

ISSN - 2544-9346

OPEN ACCESS
PEER-REVIEWED JOURNAL

SCIENCE REVIEW

Scientific Edition
Published by:



RS **Global**

Open Access Peer-reviewed Journal

Science Review

8(35), December 2020

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr

Editorial board:

Lina Anastassova

Full Professor in Marketing, Burgas Free University, Bulgaria

Mikiashvili Nino

Professor in Econometrics and Macroeconomics, Ivane Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

Alkhawaldeh Abdullah

Professor in Financial Philosophy, Hashemite University, Jordan

Mendebaev Toktamys

Doctor of Technical Sciences, Professor, LLP "Scientific innovation center "Almas", Kazakhstan

Yakovenko Nataliya

Professor, Doctor of Geography, Ivanovo State University, Shuya

Tsybaliuk Vitalii

Professor, Doctor of Medicine, The State Institution Romodanov Neurosurgery Institute National Academy of Medical Sciences of Ukraine

Suprun Elina

Professor, Doctor of Medicine, National University of Pharmacy, Ukraine

Imangazinov Sagit

Director, Ph.D, Pavlodar affiliated branch "SMU of Semei city"

Peshcherov Georgy

Professor, Moscow State Regional University, Russia

Mustafin Muafik

Professor, Doctor of Veterinary Science, Kostanay State University named after A. Baitursynov

Ovsyanik Olga

Professor, Doctor of Psychological Science, Moscow State Regional University

Nino Abesadze

Associate Professor Tbilisi State University, Faculty of Economics and Business

Sentyabrev Nikolay

Professor, Doctor of Sciences, Volgograd State Academy of Physical Education, Russia

Harlamova Julia

Professor, Moscow State University of Railway Transport, Russia

Publisher –
RS Global Sp. z O.O.,

Warsaw, Poland

Numer KRS: 0000672864
REGON: 367026200
NIP: 5213776394

Publisher Office's address:

Dolna 17,
Warsaw, Poland,
00-773

Website:

<https://rsglobal.pl/>

E-mail:

editorial_office@rsglobal.pl

Tel:

+4(822) 602 27 03

DOI: 10.31435/rsglobal_sr
OCLC: 1036699169
Publisher - RS Global
Country – Poland
Format: Print and Electronic
Frequency: monthly
Content type: Scholarly

All articles are published in open-access and licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0). Hence, authors retain copyright to the content of the articles. CC BY 4.0 License allows content to be copied, adapted, displayed, distributed, re-published or otherwise re-used for any purpose including for adaptation and commercial use provided the content is attributed. Detailed information at Creative Commons site: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

CONTENTS

MEDICINE

<i>Kalynychenko Tetiana, Anoshyna Militina, Balan Valentyna, Parubets Lidiia, Yagovdik Maryna</i> COMPARATIVE ANALYSIS OF LIPID PEROXIDATION ACTIVITY IN SUSPENSIONS OF CRYOPRESERVED CORD BLOOD NUCLEAR CELLS UNDER EXPOSURE TO ANTIOXIDANTS - MEMBRANOPROTECTORS WITH DIFFERENT ACTION MECHANISMS.....	3
<i>Kovalyshyn O. A.</i> ULTRASOUND PARAMETERS AND THE STATE OF UTERINE HEMODYNAMICS IN WOMEN WITH MENSTRUAL DYSFUNCTION IN PUBERTY.....	8
<i>Kaminskiy Viacheslav Volodymyrovych, Suslikova Lidiya Viktorivna, Serbeniuk Anastasia Valeriivna, Dercach Andriy Dmytrovych</i> THYROID DYSFUNCTION IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE WHO PARTICIPATED IN HOSTILITIES AND SUFFERED CONTUSIONS.....	16
<i>Мінаєв Олексій Олександрович</i> ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНЕ РЕНТГЕНОЛОГІЧНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМ ДАКРІОЦИСТИТОМ.....	22
<i>Fik V. B., Fedechko Y. M., Pal'tov Ye. V.</i> CHARACTERISTICS OF THE MICROBIOM OF THE NECK REGION OF THE TEETH IN THE EXPERIMENTAL ACTION OF OPIOID, ITS CANCELLATION AND APPLICATION OF CEFTRIAZONE AS A COMPOSITION OF COMPLEX MEDICAL CORRECTION.....	29

CHEMISTRY

<i>О. В. Османова</i> ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОТРИМАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН.....	34
--	----

TOURISM AND RECREATION

<i>Emil Galev, Fedir Markov</i> SOME VISUAL CHARACTERISTICS OF FOREST LANDSCAPES ALONG THE TOURIST ROUTES.....	41
---	----

MEDICINE

COMPARATIVE ANALYSIS OF LIPID PEROXIDATION ACTIVITY IN SUSPENSIONS OF CRYOPRESERVED CORD BLOOD NUCLEAR CELLS UNDER EXPOSURE TO ANTIOXIDANTS - MEMBRANOPROTECTORS WITH DIFFERENT ACTION MECHANISMS

Kalynychenko Tetiana, Doctor of Medical Sciences, PhD, Senior Researcher, Head of Laboratory of Hemopoietic Cell Cryopreservation. State Institution "Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine,

ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4905-3256>

Anoshyna Militina, PhD, Senior Researcher, Leading Researcher, Head of Biochemistry Group. State Institution "Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-6001-8016>

Balan Valentyna, Researcher of Laboratory of Immunogenetics. State Institution "National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-9663-7898>

Parubets Lidiia, Researcher of Laboratory of Hemopoietic Cell Cryopreservation. State Institution "Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3418-1316>

Yagovdik Maryna, PhD, Senior Researcher of Biochemistry Group. State Institution "Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2642-9609>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7297

ARTICLE INFO

Received 11 October 2020

Accepted 25 November 2020

Published 30 December 2020

KEYWORDS

cryopreservation, umbilical cord blood, nuclear cells, lipid peroxidation, antioxidants.

ABSTRACT

An in-depth study of the oxidative homeostasis state into cell suspensions that contain hematopoietic stem cells is one of the key points for understanding ways to improve technologies for long-term storage of this material. Compounds with antioxidant action are considered promising additional cryoprotectants. Intensification of lipid peroxidation processes is one of the main factors causing disturbances in the barrier properties of cell membranes. Comparative analysis of changes in lipid peroxidation parameters during the cryopreservation-deconservation cycle showed that antioxidants-membrane protectors with different mechanisms of action (B-complex vitamins; α -lipoic acid, thiazotic acid morpholinium salt, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate) have similar features of a positive effect on the oxidative status of umbilical cord blood nuclear cell suspensions during cryopreservation. However, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate has a statistically significant advantage over α -lipoic acid and thiazotic acid morpholinium salt in terms of the conjugate formation dynamics during phospholipid peroxidation, which can be associated with its direct antioxidant effect.

Citation: Kalynychenko Tetiana, Anoshyna Militina, Balan Valentyna, Parubets Lidiia, Yagovdik Maryna. (2020) Comparative Analysis of Lipid Peroxidation Activity in Suspensions of Cryopreserved Cord Blood Nuclear Cells Under Exposure to Antioxidants - Membranoprotectors with Different Action Mechanisms. *Science Review*. 8(35). doi: [10.31435/rsglobal_sr/30122020/7297](https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7297)

Copyright: © 2020 Kalynychenko Tetiana, Anoshyna Militina, Balan Valentyna, Parubets Lidiia, Yagovdik Maryna. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Introduction. In the last 25 years, human umbilical cord blood (UCB) has become widespread as a source of hematopoietic stem cells [1]. The provision of clinical needs in this material is carried out mainly through public low-temperature banks, where the UCB is stored in a cryopreserved state at the liquid nitrogen temperature [2].

It has been repeatedly shown that the formation of reactive oxygen species is one of the additional factors of cell damage during low-temperature storage [3]. In particular, it is believed that oxidative stress triggers mitochondrial or internal apoptotic mechanisms of cell death [4]. There are intensive biomolecule cell damages, uncontrolled release of calcium ions into the cytoplasm, disruption of enzyme systems, difficulties in conducting signals, and so on. Further accumulation of degradation products leads to an increase in membrane pathochemical and pathophysiological processes [5, 6]. The intensification of the processes of free radical oxidation leads to the enhanced formation of highly toxic substances, in particular, lipid peroxidation (LPO) products [7]. Simultaneous determination of intermediate and final molecular LPO product levels provides information about both the depth of violations and possible ways of their correction.

Aim. Carry out a comparative analysis of the safety of UCB nuclear cells (NCs) on the indicators of peroxidation of neutral lipids and phospholipids when using antioxidant-membraneprotective compounds (AOM) for cryopreservation.

Materials and methods. Human umbilical cord blood units were seized after obtaining prior informed consent and during physiological delivery. The method of collection in a "closed" system using a double plastic blood bags (250/100 ml (Baxter)) with a stabilizing solution CPDA-1 in a volume of 22 ml was used to obtain UCB units. Containers were stored in controlled temperature conditions ($(21.5 \pm 3.5) ^\circ\text{C}$) for no more than 24 hours. The fraction of UCB NC before and after its freezing ($n = 44$) was the object of research. Dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA) was used as the main cryoprotective agent in a final concentration of 5%. A number of AOM in pharmacological form for intravenous use (B-complex vitamins (B1, B6 and B12) (Janssen Pharmaceutica, Belgium); α -lipoic acid (JSC "Farmak", Ukraine); thiazotic acid morpholinium salt (Halychpharm, Ukraine); 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (JSC Lekhim, Ukraine)) was used for comparative studies on methods of UCB NCs preparation for freezing. UCB samples were divided into groups (I, II, III, IV) according to the used antioxidant compound. In all cases, the following treatment regimens were used: 8 μl of AOM per 10 ml of suspension was added 10 min before cryoprotectant (DMSO). The material was frozen in cryotubes with a volume of 4.5 ml at a rate of $1.0 \pm 0.5 ^\circ\text{C}/\text{min}$ from a temperature of $10 ^\circ\text{C}$ to $-156 ^\circ\text{C}$ (according to the technology of the State Institution "Institute of Hematology and Transfusiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" [8]). Defrosting was carried out in a water bath at a temperature of $38.0 \pm 0.5 ^\circ\text{C}$.

The activity of lipid peroxidation (LPO) processes was investigated using the method of I.A. Volchegorsky et al. [9] in our modification [10]. The optical density of the lipid extract was measured on a spectrophotometer Helios α (England). The method is characterized by differentiated determination of acyl peroxidation in the structure of the phospholipids (extracted to the isopropanol phase) and the unesterified intermediates of the neutralized lipids under fatty acid peroxidation (extracted to the heptane phase) according to the concentration of dienic conjugates (DC), trienic conjugates (TC), oxodienic conjugates (ODC) and final products by type Schiff basics (ShB) and substrates of the lipid peroxidation (the content of isolated double bonds (IDB)). The LPO indicators are calculated in re-count of the NC content in 1 ml of suspension (accordingly, units on $1 \cdot 10^6$ NCs).

Statistical processing and data analysis were performed using STATISTICA 10 (StatSoft, USA). Since the distribution of the trait was not normal, a one-way nonparametric analysis of variance (ANOVA) was applied for independent groups - the Kruskal-Wallis method (Kruskal-Wallis ANOVA). If the null hypothesis of the absence of differences was rejected, a pairwise comparison of groups was performed using the nonparametric Mann-Whitney test. The Bonferroni correction ($p = 0.00833$) was used to overcome the so-called multiple comparison problem [11].

Results and its discussion. Four groups of UCB NCs suspensions were compared in terms of the AOM efficiency. The drugs were used in one concentration, which was determined as the best in previous studies on cryopreservation [12]. Analysis of the obtained data using the Kruskal-Wallis ANOVA showed that the studied groups of cell suspensions, which were under the influence of four different AOMs, did not have a statistically significant difference for most LPO indicators in the ratios before (a) and after (b) thawing (a / b) (Table 1, Table 2).

Table 1. The ratio of neutral lipids peroxidation before (a) and after (b) freezing with the addition of the studied antioxidants

Groups		Indicators				
		a/b IDB	a/b DC	a/b TC*	a/b ODC	a/b ShB
I	Me	1,070	1,128	1,063	1,040	1,017
	25%	1,047	0,883	0,796	0,791	0,810
	75%	1,318	1,506	2,833	2,722	2,967
	95% CI _{LB}	1,032	0,876	0,769	0,759	0,722
	95% CI _{UB}	1,377	1,506	2,833	2,722	3,810
II	Me	0,872	0,730	0,444	0,454	0,834
	25%	0,723	0,5664	0,319	0,314	0,741
	75%	0,997	0,953	0,971	0,947	1,199
	95% CI _{LB}	0,662	0,533	0,301	0,302	0,710
	95% CI _{UB}	1,055	0,998	1,081	1,019	0,818
III	Me	0,806	0,378	0,317	0,232	0,670
	25%	0,679	0,248	0,225	0,182	0,579
	75%	1,431	1,682	1,717	1,630	1,080
	95% CI _{LB}	0,461	0,236	0,176	0,150	0,383
	95% CI _{UB}	1,431	1,682	1,769	1,630	1,080
IV	Me	0,951	0,952	1,000	0,929	0,839
	25%	0,743	0,669	0,602	0,603	0,616
	75%	1,402	1,669	1,852	1,671	1,051
	95% CI _{LB}	0,799	0,756	0,689	0,732	0,696
	95% CI _{UB}	1,251	1,195	1,294	1,037	1,000

Me – Median; CI – confidence interval (LB - lower bound; UB - upper bound; (a/b) - ratio of indicators before (a) and after (b) freezing; *Kruskal-Wallis test – KW-H(3;56) = 8,57976084; p = 0,0354.

Table 2. The ratio of phospholipids peroxidation before (a) and after (b) freezing with the addition of the studied antioxidants

Groups		Indicators				
		a/b IDB	a/b DC	a/b TC*	a/b ODC	a/b ShB
I	Me	0,999	0,987	0,993	0,994	0,875
	25%	0,944	0,968	0,850	0,866	0,636
	75%	1,033	1,122	1,030	1,061	1,100
	95% CI _{LB}	0,908	0,968	0,824	0,832	0,635
	95% CI _{UB}	1,043	1,220	1,030	1,061	1,264
II	Me	0,964	0,978	0,897 ¹	0,898	0,771
	25%	0,948	0,935	0,853	0,770	0,576
	75%	0,977	1,111	0,964	0,949	0,962
	95% CI _{LB}	0,947	0,935	0,841	0,740	0,505
	95% CI _{UB}	0,981	1,130	0,984	0,950	1,015
III	Me	0,9856	1,021	0,915 ²	0,880	0,733
	25%	0,643	0,928	0,792	0,700	0,623
	75%	0,990	1,096	1,055	1,093	0,870
	95% CI _{LB}	0,936	0,853	0,674	0,627	0,421
	95% CI _{UB}	1,007	1,095	1,079	1,093	0,457
IV	Me	0,956	1,043	1,097	0,900	0,716
	25%	0,877	0,992	1,050	0,750	0,470
	75%	1,290	1,242	1,334	1,058	1,110
	95% CI _{LB}	0,888	1,001	1,052	0,828	0,515
	95% CI _{UB}	1,195	1,199	1,225	1,039	1,027

Me – Median; CI – confidence interval (LB - lower bound; UB - upper bound; (a/b) - ratio of indicators before (a) and after (b) freezing; *Kruskal-Wallis test – KW-H(3;56) = 15.8305697; p = 0.0012; ^{1,2} - Mann-Whitney test: the difference between IV and II (p = 0.00075) IV and III (p = 0.00605) groups.

