. Despite the success of the use of such types of PT, certain problems remain, particularly regulatory and legal, due to their translation from scientific research to everyday clinical practice [9].

Preventive PT is therefore becoming more and more common. When it is performed, data on the presence of certain pharmacogenetic markers in the patient/subject are collected prospectively and stored for possible future use. Among the advantages of this type of PT are the following: the vast majority of patients are carriers of at least one effective genotype; a significant reduction in the burden on laboratories performing PT compared to the reactive strategy; savings in money and resources; PT results are immediately available at the point-of-care; there is less uncertainty in the indications for PT, which in turn will lead to the disappearance of barriers to the application of pharmacogenomics in clinical practice [9, 11]. Ideally, PT data will be included in the patient's electronic profile and will be available to physicians and pharmacists when prescribing a certain group of drugs. On the other hand, there is the question of the best time to perform PT. In particular, there is currently a lack of guidelines and protocols to help clinicians determine the indications for testing. Insurance coverage of preventive and reactive PT is also problematic, so this fact plays a significant role in medicine in developed countries

and may negatively influence a physician’s decision to perform PT [6].

The survey conducted showed a high interest of patients in pharmacogenetic testing [12]. According to the results of this survey, patients are particularly interested in receiving recommendations based on PT results to reduce side effects of drugs and choose the right therapy. However, the cost of testing, insurance coverage, and availability of test results are significant limitations [12]. Given the uncertainty of some issues related to PT, patients should be properly informed about all testing options.

In summary, PT allows: 1) identify drugs with an increased risk of causing side effects; 2) identify drugs with a narrow therapeutic index; 3) reduce the number of drugs

during treatment; 4) select the dosage of the drug [13]. At the same time, FT will be ineffective for predicting: 1) the occurrence of all possible side effects of the drug; 2) the risk of a specific side effect for all drugs, 3) the risk of complications [13]. That is, PT provides an opportunity to make a decision regarding the choice of a drug and the selection of a treatment strategy.

### Online sources

Due to the rapid emergence of innovative technologies in genetic medicine, it is important to obtain timely information regarding changes in testing recommendations or interpretation of PT results. This task can be facilitated by a number of modern Internet resources (Table 1).

**Table 1**

**The most popular internet sources in the pharmacogenetic sector**

| Name of the source, page URL  | Description  |
|---|--|
| The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC), <a href="https://cpicpgx.org/">https://cpicpgx.org/</a> | An international consortium specializing in the publication of genotyping-based drug use guidelines to help clinicians understand the potential of using available genetic test results for optimization of drug therapy   |
| The Genetic Testing Registry (GTR), <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/</a>   | A free resource that provides a comprehensive repository of comprehensive genetic testing information provided and maintained by laboratory providers  |
| The Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB), <a href="https://www.pharmgkb.org/">https://www.pharmgkb.org/</a>       | An online knowledge base responsible for aggregating, curating, integrating, and disseminating data on the impact of gene variants on human drug response.   |
| The Implementing GeNomics In pracTicE (IGNITE), <a href="https://gmkb.org/ignite-gdp/">https://gmkb.org/ignite-gdp/</a> | A network designed to improve the use of genomic medicine by supporting the incorporation of genomic information into clinical practice and exploring methods for effective implementation, dissemination and sustainability in a variety of clinical settings   |
| The Pharmacogenomics Clinical Annotation Tool (PharmCAT), <a href="https://pharmcat.org/">https://pharmcat.org/</a>     | A software tool for extracting variant recommendations from a genetic dataset (represented as vcf), interpreting variant alleles, and generating a report with genotype-based prescribing recommendations that can be used to inform patient treatment decisions.  |
| The Drug-Gene Interaction Database (DGIdb), <a href="https://www.dgldb.org/">https://www.dgldb.org/</a>                 | A web resource that provides drug-gene interaction information from publications, databases, and other web sources. Drug, gene, and interaction data are normalized and clustered into conceptual groups. The information contained in this resource is accessible to users through a simple search interface. |
| The Pharmacogene Variation Consortium (PharmVar), <a href="https://www.pharmvar.org/">https://www.pharmvar.org/</a>     | An international group of experts that supports a standardized system of nomenclature of genes included in PT.   |

In addition, there are lesser known, local resources. For example, the African-American Cardiovascular Pharmacogenomics Consortium (ACCOuNT), which aims to study the feasibility of implementing preventive PT in African Americans [14]. Maintaining and developing this type of resource can be a valuable tool for studying future or lesser-known pharmacogenetic interactions.

### How to choose the test?

Once the clinician has decided to order a PT, the next important step is to determine the type of test and select the appropriate clinical laboratory to perform the test [15].

Depending on the circumstances, internal testing may be available at the hospital, or PT may be performed at an external laboratory. Although medical geneticists are well aware of the genetic testing options available, for many physicians PT may be one of the first genetic tests they order. Therefore, one of the barriers to choosing the appropriate test may be finding information about testing options. Therefore, it is extremely important to create specific catalogs that include information about laboratories performing PT, their panels, methods, and testing timelines.

When testing for a specific indication, a patient may only need to be tested for one or a few genes. However, due to

cost reductions, it is possible to obtain a panel that provides information on many genes and may influence future therapy for about the same cost as testing a single gene. In this case, the physician must consider whether the panel includes the gene(s) needed, whether the patient's insurance covers both options equally, whether the two tests are equivalent (i.e., whether the panel includes the same options as the single-gene test), and the patient's personal preference. It should also be noted that the PT gene panel may be more expensive than the single-gene test, but it ensures that concomitant medications are taken into account.

The gene panels used in PT are very diverse and are usually grouped into a specific category. Most panels include a few of the best-studied and «most powerful» genes. The panel may contain combinations of single nucleotide variants of genes selected as a result of some prospective study review. It is worth noting that a panel containing many genes may not necessarily be relevant to the patient, as not all variants have the same clinical significance. Some gene variants included in the panel may be extremely rare outside of certain populations, but may be quite common in others. For example, the HLA-B\*15:02 variant, which is associated with an increased risk of serious adverse events in patients prescribed carbamazepine, has an allele frequency of 0.04 % in Europeans and 6.88 % in patients of East Asian origin [16]. Therefore, the panel will be more useful to the patient if it analyzes gene variants that more closely match the patient's ethnicity.

In addition to the content of the panel, the type of biomaterial tested (buccal swabs, saliva, blood, etc.) should be considered, as the method of collection may pose a problem for the patient. Access to the results and the methods used to obtain them are also factors to consider, as some panels only provide raw genetic data. Finally, the potential cost of testing should be considered.

### Interpretation of the results of pharmacogenetic testing

As mentioned above, another potential source of difficulty is the lack of standardization in the expression of results. Some laboratories may report only the identified genotypes and phenotypes, while others may also provide a list of drugs affected by the specific identified genotypes (with or without dosage recommendations). However, such pharmacogenomic reports may contain more than 300 drugs, which are categorized according to the risk of adverse effects or lack of efficacy for the patient: «red» (high risk), «yellow» (moderate risk), or «green» (low risk) [6]. And based on how the drug is metabolized, a patient's phenotype may indicate a higher risk of toxicity or potential lack of efficacy. At first glance, this drug grouping system seems very simple, but it may not provide all the information a clinician needs to make clinical decisions. It is also important for the clinician to be aware that PT is prognostic only on the basis of genetic findings and that other variables such as concomitant medications, diet, liver and kidney function, etc. may also be important or even override the influence of the genetic component in predicting drug response. Therefore, if the «best» drug is determined by PT, this does not necessarily mean that it should be used in therapy, since the patient's

history may show serious adverse reactions to the drug. Conversely, the identification of an increased risk of adverse reactions by PT should not lead to discontinuation of therapy if the current therapy is effective.

Depending on the gene being tested, different algorithms can be used to generate results [17]. Some gene variants can be described in terms of metabolic activity, some in terms of general function, and others only as present or absent. Results for gene variants can also be reported as normal, intermediate, or low function for the corresponding gene. For example, «normal gene function» indicates that a change in the patient's dosage regimen is not necessary. In other cases (reduced or intermediate function), the physician's recommendations are based on information about reduced functional activity (or complete inactivity) of the genes analyzed.

The way results are presented can vary widely from one report to another. Results may be presented either as raw genetic data or as a definitive therapeutic recommendation. As we can see, different ways of presenting information are used in the report, so special awareness should be present to correctly interpret the results obtained.

### Clinical decision support systems

The major result of the development of genomic and post-genomic technologies has been a significant expansion in the ability to study the genetic nature of the entire spectrum of human disease. Genome-wide association studies (GWAS) of clinical samples have collected data on the genetic composition characteristic of specific groups (families or populations), which has contributed to the development of a personalized approach to treatment. In this context, the study of the mechanisms of genetic susceptibility to multifactorial diseases and the identification of specific genetic markers are of particular importance today.

Next-generation sequencing (NGS) is used to read genetic material in depth, as required for re-sequencing and assembly of de novo genomes, transcriptomes, and epigenomic studies. This method allows the detection of rare variants and a better understanding of genetic function. However, the avalanche of new data will also challenge researchers and clinicians, providing many «variants of unknown significance» in the absence of clear guidance.

Pharmacogenetic clinical decision support systems (CDSS) are computer-based systems that assist healthcare providers in prescribing medications at the point of care. These systems provide physicians and other healthcare providers with appropriately filtered pharmacogenetic information, such as drug-gene interaction alerts or patient-specific treatment recommendations. A pharmacogenetic CDSS can either be integrated into a local hospital information system or used as a stand-alone application such as a web service or mobile application [18]. In addition, pharmacogenetic CDSSs can provide passive or active clinical decision support. Active CDSSs include rules and alerts. For example, an alert may occur because a patient is prescribed a high-risk drug and there is an indication for PT before the drug is administered. Passive CDSSs require the user to actively search for information, such as pressing



a button or opening a report on a particular clinical case [19]. Changes to the CDSS are needed to support the storage and use of the new data architecture and new data access applications.

Several health systems are using CDSS tools to integrate data from pharmacogenetic studies into medical decision making and to provide information to end users [20]. CDSS systems can be used to introduce high-risk medications and provide automated recommendations on why certain changes should be made to a selected medication or dose. Similar information systems are already being actively used in allergology [21].

Raising awareness among physicians and patients can stimulate the use of PT. Laboratories, in turn, will adjust the number and type of tests available based on clinical needs. As a result of significant achievements in oncology, microbiology and other fields, the level of development of multigene panel tests is expected to increase. However, appropriate clinical use of PT results is more complex and will require the support and involvement of multiple stakeholders.

### **The main problems of the pharmacogenetic testing implementation**

#### **Training of specialists.**

The scope of PT is primarily determined by the willingness and ability of healthcare professionals to use it. It should be noted that most clinicians are still not confident in PT and the subsequent interpretation of data, which can be explained by insufficient knowledge in this area. Insufficient awareness of the potential of PT among practicing physicians and poor or inadequate explanation of test results hinder the development of a personalized approach to the patient. In addition to the development of programs of thematic training courses at medical universities, it is necessary to include educational events in the systems of continuing professional education, free publication of information for practicing physicians. A clinical pharmacologist plays a crucial role in the implementation of pharmacogenetic testing due to his multidisciplinary training [22]. The competence of a clinical pharmacologist in the field of pharmacogenetics is crucial: this specialist organizes the use of PT in clinical practice, interprets test results, informs doctors about the possibilities of using PT for patients with certain nosological forms [23].

#### **Quality of evidence and clinical relevance.**

Many pharmacogenetic biomarkers have weak or conflicting associations with treatment outcomes [24]. For example, a study by Porcelli et al. found a statistically significant effect of the 5-HTTLPR gene variant on the efficacy of antidepressant use, but the strength of this effect (estimated by the OR value) was not significant [25].

Randomized controlled trials (RCTs) are considered the highest quality studies, but they are not always necessary for pharmacogenetic studies. For example, it is known that the presence of a variant of the CYP2D6 gene is dangerous for the life of infants whose mothers used codeine [26]. It is clear that in this type of research (when the effect of the gene variant studied on the development of toxic reactions is known), an observational «case-control» study is a more ethical design.

Many companies or clinical laboratories offer PT. They routinely test for hundreds of gene variants and provide information on gene-drug associations. However, the level of evidence used to report gene-drug associations is often inadequate. Companies limit the value of the tests by reporting only the number of studies that found an association between a gene variant and drugs, omitting important study details (number of patients, their age composition, the strength of the association found, etc.). In addition, reporting conflicting results without assessing the quality of each study also reduces the relative value of PT.

#### **Life-threatening adverse drug reactions.**

The low incidence of serious and life-threatening side effects poses another problem for the implementation of PT. Finally, it may be difficult to enroll a sufficient number of cases in the clinical trial to determine clinically relevant biomarkers.

Differences in gene variant frequencies between populations mean that PT must also account for this potential variability. In different countries, a different variant within the same gene may be significant for a particular drug. This, in turn, may affect regulatory actions in the healthcare systems of different countries around the world. For example, in Thailand, HLA-B\*15:02 testing is publicly funded prior to the prescription of carbamazepine [27]. In most European countries, the cost of this type of genotyping is not covered by government programs due to the low frequency of this variant in patients.

#### **Economic aspects of pharmacogenetic testing.**

Until recently, PT was expensive, often ranging from hundreds of dollars to over \$ 1,000 for single gene tests and up to thousands of dollars for gene panels. As a result, widespread drug prescription based on PT results was not possible due to cost. However, rapid advances in technology have greatly reduced the cost of testing, and today gene panels are becoming increasingly accessible to patients. The transition from reactive to preventive testing has begun. Developments and improvements in technology, as noted above, have also helped to reduce the time required to perform PT, so that test results can be obtained before therapy is prescribed.

A Food and Drug Administration (FDA) review of the economic evaluation of PT showed that 57 % of the tests were cost-effective: 30 % at acceptable incremental cost and 27 % at low cost [28]. Of course, the cost-effectiveness of using PT also depends on the specific country, such as the health care economy of the country in which this testing is performed, as well as the prevalence of specific pharmacogenetic biomarkers in the country's population.

For successful implementation of PT, it is important to assess the economics in each country to find the optimal strategy. Yes, PT with reliable evidence can be reimbursed by health insurance companies. Economic evaluations usually consider cost-effectiveness based on the possible number of patients with the relevant pharmacogenetic variant. However, in the case of serious effects that can be caused by the use of drugs, the knowledge that the patient is not at increased risk for such a reaction also provides a particularly high value and should be taken into account.

At the same time, despite the positive results of pharmacoeconomic studies, where the use of PT allowed

to reduce the cost of treatment by decreasing the amount of money spent on correcting the consequences of therapy ineffectiveness or unwanted side effects, not all insurance companies and health care systems are ready to include genotyping in their programs.

#### **Storage and use of results.**

With the widespread use of preventive PT comes the problem of long-term storage and use of the results. The primary goal of preventive testing is to obtain results that can be used to prescribe medications in the future. For this approach to be effective, the clinician who will use the results must know that the patient has already been tested and have access to the results. This problem can often be overcome by entering the results into an appropriate electronic database, but the process can be complicated when results from multiple testing laboratories are used and entered due to differences in testing and reporting formats [6]. Therefore, future use of the results will depend on their manual entry into the electronic medical record, and then the physician will have to find the entered data by hand among all the other patient notes and test results. Another problem is that patients can change their place of residence and therefore their health care system during their lifetime, making it impossible for electronic health records from different countries to interact. Other mechanisms for data transfer are also being explored – QR codes, PT «cards,» portals, etc. [29], but they require direct patient involvement and responsibility.

#### **Prescribing medicines to pregnant women.**

A large number of women take medication during pregnancy, and their use increases over time: according to recent data, 93.9 % of pregnant women took at least one medication (excluding vitamins) during pregnancy [30]. Concerns about the use of drugs during pregnancy became widespread after the identification of unexpected side effects of thalidomide and diethylstilbestrol [31]. When the teratogenic effects of these drugs became apparent, the FDA developed guidelines to protect women of reproductive age from adverse effects during clinical trials. However, the participation of pregnant women in research is still inadequate. For example, Scaffidi et al. conducted a global analysis of clinical trials and found that only 0.32 % of all active clinical trials were trials of drugs for pregnancy [32], with less than 6 % of these trials focusing on maternal or fetal health as a specific primary outcome.

Since there are often no recommendations for the dosage of medications for pregnant women, physicians are often forced to prescribe medications by trial and error. The risk-benefit ratio of drugs in pregnant women is often incorrectly assessed, since only the effect of drugs is evaluated, whereas the consequences of untreated disease for the health of the woman and the fetus must also be taken into account. When discussing the participation of pregnant women in pharmaceutical research, it should be kept in mind that the real trade-off is between the risk of the research and the decision of pregnant women's physicians to treat them based on limited or no information. A number of research opportunities can help to bridge this gap by increasing the quantity and quality of information available to pregnant women and their physicians about the use of medications during pregnancy. In addition, post-marketing surveillance

and pregnancy registries can provide real-world data on the use of certain medications during pregnancy.

In vitro models provide a convenient system to study the possibility of pregnancy-specific metabolic effects and to understand the mechanisms underlying pharmacokinetic changes during pregnancy. Recently, mathematical physiological pharmacokinetic modeling has been increasingly used in the context of pregnancy [33]. Despite significant shortcomings, it is hoped that the availability of in vitro data and clinical trials will improve the quality of these prognostic models and ultimately play a role in improving drug therapy for pregnant women.

#### **Approaches to the implementation of pharmacogenetic testing in pediatrics.**

Implementation of PT recommendations into routine practice requires carefully coordinated strategies at the national, regional, and institutional levels. Guidelines on the needs for pediatric PT and strategies for its implementation should not necessarily be separated from the work of consortia engaged in developing approaches for adult patients [34]. There are clear advantages to integrating pediatric PT into national approaches, rather than postponing it to future years, to avoid unnecessary delays in realizing the true benefits of pharmacogenomics for children.

It is necessary that the implementation of pediatric PT in each country should be based on evidence, experience and scientific validation of the results obtained. The national program of PT should be continuously monitored for the achievement of clinically significant outcomes with an evaluation of established success and cost-effectiveness indicators. Rapid exchange of information through peer-reviewed publications and pediatric PT databases will enable collaborative development of adaptive implementation models applicable to different health care systems. The approach to the use of PT should take into account the specifics of prescribing in pediatrics in each country. It is important to continue to share experiences between countries to ensure that the benefits of PT in pediatrics are available worldwide. The importance of promoting implementation among medical students should be considered and included in planned educational strategies.

#### **Conclusions**

The introduction of PT will inevitably stimulate the development of data storage and analysis methods necessary for the integration of modern information technologies into routine clinical practice. However, improving digital information processing systems and increasing the volume and availability of databases is not the only issue in integrating genetic testing into health care. This, in turn, requires changes in the interaction between the patient and the health care system, since the ultimate goal is the patient's recovery or disease control, regardless of the laboratory methods and data analysis technologies used. In other words, treatment should take into account both the patient's needs and the results of the tests obtained. Today, pharmacogenetics is still in its infancy. A considerable amount of experimental, but mainly pilot, research has already been conducted in this field. However, the generalization of these data is still lacking, making it difficult to explain the observed

correlations between the presence of a single gene variant and epigenetic factors, disease severity, and resistance to therapy. To date, pharmacogenetics provides mosaic information on the association between drug response and genetic background. It is expected that the next step will be a study in a larger group of participants to investigate the contribution of epigenetic factors and to provide clinical recommendations for adjusting or selecting therapy based on the personal characteristics of the patient. Nevertheless,

the field of pharmacogenetics is actively developed and discussed.