Rank analysis of variance revealed a statistically significant ($p < 0.05$) intergroup difference only for TC indices, and in both studied fractions (neutral lipids (TCn, Table 1) and phospholipids (TCph, Table 2, Fig.). In contrast to the other three AOMs, the addition of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (group IV) promoted a decrease in the level of DC and TC after thawing of cell suspensions. At the same time, after refinement by the Mann-Whitney test with Bonferroni correction (with a significance level of $p < 0.00833$), the intergroup difference in the ratio (a/b) was statistically confirmed only in the case of phospholipid peroxidation.

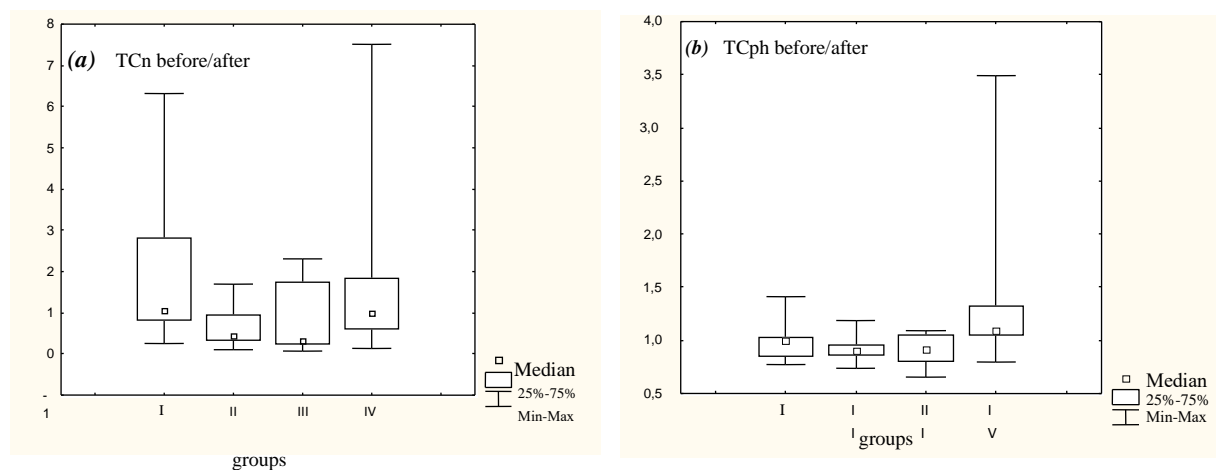


Fig. 1. Range charts by comparison group. The ratio of the content of triene conjugates (TC) before and after freezing depending on the antioxidant: (a) - TCn (with neutral lipids peroxidation), Kruskal-Wallis test: $KW-H(3; 56) = 8.57976084$; $p = 0.0354$; (b) - TCph (with phospholipids peroxidation, $KW-H(3; 56) = 15.8305697$; $p = 0.0012$.

An increase in the loss of hematopoietic cells due to the accumulation of free radicals during cryopreservation has been previously reported. The intensification of free radical oxidation reactions leads to the initiation of apoptosis with the onset of structural and functional changes in cell membranes up to cell death [13, 14]. Significant activation of lipid peroxidation occurs during freezing-thawing. When the cryoprotectant DMSO is used, LPO initiation is associated with the activity of secondary radicals of this substance [15]. The greatest changes were recorded at the stage of introducing the cryoprotectant DMSO into the NCs suspension, which upsets the balance of pro- and antioxidants [16]. Therefore, additional protection is the treatment of cells at the stage of preparation for cryopreservation with compounds that have antioxidant and membraneprotective effects.

An in-depth comparative analysis of the use effectiveness of antioxidants-membraneprotectors with different action mechanisms (including B-complex vitamins, α -lipoic acid, thiazotic acid morpholinium salt, and 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate) in the same concentrations at the preparatory stage for cryopreservation showed that these substances were similar in their influencing on the oxidative status of UCB NCs suspensions. At the same time, the dynamics of the conjugates formation demonstrated the relative advantage of one among the used compounds, namely 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate, as such, which had a direct mechanism of antioxidant action in combination with the activation of key enzyme antioxidant protection (glutathione reductase and glutathione peroxidase) [17, 18].

Conclusions. A number of membrane-protective antioxidants (B vitamins complex; α -lipoic acid, thiazotic acid morpholinium salt, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate) have a similar positive effect on lipid peroxidation processes. However, based on the dynamics of changes in the concentrations of diene and triene conjugates in the phospholipid fraction during cryopreservation, certain advantages of the direct-acting antioxidant 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxy pyridine succinate have been established.

Declaration of interest statement. No conflict of interest exists.

REFERENCES

1. Ballen, K. (2017 Aug). Update on umbilical cord blood transplantation. F1000Res [Internet],6, 1556. Retrieved from: <https://f1000research.com/articles/6-1556/v1>.
2. Kalynychenko, T.O. (2017). Umbilical cord blood banking in the worldwide hematopoietic stem cell transplantation system: perspectives for Ukraine. *Exp Oncol*, 39(3), 164-170. Retrieved from: <https://exp-oncology.com.ua/article/10105>
3. Tatone, C., Di Emidio, G., Vento, M., Ciriminna, R., & Artini, P.G. (2010 Aug) Cryopreservation and oxidative stress in reproductive cells. *Gynecol Endocrinol*, 26(8), 563-567. doi: 10.3109/09513591003686395.
4. Kaur, R., Pramanik, K., & Sarangi, S.K. (2013) Cryopreservation-induced stress on long-term preserved articular cartilage. Hindawi Publishing Corp: ISRN Tissue Engineering [Internet], Article ID 973542(10 pages). Retrieved from: <https://doi.org/10.1155/2013/973542>.
5. Белоус, А.М., & Грищенко, В.И. (1994). Кробиологія. Київ: Наукова думка, 430.
6. Владимиров, Ю.А. (2000). Биологические мембраны и незапрограммированная смерть клетки. Соросовский образовательный журнал. Биология [Интернет], (9), 2-9. Retrieved from: http://window.Edu.ru/resource/554/20554/files/0009_002.pdf.
7. Лушчак, В.І., Багнюкова, Т.В., & Лужна, Л.І. (2006). Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів. Укр біохім журн., 78(5), 113-119. Retrieved from: http://ubj.biochemistry.org.ua/images/stories/pdf/2006/UBJ_N6_2006/Lushchak_78_6.pdf
8. Kalynychenko, T. A., Anoshyna, M. Yu., & Balan, V. V. (2017). Advantages of umbilical cord blood cryopreservation using an unit volume reduction optimized method. *Hematology. Transfusiology. Eastern Europe*, 3 (4), 734-743.
9. Volchegorsky, I.A., Nalimov, A.G., Yarovinsky, B.G., & Lifshitz, R.I. (1989) Comparison of different approaches to the definition of LPO products in heptane - isopropanol blood extracts. *Questions of Medical Chemistry*, 35 (1), 127-131.
10. Anoshyna, M. Yu., Kalynychenko, T. O., & Glukhen'ka, G.T. (2011). The estimation of lipid's peroxidation in cryopreserved patterns of umbilical cord blood. *Ukrainian J. Hematology and Transfusiology*, 11 (3), 12-15
11. Petrie, A., & Sabin, C.; Leonova, V. P. (Ed.) (2015). *Medical statistics at a glance*. Moscow: GEHOTAR-Media, 216.
12. Калиниченко, Т.О., Аношина, М.Ю., Балан, В.В., Мінченко, Ж.М., & Глухенька, Г.Т. (2013). Антиоксидантний захист кріоконсервованої гемопоетичної тканини пуповинної крові. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика, 22(2), 282-287. Retrieved from: https://nmapo.edu.ua/zagruzka/zbornikNMAPO22_2.pdf
13. Halliwell, B. (2012 May). Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews*, 70(5), 257-265. doi: 10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x
14. Губский, Ю.И. (2015). Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография. Винница: Новая книга, 360.
15. Sadowska-Bartosz, I., Paćzka, A., Mołoń, M., & Bartosz, G. (2013 Dec). Dimethyl sulfoxide induces oxidative stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res*, 13(8), 820-830. doi: 10.1111/1567-1364.12091.
16. Kang, M.H., Das, J., Gurunathan, S., Park, H.W., Song, H., Park, C., & Kim, J.H. (2017 Oct). The cytotoxic effects of dimethyl sulfoxide in mouse preimplantation embryos: a mechanistic study. *Theranostics*, 7(19), 4735-4752. doi: 10.7150/thno.21662.
17. Оковитый, С.В., Гайворонский, В.В., Куликов, А.Н., & Шуленин, С.Н. (2009). Клиническая фармакология. Избранные лекции: учебное пособие [Интернет]. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 608. Retrieved from: <http://www.studmedlib.ru/book/ISBN9785970411360.html>.
18. Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016 June). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 27-42. Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>.

ULTRASOUND PARAMETERS AND THE STATE OF UTERINE HEMODYNAMICS IN WOMEN WITH MENSTRUAL DYSFUNCTION IN PUBERTY

Kovalyshyn O. A.,

PhD in Medical Sciences, searcher of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, National Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L. Shupyka, Ukraine

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7317

ARTICLE INFO

Received 15 October 2020

Accepted 30 November 2020

Published 30 December 2020

KEYWORDS

menarche, oligomenorrhea, pubertal bleeding, uterine hemodynamics, endometrial proliferation, dopplerometry.

ABSTRACT

The study of hemodynamic features of the pelvic organs in women is of great clinical importance, since it allows assessing the degree of recovery of endometrial regeneration after menstruation, the possibility of implanting a fertilized egg and placental development. Women who have had menstrual dysfunction in puberty, the determination of qualitative and quantitative parameters of uterine hemodynamics can be useful while choosing treatment tactics, evaluating its effectiveness, and will also provide significant assistance in predicting the prospects for their reproductive health.

The purpose of the study. To examine the hemodynamics of uterus and assess the ability of endometrium to implant in women with menstrual dysfunction in puberty with the help of ultrasound and dopplerometry.

Materials and methods. To achieve the set goals, 120 women of reproductive age from 19 to 32 years old were examined. By the nature of the disorders, the main group of women (n = 90) with menstrual dysfunction in puberty were divided into 3 subgroups (n = 30): the first group - women with primary oligomenorrhea, the second one - with late menarche, the third one - with pubertal bleeding. The control group consisted of women (n = 30) with the correct rhythm of menstruation in puberty.

Results. On the basis of a comparative analysis of the echographic parameters of the size of the uterus in women with menstrual dysfunctions in puberty (main group) and women with the correct rhythm of menstruation (control group), it was found that, on the average stage of endometrial secretion, the volume of the uterus is 1, 2 times smaller in women of the main group (p<0.05) due to the width of the body of the uterus (p<0.001). The ratio between the length of the body and cervix in the examined groups did not differ significantly. The thickness of the anterior wall of the uterus is less than the control values in women with late menarche (p<0.05) and pubertal bleeding (p<0.01), which was a predictor of the absence of combined uterine pathology.

Echographic examination of the thickness of the endometrium at a late stage of the proliferation phase in the examined women did not reveal significant differences with the control group. In the middle stage of the secretion phase, the thickness of the endometrium was less in women, who had menstrual dysfunction in puberty - 9.50 ± 0.27 mm versus 11.38 ± 0.48 mm in the group with the correct menstruation rhythm (p <0.001), but remained within the reference values.

Dopplerometry of uterine arteries was performed to assess the functional activity and the possibility of sectorial transformation of the endometrium, which did not reveal significant differences in women of the main and control groups.

Conclusions. An analysis of the ratio between the body length and the cervix of the uterus proves the absence of signs of genital infantilism in patients with menstrual dysfunctions in puberty. Doppler studies of hemodynamics in the arteries of uterus in this group of women in different phases of the menstrual cycle indicate an adequate blood supply to the uterus. Although the inferior phase of proliferation of endometrial thickness in its middle stages remained insufficient secretion ($9,52 \pm 0,42$ mm; p <0.01), however, the normal blood flow in the radial and basal uterine arteries contributed to the successful implantation of the blastocyst.

Citation: Kovalyshyn O. A. (2020) Ultrasound Parameters and the State of Uterine Hemodynamics in Women with Menstrual Dysfunction in Puberty. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7317

Copyright: © 2020 Kovalyshyn O. A. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

In recent years, there has been an increase in the frequency of diseases of the reproductive system among women of reproductive age, which leads to a decrease in the quality of life and reproductive function [1]. The increase in the number of complications of pregnancy and childbirth is mostly caused by the lack of readiness of woman's body for pregnancy, failure to carry out timely medical correction of pathological conditions before pregnancy [2], therefore, it is a time requirement for the search for new diagnostic methods that can effectively assess the state of the reproductive system.

The current stage in the development of medicine is characterized by the widespread introduction into clinical practice of non-invasive methods of radiation diagnostics, one of which is transvaginal echography with dopplerometry measurements of the uterine and ovarian vessels [3]. The study of hemodynamic features of the pelvic organs in women is of great clinical importance.

Knowledge of the qualitative and quantitative parameters of hemodynamics provides significant assistance in predicting the onset of pregnancy during in vitro fertilization, in the assessment of various clinical situations and contributes to more effective treatment of various pathological conditions [3].

Blood circulation is a high-volume and high-speed system with significant fluctuations throughout the reproductive period [4]. It is known, that the qualitative and quantitative indicators of blood flow change depend on age, phase of menstrual cycle, and the presence of ovulation throughout the reproductive period [3]. A significant negative correlation was established between the resistance index of the basal arteries, the pulsation index of the spiral arteries and the onset of pregnancy on the day of the ovulation trigger injection and since two hours the embryo has been transferred. Assessment of dopplerometry parameters in the spiral arteries has a good prognostic value in the onset of pregnancy, but is not always possible due to the weak and unstable strength of their doppler signals [5].

The most intense blood supply to the uterus is observed at the maximum functional activity of the corpus luteum, that is, at the time, of the most probable implantation. It should be noted that patients with an irregular menstrual cycle during the "window of implantation", are observed with the endometrial thinning by less than 7 mm, at which there is a highly resistant blood flow in the uterine vessels and a significant decrease in visualization of the basal and spiral arteries [6]. High indices of vascular resistance in arteries of medium caliber lead to a deterioration in the growth of the glandular epithelium and a decrease in the level of vascular endothelial growth factor in the endometrium, which contributes to a further decrease in blood flow velocity and impairment of endometrial receptivity. However, no relationship has been found between the blood flow in the uterine vessels and the histological structure of the endometrium [6].

Three-dimensional echography and Doppler ultrasonography allow assessing the state of the subendometrial zone and blood flow, which can predict complications at the stage of blastocyst implantation [7]. For women, with menstrual dysfunctions in puberty, the study of hemodynamic parameters in the uterine artery system and the state of the endometrium during the period of the proposed "implantation window", can be useful developing treatment tactics, assessing its effectiveness, and will allow prognostically assessing the prospects for restoring their reproductive health, became the basis for our study.

The purpose of the study: to study the hemodynamics of the uterus and assess the ability of the endometrium for implantation in women with menstrual dysfunction during puberty using ultrasound and dopplerometry.

Materials and methods. The study examined 120 women of reproductive age from 19 to 32 years. The main group included 90 women (mean age 22.42 ± 0.21 years) who had menstrual dysfunctions in puberty. Criteria for inclusion in the main group were women with the absence of independent menstruation from menarche from 45 days to 6 months with timely average age of menarche; women with late menarche (from 15 years); women with heavy menstrual bleeding in puberty in a form of puberty bleeding. According to the nature of disorders in the main group, 3 subgroups were identified as the following: 1 - women with a primary oligomenorrhea ($n = 30$); 2 - with late menarche ($n = 30$); 3 - with pubertal bleeding ($n = 30$). The control group consisted of 30 women (mean age 22.34 ± 0.31 years) with the correct rhythm of menstruation in puberty.

Exclusion criteria from the main group were the following: overweight, hyperandrogenism, use of hormone therapy during the study, somatic and endocrine pathology, congenital anomalies and chromosomal abnormalities, surgical interventions on the pelvic organs in adolescence, benign (leiomyoma) and / or malignant neoplasms.

Anamnesis was collected according to the generally accepted scheme: period of the formation of menstrual function, age of menarche, duration and regularity of the menstrual cycle, the nature of menstrual bleeding, and gynecological diseases.

Transvaginal ultrasound examination of the pelvic organs was performed on days 11-14 (late stage of endometrial proliferation phase) and on days 20-22 (middle stage of secretion phase) of the menstrual cycle with the help of expert-class ultrasound devices, measurements were carried out in real time with intracavitary transducer with a frequency of 5 -9 MHz. They investigated the size of the uterus and the thickness of the endometrium. Doppler ultrasound study was performed during the preovulatory period and the period of the supposed "window of implantation" in the uterine, arcuate, radial, basal and spiral arteries. The state of blood flow was assessed according to the following indicators: maximum systolic velocity (V_{max} , cm / sec), end-diastolic velocity (V_{min} , cm / sec); vascular resistance indices (RI - resistance index, PI - pulsation index), which were calculated according to the formulas of Purcell and Gesling; systolic-diastolic ratio (SDR), defined as V_{max} / V_{min} .

Mathematical and statistical processing of the obtained data was carried out with the help of statistical software package Microsoft Office Excel 2007, "Statistica 6.0". Statistical significance of differences was assessed with the help of parametric Student's t-test for independent samples ($M \pm \sigma$), the differences were considered significant at $p < 0.05$. The strength of the correlation between the studied characters was determined by Spearman's correlation criterion.

Results and discussion. One of the signs of genital infantilism in women with menstrual dysfunction in puberty is the ratio between body length and cervical length. When examining the size and volume of the cervix in women of the main and control groups, the differences were not statistically significant. The ratio between the length of the uterine body and the length of the cervix in women of the control group in the late stage of the endometrial proliferation phase was 1.48 ± 0.03 , the average stage of the secretion phase was 1.52 ± 0.02 , in the main group, respectively, 1.55 ± 0.03 and 1.49 ± 0.02 ($p > 0.05$), the differences between the subgroups of the main group are not significant.

The volume of the uterine body in women of the main and control groups in the late stage of the endometrial proliferation phase did not differ significantly (table 1). There were no statistically significant differences between the subgroups of the main group.

In the middle stage of the endometrial secretion phase in patients of the main group, the volume of the uterine body is 1.2 times less than in the control group ($p < 0.05$), due to the width of the uterine body ($p < 0.001$). In the comparative aspect between the subgroups, the differences in uterine body volume are accurately insignificant (Table 1). It is noteworthy that in the late stage of the endometrial proliferation phase, the thickness of the anterior wall of the uterus, as an echographic sign of combined pathology (adenomyosis), in women of the main group and subgroup with late menarche is less than in the control group ($p < 0.05$). This pattern persisted in the middle stage of the secretion phase, the smallest thickness of the anterior wall of the uterus was observed in women with pubertal bleeding ($p < 0.01$).

The thickness of the endometrium in the late stage of the proliferation phase between the control and the main groups did not differ significantly. In the middle stage of the secretion phase, the thickness of the endometrium in the control group and subgroups of the main group is more than in the late stage of the proliferation phase ($p < 0.001$). The maximum increase in endometrial thickness by 4.6 mm (66%) was recorded in the control group of women, in the main group - by 2.9 mm (45%). In women with primary oligomenorrhea (subgroup 1) and with late menarche (subgroup 3), the thickness of the endometrium in the middle stage of the secretion phase increased by 2.8 mm, which is less than in the control group ($p < 0.010$ does not respond for 20-22 days of menstrual cycle). In women with pubertal bleeding (subgroup 3), the thickness of the endometrium on the average stage of the secretion phase is 3.5 mm more than in the late stage of proliferation ($p < 0.001$) and does not significantly differ from the control group (Table 1).

The dynamics of the menstrual cycle are visualized with ultrasound in the endometrium, structural and morphofunctional changes. In the late stage of the proliferation phase, the endometrium was characterized by an average echogenicity with a pronounced line with the myometrium and a smooth hyperechoic line of closure of the anterior and posterior leaves (three-layer structure). A hyperechoic homogeneous endometrium was visualized in the middle stage of the secretion phase, which had lost its three-layer structure.

Table 1. Ultrasound parameters of uterine body size and the thickness of endometrium in the late stage of the proliferation phase and the middle stage of the endometrial secretion phase in surveyed women

Ultrasonic parameters		Control group (n=30)	Main group (n=90)	Subgroup		
				1 (n=30)	2 (n=30)	3 (n=30)
Late stage of proliferation phase	Length of the uterus body (mm)	46,7±1,0	46,6±0,5	45,9±0,9	46,9±0,8	47,0±0,9
	Anterior-posterior dimension (mm)	33,4±0,7	33,9±0,7	35,4±1,6	32,6±0,7	33,7±0,9
	Width of the uterus body (mm)	45,2±0,9	43,2±0,7	43,3±1,2	42,7±1,0	43,7±1,3
	Volume of the uterus body (cm ³)	36,4±1,9	34,3±1,2	33,5±2,1	34,8±2,1	34,6±1,8
	Anterior wall thickness (mm)	12,9±0,5	11,7±0,3 p<0,05	11,8±0,6	11,2±0,4 p ₁ <0,05	12,3±0,4
	Posterior wall thickness (mm)	13,3±0,4	12,8±0,3	13,4±0,5	12,7±0,4	12,3±0,5
	Endometrial thickness (mm)	6,8±0,4	6,6±0,2	6,3±0,3	6,7±0,3	6,6±0,4
Middle stage of endometrial secretion phase	Length of the uterus body (mm)	48,5±0,8	46,8±0,5	46,3±0,9	47,3±0,8	47,2±1,1
	Anterior-posterior dimension (mm)	35,8±0,8	35,0±0,7	35,0±1,1	35,4±1,1	34,5±1,3
	Width of the uterus body (mm)	47,8±0,9	43,8±0,6 p<0,001	44,1±0,9 p ₁ <0,01	44,4±1,1 p ₁ <0,05	42,5±0,9 p ₁ <0,001
	Volume of the uterus body (cm ³)	41,5±2,1	36,4±1,0 p<0,05	36,7±1,9	36,8±1,3	35,7±2,2
	Anterior wall thickness (mm)	14,1±0,5	12,5±0,3 p<0,01	12,9±0,5	12,8±0,3 p ₁ <0,05	11,9±0,5 p ₁ <0,01
	Posterior wall thickness (mm)	13,7±0,4	13,4±0,2	13,9±0,3	13,5±0,4	12,8±0,6
	Endometrial thickness (mm)	11,4±0,5 p ₂ <0,001	9,5±0,3 p ₂ <0,001	9,2±0,4 p ₁ <0,01, p ₂ <0,001	9,5±0,4 p ₁ <0,01, p ₂ <0,001	10,1±0,6 p ₂ <0,001

Note: p - the degree of reliability of differences in the parameters of the main and control groups; p₁ - between the control group and the subgroups of the main group; p₂ - between the late stage of proliferation phase and the middle stage of endometrial secretion phase.

So, the volume of the uterus in the late stage of proliferation phase of the endometrium in women of reproductive age, who had menstrual dysfunction in puberty, did not significantly differ from the volume of the uterus in women with the correct rhythm of menstruation, the thickness of the anterior wall of the uterus is less in women with late menarche ($p < 0.05$). In the middle stage of the endometrial secretion phase, the volume of the uterus is less in women who had menstrual dysfunction in puberty, due to the width of the body of the uterus ($p < 0.05$). The thickness of the anterior wall of the uterus is less than the control values in women with late menarche ($p < 0.05$) and pubertal bleeding ($p < 0.01$), which was a predictor of the absence of associated uterine pathology (adenomyosis). The ratio of body length and cervix in women of the main group did not significantly differ from the control values.

The thickness of the endometrium in the middle stage of the secretion phase in women of both groups is greater than the thickness of the endometrium in the late stage of the proliferation phase ($p < 0.001$). Significant thickness of the endometrium in women with impaired puberty in comparison with the control one ($p < 0.01$), is corresponded to the lower limit of the standard values for the middle stage of the endometrial secretion phase (Table 1).

The results of the study of blood flow in the uterine arteries, in the arteries of the myometrium and the subendometrial zone are shown in Table 2.

Table 2. Doppler parameters in the uterine arteries in the late stage of the proliferation phase and in the middle stage of the endometrial secretion phase in women of the examined groups

Doppler parameters		Artery	Control group (n=30)	Main group (n=90)	Subgroup			
					1 (n=30)	2 (n=30)	3 (n=30)	
Late stage of endometrial proliferation	Vmax (cm/sec)	right	33,1±2,1	33,4±1,5	31,3±2,2	34,1±2,8	35,0±2,7	
		left	34,7±2,4	32,4±1,3	29,9±2,4	33,5±2,5	34,0±2,0	
	Vmin (cm/sec)	right	4,9±0,5	5,4±0,4	4,9±0,6	5,7±0,6	5,6±0,7	
		left	4,8±0,4	5,1±0,4	4,4±0,7	5,3±0,6	5,8±0,7	
	RI (con.un.)	right	0,9±0,01	0,8±0,01	0,8±0,02	0,8±0,02	0,8±0,02	
		left	0,9±0,01	0,8±0,01	0,8±0,02	0,8±0,01	0,8±0,03	
	PI	right	1,5±0,03	1,5±0,03	1,5±0,04	1,4±0,05	1,4±0,05	
		left	1,5±0,03	1,5±0,03	1,5±0,06	1,5±0,04	1,4±0,05	
	SDR	right	7,4±0,6	7,1±0,5	7,2±0,6	6,5±0,6	7,6±1,1	
		left	7,7±0,5	7,3±0,4	7,9±0,7	6,8±0,5	6,9±0,8	
	Middle stage of endometrial secretion phase	Vmax (cm/sec)	right	37,3±2,1	33,0±1,4	33,4±2,3	34,9±2,7	30,5±2,1 p ₁ <0,05
			left	36,5±1,9	32,6±1,2	31,2±2,2	35,4±2,6	30,9±1,0 p ₁ <0,05
Vmin (cm/sec)		right	6,8±0,6 p ₅ <0,05	5,6±0,3	5,5±0,7	6,1±0,6	5,1±0,4	
		left	6,7±0,6 p ₅ <0,05	5,7±0,3	5,4±0,7	5,9±0,5	5,8±0,4	
RI (con.un.)		right	0,8±0,01 p ₅ <0,01	0,8±0,01	0,8±0,01	0,8±0,01	0,8±0,01	
		left	0,8±0,01 p ₅ <0,001	0,8±0,01	0,8±0,02	0,8±0,01	0,8±0,01	
PI		right	1,4±0,03 p ₅ <0,05	1,4±0,02	1,5±0,03	1,4±0,04	1,4±0,03	
		left	1,4±0,03 p ₅ <0,01	1,4±0,02	1,4±0,04	1,4±0,04	1,4±0,03	
SDR		right	5,9±0,4 p ₅ <0,05	6,4±0,3	6,7±0,5	6,2±0,5	6,3±0,5	
		left	5,9±0,4 p ₅ <0,01	6,2±0,3 p ₅ <0,05	6,6±0,6	6,5±0,6	5,6±0,4	

Note: p₁ - the degree of reliability of differences in the parameters of the control group and the subgroups of the main group; p₅ - between the late stage of proliferation and the middle stage of endometrial secretion phase.

In women of the control and main groups in the late stage of endometrial proliferation, the indices of vascular resistance in the uterine arteries did not differ significantly. In women of the control group in the middle stage of the endometrial secretion phase, the blood flow velocity in the uterine arteries was characterized by a higher Vmin in comparison with the late stage of the proliferation phase (p<0.05). The indices of vascular resistance in the uterine arteries were lower and more significant in terms of IR (p<0,001), which indicated an increase in blood flow in uterine arteries in the middle stage of the secretion phase. In women with menstrual dysfunctions in puberty, Vmax and Vmin in the uterine arteries in the middle stage of the endometrial secretion phase did not significantly differ from similar blood flow rates in the late stage of the proliferation phase. The decrease in SDR in the middle stage of the endometrial secretion phase in comparison with SDR in the late stage of the proliferation phase has difference in the left uterine artery (p<0.05).

Thus, in women with menstrual dysfunctions in puberty, the resistance to the blood flow velocity in the uterine arteries according to the value of SDR in the middle stage of endometrial secretion phase is lower compared to the late stage of the proliferation phase. Normal hemodynamics was evidenced by the absence of significant differences in the indices of vascular resistance in the uterine arteries in the late stage of endometrial proliferation phase and the middle stage of the secretion phase in women of the main and control groups (Table 2).

In the arcuate and radial arteries that supply the myometrium, in women of the main and control groups, the indices of vascular resistance indices in the late stage of the proliferation phase and the middle stage of the endometrial secretion phase were statistically insignificant (Table 3). In a comparative assessment between the subgroups of the main group in the late stage of endometrial proliferation phase, the PI and SDR values in the arcuate arteries in women with late menarche were lower than in women with primary amenorrhea ($p < 0.05$). In the middle stage of the secretion phase, there were no differences between the indices of vascular resistance in women of these subgroups. In the radial arteries, the RI value in the middle stage of the endometrial secretion phase in women with late menarche was lower than in women with primary oligomenorrhea ($p < 0.05$).

The morphofunctional state of the endometrium during the formation of the "window of implantation" depends on the blood supply to the subendometrial zone, which is represented by the basal and spiral arteries. In the studies, the values of vascular resistance indices in the basal arteries of the uterus in the late stage of endometrial proliferation phase in women of the control group, main group and its subgroups had not statistically significant differences (Table 3).