**Conflict of interest disclosure.** The authors of the article have no conflict of interest related to the publication of the article.

**Funding information.** The article was written and published without any financial support.

## References:

- Vogel F. *Moderne Probleme der Humangenetik*. In: Heilmeyer L, Schoen R, de Rudder B, editors. *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*. Vol 12. Berlin, Heidelberg: Springer; 1959. p. 52-125. doi: 10.1007/978-3-642-94744-5\_2
- Hassan R, Allali I, Agamah FE, Elsheikh SSM, Thomford NE, Dandara C, et al. Drug response in association with pharmacogenomics and pharmacomicrobiomics: towards a better personalized medicine. *Brief Bioinform* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 10];22(4): bbaa292. Available from: <https://academic.oup.com/bib/article-pdf/22/4/bbaa292/39136767/bbaa292.pdf> doi: 10.1093/bib/bbaa292
- Derzhavnyi ekspertnyi tsentr MOZ Ukrainy [Internet]. 2023 [tsytovano 2023 Lys 10]. Dostupno: <https://www.dec.gov.ua/> (In Ukrainian)
- Kompendium. Klinichna nastanova «Kontrol' bezpeky sertsevo-sudynnykh likars'kykh zasobiv pry yikh zastosuvanni» [Clinical guideline «Monitoring the safety of cardiovascular drugs in their use»] [Internet]. 2009[tsytovano 2023 Lys 10] Dostupno: <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/cardiology-uk/section-6-uk/glava-6-kontrol-bezpeki-sertsevo-sudinnih-likarskih-zasobiv-pri-yih-zastosuvanni/> (In Ukrainian)
- Zhou Y, Lauschke VM. Population pharmacogenomics: an update on ethnogeographic differences and opportunities for precision public health. *Hum Genet*. 2022;141(6):1113-36. doi: 10.1007/s00439-021-02385-x
- Moyer AM, Caraballo PJ. The challenges of implementing pharmacogenomic testing in the clinic. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2017;17(6):567-77. doi: 10.1080/14737167.2017.1385395
- Caudle KE, Keeling NJ, Klein TE, Whirl-Carrillo M, Pratt VM, Hoffman JM. Standardization can accelerate the adoption of pharmacogenomics: current status and the path forward. *Pharmacogenomics*. 2018;19(10):847-60. doi: 10.2217/pgs-2018-0028
- Obeng AO, Samwald M, Scott SA. Reactive, Point-of-Care, Preemptive, and Direct-to-Consumer Pharmacogenomics Testing. In: Lam F, Scott SA, editors. *Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation*. 2nd ed. Academic Press; 2019. p. 369-84. doi: 10.1016/B978-0-12-812626-4.00013-9
- Collet JP, Hulot JS, Anzaha G, Pena A, Chastre T, Caron C, et al. High doses of clopidogrel to overcome genetic resistance: the randomized crossover CLOVIS-2 (Clopidogrel and Response Variability Investigation Study 2). *JACC Cardiovasc Interv*. 2011;4(4):392-402. doi: 10.1016/j.jcin.2011.03.002
- Abul-Husn NS, Owusu Obeng A, Sanderson SC, Gottesman O, Scott SA. Implementation and utilization of genetic testing in personalized medicine. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014;7:227-40. doi: 10.2147/PGPM.S48887
- Van Driest SL, Shi Y, Bowton EA, Schildcrout JS, Peterson JF, Pulley J, et al. Clinically actionable genotypes among 10,000 patients with preemptive pharmacogenomic testing. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;95(4):423-31. doi: 10.1038/clpt.2013.229
- Gawronski BE, Cicali EJ, McDonough CW, Cottler LB, Duarte JD. Exploring perceptions, knowledge, and attitudes regarding pharmacogenetic testing in the medically underserved. *Front Genet* [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 10];13:1085994. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2022.1085994/full> doi: 10.3389/fgene.2022.1085994
- Wake DT, Ilbawi N, Dunnenberger HM, Hulick PJ. Pharmacogenomics: Prescribing Precisely. *Med Clin North Am*. 2019;103(6):977-90. doi: 10.1016/j.mcna.2019.07.002
- The University of Chicago. Center for Personalized Therapeutics [Internet]. 2023[cited 2023 Nov 10]. Available from: <https://cpt.uchicago.edu>
- Vo TT, Bell GC, Owusu Obeng A, Hicks JK, Dunnenberger HM. Pharmacogenomics Implementation: Considerations for Selecting a Reference Laboratory. *Pharmacotherapy*. 2017;37(9):1014-22. doi: 10.1002/phar.1985
- Phillips EJ, Sukasem C, Whirl-Carrillo M, Müller DJ, Dunnenberger HM, Chantratita W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for HLA Genotype and Use of Carbamazepine and Oxcarbazepine: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;103(4):574-81. doi: 10.1002/cpt.1004
- Caudle KE, Dunnenberger HM, Freimuth RR, Peterson JF, Burlison JD, Whirl-Carrillo M, et al. Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC). *Genet Med*. 2017;19(2):215-23. doi: 10.1038/gim.2016.87
- Hinderer M, Boeker M, Wagner SA, Lablans M, Neue S, Hülsemann JL, et al. Integrating clinical decision support systems for pharmacogenomic testing into clinical routine – a scoping review of designs of user-system interactions in recent system development. *BMC Med Inform Decis Mak* [Internet]. 2017[cited 2023 Nov 10];17(1):81. Available from: <https://bmcmmedinformdecismak.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s12911-017-0480-y.pdf> doi: 10.1186/s12911-017-0480-y
- Blagec K, Koopmann R, Crommentuijn-van Rhenen M, Holsappel I, van der Wouden CH, Konta L, et al. Implementing pharmacogenomics decision support across seven European countries: The Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx) project. *J Am Med Inform Assoc*. 2018;25(7):893-8. doi: 10.1093/jamia/ocy005
- Krebs K, Milani L. Translating pharmacogenomics into clinical decisions: do not let the perfect be the enemy of the good. *Hum Genomics* [Internet]. 2019[cited 2023 Nov 10];13(1):39. Available from: <https://humgenomics.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s40246-019-0229-z.pdf> doi: 10.1186/s40246-019-0229-z
- Bousquet J, Anto JM, Bachert C, Haahtela T, Zuberbier T, Czarlewski W, et al. ARIA digital anamorphosis: Digital transformation of health and care in airway diseases from research to practice. *Allergy*. 2021;76(1):168-90. doi: 10.1111/all.14422
- Grisafi D, Ceschi A, Avalos Clerici V, Scaglione F. The Contribution of Clinical Pharmacologists in Precision Medicine: An Opportunity for Health Care Improvement. *Curr Ther Res Clin Exp* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 10];94:100628. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011393X21000060?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.curtheres.2021.100628

23. Klein ME, Parvez MM, Shin JG. Clinical Implementation of Pharmacogenomics for Personalized Precision Medicine: Barriers and Solutions. *J Pharm Sci.* 2017;106(9):2368-79. doi: 10.1016/j.xphs.2017.04.051
24. Chang WC, Tanoshima R, Ross CJD, Carleton BC. Challenges and Opportunities in Implementing Pharmacogenetic Testing in Clinical Settings. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2021;61:65-84. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-030920-025745
25. Porcelli S, Fabbri C, Serretti A. Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with antidepressant efficacy. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2012;22(4):239-58. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.10.003
26. Sistonen J, Madadi P, Ross CJ, Yazdanpanah M, Lee JW, Landsmeer ML, et al. Prediction of codeine toxicity in infants and their mothers using a novel combination of maternal genetic markers. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91(4):692-9. doi: 10.1038/clpt.2011.280
27. Kloypan C, Koomdee N, Satapornpong P, Tempark T, Biswas M, Sukasem C. A Comprehensive Review of HLA and Severe Cutaneous Adverse Drug Reactions: Implication for Clinical Pharmacogenomics and Precision Medicine. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 2021[cited 2023 Nov 10];14(11):1077. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8247/14/11/1077> doi: 10.3390/ph14111077
28. Verbelen M, Weale ME, Lewis CM. Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: are we there yet? *Pharmacogenomics J.* 2017;17(5):395-402. doi: 10.1038/tj.2017.21
29. Sukasem C, Chantratita W. A success story in pharmacogenomics: genetic ID card for SJS/TEN. *Pharmacogenomics.* 2016;17(5):455-8. doi: 10.2217/pgs-2015-0009
30. Mitchell AA, Gilboa SM, Werler MM, Kelley KE, Louik C, Hernández-Díaz S, et al Medication use during pregnancy, with particular focus on prescription drugs: 1976-2008. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;205(1):51.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2011.02.029
31. Heyrana K, Byers HM, Stratton P. Increasing the Participation of Pregnant Women in Clinical Trials. *JAMA.* 2018;320(20):2077-8. doi: 10.1001/jama.2018.17716
32. Scaffidi J, Mol BW, Keelan JA. The pregnant women as a drug orphan: a global survey of registered clinical trials of pharmacological interventions in pregnancy. *VJOG.* 2017;124(1):132-40. doi: 10.1111/1471-0528.14151
33. Pinheiro EA, Stika CS. Drugs in pregnancy: Pharmacologic and physiologic changes that affect clinical care. *Semin Perinatol* [Internet]. 2020[cited 2023 Nov 10];44(3):151221. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0146000520300021?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.semper.2020.151221
34. Barker CIS, Groeneweg G, Maitland-van der Zee AH, Rieder MJ, Hawcutt DB, Hubbard TJ, et al. Pharmacogenomic testing in paediatrics: Clinical implementation strategies. *Br J Clin Pharmacol.* 2022;88(10):4297-310. doi: 10.1111/bcp.15181

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ: ВІД ТЕОРІЇ ДО ПРАКТИКИ В ПЕРИНАТОЛОГІЇ ТА ПЕДІАТРІЇ

*О. О. Скавінська<sup>1</sup>, Ю. І. Чернявська<sup>2</sup>, Л. Є. Фішук<sup>1</sup>, В. І. Похилько<sup>2</sup>, О. Г. Євсєнкова<sup>3</sup>, З. І. Россоха<sup>1</sup>*

ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України»<sup>1</sup>

(м. Київ, Україна),

Полтавський державний медичний університет<sup>2</sup>

(м. Полтава, Україна),

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика<sup>3</sup>

(м. Київ, Україна)

### Резюме.

Фармакогенетичне тестування (ФТ) – сучасний інструмент у практиці лікаря, який робить можливим прийняття правильного клінічного рішення у складних випадках при відсутності очікуваного результату від вжитих лікувальних заходів. Зрозуміло, що так само, як цілий ряд захворювань, запрограмованими генетично є і певні метаболічні процеси людського організму. Тому, незважаючи на велику кількість нез'ясованих механізмів індивідуальної реакції на лікарські засоби, генетичне тестування займає одну з провідних позицій серед методів підбору медикаментозної терапії у складних клінічних випадках.

Проте для успішного впровадження цього перспективного методу необхідно подолати цілу низку перешкод, серед яких – лімітованість доказів ефективності, етичні, юридичні і соціальні фактори. Метою даного огляду є висвітлення сучасних концепцій та практичних аспектів використання ФТ. У статті розглянута проблематика розширення показань до ФТ, коли воно не обмежується лише превентивним застосуванням. ФТ дозволяє ідентифікувати препарати з підвищеним ризиком спричинення побічних ефектів, визначити ліки з вузьким терапевтичним індексом, зменшити кількість лікарських засобів при лікуванні, підібрати дозування препарату. У практиці лікаря можуть використовуватися різноманітні платформи ФТ, які, в основному, можна поділити на дві категорії – тести на основі генотипування та секвенування. В залежності від того, який ген тестується, можуть бути використані різні алгоритми побудови результатів. Деякі варіанти генів можна описати з точки зору метаболічної активності, деякі – за їхньою загальною функцією, а інші – лише як присутні або відсутні. Результати для варіантів генів також можна повідомити у вигляді нормальної, проміжної або низької функції відповідного гена. Фармакогенетичні клінічні системи підтримки прийняття рішень (Pharmacogenetic Clinical Decision Support Systems, CDSS) – це комп'ютерні системи, які допомагають постачальникам медичних послуг призначати ліки на місці надання медичної допомоги. Ці системи надають лікарям та іншим постачальникам медичних послуг належним чином відфільтровану фармакогенетичну інформацію, таку як попередження про взаємодію варіантів генів з ліками або рекомендації щодо лікування для конкретного пацієнта. Фармакогенетичну CDSS можна або інтегрувати в локальну лікарняну інформаційну систему, або використовувати як окрему програму, таку як веб-сервіс або мобільний додаток. Фармакогенетика може збільшити кількість та якість інформації, доступної вагітним жінкам та їхнім лікарям про застосування лікарських засобів під час вагітності. Впровадження рекомендацій з ФТ в рутинну педіатричну практику вимагає ретельно скоординованих стратегій на національному, регіональному рівнях і в медичних установах. Поки що фармакогенетика надає мозаїчну інформацію, пов'язану з асоціацією між відповіддю на медикаментозну терапію залежно від генетичного фону. Очікується, що наступним етапом буде дослідження на більшій групі учасників, вивчення внеску епігенетичних факторів, і надання клінічних рекомендацій для коригування або вибору терапії на основі особистих характеристик пацієнта.

**Ключові слова:** фармакогенетичне тестування; генотипування; секвенування; клінічні системи прийняття рішень; вагітні жінки і діти.

**Contact Information:**

**Skavinska Oleksandra** – biologist in a State Institution «Reference-center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine» (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** skavinskaa1234@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0003-7506-8384>

**Yuliia Cherniavska** – PhD, associate professor, associate professor of Pediatrics Department № 1 with Propaedeutics and Neonatology of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine).

**e-mail:** yu.cherniavska@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0002-4522-7538>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/IAP-0661-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57031925700>

**Liliia Fishchuk** – PhD, biologist in a State Institution «Reference-center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine» (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** medgen@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9999-7389>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZA-5082-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56049055200>

**Valeriy Pokhylko** – Doctor of Medical Science, PhD, MD, Professor, Vice-rector in scientific-pedagogical and educational work, Professor of Pediatrics Department № 1 with Propaedeutics and Neonatology of the Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine).

**e-mail:** v.i.pokhylko@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1848-0490>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/H-6284-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36621271200>

**Olena Yevseienkova** – PhD, associate professor of the Department of Medical and Laboratory Genetics of the Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9315-6108>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/471809>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6504040771>

**Zoia Rossokha** – PhD, director of State Institution «Reference-center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine» (Kyiv, Ukraine)

**e-mail:** zoiroh071@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4767-7364>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/792854>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36621241300>

**Контактна інформація:**

**Скавінська Олександра Олександрівна** – біолог державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України» (м.Київ, Україна)

**e-mail:** skavinskaa1234@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0009-0003-7506-8384>

**Чернявська Юлія Ігорівна** – кандидат медичних наук, доцент, доцент закладу вищої освіти кафедри педіатрії № 1 з пропедевтикою та неонатологією Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

**e-mail:** yu.cherniavska@pdmu.edu.ua

**ORCID ID:** <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0002-4522-7538>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/IAP-0661-2023>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57031925700>

**Фіщук Лілія Євгенівна** – кандидат біологічних наук, біолог державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України» (м.Київ, Україна)

**e-mail:** medgen@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9999-7389>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZA-5082-2022>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=56049055200>

**Похилько Валерій Іванович** – доктор медичних наук, професор, проректор з науково-педагогічної та виховної роботи, професор кафедри педіатрії № 1 з пропедевтикою та неонатологією Полтавського державного медичного університету (м. Полтава, Україна).

**e-mail:** v.i.pokhylko@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1848-0490>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/H-6284-2017>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36621271200>

**Євсєєнкова Олена Геннадіївна** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри медичної та лабораторної генетики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м.Київ, Україна)

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-9315-6108>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/471809>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=6504040771>

**Россоха Зоя Іванівна** – кандидат медичних наук, директор державного закладу «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України» (м.Київ, Україна)

**e-mail:** zoiroh071@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-4767-7364>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/792854>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=36621241300>



Received for editorial office on 13/07/2023

Signed for printing on 10/10/2023

## ВИПАДКИ З ПРАКТИКИ

УДК: 616.155.194-053.31-036-08

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.21

КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК ВАЖКОЇ АНЕМІЇ  
У НОВОНАРОДЖЕНОЇ ДИТИНИ

*О. М. Горбатюк*<sup>1</sup>, *К. Т. Берцун*<sup>2</sup>,  
*О. С. Рубіна*<sup>2</sup>, *А. І. Сасюк*<sup>2</sup>, *О. Г. Мазур*<sup>2</sup>,  
*О. О. Лукіянець*<sup>2</sup>

Національний університет охорони здоров'я України  
імені П. Л. Шупика<sup>1</sup> (м. Київ, Україна), Вінницький  
національний університет імені М. І. Пирогова<sup>2</sup>  
(м. Вінниця, Україна)

### Резюме

**Мета роботи** – на власному клінічному досвіді спостереження та лікування новонародженої дитини з важкою анемією, спричиненою важкою пологовою травмою, продемонструвати складність діагностики та лікувальної тактики даної патології.

**Матеріал та методи дослідження.** Основою дослідження є аналіз обстеження та лікування новонародженої дитини з важкою анемією, спричиненою пологовою травмою. Комплекс діагностичних заходів включав клініко-лабораторні методи, променеві (рентгенографія та спіральна комп'ютерна томографія), ультразвукові дослідження.

**Результати дослідження.** Комплексне лікування дитини з важкою анемією призвело до значного поліпшення стану пацієнта, що дало можливість виписати дитину зі стаціонару у віці одного місяця. Враховуючи можливі етіологічні та патогенетичні чинники анемії у новонароджених дітей, були виключені вроджені порушення гемостазу. З метою дообстеження проведено СКТ з контрастним підсиленням, під час якого виявлено ознаки забою з субкапсулярною гематомою латерального краю правої частки печінки, забою з субкапсулярною гематомою латерального краю правої нирки, забою з гематомою правого наднирника, на момент обстеження без накопичення контрасту, з ознаками гемолізу гематом правої нирки та правого наднирника. За результатами рентгенологічного обстеження ОГК виявлено напружений правобічний гідропневмоторакс, що стало прямим показом до проведення невідкладного хірургічного лікування. Основні лікувальні заходи включали наступні кроки: консервативна терапія – корекція анемії та гемостазу, хірургічне лікування. Інтраопераційних та післяопераційних ускладнень не було.

### Висновки.

1. У разі виявлення важкої анемії у новонародженої дитини, необхідно виключати джерела кровотечі, а саме: вроджені порушення гемостазу та наслідки пологової травми.
2. За наявності у пацієнта наслідків пологової травми, необхідно визначити пріоритетний напрямок лікування (консервативне, оперативне, комбіноване).
3. Консервативне лікування важкої анемії у новонароджених дітей має включати інфузію препаратів, що корегують гемостаз та анемію.
4. Невідкладна хірургічна допомога має виконуватися при недостатності або відсутності ефективності консервативного лікування; з метою стабілізації гемодинаміки, а також для усунення наслідків супутньої патології.

**Ключові слова:** новонароджена дитина, анемія, пологова травма.

### Вступ

Патофізіологія анемії багатофакторна, анемія не є нозологічною одиницею, а поява її може свідчити про наявність патологічного процесу в організмі дитини. Як правило, діагноз анемії у дітей встановлюється на підставі зниженого рівня гемоглобіну у загальному аналізі крові [1]. Факторами ризику для виникнення анемії у новонародженого можуть бути акушерські причини втрати крові, включаючи вади розвитку плаценти та пуповини, а саме: відшарування плаценти, передлежання плаценти, розрив її під час кесарського розтину, розрив аномальних судин, гематома пуповини, розрив пуповини [2-4]. Прихована втрата крові може бути обумовлена фето-материнською трансфузією, яка зустрічається у 8 % всіх вагітностей. Фето-плацентарна трансфузія пов'язана з хоріоангіомою або хоріокарциномою з плацентарною гематомою, підніманням новонародженого над плацентою під час кесарського розтину, обвиттям пуповини навколо шиї [5]. Кровотеча в ранньому неонатальному періоді частіше

асоційована з недоношеністю, сідничним передлежанням, стрімкими пологами, гіпоксією плода, масивною кефалогематомою, ретроперитонеальною кровотечею, розривом печінки чи селезінки, наднирковою чи нирковою кровотечею, шлунково-кишковою кровотечею та кровотечею з пупка [6]. Причиною анемії може бути надмірний гемоліз еритроцитів, обумовлений імунологічною несумісністю по еритроцитарним антигенним системам та спадковим дефектом мембран еритроцитів. Набутий гемоліз пов'язаний з інфекційною патологією, дисемінованим внутрішньосудинним згортанням та іншими рідкісними причинами (кавернозна гемангіома, стеноз ниркової артерії, коарктація аорти, дефіцит вітаміну Е) [7, 8].

Діагностичний алгоритм анемії новонароджених дітей має включати: сімейний та акушерський анамнез, клінічне обстеження (симптом «білої плями», артеріальна гіпотензія, ознаки порушеної мікроциркуляції – симптоми гіповолемічного шоку), дані лабораторних та інструментальних методів дослідження.

Новонародженій дитині з симптомами анемії та/або зниженням рівня гемоглобіну до значень, що вимагають корекції, для досягнення цільового рівня гемоглобіну рекомендується гемотрансфузія еритроцитовмісних компонентів крові з одночасним застосуванням препаратів для корекції гемостазу з урахуванням потреби у проведенні респіраторної терапії [9-11].

Мета роботи – на власному клінічному досвіді спостереження та лікування новонародженої дитини з важкою анемією, спричиненою важкою пологовою травмою, продемонструвати складність діагностики та лікувальної тактики даної патології.

Матеріал та методи дослідження. В основу дослідження покладено аналіз обстеження та лікування новонародженої дитини з важкою анемією, спричиненою пологовою травмою. Дитина перебувала на стаціонарному лікуванні в умовах двох відділень Комунального некомерційного підприємства «Вінницька обласна клінічна дитяча лікарня Вінницької обласної Ради» (м. Вінниця, Україна) – відділення анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених дітей, відділення патології новонароджених дітей та недоношених новонароджених дітей.

Комплекс діагностичних заходів включав:

1. Оцінку стану дитини та клініко-лабораторні дослідження (загальний аналіз крові, загальний аналіз сечі, біохімічні дослідження крові, кислотно-лужний стан, бактеріологічні дослідження посівів з очей, носу, пупкового залишку, мокротиння тощо).

2. Рентгенологічні методи (оглядова рентгенографія органів грудної та черевної порожнин, спіральна комп'ютерна томографія з контрастним підсиленням).

3. Ультразвукові дослідження та доплерографію (нейросонографію, ехокардіографію, доплерографію судин серця, ультразвукове дослідження органів черевної порожнини та заочеревинного простору).

Клінічний випадок.

Дитина У. (дівчинка) народилася 12.02.2023 о 22.10 від першої вагітності, що протікала без особливостей, перших пологів, в терміні 40 тижнів в задньому виді, головного передлежання за допомогою вакуум-екстракції плоду. Навколоплідні води чисті, плацента ціла. Маса дитини при народженні 3050 г, довжина тіла 50 см, об'єм голови 33 см. На першій хвилині оцінка за шкалою Апгар – 7 балів, на 5 хвилині – 8 балів. Перебіг раннього адаптаційного періоду без особливостей, реанімаційні заходи не проводилися. Група крові матері O (I) Rh (+), група крові дитини O (I) Rh (+). Мати обстежена на TORCH-інфекції, результати негативні. Дитина прикладена до грудей матері на першій годині після пологів, переведена в режим спільного перебування з матір'ю, з вільним грудним вигодовуванням. В динаміці стан дитини погіршився за рахунок появи неврологічної симптоматики (церебральна депресія). У зв'язку з цим на другу добу життя 14.02.2023 року, дитина була транспортована до КНП ВОДКЛ ВОР та госпіталізована у відділення анестезіології та інтенсивної терапії новонароджених у вкрай важкому стані. Важкість стану була обумовлена явищами геморагічного шоку.

На момент огляду: стан дитини вкрай важкий. Шкірні покриви бліді, холодні на дотик. Симптом «білої плями» більше 4 сек. Фотореакція збережена. Зіниці ву-

зькі, симптом Грефе негативний. Голова конфігурована. Кефалогематоми в правій та лівій тім'яних ділянках. Температура тіла 36,0°C. Маса тіла – 3000 г. Крик: відсутній. Рухова активність: адинамія. М'язовий тонус: гіпотонія. Рефлекси періоду новонародженості дуже пригнічені. Пуповинна вена катетеризована в пологовому будинку. Спостерігається брадіпное до 20/хв., артеріальний тиск не визначається. Тони серця приглушені. ЧСС – 104 уд/хв. Живіт напружений. Передня черевна стінка не змінена. Перистальтика в'яла. Печінка не збільшена. Селезінка не пальпується. Нирки не пальпуються. Випорожнень при огляді не було.

Струминно внутрішньовенно введено 30 мл ізотонічного розчину хлориду натрію. Розпочато інфузію дофаміну з розрахунку 5 мкг/кг/хв., а також інфузію розчину глюкози 10 %, глюконату кальцію 10 % (стабілізаційні заходи згідно з наказом МОЗ України № 225). Виконана санація верхніх дихальних шляхів з наступною інтубацією трахеї та переведення дитини на штучну вентиляцію легень. На «cito» виконані загально-клінічні лабораторні (табл. 1) та інструментальні методи дослідження.

➤ Ультрасонографія головного мозку (14.02.23)

Шлуночкова система мозку не змінена. Міжпівкульова щілина помірно розширена, паренхіма ущільнена. Бічні шлуночки не збільшені. Субарахноїдальний простір не розширений 0,5 мм. III шлуночок 2,0 мм, отвір Монро 1,0 мм. Пульсація базальних судин мозку підвищена.

➤ Ультразвукове дослідження серця (14.02.23)

Кінетика клапанів звичайна. Діляції порожнин немає. Лівий шлуночок: КДР 16 мм, КСР 10 мм, ФВ 70 %, ЗСЛШ 4,1 мм. МШП 4,0 мм. Гіперкінетичний циркуляторний синдром. Аорта: d=8 мм. ΔАр не підвищений. Ліве передсердя 8 мм, не розширене. Септальні дефекти не локуються. ВОО 1,3 мм.

➤ Ультразвукове дослідження органів черевної порожнини та нирок (14.02.23)

Печінка не збільшена, не однорідна, паренхіма ущільнена. Судинна система не змінена. Підшлункова залоза не збільшена 5x5x5 мм, ехогенність не підвищена. Селезінка в розмірах не збільшена, 42x22 мм, однорідна. Сечовий міхур скорочений, правильної форми. Нирки: *права* – не збільшена 42x22 мм. Ехогенність підвищена. ЧМС не розширена, не деформована. Миска 1 мм. *Ліва* – не збільшена 42x23 мм. Ехогенність підвищена. ЧМС не розширена, не деформована. Миска 1 мм.

➤ Оглядова рентгенографія ОГК.

Пневматизація легень простежується. Легеневий малюнок нечіткий, сітчастий, відносно збагачений у верхній частці правої легені. Синуси вільні. Серце – без особливостей (рис. 1).

Враховуючи дані клінічного обстеження, дані лабораторних показників та додаткових методів обстеження, за рішенням консилиуму встановлено клінічний діагноз:

Р 61.4 – Інші вроджені анемії, не класифіковані в інших рубриках. Р 15.8 – Інші уточнені пологові травми. Р I5.0 – Ушкодження печінки внаслідок пологової травми. Р 54.4 – Крововилив в наднирникову залозу у новонародженого. Р 28.5 – Дихальна недостатність у новонародженого. Р 91.8 – Інші уточнені розлади з боку мозку у новонародженого.

Таблиця 1

Загальний аналіз крові дитини

| Дата              | Гемоглобін, г/л | Еритроцити, Т/л | Лейкоцити, Г/л | СРБ, г/л | Тромбоцити, Г/л | Лімфоцити % | Гранулоцити % | Тромбоцитрит, % | Гематокрит, % | Глюкоза, ммоль/л | Час згортання крові, сек | Лактат крові, ммоль/л |
|-------------------|-----------------|-----------------|----------------|----------|-----------------|-------------|---------------|-----------------|---------------|------------------|--------------------------|-----------------------|
| 14.02.23<br>12:19 | 54              | 1,44            | 27,91          | <6       | 100             | 39,3        | 55,8          | 0,08            | 15,4          | 2,0              | 6'35»-7'05»              | 15,3                  |
| 14.02.23<br>22:05 | 97              | 3,01            | 16,79          |          | 52              | 19,4        | 75,8          | 0,03            | 27,7          | 5,1              | 3'50»4-20'»              |                       |
| 15.02.23<br>15:54 | 172             | 5,93            | 21,07          |          | 58              | 9,7         | 82,1          | 0,04            | 54,1          |                  | 4'15»-4'45»              |                       |
| 15.02.23<br>17:55 | 136             | 4,45            | 18,3           |          | 54              | 10,9        | 87,2          | 0,04            | 41,3          | 4,3              |                          |                       |
| 16.02.23<br>01:26 | 160             | 5,41            | 20,03          | ≤6       | 50              | 10,4        | 85,5          | 0,04            | 48,0          |                  | 3'00»-3'30»              |                       |
| 17.02.23          | 171             | 5,57            | 22,66          | ≤6       | 138             | 31,4        | 59,1          |                 |               |                  |                          | 2,0                   |
| 19.02.23<br>15:00 | 149             | 4,6             | 26,74          | ≤6       | 83              | 28,2        | 58,0          | 0,08            | 41,2          | 4,0              | 4'15»-4'45»              |                       |
| 21.02.23<br>07:29 | 172             | 5,7             | 36,12          |          | 245             | 11,8        | 82,8          | 0,19            | 54            | 4,3              | 4'10»-4'40»              |                       |
| 22.02.23          | 181             | 5,75            | 31,06          | ≤6       | 382             | 15,9        | 73,2          |                 |               |                  |                          |                       |
| 24.02.23<br>12:39 | 164             | 5,71            | 36,67          | ≤6       | 452             | 5,2         | 92,6          | 0,37            | 55,5          |                  |                          |                       |
| 27.02.23<br>11:48 | 149             | 4,62            | 16,14          |          | 307             | 31,7        | 53,3          | 0,27            | 42,8          |                  |                          |                       |
| 02.03.23<br>12:19 | 163             | 5,05            | 14,18          |          | 381             | 39,4        | 46,2          | 0,315           | 46,7          |                  |                          |                       |
| 10.03.23          | 162             | 6,95            | 8,67           |          | 282             | 37,5        | 43,1          | 0,39            | 67,9          |                  |                          |                       |

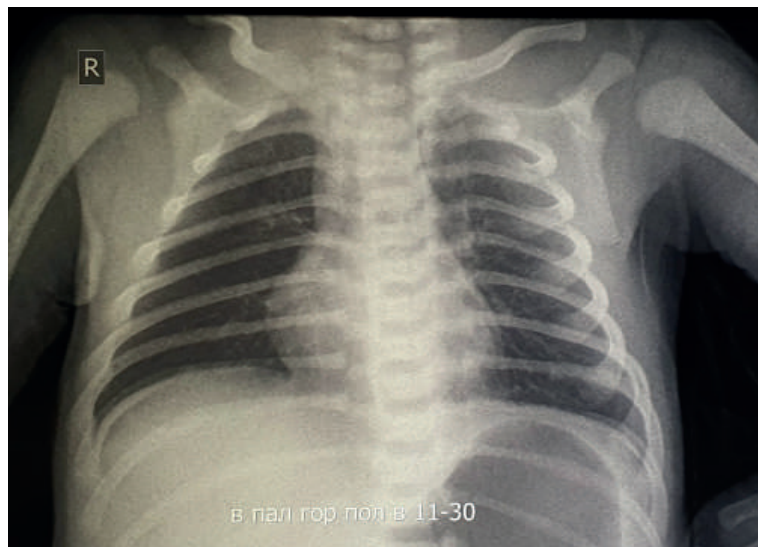


Рис. 1. Пацієнт У. 2 доби. Оглядова рентгенографія органів грудної клітки

Протягом наступних трьох діб у дитини, на фоні проведеної комплексної терапії, а саме: корекції анемії, гемостазу, відновлення ентерального харчування на фоні продовження ШВЛ відбулася стабілізація життєво важливих функцій, а також лабораторних показників. На сьому добу перебування в стаціонарі, після санації трахеобронхіального дерева через інтубаційну трубку, проведено екстубацію трахеї та дитина переведена на самостійне дихання з кисневою терапією через лицьову маску. У зв'язку з цим,

за рішенням консилиуму було рекомендовано продовжити консервативне лікування. На 7-добу перебування в стаціонарі стан дитини погіршився за рахунок прогресування дихальної недостатності. Дитина переведена на ШВЛ, на «cito», виконано рентгенографію ОГК та діагностовано правобічний напружений пневмоторакс. Виконано правобічну закриту торакотомію, отримано вільне повітря без домішок, стійке розрідження не досягається, права плевральна порожнина задренована за Бюлау (рис. 2).





**Рис. 2.** Пацієнт У. 9 діб. Оглядова рентгенографія органів грудної клітки

На 9 добу перебування в стаціонарі, скид вільного повітря та рідини з правої плевральної порожнини відсутній, стійке розрідження зберігається, плевральний дренаж з правої плевральної порожнини видалено. Під час усього терміну перебування дитини у відділенні АІТН проводився динамічний контроль лабораторних показників, а також, за допомогою УЗД ОЧП контролювалась динаміка розмірів гематом печінки, правої нирки, правого наднирника. Протягом 4-ох діб після видалення плеврального дренажу та переведення дитини на самостійне дихання, стан дитини покращується – життєво важливі показники (ЧСС, АТ, ЧД, SpO<sub>2</sub>, діурез) в межах норми. Об'єм ентерального харчування розширено до вікової норми (грудне вигодовування). У зв'язку з цим, на 14 добу життя дитина переведена для подальшого лікування у відділення патології доношених та недоношених новонароджених. У віці одного місяця, з подальшими рекомендаціями (постановка на диспансерне спостереження в кабінеті катамнезу) дитина виписана додому.

В трьохмісячному віці, згідно плану катамnestичного спостереження, дитина оглянута профільними спеціалістами – патологічних змін не виявлено. Рекомендовано подальше спостереження та контрольний огляд у віці 6-ти місяців.

#### **Висновки**

1. У разі виявлення важкої анемії у новонародженої дитини, необхідно виключати джерела кровотечі, а саме: вроджені порушення гемостазу та наслідки пологової травми.

#### **Література:**

1. Boshuizen M, van Bruggen R, Zaat SA, Schultz MJ, Aguilera E, Motos A, et al. Development of a model for anemia of inflammation that is relevant to critical care. *Intensive Care Med Exp* [Internet]. 2019[cited 2023 Aug 12];7(1):47. Available from: <https://icm-experimental.springeropen.com/counter/pdf/10.1186/s40635-019-0261-2.pdf> doi: 10.1186/s40635-019-0261-2
2. Клоєрті ДП, Ейхенвальд ЕК, Старк ЕР. Посібник з неонатології. Пер. з англ. 6-е видання. Київ: Фонд допомоги і розвитку дітям Чорнобілля; Вид-во «Фенікс»; 2010. 856 с.
3. Венцовський БМ, Вітовський ЮМ, Голяновський ОВ. та ін. Перинатологія: Посібник для акушерів-гінекологів, неонатологів та сімейних лікарів. Кіровоград: Полум'я; 2008. 568 с.

2. За наявності у пацієнта наслідків пологової травми, необхідно визначити пріоритетний напрямок лікування (консервативне, оперативне, комбіноване).

3. Консервативне лікування важкої анемії у новонароджених дітей має включати інфузію препаратів, що корегують гемостаз та анемію.

4. Невідкладна хірургічна допомога має виконуватися при недостатності або відсутності ефективності консервативного лікування; з метою стабілізації гемодинаміки, а також для усунення наслідків супутньої патології.

#### **Перспективи подальших досліджень.**

Патофізіологія анемії багатофакторна проблема. Перед дитячими анестезіологами, неонатологами та дитячими хірургами постає завдання детального вивчення даного патологічного процесу, аналізу отриманих результатів та розробки в кожному окремому випадку алгоритму лабораторно-інструментального обстеження та лікувальної тактики.

**Принципи біоетики дотримані.** Стаття написана з урахуванням існуючих етичних норм і стандартів клінічних досліджень.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Джерело фінансування:** стаття опублікована без будь-якої фінансової підтримки.

4. Коломійченко ЮА. Пологова травма (поняття, епідеміологія, класифікація пошкоджень хребта, клініка та діагностика). Пробл. сучасної мед. науки та освіти. 2018;4:93-6. doi: 10.15587/2313-8416.2015.51544
5. Sorantin E, Brader P, Thimary F. Neonatal trauma. Eur J Radiol. 2006;60(2):199-207. doi: 10.1016/j.ejrad.2006.07.023
6. Widness JA. Pathophysiology of Anemia During the Neonatal Period, Including Anemia of Prematurity. Neoreviews [Internet]. 2008[cited 2023 Aug 12];9(11): e520. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867612/pdf/nihms98856.pdf> doi: 10.1542/neo.9-11-e520
7. Ganz T. Anemia of Inflammation. N Engl J Med. 2019;381(12):1148-57. doi: 10.1056/NEJMra1804281
8. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. Blood. 2019;133(1):40-50. doi: 10.1182/blood-2018-06-856500
9. Jacobs P, Wood L, Bird AR. Better Tolerance of Iron Polymaltose Complex Compared with Ferrous Sulphate in the Treatment of Anaemia. Hematology. 2000;5(1):77-83. doi: 10.1080/10245332.2000.11746490
10. New HV, Berryman J, Bolton-Maggs PH, Cantwell C, Chalmers EA, Davies T, et al. Guidelines on transfusion for fetuses, neonates and older children. Br J Haematol. 2016;175(5):784-828. doi: 10.1111/bjh.14233
11. Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Te Pas A, et al. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome – 2019 Update. Neonatology. 2019;115(4):432-50. doi: 10.1159/000499361

## CLINICAL CASE OF SEVERE ANEMIA IN A NEWBORN CHILD

*O. M. Gorbatyuk<sup>1</sup>, K. T. Bertsun<sup>2</sup>, O. S. Rubina<sup>2</sup>, A. I. Sasyuk<sup>2</sup>, O. G. Mazur<sup>2</sup>, O. O. Lukianets<sup>2</sup>*

**P.Shupyk National University of Health Care of Ukraine<sup>1</sup>**  
(Kyiv, Ukraine)

**M.Pyrogov Vinnytsia National University<sup>2</sup>**  
(Vinnytsia, Ukraine)

### Summary.

**The aim of the work** – based on our own clinical experience, the observation and treatment of a newborn with severe anemia caused by complicated birth trauma to demonstrate the complexity of diagnosis and therapeutic approach to this pathology.