Table 3. Doppler parameters in uterine arteries in the late stage of endometrial proliferation phase in women of the examined groups

Doppler parameters	Artery	Control group (n=30)	Main group (n=90)	Subgroup		
				1 (n=30)	2 (n=30)	3 (n=30)
Vmax (cm/sec)	arcuate	22,4±1,8	25,5±1,2	22,7±1,6	28,2±2,1 $p_1, p_2 < 0,05$	26,3±2,5
	radial	13,9±1,2	15,8±0,8	14,2±1,0	17,9±1,6 $p_1 < 0,05$	15,8±1,3
	basal	8,9±0,7	10,7±0,7	8,8±0,8	13,1±1,5 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,05$	10,4±1,0
	spiral	5,9±0,5	8,3±0,5 $p < 0,01$	7,2±1,1	8,4±0,9 $p_1 < 0,05$	9,0±0,5 $p_1 < 0,001$
Vmin (cm/sec)	arcuate	5,4±0,5	6,6±0,4	5,4±0,5	8,0±0,7 $p_1, p_2 < 0,01$	6,4±0,6
	radial	4,5±0,4	5,3±0,3	4,5±0,4	6,3±0,5 $p_1 < 0,01, p_2 < 0,05$	5,2±0,6
	basal	4,1±0,3	4,6±0,3	3,8±0,3	5,8±0,6 $p_1 < 0,05, p_2 < 0,01$	4,4±0,4
	spiral	3,1±0,2	4,3±0,3 $p < 0,01$	4,0±0,3	4,4±0,5 $p_1 < 0,05$	4,3±0,2 $p_1 < 0,01$
IR (con.un.)	arcuate	0,8±0,01	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,02
	radial	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,02	0,7±0,02	0,7±0,02
	basal	0,5±0,01	0,5±0,01	0,5±0,02	0,6±0,01	0,6±0,02
	spiral	0,5±0,01	0,5±0,01	0,4±0,03	0,5±0,01	0,5±0,03
PI	arcuate	1,2±0,04	1,2±0,02	1,2±0,04	1,1±0,03 $p_2 < 0,05$	1,2±0,05
	radial	1,0±0,03	1,0±0,02	1,1±0,04	0,9±0,03	1,0±0,05
	basal	0,7±0,03	0,8±0,02	0,8±0,03	0,8±0,02	0,8±0,03
	spiral	0,6±0,04	0,6±0,02	0,6±0,07	0,6±0,03	0,7±0,03
SDS	arcuate	4,2±0,2	4,0±0,2	4,3±0,3	3,6±0,2 $p_2 < 0,05$	4,2±0,3
	radial	3,2±0,1	3,1±0,1	3,4±0,2	2,8±0,1 $p_1 < 0,05$	3,2±0,2
	basal	2,2±0,07	2,3±0,05	2,3±0,09	2,3±0,06	2,4±0,09
	spiral	1,8±0,1	1,9±0,05	1,8±0,2	1,9±0,06	2,1±0,06

Note: p - the degree of reliability of differences in the parameters of the main and control groups; p_1 - between the control group and the subgroups of the main group; between subgroups: p_2 - 1 and 2, p_3 - 1 and 3, p_4 - 2 and 3; p_5 - between the late stage of proliferation phase and the middle stage of endometrial secretion phase.

High values of PI ($p<0.05$) and SDS ($p<0.01$) in the basal arteries of the uterus in women with primary oligomenorrhea indicated highly resistant blood flow due to progesterone deficiency in women of this group. In women with late menarche, PI and SDS in the basal arteries of the uterus are lower in women with primary oligomenorrhea ($p<0.05$). In women with pubertal bleeding, IR in the basal arteries of the uterus is higher in comparison with women of the control group and late menarche ($p<0.05$).

Table 4. Doppler parameters in uterine arteries in the middle stage of endometrial secretion phase in women of the examined groups

Doppler parameters	Artery	Control group (n=30)	Main group (n=90)	Subgroup		
				1 (n=30)	2 (n=30)	3 (n=30)
Vmax (cm/sec)	arcuate	26,4±1,5	24,7±1,2	24,5±2,0	26,1±2,3	22,9±1,8
	radial	16,6±0,9	14,0±0,8 $p<0,05$	14,7±1,3	12,2±1,1 $p_1, p_5<0,01$	15,6±1,4
	basal	10,5±0,7	9,5±0,4	9,0±0,6	8,9±0,7 $p_5<0,05$	11,0±0,8
	spiral	7,3±0,5 $p<0,05$	7,4±0,3	7,5±0,6	6,9±0,4	8,4±0,6 $p_4<0,05$
Vmin (cm/sec)	arcuate	6,8±0,5	6,5±0,3	6,4±0,6	6,8±0,5	6,4±0,6
	radial	5,5±0,3	4,9±0,3	4,8±0,6	4,4±0,5 $p_5<0,05$	5,6±0,5
	basal	4,9±0,3	4,1±0,2 $p<0,05$	3,6±0,2 $p_1<0,01$	4,1±0,3 $p_5<0,05$	4,7±0,4 $p_3<0,05$
	spiral	3,7±0,2	3,7±0,2	3,8±0,3	3,5±0,2	4,0±0,3
RI (con.un.)	arcuate	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,01	0,7±0,02
	radial	0,6±0,02	0,6±0,01	0,7±0,01	0,6±0,01 $p_2<0,05$	0,6±0,01
	basal	0,5±0,01	0,6±0,01 $p<0,05$	0,6±0,01	0,5±0,01	0,6±0,01 $p_1, p_4<0,05$
	spiral	0,5±0,01	0,5±0,01	0,5±0,01 $p_5<0,05$	0,5±0,01	0,5±0,02
PI	arcuate	1,2±0,04	1,2±0,02	1,2±0,04	1,2±0,04	1,1±0,05
	radial	1,0±0,04	0,9±0,02	1,0±0,04	0,9±0,03	0,9±0,03
	basal	0,7±0,02	0,8±0,02 $p<0,05$	0,9±0,04 $p_1<0,05$	0,7±0,03 $p_2<0,05$	0,8±0,03
	spiral	0,7±0,03	0,7±0,01	0,7±0,01	0,6±0,02	0,7±0,02
SDR	arcuate	4,2±0,2	3,9±0,1	4,0±0,3	3,9±0,2	3,7±0,3
	radial	3,2±0,3	2,9±0,1	3,2±0,2	2,9±0,1	2,8±0,1
	basal	2,2±0,06	2,4±0,06 $p<0,05$	2,5±0,1 $p_1<0,01$	2,2±0,07 $p_2<0,05$	2,4±0,1
	spiral	2,0±0,05	1,9±0,03	1,9±0,03	1,9±0,04	2,1±0,06 $p_4<0,05$

Note: p - the degree of reliability of differences in the parameters of the main and control groups; p1 - between the control group and the subgroups of the main group; between subgroups: p2 - 1 and 2, p3 - 1 and 3, p4 - 2 and 3; p5 - between the late stage of proliferation phase and the middle stage of endometrial secretion phase.

Some studies have found out that hemodynamic disturbances, which are assessed by high vascular resistance indices, can lead to a deterioration in the growth of the glandular epithelium in the endometrium. An inverse correlation has been established between the indices of resistance indices in the basal and spiral arteries and the onset of pregnancy [5].

The curve of blood flow velocities in women of the main group in the late stage of endometrial proliferation phase was characterized by an increase in Vmax and Vmin in comparison with women of the control group ($p<0.01$). The values of the vascular resistance indices in the spiral arteries in women of these subgroups did not differ significantly (table 3). A similar pattern was found in the subgroups of women with menstrual dysfunctions in puberty.

In the middle stage of endometrial secretion phase, the values of vascular resistance indices in women of the main and control groups did not differ significantly from these indicators in the late

stage of proliferation phase (Table 4). In the study of hemodynamics on the uterus in the late stage of endometrial proliferation phase, they found out a regular decrease in systolic and diastolic blood flow and vascular resistance indices in the arteries that supply the myometrium and endometrium, which was associated with a decrease in their diameter. It was able to assess the blood flow at the level of the spiral arteries in the late stage of endometrial proliferation phase in 75% of women of the control group and only in 66% of the main group; in other cases, locus blood flow was not determined due to the morphological features of spiral arteries, explained by the reduction of the smooth muscle layer.

Conclusions.

1. When analyzing the echographic parameters of the uterus size, it was found that women of reproductive age with menstrual irregularities in puberty, on the average stage of endometrial secretion phase, the volume of the uterus was 1.2 times less than in women with the correct rhythm of menstruation, due to the width body of uterus. The ratio between the length body and the cervix does not have significant differences, confirming the absence of signs of genital infantilism in the surveyed women.

2. Doppler parameters of blood flow velocities and values of vascular resistance indices in the uterine arteries and myometrial arteries did not differ significantly in the dynamics of the menstrual cycle, which indicates a normal blood supply to the myometrium in women with menstrual irregularities in puberty.

3. As a result of the defective phase of endometrial proliferation, its thickness in the middle stage of secretion remained insufficient, however, normal blood flow in the radial and basal arteries of the uterus contributed to the successful implantation of the blastocyst.

4. The study of hemodynamic features of the pelvic organs in women with menstrual dysfunctions in puberty is of great clinical importance for assessing the degree of restoration of endometrial regeneration after menstruation and the possibility of implantation of a fertilized egg.

5. Ultrasound determination of uterine size, endometrial thickness, qualitative and quantitative parameters of uterine hemodynamics are prognostic criteria for assessing the prospects of reproductive function in women with menstrual dysfunction in puberty.

REFERENCES

1. Zaporozhchenko M.B. 2015. The state of regional hemodynamics in the vessels of the uterus in women of reproductive age with uterine leiomyoma. *Arta Medica*. 1 (54): 41-4.
2. Kravchenko O.V., Varvus V.A. 2015. Assessment of blood flow in uterine vessels and extraembryonic structures in early gestation. *Bukovynian Medical Bulletin*. 19, 2 (74): 121-4.
3. Alan P.L., Dabbins P.A., Pozniak M.A. and others. [editors]. 2007. *Clinical Doppler ultrasonography*. Translated from English, 2nd ed. Lviv: Medicine of the World, 374.
4. Dubchak A.E., Baranetska I.O., Obeyd N.M. 2016. Features of pelvic hemodynamics in women of reproductive age with benign formations of the pelvic organs. *Bulletin of Vinnytsia National Medical University*. 1, 1 (20): 88-91.
5. Liovkina O.L. 2013. Changes in the endometrium and features of blood circulation in the arteries of the uterus in women of reproductive age with primary stress-induced infertility. *Women's health*. 5: 146-9.
6. Kozhema I.Y., Mykhailyshyn L.O., Dorofeeva U.S. 2014. Resistant thin endometrium. What to do? *Reproductive endocrinology*. 5: 103-7.
7. Vorobyi V.D. 2017. Doppler assessment of blood flow to the arteries of the uterus and ovaries in patients with genital endometriosis. *Zaporizhzhia medical journal*. 19, 4 (103): 457-61.

THYROID DYSFUNCTION IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE WHO PARTICIPATED IN HOSTILITIES AND SUFFERED CONTUSIONS

Kaminskiy Viacheslav Volodymyrovych, doctor of Medicine, Professor, Head of department, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5369-5817>

Suslikova Lidiya Viktorivna, doctor of Medicine, Professor, Director, Ukrainian State Institute of Reproductology, Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3039-6494>

Serbeniuk Anastasia Valeriivna, doctor of Philosophy, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Clinic of reproductive technologies, Kyiv, Ukraine,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7212-2678>

Dercach Andriy Dmytrovych, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8245-051X>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7318

ARTICLE INFO

Received 18 October 2020

Accepted 30 November 2020

Published 30 December 2020

KEYWORDS

reproductive health, women veterans, hormonal homeostasis, autonomic dysfunction, post-concussion syndrome.

ABSTRACT

The article presents data on the prevalence of thyroid hormonal disorders and the establishment of their relationship between the state of mental health and the functional state of body systems in women who participated in hostilities who suffered contusions. We aimed to assessing the prevalence and effectiveness of the diagnosis of thyroid dysfunction in women of childbearing age with impaired reproductive health who participated in hostilities and suffered contusions, to improve treatment and rehabilitation measures and quality of life of these women.

Citation: Kaminskiy V. V., Suslikova L. V., Serbeniuk A. V., Dercach A. D. (2020) Thyroid Dysfunction in Women of Reproductive Age Who Participated in Hostilities and Suffered Contusions. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7318

Copyright: © 2020 Kaminskiy V. V., Suslikova L. V., Serbeniuk A. V., Dercach A. D. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Throughout human life, the normal state of the thyroid gland is a necessary condition for the harmonious functioning of the body. The thyroid gland is one of the most important parts of the neuroendocrine system. The main function of the thyroid gland is to maintain normal cellular metabolism by providing the body with thyroid hormones - thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3), an integral structural component of which is iodine [2, 10]. The thyroid gland produces about 100 mcg of T4 per day and a small amount of T3, which is preferably formed extrathyroidally from T4 under the action of type 1 5'-deiodinase. Thyroid hormones are necessary for the normal functioning and development of almost all organs and functional systems of the body, and the level of their production is determined by physiological needs and regulated by thyroid-stimulating hormone (TSH) of the pituitary gland. Thyroid hormones regulate the processes of development, maturation, specialization and functioning of almost all body tissues and are of exceptional importance for the establishment and

development of the fetal brain, the formation of the child's intelligence, growth and maturation of the bone skeleton, reproductive system; affect sexual development, menstrual function and fertility, breast development [1, 2, 10, 11, 19].

A woman's reproductive system is a finely organized system of closely interconnected structural and functional elements. The whole cascade of processes required for follicle maturation, ovulation, fertilization, corpus luteum function, preparation of the endometrium for implantation, and successful continuation of pregnancy depends on the preservation of neuroendocrine regulatory pathways, the slightest disruption of which leads to dysfunction [14,15].

Nowadays, the factors that determine the relationship between the reproductive and thyroid systems are well known. The function of the reproductive organs and the thyroid gland is regulated by tropical hormones of the pituitary gland, the secretion of which is under the influence of the hypothalamus and partly of the cerebral cortex. TSH is a glycoprotein hormone produced by basophilic cells of the adenohypophysis, regulated by hypothalamic thyrotropin-releasing hormone, on the one hand, and the level of free thyroid hormones, on the other. Thyroid hormones on the principle of negative feedback suppress the production of TSH, maintaining a dynamic balance in the pituitary-thyroid system. Most of T4 is in the serum in a form associated with transport proteins, and only 0.03% circulates in free form. Only free T4 (FT4) is available for transcapillary transport and entry into cell. Thyroid hormones stimulate the synthesis of sex hormone-binding globulin (SHBG) in the liver. Changes in the level of SHBG (decrease in hypothyroidism and increase in thyrotoxicosis) may have some significance in the genesis of menstrual and reproductive disorders [2, 5]. Thyrotropin stimulates the secretion by the pituitary gland not only TSH but also prolactin, so hypothyroidism increases not only the level of TSH but also prolactin. Another factor is the structural similarity of luteinizing, follicle-stimulating hormones, prolactin, human chorionic gonadotropin and thyroid-stimulating hormone [1, 2, 7, 9, 14].

Autoimmune thyroiditis (AIT) (Hashimoto's thyroiditis, lymphocytic thyroiditis), which affects 3-4% of the world's population) is an organ-specific autoimmune disease of the thyroid gland, in which due to chronic progressive lymphoid infiltration in women there is a gradual destructive disease of thyroid gland that is the main cause of hypothyroidism in women of reproductive age [8]. The prevalence of AIT is difficult to assess, because in the euthyroid phase it has almost no accurate diagnostic criteria. The prevalence of both TPO Antibodies carriers and hypothyroidism as a result of AIT is about 10 times higher in women than in men. Antithyroid autoantibodies as one of the signs of the disease are found in 5–26% of women of reproductive age and 13–20% of pregnant women [2, 8, 9, 12].

In the euthyroid phase and the phase of subclinical hypothyroidism there are no symptoms. The criteria, the combination of which allows to diagnose AIT, include [3, 6, 9, 10]:

- increase in levels of circulating antibodies to the thyroid gland (more informative is the determination of TPO Antibodies);
- detection of typical ultrasound signs of AIT (hypoechoic thyroid);
- primary hypothyroidism - subclinical or manifest (according to the level of TSH in the serum).