**Material and Methods.** The study is based on an analysis of the evaluation and treatment of a newborn with severe anemia caused by birth trauma. The complex diagnostic measures included clinical and laboratory methods, radiological examinations (X-ray and spiral computed tomography) and ultrasound examinations.

**Results.** Comprehensive treatment of the child with severe anemia resulted in significant improvement of the patient's condition, allowing the child to be discharged from the hospital at the age of one month. Considering the possible etiological and pathogenetic factors of anemia in newborns, congenital hemostatic disorders were excluded. For further investigation, a contrast-enhanced CT scan was performed, which showed signs of subcapsular hematoma with contusion on the lateral border of the right hepatic lobe, subcapsular hematoma with contusion on the lateral border of the right kidney, contusion with hematoma of the right adrenal gland, no contrast accumulation at the time of examination, with signs of hemolysis of the hematoma in the right kidney and right adrenal gland. The results of the chest x-ray showed a right-sided tension hydropneumothorax, which became a direct indication for urgent surgical treatment. The main therapeutic measures included the following steps: conservative therapy – correction of anemia and hemostasis, surgical treatment. There were no intraoperative or postoperative complications.

### Conclusions.

1. In case of severe anemia in a newborn it is necessary to exclude sources of bleeding, namely: congenital hemostatic disorders and consequences of birth trauma.
2. If the patient has consequences of birth trauma, it is necessary to determine the priority direction of treatment (conservative, surgical, combined).
3. Conservative treatment of severe anemia in newborns should include infusion of drugs that correct hemostasis and anemia.
4. Urgent surgical intervention should be performed in cases of insufficient or ineffective results of conservative treatment, with the aim of stabilizing hemodynamics and eliminating the consequences of associated pathology.

**Key words:** Newborn Child; Anemia; Birth Trauma.

### Контактна інформація:

**Горбатюк Ольга Михайлівна** – д.мед.н., професор, Заслужений лікар України, професор кафедри дитячої хірургії, анестезіології, ортопедії та травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (м. Київ, Україна).

**e-mail:** ol.gorbatyuk@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1472-5737>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorid=6602182209>

**Берцун Костянтин Тихонович** – к.мед.н., доцент кафедри анестезіології, інтенсивної терапії та медицини невідкладних станів Вінницького національного медичного університету ім. М.І Пирогова (м. Вінниця, Україна).

**e-mail:** bercunkonstantin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2612-3709>

**Рубіна Оксана Семенівна** – к.мед.н., доцент кафедри педіатрії № 1 Вінницького національного медичного університету ім. М.І Пирогова (м. Вінниця, Україна).

**e-mail:** rubinaox46@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4410-7910>

### Contact Information:

**Olga Gorbatyuk** – Doctor of Medical Science, Full Professor, Honored Doctor of Ukraine, Professor of the Department of Pediatric Surgery, Anesthesiology, Orthopedics and Traumatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** ol.gorbatyuk@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-1472-5737>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorid=6602182209>

**Kostiantyn Bertsun** – PhD, Associate Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, National Pirogov Memorial Medical University (Vinnytsya, Ukraine).

**e-mail:** bercunkonstantin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-2612-3709>

**Oksana Rubina** – PhD, Associate Professor of the Department of Pediatrics № 1, Pirogov Vinnitsa National Medical University (Vinnitsa, Ukraine).

**e-mail:** rubinaox46@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0003-4410-7910>

**Сасюк Анатолій Іванович** – к.мед.н., доцент, доцент кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

**e-mail:** spchirurg1976@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7454-2986>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57695245700>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZK-3306-2022>

**Мазур Олена Геннадіївна** – к.мед.н., доцент кафедри педіатрії № 1 Вінницького національного медичного університету ім. М.І Пирогова (м. Вінниця, Україна)

**E-mail:** alena523@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7384-6937>

**Лукіянець Олег Олександрович** – к.мед.н., асистент кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (м. Вінниця, Україна).

**e-mail:** fang.vin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-8811-080X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57565022900>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZG-8110-2022>

**Anatolii Sasiuk** – Candidate of Medical Sciences, Docent, Associate Professor of the Pediatric Surgery Department, Pirogov Vinnitsa National Medical University (Vinnitsa, Ukraine).

**e-mail:** spchirurg1976@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7454-2986>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57695245700>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZK-3306-2022>

**Olena Mazur** – PhD, Associate Professor of the Department of Pediatrics № 1, Pirogov Vinnitsa National Medical University (Vinnitsa, Ukraine).

**e-mail:** alena523@ukr.net

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-7384-6937>

**Oleh Lukiianets** – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Pediatric Surgery Department, Pirogov Vinnitsa National Medical University (Vinnitsa, Ukraine).

**e-mail:** fang.vin@gmail.com

**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0001-8811-080X>

**Scopus Author ID:** <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57565022900>

**Researcher ID:** <https://www.webofscience.com/wos/author/record/GZG-8110-2022>



Надійшло до редакції 23.07.2023 р.  
Підписано до друку 10.10.2023 р.

УДК: 616.24-007.288-036-07-073.7-053.31  
DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.22

О. І. Оболонський<sup>1</sup>, О. Ю. Оболонська<sup>2</sup>,  
О. Г. Капустіна<sup>1</sup>

КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я» ДОР<sup>1</sup>,  
Дніпровський державний медичний університет<sup>2</sup>  
(м. Дніпро, Україна)

## ЕФЕКТИВНІСТЬ УЛЬТРАЗВУКОВОГО МОНІТОРИНГУ МАНЕВРУ РЕКРУТУВАННЯ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З АТЕЛЕКТАЗОМ ЛЕГЕНЬ НА ПРИКЛАДІ КЛІНІЧНОГО ВИПАДКУ

### Резюме

Рутинна приліжкова діагностика ефективності лікування у реальному часі без рентгенологічного навантаження є найбільш актуальним питанням у інтенсивній терапії респіраторних захворювань, в тому числі у новонароджених. Ультразвукового моніторингу стану легень досить нове слово в своєчасній діагностиці їх захворювань. Використання рекрутмент маневру у новонароджених доказало свою ефективність, а за умов наявності постійного контролю за станом легень і безпечність. У статті представлено досвід використання ультразвукового моніторингу маневру рекрутування та клінічний випадок, який це демонструє.

У дитини з респіраторним дистрес синдромом діагностовано на 1 добу життя ателектаз легень. Під контролем УЗД легень виконано рекрутмент маневр за методикою контрольованого поетапного нагнітання позитивного тиску наприкінці видиху (Positive End Expiratory Pressure, PEEP) з 5 см H<sub>2</sub>O до 8 см H<sub>2</sub>O протягом 2-х хв. і в подальшому до 10-11 см H<sub>2</sub>O протягом наступних 2-х хв. у режимі PC (Pressure Controlled Ventilation). Потім, впродовж певного часу, проводилось титрування PEEP (зменшення) до 5 см H<sub>2</sub>O. Кожні 2 хв. проводився моніторинг SpO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, УЗД легень при підвищенні остаточного тиску в дихальних шляхах. Зміни на УЗД легень протягом рекрутмент маневру демонстрували покращення вентиляції легень на ураженій ділянці (спочатку зменшення В-лінії (з 6-8 в одному міжреберному проміжку до 3), а в подальшому поява А-лінії). Рентгенологічно було підтверджено розправлення ателектазу.

Публікація матеріалів погоджена з Комісією з біоетики КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я» ДОР. Усі анамнестичні дані, результати обстежень та фотоматеріали опубліковані за письмовою згодою батьків новонародженої дитини.

**Висновок.** УЗД є валідним, доцільним методом діагностики, що дозволяє клініцистам отримати неінвазивну, швидку, приліжкову інформацію стосовно стану легень у новонароджених з ателектазом легень при проведенні рекрутмент маневру без ризиків пов'язаних з рентгенографією.

**Ключові слова:** ателектаз легень; ультразвукова діагностика легень; новонароджені; рекрутмент маневр.

### Актуальність

Рутинна приліжкова діагностика ефективності лікування у реальному часі без рентгенологічного навантаження є найбільш актуальним питанням у інтенсивній терапії респіраторних захворювань, до таких методів відноситься ультразвукова діагностика [4, 6]. Ультразвуковий моніторинг стану легень – досить нове слово в своєчасній діагностиці патології легень у невідкладній допомозі, тому ведеться багато дискусій стосовно валідності цього методу. Візуалізація змін не обмежується визначенням причини дифузного захворювання легень (таких як респіраторний дистрес синдром (РДС), але також допомагає спостерігати за його розвитком і керувати налаштуванням параметрів штучної вентиляції легень (ШВЛ) [12]. Ера COVID-19 стала поштовхом до розвитку та популяризації цього методу діагностики [1]. Однак це дослідження ще не є протокольним інструментом і більшість статей у доступних джерелах стосується більш дорослого контингенту хворих [11]. Лікування захворювань легень, які потребують ШВЛ та ускладнень у новонароджених, особливо недоношених, є складним та високотехнологічним.

Хоча ця терапія часто рятує життя, вона водночас несе в собі ризик пошкодження легень у вигляді пневмотораксу, бронхолегенної дисплазії та ін. [3]. Рекрутмент маневри (РМ) використовуються для відкриття

коллабованої легень, а підвищення позитивного тиску наприкінці видиху (Positive End Expiratory Pressure, PEEP) для запобігання циклічного колапсу, як частина підходу до вентиляції з відкритими легенями, щоб збільшити об'єм легень у кінці видиху, покращити газообмін та оксигенацію, зменшити ушкодження легень, пов'язане з баротравмою [2, 5]. Використання РМ доказало свою ефективність в умовах наявності контролю за станом легень, і безпечність у недоношених дітей з ателектазом [10, 13]. Необхідність визначити «оптимальний PEEP» відповідно до індивідуальних потреб пацієнта та його реакцію на терапію, та можливий розвиток пневмотораксу при перевищенні тиску в дихальних шляхах, потребує контролю капнографії та сатурації при кожному налаштуванні і додаткової візуалізації процесів впродовж РМ.

**Мета.** На власному клінічному досвіді наочно оцінити показовість ультразвукової діагностики (УЗД) легень у недоношених новонароджених з ателектазом при виконанні рекрутмент маневру.

### Матеріал та методи дослідження

Дослідження проводилось на базі Відділення інтенсивної терапії для новонароджених з вищою неонатологічною бригадою КП «Регіональний медичний центр

родинного здоров'я» ДОР у 2022-2023 рр. Клінічне обстеження та лікування дітей проводилося відповідно до наказу МОЗ України про затвердження «Протоколу медичного догляду за новонародженою дитиною з малою масою тіла при народженні» № 584 від 29.08.2006 р. [7] та Оновленого уніфікованого клінічного протоколу «Респіраторний дистрес-синдром у передчасно народжених дітей» 2018 р. [9]. Для закриття артеріальної протоки всі діти отримували рестриктивну терапію [8]. У 18 недоношених новонароджених з ателектазами легень було проведено легеневий РМ. Середній гестаційний вік дітей склав  $32 \pm 4,1$  тижнів, вага тіла  $1623 \pm 106$  г, з них хлопчиків – 10 (55,6 %), дівчаток – 8 (44,4 %), середня тривалість перебування на ліжку в інтенсивному блоці –  $7,1 \pm 2,1$  днів, середня тривалість на ШВЛ –  $5,4 \pm 1,1$  дні. Всім обстеженим дітям було діагностовано респіраторний дистрес-синдром новонароджених, наявність ателектазу легень. Ателектаз діагностовано клінічно та підтверджено рентгенологічно та додатково за допомогою УЗД легень.

УЗД дослідження проводилось на апараті GE VIVID T8 (США) з використанням лінійного датчика (L6-12-RS, 6-13 MHz) згідно BLUE-protocol. Легеневий РМ – підвищення РЕЕР та динаміки тиску вдиху для розправлення ателектатичних ділянок легеневої тканини, проводився за методикою контрольованого поетапного нарощування РЕЕР з 5 см до 8 см  $H_2O$  протягом 2-х хв. і, в подальшому, що 2 хв. до 10-11 см  $H_2O$  у режимі РС. Потім титрувався РЕЕР (зменшувався) до мінімального тиску наприкінці вдиху (5 см  $H_2O$ ) з моніторингом  $SpO_2$ ,  $CO_2$  та проводилось УЗД легень кожні 2 хв. при підвищенні тиску в дихальних шляхах.

**Результати дослідження.** Була отримана позитивна респіраторна динаміка. Середній термін інвазивної вентиляції у дітей з ателектазом склав  $5,4 \pm 1,1$  доби, що на  $1,5 \pm 1,3$  доби менше ніж без використання маневру. Ускладнень у вигляді пневмотораксу та емфізематозу у дітей не відмічалось. Проведені дослідження до початку терапії та по закінченню маневру у всіх дітей показали достовірні та специфічні зміни у рентгенологічній та УЗД картині.

**Клінічний випадок.** Новонароджена дитина К., жіночого полу з вагою при народженні 1770 г, зростом 39 см, з оцінкою за шкалою Апгар 7/7 балів

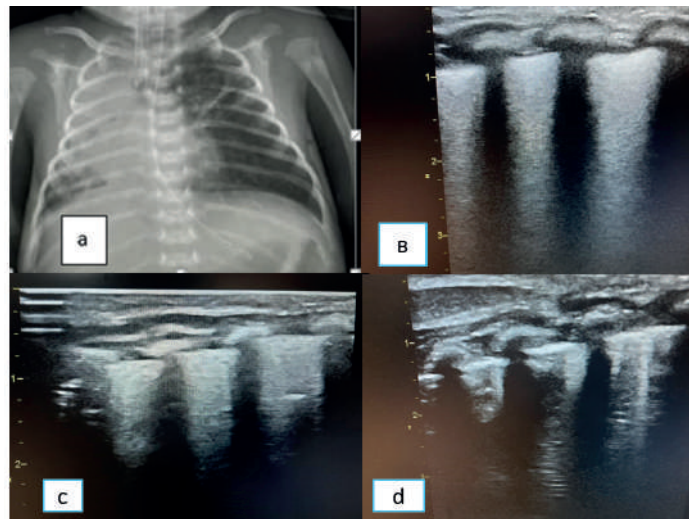
була народжена шляхом кесаревого розтину від першої вагітності терміном гестації 35 тижнів. Пологи перші, передчасні, в 33 тижні, шляхом кесарського розтину з приводу дистресу плода. В пологовому залі проводились такі заходи: санація верхніх дихальних шляхів, вентиляція мішком Амбу та маскою, інтубація трахеї, введення 240 мг препарату сурфактанту ендотрахеально, проведення ШВЛ. Дитина надійшла у відділення через 2 години після народження. Стан дитини при надходженні тяжкий за рахунок дихальних розладів: втягіння поступливих місць грудної клітини, тахіпноє, залежності від вентиляції та кисню. При огляді відмічались гіперзбудливість, гіперестезія, дезадаптація з апаратом ШВЛ, морфо-функціональна незрілість. Дитині на етапі транспортування проводилася респіраторна підтримка методом ШВЛ. У відділенні продовжена ШВЛ, у режимі РС, параметри корегувались згідно показників кислотно-лужного стану (КЛС), капнометрії та оксигенації, відмічалась висока киснева залежність: вміст кисню в дихальній суміші ( $FiO_2$ ) 0,6. Параметри вентиляції: частота вдихів (f) 50 за хв., піковий тиск на вдосі (PIP)/ позитивний тиск наприкінці видиху (РЕЕР)/середній тиск в дихальних шляхах (MAP) – 22/6,4/11 см  $H_2O$ , час вдиху (Tins 0,38) s., дихальний об'єм (TV) – 24 ml. Аускультативно: дихання було ослаблене, справа над середньою та верхньою долями не вислуховувалось, над іншими відділами – крепітуючі хрипи. Був поставлений діагноз: респіраторний дистрес синдром: ателектаз верхньої та середньої долі лівої легені. Недоношеність 33 тижня.

Рентгенологічні дані наведено у рисунку 1а. За Bedside Lung Ultrasound in Emergency (BLUE-protocol) проведено ультразвукове дослідження легень (рис. 1в). Картині наявності ателектазу на рентгенограмі відповідали грубі зміни на УЗД легень у вигляді повного зникнення А ліній, поглиблення і деформація В ліній з додатковими включеннями, порушення руху плеври. Було проведено РМ, показники якого наведено в таблиці 1. Кожні 2 хвилини здійснювався контроль УЗД легень до досягнення змін у ультразвуковій картині, який свідчив про покращення вентиляції легень на ураженій ділянці і розправлення ателектазу (спочатку зменшення В ліній (з 6-8 в одному міжреберному проміжку до 3), потім поява А-ліній на фоні В-ліній, нормалізація руху плеври), що вважалося за «оптимальний РЕЕР» відповідно до індивідуальних потреб пацієнта (рис. 1 с, d).

Таблиця 1

Показники параметрів вентиляції в процесі рекрутмент маневру

| Показники    | Початок РМ | 2 хв. | 4 хв. | 6 хв. | 8 хв. | 10 хв. | Через 30 хв |
|--------------|------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------------|
| $FiO_2$      | 0,6        | 0,6   | 0,6   | 0,45  | 0,3   | 0,28   | 0,26        |
| $P_{ET}CO_2$ | 53         | 53    | 45    | 34    | 33    | 32     | 34          |
| f дих в хв.  | 50         | 50    | 50    | 50    | 50    | 50     | 50          |
| PIP          | 22         | 22    | 22    | 22    | 22    | 20     | 20          |
| РЕЕР         | 6,5        | 8     | 10    | 10    | 7     | 6      | 6           |
| MAP          | 11         | 13    | 14    | 14    | 12    | 10     | 10          |
| TV           | 24         | 26    | 28    | 32    | 36    | 36     | 38          |
| $SpO_2$      | 89         | 90    | 94    | 94    | 94    | 95     | 96          |



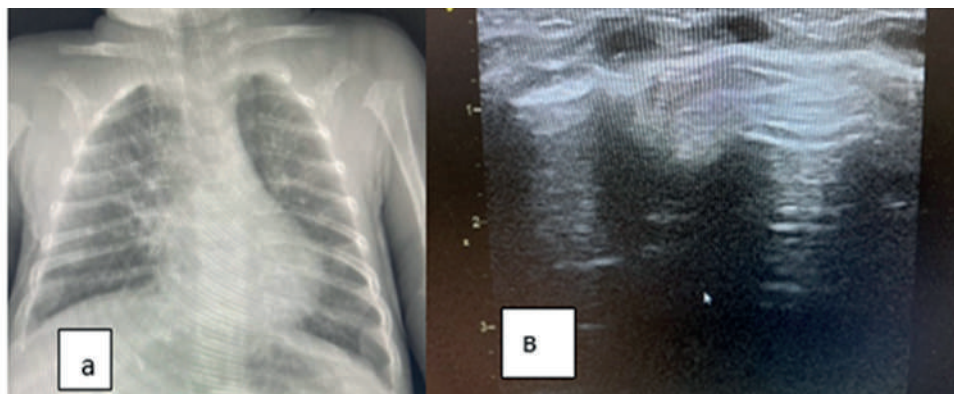
**Рис. 1.** Рентгенологічна (а) та ультразвукова картина до РМ (в), та зміни ультразвукової картини протягом РМ (с, d).

Сатурація була нормалізована на четвертій хвилині РМ. Рентгенологічно підтверджено розправлення ателектазу (рис. 2а).

Зміни на УЗД після РМ демонстрували покращення вентиляції легень на ураженій ділянці (поява нормаль-

них А ліній на фоні В ліній, нормалізація руху плеври) (рис. 2в).

Також визначено показники кислотно-лужного стану крові (КОС) (табл. 2). За показниками КЛС відмічалось зменшення проявів респіраторного ацидозу.



**Рис. 2.** Рентгенологічна (а) та ультразвукова картина після РМ (в)

**Таблиця 2**

**Показники кислотно-лужного стану крові**

| Показник                  | pH   | pCO <sub>2</sub> | pO <sub>2</sub> | BE   |
|---------------------------|------|------------------|-----------------|------|
| Початок рекрутменту       | 7,31 | 55               | 34              | -3,9 |
| Через 30 хв по закінченні | 7,35 | 37               | 46              | 2,8  |

*Примітка: pCO<sub>2</sub> – парціальний тиск вуглекислого газу, pO<sub>2</sub> – парціальний тиск кисню, BE- надлишок лугів*

Після проведення РМ параметри ШВЛ коригувались згідно КЛС та капнографії, відмічалось зниження кисневої залежності та «пом'якшення» параметрів вентиляції (табл. 1).

Як і будь-який метод, ультразвук має свої обмеження, які пов'язані з фізикою методу та потребує досвідченості дослідника в інтерпретації одержуваних зображень. Проте, УЗД зараз розглядається як кращий, а в деяких випадках, як один із основних методів діагностики.

Робота є складовою дослідження ультразвукових легневих профілів у немовлят з респіраторним дистрес-синдромом та їх клінічного й рентгенологічного зіставлення для вивчення факторів ризику розвитку вентилятор-асоційованих пошкоджень легень

у малюків різного гестаційного віку, яке проводиться у відділенні [14].

**Висновок.** УЗД є валідним, доцільним методом діагностики, що дозволяє клініцистам отримати неінвазивну, швидку, приліжкову інформацію стосовно стану легень у недоношених новонароджених з ателектазом легень при проведенні РМ без ризиків пов'язаних з рентгенографією.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Джерела фінансування.** Робота виконана власним коштом.

**Література:**

1. Albanesi M, Cozzi D, Cavigli E, Moroni C, Frezzetti G, Bartolini L, et al. Systemic Emergencies in COVID-19 Patient: A Pictorial Review. *Tomography*. 2022;8(2):1041-51. doi: 10.3390/tomography8020084
2. Baedorf Kassis E, Loring SH, Talmor D. Recruitment maneuvers: using transpulmonary pressure to help Goldilocks. *Intensive Care Med*. 2017;43(8):1162-3. doi:10.1007/s00134-017-4784-2
3. Blazek EV, East CE, Jauncey-Cooke J, Bogossian F, Grant CA, Hough J. Lung recruitment manoeuvres for reducing mortality and respiratory morbidity in mechanically ventilated neonates. *Cochrane Database Syst Rev [Internet]*. 2021[cited 2023 Aug 22];3(3):CD009969. Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD009969.pub2/full> doi: 10.1002/14651858.CD009969.pub2
4. Bouhemad B, Mongodi S, Via G, Rouquette I. Ultrasound for «lung monitoring» of ventilated patients. *Anesthesiology*. 2015;122(2):437-47. doi: 10.1097/ALN.0000000000000558
5. Cressoni M, Chiumello D, Algieri I, Brioni M, Chiurazzi C, Colombo A, et al. Opening pressures and atelectrauma in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med*. 2017;43(5):603-11. doi: 10.1007/s00134-017-4754-8
6. Durand P, De Luca D, Tissieres P. What's new in lung ultrasound in the critically ill or injured child. *Intensive Care Med*. 2019;45(4):508-11. doi: 10.1007/s00134-018-5356-9
7. Про затвердження Протоколу медичного догляду за новонародженою дитиною з малою масою тіла при народженні. Наказ МОЗ України від 29.08.2006р. № 584 [Інтернет]. Київ: МОЗ України; 2006 [цитовано 2023 Сер 22]. Доступно: <http://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0584282-06#Text>
8. Obolonskyi A, Snisar V, Surkov D, Obolonska O. Management of patent ductus arteriosus in premature infants. *Med. perspekt*. 2019;24(2):33-40. doi: 10.26641/2307-0404.2019.2.170125
9. Про затвердження Уніфікованого клінічного протоколу вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Респіраторний дистрес-синдром у передчасно народжених дітей». Наказ МОЗ України від 05.05.2021р. № 873 [Інтернет]. Київ: МОЗ України; 2021 [цитовано 2023 Сер 22]. Доступно: [https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/05/2021\\_873\\_rds.pdf](https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2021/05/2021_873_rds.pdf)
10. Pensier J, de Jong A, Hajjaj Z, Molinari N, Carr J, Belafia F, et al. Effect of lung recruitment maneuver on oxygenation, physiological parameters and mortality in acute respiratory distress syndrome patients: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2019;45(12):1691-702. doi: 10.1007/s00134-019-05821-9
11. Staub LJ, Biscaro RRM, Maurici R. Accuracy and Applications of Lung Ultrasound to Diagnose Ventilator-Associated Pneumonia: A Systematic Review. *J Intensive Care Med*. 2018;33(8):447-55. doi: 10.1177/0885066617737756
12. Stefanidis K, Moser J, Vlahos I. Imaging of Diffuse Lung Disease in the Intensive Care Unit Patient. *Radiol Clin North Am*. 2020;58(1):119-31. doi: 10.1016/j.rcl.2019.08.005
13. Vento G, Ventura ML, Pastorino R, Kaam AH, Carnielli V, Cools F, et al. Lung recruitment before surfactant administration in extremely preterm neonates with respiratory distress syndrome (IN-REC-SUR-E): a randomised, unblinded, controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2021;9(2):159-66. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30179-X
14. Сурков ДМ. Метод підбору величини РЕЕР під легеневим ультразвуковим контролем у новонароджених з респіраторним дистрес-синдромом. Випадок з практики. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2020;10(2(36)):83-7. doi: 10.24061/2413-4260.X.2.36.2020.11

**EFFICACY OF ULTRASOUND MONITORING OF RECRUITMENT MANEUVER IN NEWBORNS WITH PULMONARY ATELECTASIS: A CLINICAL CASE STUDY**

*O. I. Obolonsky<sup>1</sup>, O. Y. Obolonska<sup>2</sup>, O. G. Kapustina<sup>1</sup>*

**ME «Regional Medical Center of Family Health» of the State Health Service of Ukraine<sup>1</sup>,  
Dnipro State Medical University<sup>2</sup>  
(Dnipro, Ukraine)**

**Summary.**

Real-time, routine bedside diagnosis of treatment efficacy without radiation exposure is the greatest challenge facing intensive care medicine in respiratory disease, including neonates. Ultrasound for lung monitoring is a major step forward in the timely diagnosis of respiratory disease. The use of a recruitment maneuver has been shown to be effective in the treatment of atelectasis and safe while monitoring lung status. This article presents the experience of using an ultrasound-guided lung recruitment maneuver and a clinical case to demonstrate it.

A child with respiratory distress syndrome was diagnosed with pulmonary atelectasis on day 3. A lung ultrasound-guided recruitment maneuver was performed using the method of controlled gradual increase of PEEP from 5 cm to 8 cm H<sub>2</sub>O for 2 minutes and then to 10-11 cm H<sub>2</sub>O for the next 2 minutes in PCV mode (pressure-controlled ventilation). PEEP was then titrated (decreased) to the minimum inspiratory pressure (5 cm H<sub>2</sub>O). SpO<sub>2</sub> and capnography were closely monitored, and lung ultrasound was performed every 2 minutes during pressure increase to monitor status. Ultrasound imaging showed improvement of lung ventilation in the affected area during the recruitment maneuver (first reduction of B-lines, then normal pattern with A-lines on the background of B-lines, normalization of respiratory movement of the pleura). Chest x-ray confirmed resolution of atelectasis.

The Bioethics Committee of ME «Regional Medical Center of Family Health» DRC» has approved the publication of materials. All anamnestic data, examination results and photographic materials were published with the written informed consent of the parents of the newborn.

**Conclusions.** Ultrasound examination is a valid and appropriate diagnostic method that allows clinicians to obtain non-invasive, rapid, bedside information about the lung status of newborns with pulmonary atelectasis during the recruitment maneuver, avoiding the risks associated with radiography.

**Key words:** Pulmonary Atelectasis; Diagnostic Lung Ultrasound; Newborns; Recruitment maneuver.

**Контактна інформація:**

**Оболонський Олексій Іванович** – кандидат медичних наук, лікар анестезіолог дитячий відділення інтенсивної терапії новонароджених з виїзною неонатологічною бригадою КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я» ДОР (м. Дніпро, Україна).

**e-mail:** a\_obolonskij@ukr.net

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3190-0402>

**Оболонська Ольга Юрївна** – доктор філософії, асистент кафедри пропедевтики дитячих хвороб та педіатрії № 2 Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна).

**e-mail:** o\_obolonskaja@ukr.net

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9863-1828>

**Капустіна Оксана Григорівна** – кандидат медичних наук, завідувачка відділення інтенсивної терапії новонароджених з виїзною неонатологічною бригадою КП «Регіональний медичний центр родинного здоров'я» ДОР (м. Дніпро, Україна).

**e-mail:** oxanakupustina76@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0312-0481>

**Contact information:**

**Oleksii Obolonskyi** – Candidate of Medical Science, anesthesiologist of the Neonatal Intensive Care Unit, Municipal Enterprise «Regional Medical Centre of Family Health of Dnipropetrovsk Regional Council» (Dnipro, Ukraine).

**e-mail:** a\_obolonskij@ukr.net

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3190-0402>

**Olha Obolonska** – PhD, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics 2, Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)

**e-mail o\_obolonskaja@ukr.net**

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9863-1828>

**Oksana Kapustina** – Candidate of Medical Science, Head of the Neonatal Intensive Care Unit, Municipal Enterprise «Regional Medical Centre of Family Health of Dnipropetrovsk Regional Council» (Dnipro, Ukraine).

**e-mail:** oxanakupustina76@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0312-0481>

Надійшло до редакції 13.07.2023 р.

Підписано до друку 10.10.2023 р.





## РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРАКТИКУ

УДК: 616-053.3:579.61+615.33

DOI: 10.24061/2413-4260.XIII.4.50.2023.23

ДО ПИТАННЯ ВИКОРИСТАННЯ  
ПРОБІОТИЧНИХ ДІЄТИЧНИХ ДОБАВОК  
У НЕМОВЛЯТ

Т. К. Знаменська, О. В. Воробйова

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології  
імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України»  
(м. Київ, Україна)**Резюме**

Було доведено, що рід *Bifidobacterium* переважає в мікробіоті кишечника немовлят на грудному вигодовуванні і приносить користь організму, прискорюючи дозрівання імунної відповіді, збалансовуючи імунну систему для зменшення запалення, покращуючи бар'єрну функцію кишечника і збільшуючи продукцію ацетату. Мікрофлора дітей на грудному вигодовуванні переважно складається з цих бактерій та їх наявність вважається важливою в ранньому дитинстві, оскільки вони підтримують здоровий кислотно-лужний баланс, необхідний для нормального функціонування травних ферментів, запобігають розвитку шкідливих бактерій, впливають на моторику кишечника (перистальтику) і сприяють нормальній роботі імунної системи. *Bifidobacterium* добре пристосований до кишечника немовлят і еволюціонував разом з мікробіомом кишечника, частково завдяки своїй здатності споживати складні вуглеводи, що містяться в людському молоці.

Щоб забезпечити переваги, пов'язані з *Bifidobacterium*, для всіх немовлят, за останні десятиліття було розроблено низку комерційних штамів. Оскільки нові інгредієнти стають доступними, їх безпечність та придатність необхідно оцінювати в доклінічних та клінічних дослідженнях. Розгляд повних клінічних даних щодо використання *Bifidobacterium* у дитячому харчуванні має вирішальне значення для кращого розуміння його потенційного впливу на здоров'я і розвиток немовлят. У цій статті ми починаємо підсумовувати нещодавні клінічні дослідження з використанням окремих штамів комерціалізованого *Bifidobacterium*.

**Ключові слова:** *Bifidobacterium*; пробіотики; здоров'я кишечника; мікробіом; немовлята.

Всесвітня організація охорони здоров'я визначає пробіотики як «живі мікроорганізми, які при введенні в адекватних кількостях приносять користь для здоров'я людини». Це визначення підкреслює важливість пробіотиків як живих клітин. Пробиотичні організми підтримують корисні бактерії, які вже живуть у травній системі. Ці мікроорганізми необхідні для засвоєння поживних речовин і підтримання балансу мікрофлори кишечника. Більша частина пробіотиків представлена саме бифідобактеріями.

Що відомо про ці мікроорганізми? Як саме вони пов'язані з мікробіотою людини від народження? На усі питання були вже отримані відповіді, підтвердженні багаточисельними науковими доклінічними та клінічними дослідженнями.

Біфідобактерії – це грампозитивні, гетероферментативні, анаеробні бактерії з характерною бифідоподібною (тобто «Y») формою [1,2]. Рід *Bifidobacterium* був вперше виділений із калу немовлят на грудному вигодовуванні у 1899 році Анрі Тіссє [3]. Біфідобактерії колонізують кишечник новонароджених протягом перших днів і тижнів після народження і є найпоширенішим родом бактерій, що становить від 40 % до 80 % загальної мікробіоти кишечника [4, 14]. Доведено вертикальну передачу біфідобактерій від матері (піхва, шлунково-кишковий тракт або грудне молоко) [5]. Вагінальні пологи забезпечують більшу кількість *Bifidobacterium* spp. у немовлят порівняно з пологам шляхом кесаревого розтину (КР) [6]; однак відмінності у мікробіомах кишечника новонароджених, народжених шляхом КР, та дітей, народжених вагінальним шляхом, не є очевидними до п'ятої доби життя [7,9]. Крім того, відмінності

у колонізації *Bifidobacterium* spp. між вагінальними пологами та кесаревим розтином зменшуються до 30-денного віку [8], підкреслюючи, що перший місяць життя є критичним періодом для встановлення колонізації. Зменшення кількості *Bifidobacterium* spp. у немовлят корелює з хронічними захворюваннями, включаючи астму та ожиріння [5], а також зі зниженою реакцією на вакцинацію [10]. Henrick та його колеги припустили, що втрата *Bifidobacterium* spp. у кишечнику немовлят у популяціях розвинених країн пов'язана з підвищеною частотою алергічних та аутоімунних захворювань [1, 14]. На чисельність *Bifidobacterium* spp. можуть додатково впливати харчування, застосування антибіотиків та статеве дозрівання [1]. Зокрема, *Bifidobacterium longum* підвид *infantis* домінує в мікробіоті кишечника немовлят на грудному вигодовуванні і приносить користь організму, прискорюючи дозрівання імунної відповіді, балансує імунну систему для зменшення запалення, покращуючи бар'єрну функцію кишечника і збільшуючи продукцію ацетату [6, 10, 14]. Ці симбіотичні відносини є прикладом сумісної еволюції (людини і *Bifidobacterium*) для захисту доношених новонароджених і живлення здорової мікробіоти кишечника до відлучення від грудей [11].

Тобто, біфідобактерії (пробиотичні бактерії), зазвичай, присутні у шлунково-кишковому тракті. Вони входять до складу нормальної кишкової мікрофлори. Мікрофлора дітей на грудному вигодовуванні переважно складається з цих бактерій та їх наявність вважається важливою в ранньому дитинстві, оскільки вони підтримують здоровий кислотно-лужний баланс, необхідний для нормального функціонування травних ферментів,

запобігають розвитку шкідливих бактерій, впливають на моторику кишечника (перистальтику) і сприяють нормальній роботі імунної системи.

Здоровий баланс мікрофлори кишечника може порушуватись під дією ряду факторів, таких як вірусні та бактеріальні кишкові інфекції (наприклад, інфекції ротавірусу), лікування антибіотиками або неправильне харчування. Фахівцям відомо, що саме інфекції дихальних шляхів (ІДШ) та вірусні гастроентерити є найбільш поширеними захворюваннями у ранньому дитинстві [12]. У розвинених країнах немовлята протягом першого року життя переносять кілька гострих вірусних захворювань, а чверть з них страждають від рецидивуючих або затяжних інфекцій респіраторного тракту [12]. Лікування антибіотиками може призвести до розвитку стійкості до антибіотиків і порушити нормальний баланс мікробиоти організму, що сприяє колонізації патогенами [13]. З іншого боку, загальні ІДШ на початку життя впливають на формування імунітету, отже, можуть як захистити дітей та їх схильність до повторних інфекцій, так і спричиняти розвиток запальних та алергічних захворювань у подальшому житті [5,10]. Вважається, що місцева кишкова мікробиота, основне джерело мікробного впливу, відіграє важливу роль у забезпеченні стимулів для дозрівання імунної системи [11]. Це створює основу для концепції пробіотиків, яка визначається як «живі мікроорганізми, які при введенні в достатній кількості приносять користь для здоров'я господаря» [1]. Пробиотики мають кілька корисних ефектів, включаючи нормалізацію складу мікробиоти кишечника і взаємодію з вродженою та адаптивною імунною системою дитини, що може сприяти підвищенню стійкості до патогенних мікроорганізмів [10,11,12].

Найпоширеніші види пробіотиків, які належать до родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, продемонстрували клінічно значущі переваги в лікуванні та профілактиці дитячих діарейних та алергічних захворювань у групах ризику, таких як сім'ї, що мають алергічні захворювання, госпіталізовані пацієнти або діти в дитячих садках [12-14]. Останнім часом все більше уваги приділяється ефектам пробіотиків у профілактиці ІДШ, причому в 15 рандомізованих дослідженнях були отримані суперечливі результати [13, 14].