In the absence of at least one of these criteria, the diagnosis of AIT should be considered probable, because in itself an increase in the level of TPO Antibodies or hypoechoic thyroid according to ultrasound does not indicate the presence of AIT. Carrier means the detection of antibodies to the thyroid gland on the background of its normal structure and function. The pathological significance of this phenomenon remains ambiguous and reaches 10–20% in different age groups, with antibodies 5–10 times more often found in women. Determination of TPO antibodies to thyrocyte peroxidase (TPO Antibodies) is used to diagnose AIT, isolated carrier of AT-TG is rarely diagnosed. At the same time, most researchers consider it meaningless to study the level of blood pressure to assess the dynamics of treatment and prediction of AIT, as well as treatment only in the presence of antibodies to the thyroid gland [2, 4, 9, 13].

Normal development of the reproductive system occurs under the influence of gonadotropic hormones of the pituitary gland and the normal functioning of the thyroid gland. In turn, the state of the reproductive system has a pronounced effect on thyroid function, as evidenced by changes in its function during pregnancy and lactation, in patients with abnormal uterine bleeding, in girls during puberty and women during the menstrual cycle.

Hypothyroidism is a clinical syndrome caused by a persistent deficiency of thyroid hormones in the body. There are primary, secondary, tertiary and peripheral hypothyroidism. In the case of the

primary form, which accounts for the majority of cases of this syndrome (95%), the process that leads to the development of hypothyroidism is localized directly in the thyroid gland. If the decrease in function is due to lack or absence of stimulating effect of thyroid-stimulating hormone, it is a secondary and tertiary hypothyroidism of pituitary or hypothalamic origin, respectively (central hypothyroidism). Peripheral or tissue hypothyroidism is much less often diagnosed [2, 8]. The prevalence of hypothyroidism in the population, according to various researchers, is from 5 to 10%, more often in women and with increasing prevalence with aging [1, 4, 5, 13, 16].

Researchers and clinicians pay special attention to the problem called "extrathyroid pathology", which is caused by a lack of thyroid hormones. The clinic of primary hypothyroidism is often dominated by manifestations of damage to various organs and systems, including cardiovascular, urinary, hematopoietic systems, digestive tract, skin diseases, mental disorders, immune disorders. At the same time, some symptoms are mistakenly defined as an independent disease that masks the presence of hypothyroidism for a long time and leads to its delayed diagnosis. Cardiovascular manifestations - hypertension, arrhythmias (sinus bradycardia), coronary heart disease, dyslipidemia - occupy the first place in the clinical manifestation of non-thyroid manifestations of hypothyroidism. From the digestive organs, there may be constipation, diarrhea, dysbiosis, gastritis, pancreatitis, dyskinesia of the biliary tract. On the part of the nervous system, hypothyroidism is manifested by headache, drowsiness, depression, inability to concentrate, memory impairment [1, 12, 17, 18].

Reducing the supply of tissues with thyroid hormones reduces resistance to infections, which is realized by chronic inflammatory processes of the upper respiratory tract, chronic tonsillitis, inflammation of the genitourinary system [1, 5, 8, 13]. A number of studies in recent years have shown that structural and functional disorders of the thyroid gland can initiate imbalance of the hypothalamic-pituitary-ovarian system [3, 10, 14]. Dysfunction of one or another part of the endocrine system is determined not only by hyper- or hypoproduction of hormones, but also by changes in biological activity against the background of their normal content in the serum [1,12, 17].

Insufficiency or excessive levels of thyroid hormones affect almost all vital processes, as their impact is realized at the cellular and even molecular levels of all organs and systems of the body [9, 19]. In the case of a decrease in thyroxine levels (T3) and triiodothyronine (T4) by the feedback mechanism significantly increases the production of thyrotropin-releasing hormone and, accordingly, thyroid-stimulating hormone, which, in turn, stimulates the production of prolactin, initiates the secretion of inhibin B in the ovaries, inhibits the production of somatotrophic hormone, causes the formation of relative hyperestrogen ovarian aromatase, decreased production of sex-binding steroid globulin, luteal phase deficiency of the menstrual cycle, ovulation and fertility disorders. Disorders of peripheral estrogen metabolism and hypoprogesteronemia in hypothyroidism are now considered as one of the mechanisms to increase the frequency of proliferative processes in target organs [4-7, 14].

Primary hypothyroidism is accompanied by menstrual cycle (MC) disorders. The most pronounced form of MC disorders in hypothyroidism is amenorrhea, the frequency of which in this type of thyroid pathology ranges from 1.5 to 6%. MC disorders in hypothyroidism are diagnosed 3 times more often than in the general population, and some reports indicate that MC disorders were noted in 68% of women with hypothyroidism in 12% of cases in the control group [3, 10]. It should be noted that in patients with hypothyroidism, reproductive dysfunction is detected in regulatory MC, with 10 to 25% of women complaining of infertility, which is associated with a defective luteal phase or anovulation [11, 14]. With long-term hypothyroidism, the development of secondary hyperprolactinemia, galactorrhea and MC disorders is possible, which is due to hyperproduction of the hypothalamus TSH-RH and its stimulating effect on the production of TSH and PRL [2, 5].

Data from a 20-year follow-up study in the Wickham research showed that a positive reaction to TPO antibodies is an early predictor of hypothyroidism in cases where TSH levels are above 2.0 mIU / l [13, 16].

According to the recommendations of the American Thyroid Association (ATA, 2017) [6], all patients who are preparing for pregnancy or become pregnant again should undergo a clinical examination. It is recommended to study the content of TSH for the following risk factors:

1. Presence of a history of hypothyroidism / hyperthyroidism or current symptoms / signs of thyroid dysfunction.
2. Positive antibodies to the thyroid gland or goiter are detected.
3. Presence of a history of previous thyroid surgery.

4. Age over 30 years.
5. Type 1 diabetes or other autoimmune diseases.
6. History of miscarriage, premature birth, infertility, more than two pregnancies.
7. Presence in the family history of thyroid disease.
8. Pathological obesity (BMI ≥ 40 kg / m²).
9. Recent introduction of iodine-containing X-ray contrasts.
10. Living in areas with iodine deficiency (from moderate to severe).

According to the latest recommendations, subclinical hypothyroidism in women planning a pregnancy should be treated with levothyroxine, and the goal of treatment is to achieve a TSH concentration < 2.5 IU / l [6, 8, 9].

With age, the overall risk of hypothyroidism increases. Often the symptoms are ignored or incorrectly attributed to other causes, which complicates the diagnosis. Accordingly, ACOG recommends determining TSH levels even in asymptomatic women starting at age 50 and every 5 years thereafter [7]. The American College of Physicians (ACP) also recommends starting periodic screening at age 50, while the ATA recommends starting screening at age 35 [10,17]. According to recent recommendations of thyrological associations it is worth considering L-thyroxine replacement therapy in younger patients (< 65 years and TSH level 10 IU / l) with symptoms suggestive of hypothyroidism [6, 8, 11].

Although there is insufficient evidence to date that levothyroxine therapy improves fertility in euthyroid TPO Antibodies-positive women, it is possible to use L-thyroxine for euthyroid TPO antibodies positive women with a history of fetal loss starting at a dose of 25–50 μg / day. In other cases, there is insufficient evidence for its use in euthyroid women. With TSH > 4.2 IU / l in the absence of symptoms of hypothyroidism and unrealized reproductive plans for women of reproductive age, levothyroxine therapy is applicable, as the optimal level of TSH for pregnancy planning in women with subclinical and overt hypothyroidism is 0.4–2.0 MO / l [2, 4, 11, 13].

Today, about 30,000 women serve in the Armed Forces of Ukraine, 17,000 women took part in the war in eastern Ukraine [1].

On October 27, 2018, the Law “On Amendments to Certain Laws of Ukraine on Ensuring Equal Rights and Opportunities for Women and Men During Military Service in the Armed Forces of Ukraine and Other Military Formations” came into force, which equalized the rights of women and men, and duties, and workload, and responsibilities.

The consequences of military service and hostilities often lead to poor health. However, the health of veteran women has not yet been given due attention and care, limited to general military preventive examinations once a year [2].

Among the women participants in the hostilities there are those who have suffered contusions (mild traumatic brain injury), but continue their military service, or, having resigned from it, are active in society.

It should be noted that contusion (concussion and mild concussion) in 73% of injured is accompanied by mental disorders of the "pre-disease" level (asthenic symptoms, vestibular and autonomic dysfunction, anxiety-depressive inclusions), in 27% there is a more pronounced psychopathic symptoms [3].

Cognitive and behavioral symptoms include impaired memory and attention, difficulty in making decisions, fatigue, anxiety, depression, irritability, and emotional lability. Patients with such symptoms often describe a slowing of thought processes. These symptoms are usually mild and difficult to detect during routine testing. They decrease in the first 2–4 weeks after injury, but in a small percentage of patients may occur over a long period.

Behavioral symptoms that may occur after a mild TBI include irritability, mood swings, sleep disorders, fatigue, daytime sleepiness, and emotional lability. People with anxiety or depression, post-traumatic stress disorder, and people who abuse alcohol or drugs have a much higher risk of developing these symptoms [4].

At the same time, the problem of health of women veterans and servicemen is not only medical but also social, because not only on the state's defense capabilities depend on the physical, mental and social well-being of this part of the people of Ukraine, but also demographic, socio-political and social stability.

The aim of the study: assessing the prevalence and effectiveness of the diagnosis of thyroid dysfunction in women of childbearing age with impaired reproductive health who participated in

hostilities and suffered contusions, to improve treatment and rehabilitation measures and quality of life of these women.

Materials and methods. The study was conducted at the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductology of the Ukrainian State Institute of Reproductology Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education (NMAPE). The study included 301 women of reproductive age who participated in hostilities and suffered contusions, the average age of the subjects was 27.08 ± 4.23 years. The period of stay in the combat zone is 29.34 ± 9.21 months, the time from the moment of receiving a mild traumatic brain injury (contusion) is 18.8 ± 9.2 months.

At the first stage of the prospective study, the veteran women were interviewed. The structured questionnaire contained questions related to family and personal history, the presence of non-specific symptoms that may be associated with thyroid dysfunction (weakness, fatigue, memory impairment, swelling of the face and extremities, sleep disturbances, dry skin, weight gain body, lethargy, drowsiness, paresthesias, constipation, hair loss, hypochromic iron deficiency anemia, depression, etc.).

Symptoms of the consequences of contusion at the time of examination were determined by the Cicero questionnaire [5]. At the same time, patients performed self-assessment of their own symptoms in view of the present. A PCL questionnaire (military version) was used for PTSD screening [6]. The study of the state of autonomic regulation was carried out by filling out a questionnaire of subjective assessment of dystonia (according to the A. Wayne questionnaire, 1998) [7]. Assessment of the state of the cardiovascular system and autonomic regulation was performed by the method of heart rate variability, which was performed on a heart recorder Solveig DC-06000 and by analyzing the data obtained on the software platform "Cardiolyse". Assessment of the functional state of the organism was performed using a quantum magnetic resonance analyzer "MEDIACOMAT-29" with the calculation of the coefficient of pathology for each system ($Kp = \Sigma n / N_{max}$) and the integrated indicator of pathology ($IIP = \Sigma Kp$).

According to the results of the survey, out of the 203 women who were aware of the family history of the disease, 115 (38,2%) noted the presence of thyroid pathology in one of the parents (in 89.8% of cases - in mother). Nonspecific complaints were noted in 284 (94,4%) of the 301 available questionnaires. Ultrasound examination of the thyroid gland previously underwent 282 (93,7%) women, however, the study of thyroid function (determination of the level of TSH, TPO Antibodies, free T4 and T3) was conducted only in 169 (56,1%) of 301 patients, with subclinical hypothyroidism (TSH from 4.5 to 8.9 IU / l) was diagnosed in 64 (37,9%) of those who underwent examination, manifest hypothyroidism - in 7 women (4,2%). Only 11 (6,5%) patients (7 with manifest and 4 with subclinical hypothyroidism) received levothyroxine treatment as prescribed by an endocrinologist.

According to the results of verification of gynecological pathology, 164 patients who gave informed consent to participate in the second stage of the study, for further comparative analysis of the prevalence of thyroid dysfunction were divided into clinical groups:

- Group I included 55 (33,5%) patients with combined dyshormonal benign proliferative pathology of the reproductive organs and dyshormonal pathology of the breast (genital endometriosis, adenomyosis / uterine leiomyoma in combination with endometrial hyperplasia);
- Group II included 31 (18,9%) a woman with PCOS;
- Group III - 33 (20,1%) patients with endometrioid disease;
- Group IV - 37 (22,6%) women with uterine leiomyoma;
- The absence of gynecological pathology and pathology of the breasts at the time of examination was found in 38 (23,2%) women who were included in group V.

Research results and discussion. Structural and functional changes of the thyroid gland were detected in 164 (34,5%) women, with the frequency of detection of diffuse goiter I-II stages did not differ between clinical groups ($p > 0.05$).> At the same time, the prevalence of AIT was higher in patients with dyshormonal pathology of the reproductive system (group I) compared with group V ($p = 0.0001$). Euthyroid status in patients with combined dyshormonal and proliferative pathology (group I) was diagnosed 1.5–1.9 times less often than in patients of groups II, III, IV and V ($p \leq 0.0005$).

Subclinical hypothyroidism was diagnosed in 33,5% of women in group I with 18,9%, 20,1% and 22,6% in groups II, III and IV, respectively. All patients received levothyroxine at doses calculated according to TSH levels (50 to 75 μg / day). At the same time, for group I women with diffuse goiter and / or AIT, the incidence of subclinical hypothyroidism was 60,6% compared to 8,6%

of manifest hypothyroidism not detected in women with PCOS, and the prevalence of endometrioid disease and uterine leiomyoma was respectively 1.9% and 3.5%.

Conclusions. So, the results of a two-stage study of the prevalence of thyroid dysfunction in women who participated in hostilities and suffered contusions with dys hormonal pathology of reproductive organs of non-inflammatory origin confirm that thyroid dysfunction, especially hypothyroidism, is a serious reproductive health problem in veteran women, which requires changes in diagnostic and treatment approaches.

REFERENCES

1. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid*. 2017; 27 (3): 315- 389. DOI: 10.1089/thy.2016.0457
2. American College of Obstetrics, Gynecologists Committee on Gynecologic P. ACOG Committee Opinion No. 483: Primary and preventive care: periodic assessments. *Obstetrics and gynecology*. 2011;117:1008-15.
3. Amino N, Tada H, Hidaka Y, Hashimoto K. Hashimoto's disease and Dr. Hakaru Hashimoto. *Endocr. J.* 2002; 49: 389-391.
4. Brabant PG, Duntas L, Monzani F et al. Management of Subclinical Hypothyroidism 2013 ETA Guideline. *Eur. Thyroid. J.* 2013; 2: 215-228.
5. Cicerone K. Persistent postconcussion syndrome. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*. 1995; June: 1-17
6. Druz O. B., Syropiatov O. H., Badiuk M. L. [ta in.]. (2015). Udoskonalennia likuvannia ta reabilitatsii viis ko vo sluzhbov tsiv Zbroinykh Syl Ukrainy iz boiovoiu psikhichnoiu travmoiu: metodychni rekomendatsii, Kyiv.: «MP Lesia», 52.
7. James C. Coleman, C. Robert, James Neal Butcher. *Abnormal Psychology in Modern Life*. – 8-е издание. – Нью-Йорк: HarperCollins Publishers, 1988. – ISBN нет, ASIN: B0025UVCZO
8. Kyrychenko I. Zdorovia zhinky ta viyna: problema zahystu ta vidnovlennia. *Ukraina Moloda*, No144, 24.12.2019
9. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, et al. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Archives of internal medicine*. 2000;160:1573-5.
10. Männistö T, Vääräsmäki M, Pouta A. et al. Thyroid dysfunction and autoantibodies during pregnancy as predictive factors of pregnancy complications and maternal morbidity in later life *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(3): 1084-1094.
11. Maruna P. Gynecological aspects of thyroid disorders. A review. *Ceska Gynecol.* 2006; 71 (4): 332–338.
12. Nyni u viysku sluzhyt maiyzhe 30000- zhinok <https://armyinform.com.ua/2020/03/nyni-u-vijsku-sluzhyt-majzhe-30-tysyach-zhinok/>
13. PTSD: National Center for PTSD: <https://www.ptsd.va.gov>
14. Razvi S, Weaver JU, Vanderpump MP, Pearce SH. The incidence of ischemic heart disease and mortality in people with subclinical hypothyroidism: reanalysis of the Whickham Survey cohort. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(4): 1734-1740.
15. Redmond GP. Thyroid dysfunction and women's reproductive health. *Thyroid*. 2004; 14 (1): 515.
16. Stebliuk Vsevolod, Pronoza-Stebliuk Kate. Post-concussion Syndrome in Ukrainian Veterans: Physical and Mental Manifestations. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018;8(2):349-354
17. Toulis KA, Goulis DG, Venetis CA. et al. Risk of spontaneous miscarriage in euthyroid women with thyroid autoimmunity undergoing IVF: a meta- analysis. *Eur. J. Endocrinol.* 2010; 162(4): 643-652.
18. Vein A. M. (2000). Vehetatyvnye rasstroistva: Klynyka, lechenye, dyahnostyka. Moskov. Medytsynskoe ynformatsyonnoe ahentstvo, 752
19. Walsh JP, Bremner AP, Feddema P. et al. Thyrotropin and thyroid antibodies as predictors of hypothyroidism: a 13-year, longitudinal study of a community-based cohort using current immunoassay techniques *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(3): 1095-1104.

ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНЕ РЕНТГЕНОЛОГІЧНЕ ОБСТЕЖЕННЯ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМ ДАКРІОЦИСТИТОМ

Мінаєв Олексій Олександрович,

Державний заклад вищої освіти «Донецький національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України», Краматорськ, Україна, асистент кафедри хірургії, ендоскопії, оториноларингології, реконструктивно-відновлювальної хірургії та променевої діагностики, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3652-0887>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7319

ARTICLE INFO

Received 26 October 2020

Accepted 14 December 2020

Published 30 December 2020

KEYWORDS

chronic dacryocystitis,
computed tomography,
endonasal endoscopic
dacryocystorhinostomy.

ABSTRACT

The aim of our study was to develop a method for determining the topographic and anatomical relationship of the lacrimal sac with the surrounding structures and to evaluate its effectiveness in planning and performing endonasal endoscopic dacryocystorhinostomy (EEDCR). The study group (1st group) consisted of 45 who underwent EEDCR according to our technique, the comparison group (2nd) included 36 patients who, after performing EEDCR developed by us, into the dacryorhinostoma zone a polyvinyl chloride conductor was installed. In the control group (3rd) included 28 patients who EEDCR performed by the generally accepted technique. To assess the informativeness of computed tomography (CT) techniques of the lacrimal ducts (LD) and the possibility of effective use of the obtained CT data, patients of the 1st and 2nd groups were divided into 2 subgroups: 1A and 2A were included patients whom CT LD was performed according to the developed method, and patients of subgroups 1B and 2B – according to the traditional algorithm.

Hyperpneumatization of agger nasi cells was detected in 14.7% of the examined, inflammatory pathology in the paranasal sinuses – in 38.5% ($p > 0.05$). The lacrimal fossa was located at the level of the anterior end of the middle turbinate (MT) in 39.4% of cases, anteriorly in 32.1%, and posteriorly in 14.7%. In 13.8% of cases, it was difficult to determine the ratio of the lacrimal fossa to the anterior end of the MT, these cases were in subgroups 1B, 2B and in group № 3 ($p < 0.05$). Visualization of the surgical field according to the Andre P. Boezaart scale (1995) 1-2 degrees in subgroups 1A and 2A was more than 90% of patients in subgroups 1B and 2B – less than 50%, and in group 3 – in 25% of patients ($p < 0.05$). Thus, the anatomical and topographic features of the LD must be determined and taken into account in the surgical treatment and observation of patients with chronic dacryocystitis. The developed technique of CT with contrasting LD is more effective than the traditional one, and the performance of surgical intervention when using it is sparing.

Citation: Minaiev Oleksii. (2020) Preoperative Radiological Examination of Patients with Chronic Dacryocystitis. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7319

Copyright: © 2020 Minaiev Oleksii. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Вступ. У наш час для успішного відновлення слезовідведення при хронічному дакріоциститі (ХД) до передопераційного обстеження хворих висуваються принципово нові вимоги. Загальноприйнятими лікуваннями ХД є хірургічне [9], а ендоназальний ендоскопічний доступ до слізної мішки має значні переваги [4, 1, 12, 13]. Разом з тим, у підготовці пацієнтів до хірургічного втручання необхідно з'ясувати особливості анатоми-топографічного взаєморозташування слезовідвідних шляхів (СВШ) і внутрішньоносових структур [2, 3]. До клінічно значущих відносять топографічні взаємозв'язки гратчастого лабіринту зі слізною ямкою та носослізним каналом, варіант відношення слізної ямки до переднього кінця середньої носової раковини (СНР), варіабельність товщини кісткової стінки слізної ямки і розташування її найтоншого місця, положення носослізного каналу.

Слізна ямка найчастіше локалізується безпосередньо допереду від переднього кінця СНР. Але є варіанти, коли проекція слізної ямки може бути частково чи повністю прикрита ним, і навіть знаходитись значно дозаду від переднього кінця СНР. Найтонше місце слізної ямки, де найпростіше всього виконувати доступ до слізного мішка при ендоназальній дакріоцисториностомії, зазвичай, утворено слізною кісткою безпосередньо позаду зрощення її з лобовим відростком верхньої щелепи і співставно по товщині з яечною шкаралупою.

Практично завжди (біля 95% випадків) клітини решітчастого лабіринту по-різному прилягають до слізної ямки (слізні клітини): у 20% випадків можуть прикривати слізну ямку наполовину, а у 2% – повністю. Через таку топографічну особливість при ендоназальному доступі до слізного мішка можуть виникати певні складнощі [4], а вчасно не розпізнана і не усунена запальна патологія цих клітин може сприяти виникненню рецидиву захворювання після хірургічного лікування.

Існують певні важливі анатомо-топографічні особливості у розташуванні носослізного каналу. При значній пневматизації гайморової пазухи носослізний канал може значно виступати на латеральній стінці порожнини носа у середнього носового ходу, утворюючи *torus lacrimalis internus*. Досить нечасті варіанти розташування протоки допереду від пазухи, безпосередньо за її лицьовою стінкою, це спостерігається при щілиноподібному звуженні передньо-медіального відділу цього синусу, гіпоплазії пазухи, «синдром мовчазного синусу».

Додаткових діагностичних методів для уточнення патології вертикального відділу СВШ достатньо багато (рентгенографія, сцинтиграфія, КТ, магнітно-резонансна томографія тощо), але модифікації існуючих методик і пошук оптимальної, що дозволила б максимально точно оцінити топографічні особливості СВШ і внутрішньоносових структур, продовжуються [2]. Велике значення в діагностиці ХД має комп'ютерна томографія (КТ), бо дозволяє встановити остаточний повний діагноз [1, 5, 6]. Дослідження має проводитись, на думку ряду авторів і за нашим переконанням, з обов'язковим контрастуванням просвіту слізних шляхів, щоб була можливість максимально точно оцінити просторові взаємозв'язки орбітальних, позаорбітальних і внутрішньоносових структур [7, 8]. Щодо контрастної речовини, то тут також немає єдиної думки: яку саме рідину і якої в'язкості оптимально застосовувати, як і коли вводити, спрогнозувати негативні наслідки обстеження для пацієнта; тому продовжуються клінічні дослідження та розробка алгоритмів застосування цього метода.

Разом з тим, незважаючи на тривалий час існування методу КТ, відносно простоту виконання, відмічається деяка обмеженість у його застосуванні при патології СВШ [9]. При традиційних протоколах сканування ННП і слізних шляхів, лікар часто не отримує достатньої корисної інформації про топографо-анатомічні взаємозв'язки слізного мішка та оточуючих внутрішньоносових структур, що може значно утруднювати планування ходу майбутньої операції та визначення оптимального доступу до слізного мішка. Територіальне роз'єднання отоларинголога, офтальмолога і центру проведення КТ-дослідження – залишаються чинниками, які стримують широке впровадження цього методу у повсякденну клінічну практику. Таким чином, проведення КТ пацієнтам з патологією СВШ потребує подальшої оптимізації та удосконалення.

Метою нашого дослідження було розробити спосіб визначення топографо-анатомічного взаємозв'язку слізного мішка з оточуючими структурами та оцінити його ефективність при плануванні та виконанні ендоназальної ендоскопічної дакріоцисториностомії.

Матеріали і методи. На базах кафедри оториноларингології факультету інтернатури і післядипломної освіти Донецького національного медичного університету МОЗ України у період 2004-2014 рр. обстежено та прооперовано 109 пацієнтів з ХД. Із них було 86 жінок і 23 чоловіки у віці від 18 до 78 років (середній вік – $49,1 \pm 16,2$ років). Тривалість скарг на сльозотечу складала від 2 міс. до 9 років. У всіх пацієнтів хронічний дакріоцистит знаходився в стадії ремісії. Всім хворим відновлювали сльозовідведення шляхом виконання ендоназальної ендоскопічної дакріоцисториностомії (ЕЕДЦРС).

До 1-ї групи (досліджувана) увійшли 45 пацієнтів, котрим ЕЕДЦРС була здійснена за розробленою нами методикою [10]. До 2-ї групи (порівняння) було включено 36 хворих, яким після виконання розробленої нами ЕЕДЦРС в зону дакріориностоми встановлювали ПХВ-провідник. До 3-ї (контрольної) групи увійшли 28 пацієнтів (архівний матеріал), котрим ЕЕДЦРС виконували за загальноприйнятою методикою: зі збереженням і пластичним укладанням викроєних клаптів слизової оболонки порожнини носа і слізного мішка та з установленням ПХВ-провідника.

Для оцінювання інформативності методик проведення КТ СВШ і можливості ефективного застосування отриманих КТ-даних при плануванні спрямованості й обсягу хірургічного втручання, пацієнти 1-ї та 2-ї груп були розподілені на 2 підгрупи (рис. 1). До підгруп 1А і 2А були включені пацієнти, котрим у передопераційному обстеженні КТ СВШ із контрастуванням проводили за розробленою нами методикою. Підгрупи 1В і 2В склали хворі, яким КТ СВШ виконували за традиційним алгоритмом. Пацієнтам контрольної клінічної групи у передопераційному обстеженні виконували дакріоцистографію з контрастуванням СВШ, а для уточнення стану внутрішньоносових структур – КТ ПНП.

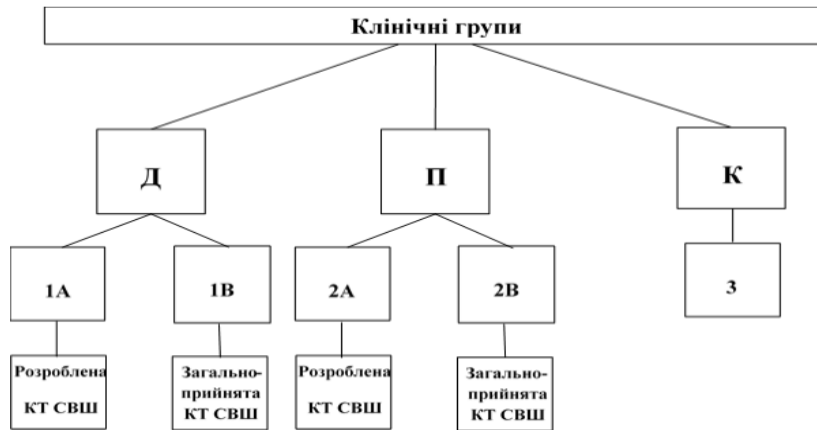


Рис. 1. Схема розподілу пацієнтів у клінічних групах за діагностичним критерієм (Д – досліджувана група, П – група порівняння, К – контрольна група).

Запропонований нами спосіб проведення КТ СВШ з контрастуванням («Спосіб визначення топографо-анатомічних взаємозв’язків слізного мішка з оточуючими структурами», патент України на корисну модель №66910 від 25.01.2012, бюл. № 2/2012) полягав у наступному: перед дослідженням СВШ промивали, видаляючи гнійний вміст; далі в просвіт СВШ вводили водорозчинну контрастну речовину (амідотризоат натрію 60%); потім не пізніше ніж через 5 хв. розпочинали КТ-сканування у коронарній проекції з кроком не більше ніж 1 мм від присінка носа до межі між передніми і задніми клітинами решітчастого лабіринту – базальної пластинки (зона інтересу), а далі до клиноподібної пазухи з кроком 5 мм (рис. 2, 3).

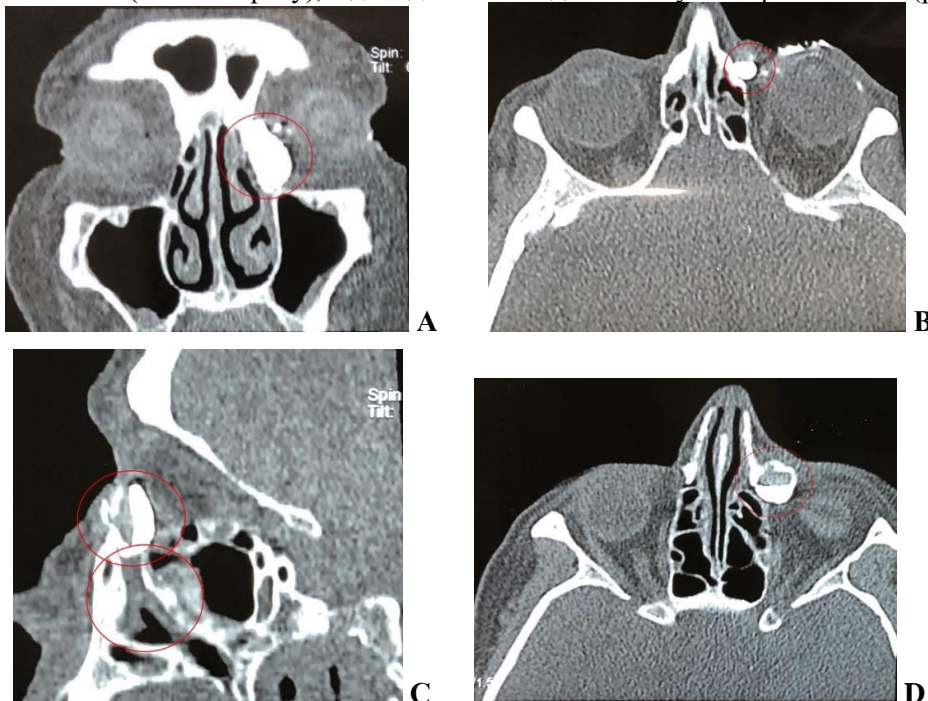


Рис. 2. КТ СВШ з контрастуванням пацієнта Б., коронарна (А), аксіальна (В, D) і сагітальна проекції (С). Слізний мішок густо накопичує контрастну речовину з горизонтальним рівнем (С, D), заповнює купол мішка (А), носослізний канал обтурований по всій довжині, відсутність накопичення контрасту в ньому (D).