Існує багато причин, що ускладнюють використання пробіотиків у дітей. По-перше, спосіб застосування пробіотиків у загальній дитячій популяції є складним. По-друге, вибір конкретного пробіотичного штаму або пробіотичної суміші має вирішальне значення для можливого позитивного ефекту. Більше того, тривалість грудного вигодовування та використання дитячих сумішей впливають на результат.

Останні дослідження свідчать про те, що колонізація *Bifidobacterium* може мати потенційний позитивний вплив на немовлят і дітей, добре пристосована до дитячого кишечника, частково завдяки своїй здатності споживати складні вуглеводи, що містяться в людському молоці. Одним із найбільш відомих і досліджених представників пробіотиків роду *Bifidobacterium* є штаму ВВ-12®, описаний приблизно у 400 наукових публікаціях та підтверджений більш ніж у 200 публікаціях, що

описують клінічні дослідження. За результатами наукових досліджень було встановлено, що ВВ-12® позитивно впливає на здоров'я шлунково-кишкового тракту та імунітет. Штаму ВВ-12® був випробований на великій кількості людей різних вікових груп, включаючи недоношених дітей та осіб похилого віку; при цьому дослідження проводилося для різних напрямків сфери охорони здоров'я.

Лабораторні дослідження показали, що штаму ВВ-12® добре зберігається як у розчині шлункової кислоти при рН 2,5, так і в 1 % розчині свинячої жовчі. Дані характеристики дозволяють пробіотичному штаму зберігатися при проходженні через шлунково-кишковий тракт.

Штаму ВВ-12® має 100 % стабільність геному протягом десятиліть, залишається стабільним протягом трьох років у складі продуктів при температурі 30 градусів, демонструє чудову стабільність при використанні, термостійкість при введенні та стійкість при зберіганні. Він отримав статус GRAS Управління із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США (FDA) як для немовлят, так і для інших вікових груп населення.

У 2007 році Європейське агентство з безпеки продуктів харчування (EFSA) надало *Bifidobacterium animalis* статус QPS (Кваліфікована презумпція безпеки) – статус, що надається на рівні видів. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ВВ 12® включений до клінічних рекомендацій Європейської Асоціації педіатрів, гепатологів та нутриціологів, а також рекомендації Польської асоціації неонатологів. Додавання до раціону харчування біфідобактерій ВВ-12® є корисним для підтримки фізіологічного балансу мікрофлори кишечника, а також відновлення її природного балансу.

У майбутніх публікаціях ми представимо поточний стан знань і рекомендацій щодо використання у немовлят *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ВВ 12®, включаючи сучасні доклінічні та клінічні дані.

**Джерело фінансування.** Стаття опублікована за фінансової підтримки ТОВ «Сандоз Україна». Наведене у статті клінічне дослідження проводилось незалежно від ТОВ «Сандоз Україна».

**Конфлікт інтересів.** Автори статті співпрацюють з ТОВ «Сандоз Україна».

Перед застосуванням дієтичної добавки необхідно проконсультуватись з лікарем та ознайомитися з листком-вкладишем. Ви можете повідомити ТОВ «Сандоз Україна», імпортера в Україні, що здійснює функції щодо прийняття претензій від споживача, про небажані явища та скарги на якість при застосуванні дієтичної добавки: +380 44 4952866 (вартість дзвінків згідно з тарифами Вашого оператора зв'язку), ua.qa@sandoz.com, patient.safety.ukraine@sandoz.com, www.sandoz.ua. ТОВ «Сандоз Україна» м. Київ, пр. С. Бандери, 28-А (літера Г). Інформація для спеціалістів сфери охорони здоров'я.

ВВ-12® є зареєстрованою торговою маркою Chr. Hansen, Данія

## Література

1. Hiraku A, Nakata S, Murata M, Xu C, Mutoh N, Arai S, et al. Early Probiotic Supplementation of Healthy Term Infants with *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* M-63 Is Safe and Leads to the Development of *Bifidobacterium*-Predominant Gut Microbiota: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients* [Internet]. 2023[cited 2023 Dec 7];15(6):1402. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/6/1402> doi: 10.3390/nu15061402
2. Arboleya S, Watkins C, Stanton C, Ross RP. Gut *Bifidobacteria* Populations in Human Health and Aging. *Front Microbiol* [Internet]. 2016[cited 2023 Dec 7];7:1204. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01204/full> doi: 10.3389/fmicb.2016.01204
3. O'Neill I, Schofield Z, Hall LJ. Exploring the role of the microbiota member *Bifidobacterium* in modulating immune-linked diseases. *Emerg Top Life Sci*. 2017;1(4):333-49. doi: 10.1042/ETLS20170058
4. Ling X, Linglong P, Weixia D, Hong W. Protective Effects of *Bifidobacterium* on Intestinal Barrier Function in LPS-Induced Enterocyte Barrier Injury of Caco-2 Monolayers and in a Rat NEC Model. *PLoS One* [Internet]. 2016[cited 2023 Dec 7];11(8): e0161635. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0161635> doi: 10.1371/journal.pone.0161635
5. Mitselou N, Hallberg J, Stephansson O, Almqvist C, Melén E, Ludvigsson JF. Cesarean delivery, preterm birth, and risk of food allergy: Nationwide Swedish cohort study of more than 1 million children. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(5):1510-14.e2. doi: 10.1016/j.jaci.2018.06.044
6. Imoto N, Morita H, Amanuma F, Maruyama H, Watanabe S, Hashiguchi N. Maternal antimicrobial use at delivery has a stronger impact than mode of delivery on *bifidobacterial* colonization in infants: a pilot study. *J Perinatol*. 2018;38(9):1174-81. doi: 10.1038/s41372-018-0172-1
7. Henderickx JGE, Zwittink RD, van Lingen RA, Knol J, Belzer C. The Preterm Gut Microbiota: An Inconspicuous Challenge in Nutritional Neonatal Care. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2019[cited 2023 Dec 7];9:85. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2019.00085/full> doi: 10.3389/fcimb.2019.00085
8. Makino H, Martin R, Ishikawa E, Gawad A, Kubota H, Sakai T, et al. Multilocus sequence typing of *bifidobacterial* strains from infant's faeces and human milk: are *bifidobacteria* being sustainably shared during breastfeeding? *Benef Microbes*. 2015;6(4):563-72. doi: 10.3920/BM2014.0082
9. Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, Armanini F, Turrone F, James K, et al. Maternal inheritance of *bifidobacterial* communities and *bifidophages* in infants through vertical transmission. *Microbiome* [Internet]. 2017[cited 2023 Dec 7];5(1):66. Available from: <https://microbiomejournal.biomedcentral.com/counter/pdf/10.1186/s40168-017-0282-6.pdf> doi: 10.1186/s40168-017-0282-6
10. Milani C, Mancabelli L, Lugli GA, Duranti S, Turrone F, Ferrario C, et al. Exploring Vertical Transmission of *Bifidobacteria* from Mother to Child. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(20):7078-87. doi: 10.1128/AEM.02037-15
11. Wampach L, Heintz-Buschart A, Hogan A, Muller EEL, Narayanasamy S, Laczny CC, et al. Colonization and Succession within the Human Gut Microbiome by Archaea, Bacteria, and Microeukaryotes during the First Year of Life. *Front Microbiol* [Internet]. 2017[cited 2023 Dec 7];8:738. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.00738/full> doi: 10.3389/fmicb.2017.00738
12. Underwood MA, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. *Bifidobacterium longum* subspecies *infantis*: champion colonizer of the infant gut. *Pediatr Res*. 2015;77(1-2):229-35. doi: 10.1038/pr.2014.156
13. Taipale T, Pienihäkkinen K, Isolauri E, Larsen C, Brockmann E, Alanen P, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in reducing the risk of infections in infancy. *Br J Nutr*. 2011;105(3):409-16. doi: 10.1017/S0007114510003685
14. Chichlowski M, Shah N, Wampler JL, Wu SS, Vanderhoof JA. *Bifidobacterium longum* Subspecies *infantis* (*B. infantis*) in Pediatric Nutrition: Current State of Knowledge. *Nutrients* [Internet]. 2020[cited 2023 Dec 7];12(6):1581. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/6/1581> doi: 10.3390/nu12061581

## ON THE QUESTION OF THE USE OF PROBIOTIC DIETARY SUPPLEMENTS IN INFANTS

T. K. Znamenska, O. V. Vorobiova

«Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova NAMS of Ukraine»  
(Kyiv, Ukraine)

## Summary.

The genus *Bifidobacterium* has been shown to predominate in the gut microbiota of breastfed infants and to benefit the body by accelerating maturation of the immune response, balancing the immune system to suppress inflammation, improving intestinal barrier function, and increasing acetate production. The microflora of breastfed infants consists mainly of these bacteria, and their presence is considered important in early childhood because they maintain a healthy acid-alkaline balance necessary for the normal functioning of digestive enzymes, prevent the development of harmful bacteria, influence intestinal motility (peristalsis), and promote normal functioning of the immune system. *Bifidobacterium* is well adapted to the infant gut and has evolved with the gut microbiome, in part due to its ability to consume the complex carbohydrates found in human milk.

In order to provide the benefits associated with *Bifidobacterium* to all infants, a number of commercial strains have been developed over the past decades. As new ingredients become available, their safety and suitability must be evaluated in preclinical and clinical studies. A review of the complete clinical data on the use of *Bifidobacterium* in infant formula is essential to better understand its potential impact on infant health and development. In this article, we begin to summarize recent clinical trials using selected commercial strains of *Bifidobacterium*.

**Key words:** *Bifidobacterium*; Probiotics; Gut Health; Microbiome; Babies.

**Контактна інформація:**

**Знаменська Т. К.** – доктор медичних наук, член-кореспондент НАМН України, професор, заступник директора з перинатальної медицини ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», завідувач відділу неонатології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», Президент Всеукраїнської Громадської організації «Асоціація неонатологів України» (м.Київ, Україна).

**e-mail:** tkznamenska@gmail.com

**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>

**Воробйова О. В.** – д.мед.н., провідний науковий спеціаліст, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», відділення неонатології, (м. Київ, Україна).

**e-mail:** dr.vorobiova@ukr.net

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5199-0217>

**ResearcherID:** <http://www.researcherid.com/rid/V-1251-2017>

**Contact Information:**

**Tetiana Znamenska** – Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Deputy Director for Perinatal Medicine SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine», Head of the Department of Neonatology SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukyanova of NAMS of Ukraine», President of the All-Ukrainian Public Organization «Association of Neonatologists of Ukraine» (Kiyv, Ukraine).

**e-mail:** tkznamenska@gmail.com

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5402-1622>

**O. Vorobiova** – MD, Department of Neonatology, Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. Lukyanova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine).

**e-mail:** dr.vorobiova@ukr.net

**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5199-0217>

**ResearcherID:** <http://www.researcherid.com/rid/V-1251-2017>

Надійшло до редакції 12.08.2023 р.

Підписано до друку 10.10.2023 р.



**ВИМОГИ ДЛЯ ОФОРМЛЕННЯ ТА ПОДАННЯ МАТЕРІАЛІВ  
ДЛЯ ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ «НЕОНАТОЛОГІЯ, ХІРУРГІЯ  
ТА ПЕРИНАТАЛЬНА МЕДИЦИНА»  
2023 рік**

**Розділи журналу:**

- Організація та перспективи розвитку перинатальної допомоги в Україні
- Результати дисертаційних та науково-дослідних робіт:
  - Неонатологія;
  - Реанімація та інтенсивна терапія новонароджених;
  - Неонатальна хірургія;
  - Перинатальна медицина;
  - Педіатрія;
  - Медична генетика;
  - Клінічна фармакологія;
  - Фізіологія і патофізіологія;
  - Морфологія і патоморфологія;
  - Етика, деонтологія, перинатальна психологія.
- Клінічні лекції.
- Аналітичні оглядові статті.
- Новини доказової медицини.
- Дискусійний клуб.
- Випадки з практики.
- Рекомендації для впровадження у практику (методичні рекомендації, нововведення, інформаційні листи тощо).
- Новини наукового життя (інформація про конференції, що відбулися та ті, що плануються).
- Післядипломна освіта.
- Нариси з історії спеціальності.

До друку приймаються статті українською та англійською мовами обсягом до 10 сторінок (включаючи таблиці, ілюстрації, резюме, перелік посилань тощо), лекції, оглядові статті – до 15 сторінок, короткі повідомлення, рецензії – до 5 сторінок, інші матеріали (історичні нариси, ювілеї) – 2-3 сторінки. Шрифт Times New Roman, 12 кегль, інтервал – 1,5; поля – по 2,0 см, в редакторі Word версії 7,0 і вище. Не рекомендується автоматично переносити слова в текстовому редакторі.

Назва файлу має відповідати прізвищу першого автора.

**До статті додаються:**

- Рукопис статті та реферату статті в роздрукованому вигляді.
- Електронний варіант статті та реферату статті.
- Відомості про автора (співавторів) статті (українською та англійською мовами).
  - Прізвище, Ім'я, По-батькові
  - наукова ступінь, вчене звання
  - місце роботи, посада
  - контактні дані: поштова адреса, контактний номер телефону, e-mail
  - уніфікований міжнародний ідентифікатор суб'єктів наукової діяльності (вчених) ORCID <http://orcid.org/>
  - авторський ідентифікатор Researcher ID (Web of Science) <http://www.researcherid.com>
  - авторський ідентифікатор Author ID (Scopus) (за наявності)
  - електронне фото автора/авторів статті.
- Офіційне направлення за встановленим зразком, з візою керівника установи, в якій виконана робота, завірене круглою печаткою.
  - Висновок з біоетичної експертизи;
  - Декларація про відсутність / наявність конфлікту інтересів.
  - Декларація про відсутність плагіату.
  - Два екземпляри Договору на передачу невиключного майнового права на використання наукового твору, підписані автором (співавторами).

Форми для заповнення у форматі PDF представлені на офіційному web-сайті журналу <http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

**Структура статті**

1. У заголовку статті зазначають: УДК (універсальний десятковий класифікатор), ініціали та прізвище автора (авторів), назву статті; назву установи (навчальний заклад, НДІ, ЛПЗ тощо), де виконана робота, у називному відмінку, з обов'язковим зазначенням відомчої належності; країну, місто.

Даний блок інформації повинен бути представлений як українською, так і англійською мовами. Прізвища авторів доцільно вказувати так само, як і в попередніх публікаціях або транслітерувати за системою BGN (Board of Geographic Names), див. сайт: <http://www.slovnuk.ua/services/translit.php>, паспортна транслітерація. Важливо вказувати офіційно прийняту назву організації, де виконана робота.

2. Розширене резюме: українською, англійською мовами не більше 2 друкованих сторінок (назва статті, ініціали та прізвища авторів, назва закладу, місто, країна та коротка інформація матеріалу рукопису: вступ, мета, матеріали і методи, результати дослідження, висновки). Шрифт Times New Roman, 12 кегль, інтервал – 1,5; поля – по 2,0 см, в редакторі Word версії 7,0 і вище).

**Важливо!** Розширене авторське резюме до статті є основним джерелом інформації у вітчизняних та зарубіжних інформаційних системах та наукометричних базах даних, які індексують журнал. Резюме має викладати лише суттєві факти роботи, за якими читачеві повинно бути зрозуміла суть проведеного дослідження. Відповідно до цього читач визначає, чи варто звертатися до повного тексту статті для отримання більш докладної інформації, яка його цікавить.

Тексти резюме повинні бути автентичними.

Опубліковане резюме буде доступно на сайті Open Journal Systems (OJS) та в електронній базі Української науково-освітньої телекомунікаційної мережі «УРАН», яка надає доступ для міжнародних пошукових систем.

3. Ключові слова: українською й англійською мовами (розділовий знак «;»).

4. Текст статті повинен мати такі розділи:

- при публікації результатів оригінальних наукових досліджень – вступ, мета і завдання дослідження, матеріали та методи, результати та їх обговорення, висновки, перспективи подальших досліджень, література (назва розділів повинна бути виділена жирним шрифтом);

- лекційні статті – обґрунтування теми, план, основна частина (за загальноприйнятим підходом до подання матеріалу), заключна частина;

- оглядові статті – авторське рішення викладення матеріалу, узагальнення (або висновки), рекомендації для розвитку наукового напрямку та/або практичної медицини;

- випадки з практики – авторське рішення викладення матеріалу.

Літерні позначення та абревіатури повинні бути пояснені в тексті при першому використанні.

5. Таблиці, ілюстрації та графічний матеріал представляються з використанням редакторів WORD з відповідними посиланнями у тексті, їх кількість повинна відповідати змісту статті. Графічний матеріал не повинен дублювати матеріал таблиць. Графіки і схеми не слід перевантажувати текстовою інформацією.

Порядковий номер таблиці вказується у верхньому правому куті; нижче, на наступному рядку пишеться назва таблиці. Порядковий номер рисунку вказується знизу, зліва під рисунком. Після номеру, на тому ж рядку – назва рисунку, на наступному – пояснення умовних позначень – цифр, букв тощо. У підписах до мікрофотографій вказується збільшення і метод забарвлення.

Цифрові результати повинні бути наведені у міжнародних одиницях (SI). Не можна вживати скорочення, які не є загально визначеними.

Назви фірм, реагентів та обладнання, які використані у роботі, подаються в оригінальному написанні з уточненням країни виробника.

6. Бібліографічні посилання в тексті статті подаються цифрою у квадратних дужках; номер посилання вказується у списку літератури в порядку їх цитування у тексті. Бібліографія повинна містити, крім основних робіт, публікації за останні 5 років. Посилання на неопубліковані роботи не допускаються. Автор несе відповідальність за правильність подання бібліографічних даних.

Список літератури друкується на окремому аркуші через 1,0 інтервал у порядку їх цитування у тексті.

Кількість цитованих публікацій в оригінальних статтях не повинна перевищувати 30 літературних джерел, в оглядових – 60, у лекціях та інших матеріалах – не більше 30. Бібліографія повинна містити, крім основних робіт, публікації останніх 5 років.

Список літератури подається згідно рекомендацій з оформлення посилань у наукових роботах за Ванкуверським стилем (Vancouver style) (Citing and referencing: Vancouver: a guide to the styles recommended by Monash schools and departments for students and researchers / Monash University Library. 2015. URL: <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/vancouver> (viewed on 13.10.2016).

Бібліографічні списки (References) для міжнародних бібліографічних та наукометричних баз даних / систем цитування (Scopus, Web of Science) подаються включаючи всі джерела літератури, при цьому вони повинні бути представлені не тільки мовою оригіналу, але і в латиниці (романським алфавітом).

У романському алфавіті для україномовних/російськомовних джерел використовується наступна структура бібліографічного посилання: автор (транслітерація), назва статті (транслітерація) та переклад назви книги або статті на англійську мову (в квадратних дужках), назва джерела (транслітерація), вихідні дані в цифровому форматі, вказівка на мову статті в дужках (in Ukrainian, in Russian).

Транслітерація – механічна передача тексту й окремих слів, які написані однією графічною системою, засобами іншої графічної системи при другорядній ролі звукової точності, тобто передача однієї писемності літерами іншої.

Приклад системи автоматичної транслітерації джерел українською мовою на сайті:

<http://www.slovnyk.ua/services/translit.php>.

Приклад системи автоматичної транслітерації джерел російською мовою на сайті: <http://www.translit.ru>.

При складанні пристатейного списку літератури, з урахуванням вимог наукометричних баз даних, рекомендовано використання безкоштовних програм створення бібліографічних описів у романській абетці, що дозволяє автоматично створювати посилання за одним із світових стандартів:

<http://www.easybib.com/>

<http://www.bibme.org/>

<http://themecraft.net/www/sourceaid.com>

Всі статті проходять подвійне сліпе рецензування.

Стаття повинна бути вивірена орфографічно та стилістично. Редакція залишає за собою право виправлення термінологічних і стилістичних помилок, усунення ілюстрацій, які не мають прямого відношення до тексту статті; скорочення тексту статті.

Статті, надіслані автором для корекції, зокрема, у разі неправильного оформлення списку літератури, необхідно повернути до редакції не пізніше 10 днів після отримання. Повернення статті у більш пізні терміни зміною попередню дату її надходження з повторною реєстрацією.

---

Матеріали, оформлені з порушеннями вимог біоетичної експертизи, некоректні за змістом, з грубими статистичними помилками, які не підлягають корекції, повертаються авторам. У разі відмови у публікації статті автору надсилається мотивований лист. Примірник статті залишається в архіві редакції в електронному вигляді.

Дотримуючись етичних норм, автор несе відповідальність за те, що поданий рукопис є оригінальною, раніше не опублікованою працею, і не представлений для публікації в інші видання. У списку авторів перераховані тільки ті, хто відповідно до етичних норм академічної спільноти можуть вважатися авторами.

Редакція журналу здійснює редагування та переклад повного тексту статті, резюме та розширеного резюме для сайту Open Journal Systems (OJS) з мови оригіналу на англійську та російську мову англомовним та російськомовним редактором за індивідуальним замовленням автора.

### **Положення про авторські права**

Автори, які публікуються у цьому журналі, погоджуються з наступними умовами:

1. Автори залишають за собою право на авторство своєї роботи та передають журналу право першої публікації цієї роботи на умовах ліцензії Creative Commons Attribution License, котра дозволяє іншим особам вільно розповсюджувати опубліковану роботу з обов'язковим посиланням на авторів оригінальної роботи та першу публікацію роботи у цьому журналі.

2. Автори мають право укладати самостійні додаткові угоди щодо неексклюзивного розповсюдження роботи у тому вигляді, в якому вона була опублікована цим журналом (наприклад, розміщувати роботу в електронному сховищі установи або публікувати у складі монографії), за умови збереження посилання на першу публікацію роботи у цьому журналі.

3. Політика журналу дозволяє і заохочує розміщення авторами в мережі Інтернет (наприклад, у сховищах установ або на особистих веб-сайтах) рукопису роботи (препринту) як до подання цього рукопису до редакції, так і під час його редакційного опрацювання, оскільки це сприяє виникненню продуктивної наукової дискусії та позитивно позначається на оперативності та динаміці цитування опублікованої роботи (див. The Effect of Open Access).

Автори статті несуть персональну відповідальність за розкриття всіх фінансових і особистих відносин з урахуванням ймовірного конфлікту інтересів.

При подачі статті вказуються:

- джерела підтримки роботи, у т.ч. імена спонсорів, а також пояснення ролі даних джерел, якщо такі є (складання дизайну дослідження, збір, аналіз і інтерпретація даних, складання звіту і прийняття рішення про подання матеріалу для публікації) або заяву про те, що джерел підтримки не було або вони не мали такої участі;  
- пояснення характеру і ступеня доступу авторів до результатів опублікованих досліджень, у т.ч., чи є доступ постійним.

Публікаційна етика журналу відповідає положенню «Єдині вимоги до рукописів, що представляються в біомедичні журнали, підготовки та редагування біомедичних публікацій» Міжнародного Комітету Редакторів Медичних Журналів (International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE. <http://www.icmje.org/>)

Після виходу номера журналу автор статті чи авторський колектив (по першому автору) отримує 1 примірник часопису поштовим переказом.

**Електронна версія номерів журналу представлена на офіційному web-сайті:** <http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

**Матеріали для публікації та супровідні документи подаються на офіційний web-сайт журналу:**

<http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

**E-mail:** [neonatology@bsmu.edu.ua](mailto:neonatology@bsmu.edu.ua)

**Контактний телефон відповідального редактора web-сайту журналу:**

+38(050)5606138 Годованець Олексій Сергійович

**Листування з питань видавничої діяльності:**

**Контактна адреса:**

Проф. Годованець Ю.Д.

Журнал «Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина»

Буковинський державний медичний університет

Театральна площа, 2; м.Чернівці, 58002. Україна

**E-mail:** [neonatology@bsmu.edu.ua](mailto:neonatology@bsmu.edu.ua)

**Контактний телефон:** +38 (050) 6189959

**Передплатний індекс журналу «Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина»:** 89773.

**ВАНКУВЕР СТИЛЬ (VANCOUVER STYLE)**

*Сфера застосування – медицина та фізичні науки*

**Цитування в тексті**

Ванкувер стиль передбачає використання посилань у тексті роботи щоразу, коли ви цитуєте джерело, будь то парафраз, цитата всередині рядка чи блокова цитата.

**Парафраз.** Не береться в лапки.

**Цитата всередині рядка.** Береться в лапки.

**Блокова цитата** (складається з більше, ніж трьох рядків тексту).

Подається в тексті з нового рядка з абзацу, не береться в лапки.

У тексті з цитованою інформацією необхідно вказати порядковий номер, який також відображається у списку використаних джерел.

Можливі три варіанти позначення цитувань в тексті:

- 1) **порядковий номер у круглих дужках: (1);**
- 2) **порядковий номер у квадратних дужках: [1];**
- 3) **порядковий нарядковий цифровий індекс: <sup>1</sup>.**

Якщо прізвище автора цитованої праці вказано в парафразі чи цитаті всередині рядка, позначення цитування ставиться одразу після прізвища.

Якщо прізвище автора цитованої праці не вказано в парафразі чи цитаті всередині рядка, позначення цитування ставиться наприкінці цитованого тексту після розділових знаків.

**Наприклад:**

У своєму дослідженні, Джонс (1) стверджує ...

У своєму дослідженні, Джонс [1] стверджує ...

У своєму дослідженні, Джонс<sup>1</sup>

**Наприклад:**

... про що свідчить нещодавнє австралійське дослідження. (2)

або ... про що свідчить нещодавнє австралійське дослідження. [2]

або ... про що свідчить нещодавнє австралійське дослідження.<sup>2</sup>

Якщо прізвище автора цитованої праці вказано в тексті блокової цитати, позначення цитування ставиться наприкінці цитованого тексту після розділових знаків.

Якщо джерело згадується у тексті знову, йому необхідно присвоїти той самий номер.

Зазвичай, сторінковий інтервал у внутрішньо текстовому посиланні не зазначається, але за потреби його можна вказати поряд із порядковим номером.

**Наприклад:**

У своєму дослідженні, Джонс (1 с3-4) стверджує ...

... один автор охарактеризував це як "спонтанний перелив сильних почуттів".(1 с23)

... один автор охарактеризував це як "спонтанний перелив сильних почуттів".<sup>1(c23)</sup>

При цитуванні кількох джерел одночасно, необхідно перерахувати кожен номер в дужках, через кому або тире. У посиланні не повинно бути пробілів між комами або тире.

**Наприклад:**

Several recent studies [1,5,6,7] have suggested that...

Several recent studies (1,5-7) have suggested that...

Several recent studies <sup>1,5-7</sup> have suggested that...

**Упорядкування списку використаних джерел**

Список використаних джерел розміщується в кінці роботи на окремій сторінці. Він надає інформацію, необхідну для того, щоб знайти і отримати будь-яке джерело, процитоване в тексті документа. Кожне джерело, процитоване в роботі, має з'явитися у списку використаних джерел. Так само, кожен запис у списку використаних джерел має бути згаданим в тексті роботи.

Назва списку використаних джерел – Посилання. Заголовок вирівнюється по центру.

Джерела нумеруються та організовуються в переліку посилань у порядку їх згадування в тексті.



## Правила бібліографічного опису для списку використаних джерел

Якщо в публікації зазначено від одного до шести авторів, у посиланні необхідно перерахувати їх усіх через кому (див. опис статті з журналу 1-6 авторів).

Якщо авторів більше шести, необхідно перерахувати шістьох авторів через кому та вказати «та ін.» (див. опис статті з журналу 7 і більше авторів).

У посиланні необхідно скорочувати число сторінок, де це можливо, наприклад, якщо цитату розміщено на сторінках 123-124, то в посиланні вказується 123-4.

Якщо в публікації є DOI, то його необхідно вказати після URL.

Необхідно скорочувати назви місяців у датах звернення/публікації тощо (відповідно до мовних правил певної країни).

Назви журналів необхідно зазначити скорочено. Перелік скорочень можна дізнатися за посиланням:

- англійські: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals><sup>21</sup>
- україномовні: [http://dndims.com/upload/files/DSTU\\_3582\\_2013.pdf](http://dndims.com/upload/files/DSTU_3582_2013.pdf)

|  | СХЕМА   | ПРИКЛАД   |
|--|---|---|
| Стаття з журналу<br>(1-6 авторів)        | Прізвище1 Ініціали1,<br>Прізвище2 Ініціали2,<br>Прізвище3 Ініціали3,<br>Прізвище4 Ініціали4,<br>Прізвище5 Ініціали5,<br>Прізвище6 Ініціали6.<br>Назва статті.<br>Назва журналу.<br>Дата публікації;<br>Номер тому(Номер випуску):<br>Сторінковий інтервал.        | Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. Arch Neurol. 2005 Jan 12;62(1):112-6.<br><br>Немец АЮ, Ваврив ДМ. Взаимодействие высокочастотных и низкочастотных колебаний в синхронизируемом генераторе. Известия высших учебных заведений. Радиоэлектроника. 2015 Янв 8;58(12):53-61.   |
| Стаття з журналу<br>(7 і більше авторів) | Прізвище1 Ініціали1,<br>Прізвище2 Ініціали2,<br>Прізвище3 Ініціали3,<br>Прізвище4 Ініціали4,<br>Прізвище5 Ініціали5,<br>Прізвище6 Ініціали6, та ін.<br>Назва статті.<br>Назва журналу.<br>Дата публікації;<br>Номер тому(Номер випуску):<br>Сторінковий інтервал. | Hallal AH, Amortegui JD, Jeroukhimov IM, Casillas J, Schulman CI, Manning RJ, et al. Magnetic resonance cholangiopancreatography accurately detects common bile duct stones in resolving gallstone pancreatitis. J Am Coll Surg. 2005 Jun 12;200(6):869- 75.<br><br>Батурин СА, Дьяченко НХ, Ложкін РН, Ільченко АС, Кур'ята ЛД, Шумко ВГ, та ін. Розробка математичної моделі відкладання сажі у фільтрі відпрацьованих газів автомобіля. Вісник ЖДТУ. Сер.: Техн. Науки. 2013 Груд 18;4(67):75-9.<br><br>Baturyn SA, Diachenko NK, Lozhkin RN, Ilchenko AS, Kuriata LD, Shumko VH, et al. Rozrobka matematychnoi modeli vidkladannia sazhi u filtri vidpratsovanykh haziv avtomobilia. Visnyk ZhDTU. Ser.: Tekhn. Nauky. 2013 Hrud 18; 4(67):75-9.  |
| Стаття з журналу (онлайн)                | прізвище Ініціали.<br>Назва статті.<br>Назва журналу [Інтернет].<br>Дата публікації [Дата цитування];<br>Номер тому(Номер випуску):<br>Сторінковий інтервал.<br>Доступно: URL DOI   | Stockhausen L, Turale S. An explorative study of Australian nursing scholars and contemporary scholarship. J Nurs Scholarsh [Internet]. 2011 Mar [cited 2013 Feb 19];43(1):89-96. Available from: <a href="http://search.proquest.com.ezproxy.lib.monash.edu.au/docview/858241255">http://search.proquest.com.ezproxy.lib.monash.edu.au/docview/858241255</a><br><br>Пилипко ММ, Морозов ДВ. Порівняльний аналіз схем КМОП суматорів на 10 транзисторах. Изв. вузов. Радиоэл. [Інтернет]. 2014 Бер [цитовано 2016 Січ 22];57(9):42-54.<br>Доступно: <a href="http://radio.kpi.ua/article/view">http://radio.kpi.ua/article/view</a><br><br>Kanneganti P, Harris JD, Brophy RH, Carey JL, Lattermann C, Flanigan DC. The effect of smoking on ligament and cartilage surgery in the knee. Am J Sports Med [Internet]. 2012 Dec [cited 2013 Feb 19];40(12):2872-8. Available from: <a href="http://ajs.sagepub.com/content/40/12/2872">http://ajs.sagepub.com/content/40/12/2872</a> DOI: 10.1177/0363546512458223<br><br>Польщикова КО, Лаврут ОО. Математична модель процесу обміну інформацією. Системи обробки інформації [Інтернет]. 2007 [цитовано 2016 Січ 20];1(13):82-3. Доступно: <a href="http://sit.nuou.org.ua/article/view/39029">http://sit.nuou.org.ua/article/view/39029</a> DOI 10.1109/25.966585 |
| Книга                                    | Прізвище Ініціали.<br>Назва книги.<br>Номер видання*.<br>Місце видання:<br>Видавець; Рік видання.<br>Кількість сторінок.<br><br>*якщо не перше  | Carlson BM. Human embryology and developmental biology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2009. 541 p.<br><br>Вентцель ЕС. Системи обробки інформації. Київ: Політехніка; 1992. 552 с.<br><br>Venttsel ES. Systemy obrobky informatsii. Kyiv: Politekhnik; 1992. 552 s.   |

**Матеріал опубліковано з видання:** Методичні рекомендації / автори-укладачі: О. Боженко, Ю. Корян, М. Федорець ; редколегія: В. С. Пашкова, О. В. Воскобойнікова-Гузєва, Я. Є. Сошинська, О. М. Бруй ; Науково-технічна бібліотека ім. Г. І. Денисенка Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» ; Українська бібліотечна асоціація. – Київ : УБА, 2016. – Електрон. вид. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM). – 117 с. – ISBN 978-966-97569-2-3.

|  |  |  |
|--|--|--|
| Книга за редакцією                                   | Прізвище редактора Ініціали, редактор.<br>Назва книги.<br>Номер видання*.<br>Місце видання: Видавець;<br>Рік видання.<br>Кількість сторінок.<br><br>*якщо не перше   | O'Campo P, Dunn JR, editors. Rethinking social epidemiology: towards a science of change.<br>Dordrecht: Springer; 2012. 348 p.<br><br>Герасимов БМ, редактор. Інтелектуальні системи підтримки рішень менеджменту. Львів: МАКНС;2005. 119 с.   |
| Частина книги  | Прізвище Ініціали.<br>Назва книги.<br>Номер видання.<br>Місце видання: Видавець;<br>Рік видання.<br>Номер розділу, Назва розділу;<br>сторінковий інтервал розділу.   | Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. Chapter 29, Endometriosis; p. 1103-33.<br><br>Шумілін ОР, редактор. Бойовий статут Сухопутних військ. Київ: КСВ ЗСУ; 2010. Частина 2, Батальйон, рота; с. 172–184.   |
| Електронна книга                                     | Прізвище Ініціали.<br>Назва веб-сторінки [Інтернет].<br>Місце видання: Спонсор веб-сайта/Видавець;<br>Рік видання [дата цитування].<br>Кількість сторінок.<br>Доступно: URL DOI:   | Schiraldi GR. Post-traumatic stress disorder sourcebook: a guide to healing, recovery, and growth [Internet]. New York: McGraw-Hill; 2000 [cited 2006 Nov 6]. 446 p. Available from: <a href="http://books.mcgraw-hill.com/getbook.php?isbn=0071393722&amp;template=#toc">http://books.mcgraw-hill.com/getbook.php?isbn=0071393722&amp;template=#toc</a> DOI: 10.1036/0737302658<br><br>Дахно ІІ. Історія держави і права: навч. посібн. для студ. ВНЗ [Інтернет]. Київ: Цул; 2013 [цитовано 2016 Січ 20]; 658 с. Доступно: <a href="http://culonline.com.ua/index.php?newsid=820">http://culonline.com.ua/index.php?newsid=820</a>  |
| Автореферат або дисертація                           | Прізвище Ініціали.<br>Назва роботи [тип роботи].<br>Місце видання:<br>Установа, в якій надруковано роботу;<br>Рік видання.<br>Кількість сторінок.  | O'BRIEN KA. THE PHILOSOPHICAL AND EMPIRICAL INTERSECTIONS OF CHINESE MEDICINE AND WESTERN MEDICINE [DISSERTATION]. MELBOURNE, AU; MONASH UNIVERSITY; 2006. 439 p.<br><br>ШВАЧКА МТ. ВЛАСТИВОСТІ РОЗВ'ЯЗКІВ СТОХАСТИЧНИХ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ РІВНЯНЬ З НЕСКІНЧЕННОЮ ПІСЛЯДИЄЮ [ДИСЕРТАЦІЯ]. ЧЕРНІВЦІ: ЧЕРНІВ. НАЦ. УН-Т; 2014. 68 с.<br><br>SHVACHKA MT. VLASTYVISTI ROZVIAZKIV SKHOLASTYCHNYKH DYFERENTSIALNO-FUNKTSIONALNYKH RIVNIAN Z NESKINCHENOIU PISLIADIEIU [DYSERTATSIIA]. CHERNIVTSI: CHERNIV. NATS. UN-T; 2014. 68 s.   |
| Автореферат чи дисертація (онлайн)                   | Прізвище Ініціали. Назва роботи [тип роботи в Інтернеті].<br>Місце видання: Видавець; Рік видання. [цитовано Дата].<br>Доступно: URL DOI:  | Bianchi M. Multiscale fabrication of functional materials for regenerative medicine [dissertation on the internet]. Bologna, IT: University of Bologna; 2011. [cited 2012 Dec 07]. Available from: <a href="http://ezproxy.lib.monash.edu.au/login?url=ht tp://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-22881-0">http://ezproxy.lib.monash.edu.au/login?url=ht tp://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-22881-0</a><br><br>Пустова МТ. Аналітичні та статистичні моделі оцінювання показників ефективності функціонування call-центрів [дисертація в Інтернеті]. Чернівці: Чернів. нац. ун-т; 2014. [цитовано 2016 Січ 20] Доступно: <a href="http://www.disslib.org/analitychni-ta-statystychni-modeli-otsinjuvannja-pokaznykiv-efektyvnosti.html">http://www.disslib.org/analitychni-ta-statystychni-modeli-otsinjuvannja-pokaznykiv-efektyvnosti.html</a>  |
| Матеріали конференцій (опубліковані: автор/редактор) | Прізвище Ініціали. Назва матеріалу. В: Прізвище редактора Ініціали, редактор. Назва видання. Матеріали конференції Назва; Дата конференції; Місце конференції. Місце видання: Видавець; Рік видання. сторінковий інтервал.<br><br>або<br><br>Прізвище редактора Ініціали, редактор(и). Назва видання. Назва матеріалів конференції; Дата конференції; Місце конференції. Місце видання: Видавець; Рік видання. | Grassby AJ. Health care in the multi-cultural society. In: Walpole R, editor. Rural Health. Proceedings of the Rural Health Conference of the Royal Australian College of General Practitioners; 1978; Melbourne.<br>Melbourne, AU: The Royal Australian College of Practitioners; 1979. p. 49-50.<br><br>Абрамов ДО, Фінансові механізми забезпечення реалізації портфелю інноваційних проектів підприємств України. В: Редько ОВ, редактор. Матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. Сучасні підходи до управління підприємством; 2015 Квіт 15-17; Київ. Київ: НТУУ «КПІ»; 2015, с. 15-20.<br><br>Harris AH, editor. Economics and health. Proceedings of the 19th Australian Conference of Health Economists; 1997 Sep 13-14; Sydney, AU. Kensington (AU): School of Health Services Management, University of New South Wales; 1998.<br><br>Дубровка ФЛ, редактор. Матеріали VIII International Conference on Antenna Theory and Techniques (ICATT); 2012 Трав 10-12; Харків, Харків: Харк. Нац. ун-т радіоелектр.; 2012. |