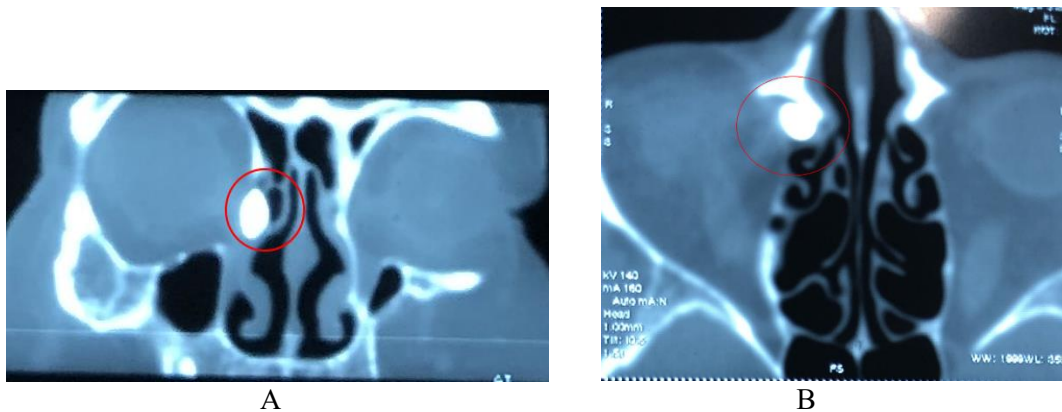


Рис. 3. КТ СВШ з контрастуванням пацієнтки Б., коронарна (А) та аксіальна (В) проекції. Слізний мішок добре контрастується, помірно розширений, задню половину мішка прикриває клітина *agger nasi* (А), відсутність накопичення контрастного препарату в носослізному каналі.

Отримані дані КТ-досліджень аналізували за таким алгоритмом. Скан-зображення вивчали у стандартних програмах-переглядальниках, аналізували знімки у «кістковому» і «м'якотканинному» вікнах реконструкції, проглядали у коронарній, аксіальній та сагітальній проекціях, також вивчали 3D-реконструкцію. Оцінювали можливі аномалії внутрішньоносових структур та знахідки в ННП.

Наступним етапом в оцінюванні КТ-результатів було вивчення СВШ та визначення їх відношення до внутрішньоносових структур. Для цього оцінювали архітектуру СВШ, вивчали заповнюваність контрастною речовиною слізних каналців, слізного мішка та носослізного каналу. За характером об'ємного контрастування СВШ визначали, на якому рівні є дакриостеноз, уточнювали локалізацію та розміри слізного мішка, його співвідношення до слізної ямки, припускали форму дакриоциститу і можливі інтраопераційні знахідки. Особливу увагу звертали на локалізацію найтоншої кісткової стінки слізної ямки і на її розташування відносно переднього кінця СНР. Враховували клітини решітчастого лабіринту, які повністю або частково могли прикривати оптимальний доступ до слізного мішка. На підставі проаналізованих даних планували направленість та об'єм хірургічного втручання.

Як критерій «успішності» перебігу ендоназальної ендоскопічної дакриоцисториностомії розглядали ступінь візуалізації хірургічного поля. Для цього використовували диференціальну шкалу Andre P. Voezaart [11]. Як додатковий непрямий критерій, враховувався часовий чинник, тобто тривалість безпосереднього виконання етапу ЕЕДЦРС.

Для оцінки статистичної значущості відмінностей між досліджуваними групами, характер розподілу даних яких відповідав нормальному, використовували t-критерій Стьюдента, для даних з ненормальним розподілом використовували критерій Краскела-Уолеса, для порівняння частот використовували критерій χ^2 та точний критерій Фішера. Відмінності вважали достовірними при рівні значущості менше 5 % ($p < 0,05$). Дані у таблицях наведені у абсолютних (абс.), відсоткових (%), медіанних (Me) значеннях із вказанням 95-відсоткового довірчого інтервалу (95 % ДІ). Статистичний аналіз проводили за допомогою ліцензованої програми MedCalc (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; 2017).

Результати.

Гіперпневматизація клітин *agger nasi* виявлена у 16 (14,7 %) хворих, що надалі було важливим чинником при плануванні доступу до слізного мішка. Запальна патологія в ННП виявлена у 42 (38,5 %) обстежених: етмоїдит – у 29 (26,6 %), гайморит – у 15 (13,8 %), сфеноїдит – у 2 (1,8 %). Уражень лобових пазух не виявлено, а одночасне запалення в клітинах гратчастого лабіринту і в гайморовій пазусі спостерігалось у 4 (3,7 %) хворих. Патологічний процес у ННП у 26 (23,9 %) хворих мав однобічний характер, а у 8 (7,3 %) – двобічний.

Розподіл пацієнтів по групам за наявністю збільшених клітин *agger nasi* та запальних змін в ННП наведено в таблиці 1.

Таблиця 1. Розподіл пацієнтів по групах за наявністю збільшених клітин agger nasi та запальних змін в ННП (n=109)

Показник	1A		1B		2A		2B		3	
	n=28		n=17		n=21		n=15		n=28	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Гіперпневматизація Agger nasi	4	14,3	3	17,6	3	14,3	2	13,3	4	14,3
Гайморит	3	10,7	1	5,9	2	9,5	1	6,7	4	14,3
Сфеноїдит	1	3,6	0	0	0	0	1	6,7	0	0
Етмоїдит	7	25	4	23,5	5	23,8	3	20	6	21,4
Етмоїдит + гайморит	0	0	1	5,9	1	4,8	1	6,7	1	3,6
Без запальних проявів у пазухах	17	60,7	11	64,7	13	61,9	9	60	17	60,7

При проведенні статистичного аналізу розподіл пацієнтів серед клінічних груп за анатомічними особливостями клітин agger nasi та за наявністю і локалізацією синуситів був рівномірним і статистично значущої відмінності не було ($p>0,05$).

За даними аналізу КТ, слізна ямка розташовувалась на рівні переднього кінця СНР у 43 (39,4 %) пацієнтів, допереду від нього – у 35 (32,1 %), а дозад – у 16 (14,7 %). У 15 (13,8 %) спостереженнях за даними КТ визначити відношення слізної ямки до переднього кінця СНР було утрудненим. З них 11 (10,1 %) пацієнтів були із контрольної групи і по 2 (по 1,8 %) хворих – із підгруп 1B і 2B (рис. 4).

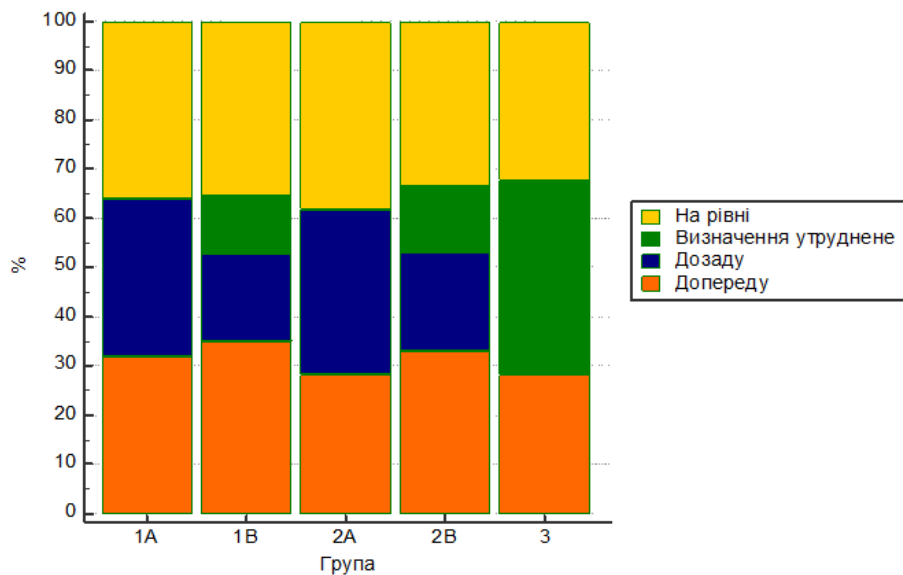


Рис. 4. Розташування слізної ямки відносно переднього кінця СНР у пацієнтів клінічних груп за даними КТ, n=109

(оцінка статистично значущих відмінностей між групами за критерієм χ^2 , $p<0,05$).

Як видно з даних, наведених на рисунку 4, та після проведеного статистичного аналізу, у хворих підгруп 1B, 2B та 3-ї групи достовірно не вдавалося оцінити візуалізацію слізної ямки відносно переднього кінця СНР ($p<0,05$). У випадку розташування слізної ямки дозад від переднього кінця СНР та наявності супутньої concha bullosa і/або деформації носової перегородки у цій зоні, перераховані зміни перешкоджали оптимальному доступу до слізної мішки та створювали певні труднощі при хірургічному втручанні.

Ступінь інтраопераційної візуалізації хірургічного поля при виконанні ЕЕДЦРС приведено на рисунку 5.

Як видно з даних, наведених на рисунку 5, та після проведеного статистичного аналізу, інтраопераційна візуалізація була достовірно кращою у пацієнтів підгруп 1A та 2A, де понад 90 % були хворі з 1-2 ступенем ($p<0,05$). У той же час гірша візуалізація була у підгрупах 1B та 2B, де понад 50 % хворих було з 3-4 ступенем візуалізації ($p<0,05$). Найгірші результати спостерігалися у групі № 3, де 75 % пацієнтів були з 3-4 ступенем візуалізації хірургічного поля ($p<0,05$).

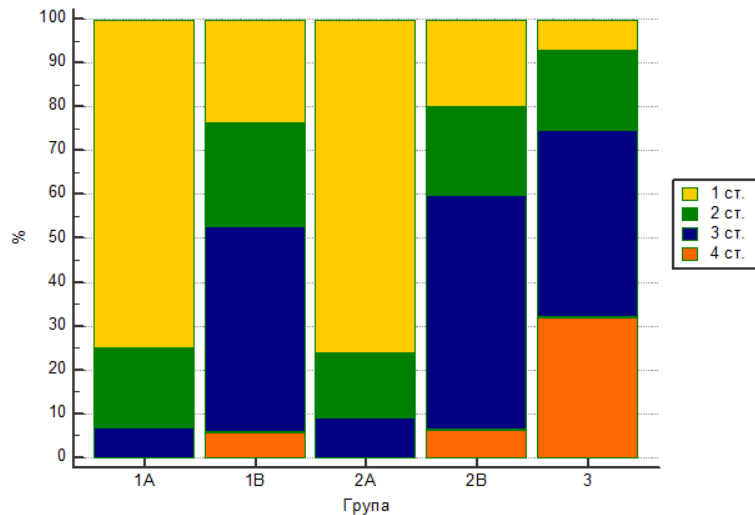


Рис. 5. Ступінь інтраопераційної візуалізації хірургічного поля у клінічних групах згідно зі шкалою Andre P. Boezaart, $n=109$ (оцінка статистично значущих відмінностей між групами за критерієм χ^2 , $p<0,05$).

Як додатковий і непрямий показник ми вирішили проаналізувати витрачений час на безпосереднє виконання ЕЕДЦРС (рис. 6).

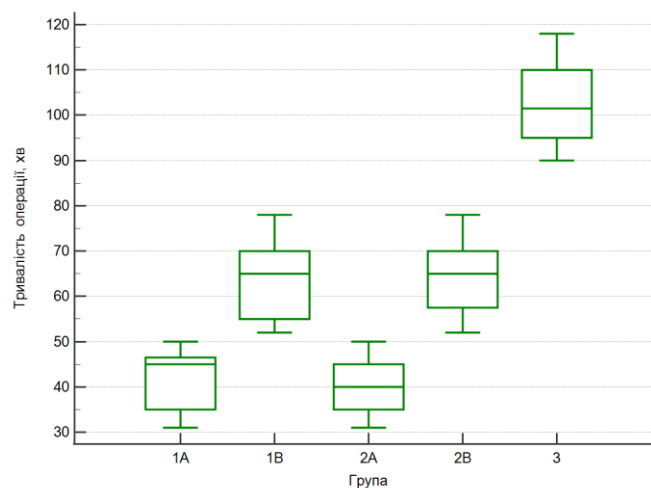


Рис. 6. Тривалість безпосереднього етапу ЕЕДЦРС у пацієнтів клінічних груп, хвилини (оцінка статистично значущих відмінностей між групами за критерієм Краскела-Уолеса, $p<0,05$).

Як видно з наведених даних на рисунку 6 та після проведеного статистичного аналізу, найкоротшою тривалістю операції була у підгрупах 1А і 2А (медіанне значення 45 і 40 хв; 95 % ДІ 35-45 хв, $p>0,05$), при порівнянні з іншими групами відмінність була статистично значущою ($p<0,05$). У пацієнтів 3-ї групи операція тривала найдовший період часу – медіанне значення склало 101,5 хв, а відмінність від інших груп була статистично значущою ($p<0,05$). Хворі підгруп 1В та 2В займали проміжне положення між вищевказаними групами (медіанне значення склало 65 хв) зі статистично достовірною різницею ($p<0,05$).

Обговорення результатів. Вивчаючи інформативність додаткових променевих діагностичних методів при обстеженні пацієнтів з ХД, науковці не завжди використовують єдині стандартизовані критерії і відносно рідко зіставляють отримані передопераційні діагностичні дані з наступним перебігом хірургічного втручання та з підсумковими результатами лікування [14].

У нашій роботі при застосуванні розробленої методики КТ СВШ в передопераційному обстеженні хворих з ХД відмічаються достовірно кращі результати у пацієнтів підгруп 1А та 2А. Проаналізована вище різниця була пов'язана з тим, що у підгрупах 1В і 2В, а також у 3-й групі при плануванні спрямованості й обсягу хірургічного втручання було недостатньо діагностичних даних, отриманих при рентгенологічному обстеженні пацієнтів. Як наслідок, не завжди було можливим оцінити співвідношення патологічно зміненого слізного мішка і слізної ямки, визначити положення

слізної ямки відносно переднього кінця СНР, передлежання клітин решітчастого лабіринту або гачкоподібного відростка, локалізувати найтоншу кісткову стінку на шляху доступу до мішка. Через це при формуванні «кісткового вікна» не завжди вдавалось точно ідентифікувати місце трепанації в «оптимальній» локації, наносилась більша кісткова травма, витрачався більший час. На заключному етапі виконання дакріоцисториностомії значну частину часу відбирав пошук слізного мішка, що призводило до зайвої травматизації та кровоточивості оточуючих тканин.

Висновки. 1. Анатомо-топографічні особливості СВШ необхідно визначати та враховувати при хірургічному лікуванні та спостереженні хворих з хронічним дакріоциститом.

2. Виконання КТ СВШ за розробленою методикою дозволяє отримати максимально точні й необхідні дані, а їх ретельний аналіз за вищевказаним алгоритмом необхідний для планування спрямованості й обсягу хірургічного втручання.