**Матеріал опубліковано з видання:** Методичні рекомендації / автори-укладачі: О. Боженко, Ю. Корян, М. Федорець ; редколегія: В. С. Пашкова, О. В. Воскобойнікова-Гузєва, Я. Є. Сошинська, О. М. Бруй ; Науково-технічна бібліотека ім. Г. І. Денисенка Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» ; Українська бібліотечна асоціація. – Київ : УБА, 2016. – Електрон. вид. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM). – 117 с. – ISBN 978-966-97569-2-3.

|   |  |   |
|---|--|---|
| Матеріали конференцій (електронні):       | <p>Прізвище Ініціали.<br/>Назва матеріалу.<br/>В: Назва конференції [Інтернет]; Дата конференції; Місце конференції.<br/>Місце видання: Видавець; Дата видання [цитовано Дата]; Сторінковий інтервал.<br/>Доступно: URL або Назва БД.</p> <p>або</p> <p>Прізвище редактора Ініціали, редактор.<br/>Назва видання [Інтернет].<br/>Матеріали конференції<br/>Назва; Дата конференції; Місце конференції.<br/>Місце видання: Видавець; [цитовано Дата].<br/>Доступно: URL або Назва БД.</p> | <p>Murphy KA. Safe at heart: an empowerment approach to relationship abuse prevention. In: Connecting Research and Practice in Relationships [Internet]; 2009 Nov 7-8; QUT Kelvin Grove Campus, AU. Melbourne (AU): Australian Psychological Society; 2009 [cited 2012 Dec 18]; p. 28-34.<br/>Available from: <a href="http://search.informit.com.au/documentSummary;dn=203435761811048;res=IELHEA">http://search.informit.com.au/documentSummary;dn=203435761811048;res=IELHEA</a></p> <p>Абрамов ДО. Фінансові механізми забезпечення реалізації портфелю інноваційних проектів підприємств України. В: Матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. Сучасні підходи до управління підприємством [Інтернет]; 2015 Квіт 15-17; Київ.<br/>Київ: НТУУ «КПІ»; 2015 [цитовано 2016 Січ 20]; с. 15-20.<br/>Доступно: <a href="http://sit.nuou.org.ua/article/view/3721_0">http://sit.nuou.org.ua/article/view/3721_0</a></p> <p>Bashook PG, Miller SH, Parboosingh J, Horowitz SD, editors. Credentialing physician specialists: a world perspective [Internet]. Proceedings; 2000 Jun 8-10; Chicago. Evanston (IL): American Board of Medical Specialties, Research and Education Foundation; [cited 2006 Nov 3]. 221 p. Available from: <a href="http://www.abms.org/publications.asp">http://www.abms.org/publications.asp</a></p> <p>Дубровка ФЛ, редактор. Матеріали VIII International Conference on Antenna Theory and Techniques (ICATT) [Інтернет]; 2012 Трав 10-12; Харків, Харків: Харк. Нац. ун-т радіоелектр.; [цитовано 2016 Січ 20]; 112 с. Доступно: <a href="http://icatt.org.ua/proc/">http://icatt.org.ua/proc/</a></p> |
| Електронний ресурс (веб-сайт)             | <p>Прізвище Ініціали або Назва організації.<br/>Назва сторінки [Інтернет].<br/>Місце видання: Видавець; Дата або рік видання [оновлено Дата; цитовано Дата].<br/>Доступно: URL</p>   | <p>Diabetes Australia. Diabetes globally [Internet]. Canberra ACT: Diabetes Australia; 2012 [updated 2012 June 15; cited 2012 Nov 5]. Available from: <a href="http://www.diabetesaustralia.com.au/en/Understanding-Diabetes/Diabetes-Globally/">http://www.diabetesaustralia.com.au/en/Understanding-Diabetes/Diabetes-Globally/</a></p> <p>Видавнича служба УРАН. Наукова періодика України [Інтернет]. Київ: Видавнича служба УРАН; 2013 [оновлено 2016 Січ 10; цитовано 2016 Січ 20]. Доступно: <a href="http://journals.uran.ua/">http://journals.uran.ua/</a></p>   |
| Урядові та технічні звіти (друк)          | <p>Прізвище Ініціали.<br/>Назва звіту.<br/>Місце видання:<br/>Видавець;<br/>Дата видання.<br/>Кількість сторінок.<br/>Номер звіту.</p>   | <p>Rowe IL, Carson NE. Medical manpower in Victoria. East Bentleigh (AU): Monash University, Department of Community Practice; 1981. 35 p. Report № 4.</p> <p>Нелін ЄН. Високочастотні резонансно-тунельні кристалопоподібні пристрої обробки сигналів. Київ: НТУУ "КПІ"; 2011. 119 с. Д/б №2332-п.</p> <p>Nelin YeN. Vysokovyribni rezonansno-tunelni krystalopodibni prystroi obrobky syhnaliv. Kyiv: NTUU "KPI"; 2011. 119 s. D/b №2332-p.</p>   |
| Урядові та технічні звіти роботи (онлайн) | <p>Прізвище Ініціали.<br/>Назва звіту [Інтернет].<br/>Місце видання:<br/>Видавець;<br/>Дата видання [цитовано Дата].<br/>Кількість сторінок.<br/>Номер звіту.<br/>Доступно: URL DOI</p>  | <p>Li Z, Zeki R, Hilder L, Sullivan EA. Australia's mothers and babies 2010 [Internet]. Canberra (AU): AIHW; 2012 [cited 2012 Dec 18]. 132 p. Cat. No.: PER 57. Available from: <a href="http://aihw.gov.au/publication-detail/?id=60129542376">http://aihw.gov.au/publication-detail/?id=60129542376</a></p> <p>Нелін ЄН. Високочастотні резонансно-тунельні кристалопоподібні пристрої обробки сигналів [Інтернет]. Київ: НТУУ "КПІ"; 2011 [цитовано 2016 Січ 20]. 119 с. Д/б №2332-п. Доступно: <a href="http://ela.kpi.ua/handle/123456789/4753">http://ela.kpi.ua/handle/123456789/4753</a></p>  |
| Патент                                    | <p>Прізвище винахідника Ініціали, винахідник;<br/>Назва патентовласника, патентовласник.<br/>Назва винаходу.<br/>Номер патенту*.<br/>Дата публікації.</p> <p>*вказати країну</p>   | <p>Pagedas AC, inventor; Ancel Surgical R&amp;D Inc., assignee. Flexible endoscopic grasping and cutting device and positioning tool assembly. United States patent 20020103498. 2002 Aug 1.</p> <p>Глухов ОЗ, Хархота ГІ, Агурова ІВ, Прохорова СІ, винахідники; Донецький ботанічний сад НАН України, патентовласник. Спосіб використання галофітів для демінералізації едафотопів техногенних земель. Патент України № 83384. 2013 Вер 10.</p> <p>Hlukhov OZ, Kharkhota HI, Ahurova IV, Prokhorova SI, vynakhidnyky; Donetsky botanichny sad NAN Ukrainy, patentovlasnyk. Sposib vykorystannia halofitiv dlia demineralizatsii edafotopiv tekhnohennykh zemel. Patent Ukainy № 83384. 2013 Ver 10.</p>   |

Автор-укладач: Марія Федорець

---

---

**REQUIREMENTS FOR REGISTRATION TO SUBMIT  
PUBLICATIONS TO THE MEDICAL SCIENTIFIC-PRACTICAL JOURNAL  
«Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine»  
2023**

**Chapters of the journal:**

- Organization and the prospects of perinatal aid development in Ukraine
  - Results of theses and scientific-research works:
    - Neonatology
    - Resuscitation and intensive care of newborns
    - Neonatal surgery
    - Perinatal medicine
    - Pediatrics
    - Medical genetics
    - Clinical pharmacology
    - Physiology and pathophysiology
    - Pathomorphology
    - Ethics, deontology, perinatal psychology
  - Clinical lectures
  - Review articles
  - News of evidence-based medicine=
- Discussion club
- Practical cases
  - Recommendations to be fulfilled in practical work: methodical guidelines, innovations, information letters.
  - News of scientific life (information on the conferences already held and those will be held in the following half-year).
  - Postgraduate education of physicians
  - Essays on the history of the specialty.

Articles accepted for publication in English, Ukrainian should be up to 10 pages (including tables, illustrations, summaries, a list of references, etc.), lectures, reviews - up to 15 pages, brief reports, review articles - up to 5 pages, other materials (historical essays, anniversaries) - 2-3 pages. Times New Roman, 12 pt, spacing - 1.5; margins - 2.0 cm in Word versions 7.0 and higher. Hyphenation is not recommended in the text editor.

The file name should correspond to the name of the first author.

**The article is supplied with:**

- The manuscript of the article and the abstract of the article in printed form.
- Electronic version of the article and abstract of the article.
- Information about the author (co-authors) of the article (in Ukrainian and English).
  - Full Name
  - academic degree, academic rank
  - place of work, position
  - contact details: postal address, contact phone number, e-mail
  - provides an identifier for individuals to use with their name as they engage in research, scholarship, and innovation activities ORCID <http://orcid.org/>
  - author's identifier Researcher ID (Web of Science) <http://www.researcherid.com>
  - author's identifier Author ID (Scopus) if available
  - electronic photo of the author / authors of the article.
- Official letter of referral according to the standard with the signature of the manager of the establishment where the work was conducted certified by a round stamp affixed.
  - Conclusion on bioethical expertise.
  - Declaration of absence / presence of a conflict of interest.
  - Declaration on the absence of plagiarism.
  - Two copies of the Agreement for the transfer of a non-exclusive property right to use a scientific work, signed by the author (co-authors).

Forms for filling in the PDF format are available on the official web-site of the journal (<http://neonatology.bsmu.edu.ua/>)

**Structure of the article**

1. The title of the article includes: UDC (universal decimal classifier), initials and author's surname (authors'), the title itself, name of the establishment (educational institution, scientific-research institute, therapeutic-preventive establishments etc.) where the work was performed, town/city, country.

This block should be presented in Ukrainian and English. Authors' names should correspond to their previous publications or according to BGN system (Board of Geographic Names) <http://www.slovyk.ua/services/translit.php>, passport transliteration). Official name of the institution where the work has been conducted should be indicated.

2. Extended summary: no more than 2 printed pages in English, Ukrainian (title of the article, initials and author's surname, name of the establishment, town/city, country and brief characteristics of the objective, methods and results of the study submitted in manuscript). The text of the summary must be original. Times New Roman, 12 point type, interval - 1,5; margins -2,0 cm, in the text editing program Word version 7,0 and higher),

It is significant! Extensive summary of the article is the main source of information in Ukrainian and foreign information systems and scientometric data bases where the journal is codified. The summary should include only principal facts of the study explaining the reader the sense of the study performed. According to the content of the summary the reader decides whether the complete text of the article is worth reading and getting more detailed information. The texts of the summary should be authentic.

The summary published will be available on Open Journal Systems (OJS) and in electron data base of the Ukrainian scientific-educational telecommunication network "URAN" offering access for international search engine.

3. Key words: in English, Ukrainian (separation mark ":").

---

---

4. The text of the article should contain the following parts:  
when the results of original scientific studies are presented – introduction, objective and tasks of investigation, materials and methods, results and their discussion, conclusions, prospects of further research, references (titles of the chapters should be in black type);

lecture articles – substantiation of the topic, plan, the basic part (according to generally accepted approach to write the material), concluding part;

review articles – authors determine themselves how to present the material, generalization (or conclusion), recommendations for the development of a scientific direction and/or practical medicine;

practical cases - authors determine themselves how to present the material.

Symbols and abbreviations must be explained in the text when first used.

5. Tables, illustrations and diagrams are presented with the use of WORD editors followed by appropriate references in the text, and their number should correspond to the content of the article.

Graphic material should not duplicate tables. Diagrams and schemes should not be overburden with text information.

Ordinal number of the table is indicated in the right upper corner; the title of the table is written lower in the next line. Ordinal number of the figure is indicated on the left under the figure. After the number in the same line – name of the figure, in the next one – explanation of symbols – numerals, letters etc. The notes to microphotos magnification and method of staining are indicated.

Numerical results must be given in international units (SI). Abbreviations not generally accepted are not allowed to be used.

Names of firms, reagents and equipment used in the work are given in original style with specification of the country of a producer.

6. Bibliographic references in the text are given with the corresponding number from the list in square brackets; reference number - in the list of references in the order of their citation in the text. References to unpublished works are not allowed. The author is responsible for the accuracy of bibliographic data.

References are printed on a separate sheet of paper with 1,0 interval in order of their citing in the text.

Number of publications cited in the original papers should not exceed 30 sources, in review articles – 60, lectures and other materials - no more than 30. The bibliography should contain, in addition to major works, the publication of the last 5 years.

The list of bibliographic sources is supplied according to (Vancouver style) (Citing and referencing: Vancouver: a guide to the styles recommended by Monash schools and departments for students and researchers / Monash University Library. 2015 URL: <http://guides.lib.monash.edu/citing-referencing/vancouver> (viewed on 13.10.2016).

References for international bibliographic and scientometric data bases/ citing systems (Scopus, Web of Science) are presented including all the literary sources, and they should be written both in original language and Latin (Roman alphabet).

The following structure of references is used for Ukrainian/Russian sources in Roman alphabet: author (transliteration), title of the article (transliteration) and translation of a book or article in English (in square brackets), the name of the source (transliteration), initial data in digital format, indication of the language the article is written in brackets (in Ukrainian, in Russian).

Transliteration is a mechanical presentation of the text and separate words written by means of one graphic system by means of another graphic system, when sound intelligibility is of minor importance, that is, one script is presented by the symbols of another one.

The system of automatic transliteration of sources in the Ukrainian language is found on the site: <http://www.slovyk.ua/servises/translit.php>

The system of automatic transliteration of sources in the Russian language is found on the site: <http://www.translit.ru>

The article should be corrected orthographically (spelling) and stylistically. The editorial staff exercise their right to correct terminological and stylistic mistakes, removing illustrations without direct relation to the text of the article, making the text shorter.

The articles sent by the authors for correction, including those with the references not designed properly, should be returned to the editorial board no later than 10 days after it was received. In case the article is returned later, the preliminary date of its receipt is changed with repeated registration.

The materials designed with violation of the requirements of bioethics expertise, incorrect by their content, with gross statistical errors impossible to be corrected, are returned to authors. In case the article is not accepted for publication the author/s receive a motivated letter. The copy is left in the archives of the editorial board. The works that have been already published or sent for other publications are inadmissible.

Following ethical principles the author is responsible for authenticity of a typescript never published or submitted for publication earlier. In the list of authors only those names should be enumerated who according to ethical principles of the academic society can be considered as authors.

The editorial staff of the journal edits and translates a complete text of the article/ extensive summary for the site Open Journal Systems (OJS) from the original language into English by a professional interpreter according to individual order of the author.

#### **Regulations concerning copyright**

The authors submitting articles for publication in this journal should agree to the following terms:

1. The authors confer their rights for their authorship and give the right of the first publication to the journal on terms of Creative Commons Attribution License, enabling other officials to distribute a published paper freely with an obligatory reference to the authors of an original paper and the first its publication in the journal.

2. The authors have the right to conclude their own additional agreements concerning non-exclusive distribution of the paper in the form it was published by the journal (for example, to place the paper in the electronic storefront or publish as a part of a monograph) in case the reference concerning the first publication in the journal is indicated.

3. The policy of the journal enables and encourages authors to place the materials of typescript (pre-print) in Internet (for example, in the storefronts of institutions or personal websites) both before the typescript is submitted

---

---

to the editor staff and during its editorial review, as it promotes a productive scientific discussion and positive responsiveness and dynamics of citing the presented paper (The Effect of Open Access).

Articles are published with statements or supporting documents, such as the ICMJE conflict of interest form, declaring:

- Authors' conflicts of interest; and
- Sources of support for the work, including sponsor names along with explanations of the role of those sources if any in study design; collection, analysis, and interpretation of data; writing of the report; the decision to submit the report for publication; or a statement declaring that the supporting source had no such involvement; and
- Whether the authors had access to the study data, with an explanation of the nature and extent of access, including whether access is on-going.

The publication ethics of the journal conform to the provision "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, Preparation and Editing of Biomedical Publications" of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) <http://www.icmje.org/>

After the journal is issued the author of the article or composite author (by the main author) receives 1 copy of the journal delivered by post.

**Electronic version of the journal available on the official web-site:** <http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

**Materials for publication and the accompanying documents are sent to the official journal site:**

<http://neonatology.bsmu.edu.ua/>

**E-mail:** [neonatology@bsmu.edu.ua](mailto:neonatology@bsmu.edu.ua).

**Contact phone number of the editor-in-chief of web-site:** +38 (050) 5606138 Godovanets Oleksiy

**Correspondence concerning publishing activities:**

**Mailing address:**

Yuliya Godovanets, MD, Professor  
Journal «Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine»  
Bukovinian State Medical University  
2, Teatralna sq.; Chernivtsi, 58002. Ukraine

**E-mail:** [neonatology@bsmu.edu.ua](mailto:neonatology@bsmu.edu.ua)

**Contact phone:** +38 (050) 6189959

**Subscription index of the Journal «Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine»:** 89773.



Коректор літературного тексту – Стахова Т.С.  
Редагування бібліографічних посилань – Торак Т.О.  
Редагування англійського тексту – Джус І.В.  
Дизайн – Воронцов О.Ю.  
Комп'ютерна верстка – Воронцов О.Ю.

Усі статті рецензовані.  
Відповідальність за зміст рекламних матеріалів несе рекламодавець.  
Фотографії на першій сторінці обкладинки друкуються з дозволу правовласників

Підписано до друку 20.11.2023 р.

Формат 64X90/9.

Папір офсетний Гарнітура Times New Roman.  
Друк офсетний. Ум-друк. арк. 19.7 Тираж 500 пр.  
Вартість журналу 55 грн.

Віддруковано: ТОВ «ПРИНТ МЕДІА».  
03142, м. Київ, вул. Академіка Кржижановського, 4  
тел.: (044) 456-19-82  
факс.: (044) 456-19-86