3. Розроблена нами методика КТ СВШ при обстеженні пацієнтів з хронічним дакріоциститом дозволяє статистично значуще підвищити інформативність дослідження на 25% та є ефективнішою в порівнянні з традиційною, а виконання хірургічного втручання при її застосуванні – ощадним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Enright, N. J., Brown, S. J., Rouse, H. C., McNab, A. A., Hardy, T. G. (2019), "Nasolacrimal Sac Diverticulum: A Case Series and Literature Review," *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, Jan/Feb, 35(1), 45-9. Retrieved from <https://doi.org/10.1097/IOP.0000000000001156>
2. Magomedov, M. M., Borisova, O. Yu., Bakharev, A. V., Lapchenko, A. A., Magomedova, N. M., Gadua, N. T. (2018), "Multidisciplinarniy podhod v diagnostike i hirurgii sleznyih putey," [The multidisciplinary approach to the diagnostics and surgical treatment of the lacrimal passages], *Vestn Otorinolaringol*, 83(3), 88-93. [Article in Russ]. Retrieved from <https://doi.org/10.17116/otorino201883388>
3. At'kova, E. L., Yartsev, V. D., Krakhovetskiy, N. N., Reznikova, L. V., Root, A. O. (2018), "Izuchenie osobennostey stroeniya usta nososleznogo protoka po dannym mnogosrezovoy kompyuternoy tomografii," [Study of the peculiarities of the structure of the nasolacrimal duct orifice according to the data of multislice computed tomography], *Journal of radiology and nuclear medicine*, 99(2), 63-70. [Article in Russ.]. Retrieved from <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2018-99-2-63-70>
4. Kumar, S., Mishra, A. K., Sethi, A., Mallick, A., Maggon, N., Sharma, H., Gupta, A. (2019), "Comparing Outcomes of the Standard Technique of Endoscopic DCR with Its Modifications: A Retrospective Analysis," *Otolaryngol Head Neck Surg*, Feb, 160(2), 347-54. Retrieved from <https://doi.org/10.1177/0194599818813123>
5. Li, E. Y., Wong, E. S., Wong, A. C., Yuen, H. K. (2017), "Primary vs Secondary Endoscopic Dacryocystorhinostomy for Acute Dacryocystitis With Lacrimal Sac Abscess Formation: A Randomized Clinical Trial," *JAMA Ophthalmol*, Dec 01, 135(12), 1361-6. Retrieved from <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2017.4798>
6. Ali, M. J., Nayak, J. V., Vaezaefshar, R., Li, G., Psaltis, A. J. (2014), "Anatomic relationship of nasolacrimal duct and major lateral wall landmarks: cadaveric study with surgical implications," *Int. Forum. Allergy. Rhinol*, 4(8), 684-8. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/alar.21345>
7. Cohen, A. J., Mercandetti, M., Brazzo, B. G. (Ed.). (2006). *The lacrimal system: diagnosis, management, and surgery*. New York: Springer, 3-19. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/978-0-387-35267-1>
8. Heichel, J., Struck, H. G., Glien, A. (2018), Diagnostik und Therapie von Tränenwegserkrankungen Ein strukturiertes patientenzentriertes Versorgungskonzept, [Diagnostics and treatment of lacrimal duct diseases: A structured patient-centred care concept], *HNO*, Oct, 66(10), 751-9. [Article in German]. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s00106-018-0535-0>
9. Kassel, E. E., Schatz, C. J. (2003). *Lacrimal apparatus*. In: Som PM, Curtin HD, (Ed). *Head and neck imaging*, 4th ed., 655-733.
10. Choi, S. C., Lee, S., Choi, H. S., Jang, J. W., Kim, S. J., Lee, J. H. (2016), "Preoperative computed tomography findings for patients with nasolacrimal duct obstruction or stenosis," *Korean J Ophthalmol*, 30, 243-50. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/10.3341/kjo.2016.30.4.243>
11. Raslan, O. A., Ozturk, A., Pham, N., Chang, J., Strong, E. B., Bobinski, M. (2019) "A Comprehensive Review of Cross-Sectional Imaging of the Nasolacrimal Drainage Apparatus: What Radiologists Need to Know," *AJR Am J Roentgenol*, Dec, 213(6), 1331-40. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/10.2214/AJR.19.21507>
12. Dumansky, Yu. V., Zabolotny, D. I., Boenko, S. K., Shlopov, V. G., Savchenko, O. A., Klimov, Z. T., et al. *Funktsionalna endoskopichna rinohirurgiya* [Functional endoscopic rhinosurgery]. Donetsk: Nord-press; 2010: 202-6. [In Ukrainian]
13. Boezaart, A. P., van der Merwe, J., Coetzee, A. (1995), "Comparison of sodium nitroprusside- and esmolol-induced controlled hypotension for functional endoscopic sinus surgery," *Can J Anaesth*, 42, 373-6. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/BF03015479>
14. Green, R., Gohil, R., Ross, P. (2017), "Mucosal and lacrimal flaps for endonasal dacryocystorhinostomy: a systematic review," *Clin Otolaryngol*, 42(3), 514-20. Retrieved from <https://doi.org/10.1177/0194599812447759>

CHARACTERISTICS OF THE MICROBIOM OF THE NECK REGION OF THE TEETH IN THE EXPERIMENTAL ACTION OF OPIOID, ITS CANCELLATION AND APPLICATION OF CEFTRIAXONE AS A COMPOSITION OF COMPLEX MEDICAL CORRECTION

Fik V. B., PhD in Anatomy, Assoc. Professor, Department of Normal Anatomy Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ministry of Health of Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2284-4488>

Fedechko Y. M., PhD in Microbiology, Assoc. Professor, Department of Laboratory Medicine Andrei Krupinsky Lviv Medical Academy, Lviv, Ministry of Health of Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2682-2729>

Pal'tov Ye. V., PhD in Anatomy, Assoc. Professor, Department of Normal Anatomy Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ministry of Health of Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2622-4753>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7320

ARTICLE INFO

Received 29 October 2020
Accepted 18 December 2020
Published 30 December 2020

KEYWORDS

microbiocenosis, oral cavity, opioid analgesic, antibiotic, rats.

ABSTRACT

The aim of the study was to determine the changes in the qualitative and quantitative composition of the microbiota in the neck part of the teeth in the gingival margin of the oral cavity of rats under experimental opioid exposure, its cancellation and comprehensive drug correction using an antibacterial drug. The use of the antibiotic ceftriaxone under conditions of two- and six-week administration of the opioid analgesic nalbuphine, caused the elimination or reduction of the quantitative composition of opportunistic and pathogenic bacterial species, in contrast to the identified changes in the microbiocenosis in the studied microbiotope. antibiotic therapy in the experiment.

Citation: Fik V. B., Fedechko Y. M., Pal'tov Ye. V. (2020) Characteristics of the Microbiom of the Neck Region of the Teeth in the Experimental Action of Opioid, Its Cancellation and Application of Ceftriaxone as a Composition of Complex Medical Correction. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7320

Copyright: © 2020 Fik V. B., Fedechko Y. M., Pal'tov Ye. V. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

The results of the article correspond to the research plan of Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky and are part of the research topic of the Department of Normal Anatomy "Morpho-functional features of organs in the pre- and postnatal periods of ontogenesis, under the influence of opioids, food additives, reconstructive surgery and obesity", state registration number 0120U002129.

In pain syndrome in clinical practice, an important component is the appointment of opioid drugs [12]. Long-term use of opioids often begins with the treatment of acute pain, however, to date there are insufficient data to characterize the transition from acute to chronic opioid use [13]. Prolonged abuse of opioids leads to various complications with systemic organ damage. Among the pathology of the oral cavity, periodontal tissue lesions occupy one of the leading places, because these tissues reflect the influence of harmful factors and homeostasis, and the mucous membrane is one of the first target organs that responds to intoxication by harmful factors [1, 5, 10, 11]. In opioid-dependent individuals, the heterogeneity of the microbiocenosis prevails in both qualitative and quantitative composition of the bacterial flora, which also depends on the duration of drug abuse [2, 6]. Since one of the main etiological factors is recognized as microbial, there is a need to focus on the

basic principles of therapy primarily to eliminate plaque and dental plaque, which cause the development of inflammation in the oral cavity [3, 4, 8, 14]. Due to the great variety of mechanisms of colonization and virulence of pathogenic microorganisms of dental plaque, the use of local and systemic antibiotics is extremely necessary [8]. An important aspect for the selection of effective etiotropic treatment is testing the degree of sensitivity of bacterial isolates to antibiotics [7, 9]. However, in the available sources we did not find data on the peculiarities of microbiome changes in the cervical part of the teeth and gingival margin at different stages of opioid exposure and, accordingly, etiopathogenetic treatment with antibacterial drugs under such conditions.

The aim of the study was to determine the changes in the qualitative and quantitative composition of the microbiome in the cervical part of the teeth in the gingival margin of the oral cavity of rats under experimental opioid exposure, its cancellation and complex drug correction using a course of antibiotic therapy with ceftriaxone.

Materials and methods. The study material was white outbred male rats (58), average body weight 180 g, age 4.5 months. The duration of the experiment was six weeks. Experimental animals were divided into 5 groups. The first group consisted of 10 intact rats. Each experimental group included 12 individuals. In the second group, the opioid analgesic nalbuphine was administered daily intramuscularly for six weeks, and the average therapeutic dose for rats was 0.212 to 0.252 mg / kg. The third group - rats were injected with nalbuphine - 0.212 mg / kg during the first two weeks, followed by its cancellation. In the fourth group, the animals were administered an opioid analgesic at a dose of 0.212 mg / kg for two weeks, followed by a four-week drug withdrawal and drug correction with pentoxifylline (4 weeks) and ceftriaxone (11 days) at doses of 2.86 mg / kg. The fifth group - rats for six weeks were injected with nalbuphine (from 0.212 to 0.252 mg / kg.), As well as pentoxifylline in the period from the third to the sixth week and 11 days of the antibiotic ceftriaxone (32-42 days) - 2, 86 mg / kg. The animals were kept in standard vivarium conditions and all experiments were performed in compliance with the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" [Strasbourg, 1985].

Collection of microflora for bacterioscopic and bacteriological studies was performed in the cervical part of the teeth in the gingival margin of the oral cavity of rats. In the previous stage, it was found that the studied bacterial strains were more sensitive and sensitive to ceftriaxone compared to other antibacterial drugs. According to the instructions for medical use, the duration of therapy with ceftriaxone is from 4 to 14 days, however, in chronic infections, longer use is recommended, and in the presence of *Streptococcus pyogenes* - at least 10 days. In this case, the maximum allowable dose of antibiotic - up to 4 g per day. Therefore, we chose a regimen of ceftriaxone therapy - 11 days, at a dosage of 1 g per day. In terms of rats, the dose was 2.86 mg / kg. In bacterioscopic studies, the assessment of prokaryotic gram-positive and gram-negative microflora was performed on the quantitative relationships of the main elements in the smear. To identify the characteristic cultural characteristics and quantitative characteristics of the microflora, bacteriological studies were performed by performing cultures on standard nutrient media. The obtained data, for further statistical analysis, were tested for normality by calculating the coefficients of asymmetry and excess using the Shapiro-Wilk test (significance level $p < 0.05$). Because all data obtained were of a normal distribution, the central trend was presented as $M \pm SD$ (mean \pm standard deviation). All statistical calculations were performed using RStudio v. 1.1.442 and R Commander v.2.4-4.

Research results. In the third group of animals, the analysis of the species and quantitative composition of the microbiota of the studied subbiotope of the oral cavity of rats was performed at the end of the sixth week of the experiment. The study of microbiota features in the studied subbiotope of the oral cavity of rats showed changes in the aerobic microflora, especially in the quantitative characteristics of individual species. According to the results of a statistical study, the significance of the difference for all microbial groups at different terms of opioid exposure during the experiment was proved ($p < 0.0001$).

Bacterioscopic examinations revealed mainly gram-positive microflora in the form of rod-shaped or filamentous bacteria, individual clusters of coccal flora. Gram-negative rods and yeast-like cells were found singly in the smears. Neutrophilic leukocytes, degeneratively altered and destroyed epitheliocytes, as well as epithelial cells with adsorbed coccal microflora up to 15 in the field of view were visualized.

In bacteriological studies, it was found that the state of the microbiocenosis in the studied subbiotope of the oral cavity varied compared with the intact group of rats, as well as with group 2 animals treated with nalbuphine for six weeks. Quantitative indicators of normal microflora in group 3

increased in comparison with similar indicators of intact rats. Thus, the number of non-hemolytic streptococci increased 1.3 times compared to the intact group - up to 60.78 ± 6.72 CFU / 0.02 ml. and gram-positive non-spore rods 1.7 times - 15.22 ± 4.99 CFU / 0.02 ml. At the same time, there was no significant difference with the corresponding indicators in animals of group 2, which were administered opioids for six weeks. The number of gram-positive spores was 13.22 ± 2.17 CFU / 0.02 ml, which did not differ significantly from similar intact animals and decreased 1.4-fold compared to animals treated with opioids for six weeks.

Quantitative composition of opportunistic pathogenic microflora was characterized by different indicators. Quantitative indicators of α -hemolytic streptococci in group 3 did not differ from the corresponding indicators of intact animals and amounted to 65.33 ± 7.57 CFU / 0.02 ml., However, were 1.6 times higher than similar indicators of group 2 animals. There was a significant increase in the number of coagulase-negative staphylococci to 61.56 ± 4.07 CFU / 0.02 ml, which was 5.9 times more than in the intact group of rats and 1.7 times compared with the corresponding indicators in animals with opioid administration for six weeks (2 groups). The number of enterococci did not differ from the intact group of rats, which was at this time - 19.22 ± 5.24 CFU / 0.02 ml and decreased 1.6 times compared with animals with six weeks of opioid administration. A significant decrease in the quantitative indicators of enterobacteria was recorded. Thus, the number of *Escherichia coli* colonies was 4.00 ± 0.71 CFU / 0.02 ml, which was 1.7 times less than in intact animals and 7.0 times compared to similar indicators in group 2.

At the same time, a small number of *Escherichia coli* colonies was noted - 3.11 ± 0.93 CFU / 0.02 ml, which was 6.8 times less than in the 2nd group of animals.

However, these enterobacteria, which show signs of pathogenicity, were absent in intact rats. Attention was drawn to the appearance of *Staphylococcus aureus* - a microbial group of coagulase-positive staphylococci - in the amount of 6.00 ± 0.71 CFU / 0.02 ml. This species was not sown in intact animals, and in the group of animals exposed to six weeks of analgesics, their number was greater. Fungal microflora in the amount of 6.00 ± 0.50 CFU / 0.02 ml and single colonies (1-2) of *Klebsiella* were sown on standard nutrient media. Colonies of beta-hemolytic streptococci, bacteroids, and *Pseudomonas aeruginosa* were not sown in this subgroup (Table 1).

Table 1. Species and quantitative composition of the microflora of the cervical part of the teeth and gingival margin of rats at the end of the sixth week of the experiment, under conditions of opioid withdrawal and drug correction (CFU / 0.02 ml).

№	Bacterial groups	Intact group	After 6 weeks of opioid action	2 weeks - opioid, 4 weeks - cancellation	2 weeks - opioid, 4 weeks - cancellation and correction	6 weeks - opioid, 4 weeks - correction
1.	Non-hemolytic streptococci	45.11±5.16	60.67±5.55	60.78±6.72	4.00±0.71	16.11±2.03
2.	Gram-positive non-spore rods	9.00±1.22	18.00±2.45	15.22±4.99	-	-
3.	Gram-positive spores rods	9.00±1.12	19.00±2.65	13.22±2.17	-	-
4.	α -hemolytic streptococci	65.44±4.36	40.56±6.02	65.33±7.57	9.11±1.05	7.00±0.71
5.	Coagulase-negative staphylococci	10.33±3.67	35.78±4.66	61.56±4.07	4.00±0.87	14.11±1.54
6.	Enterococci	18.33±2.96	30.22±6.40	19.22±5.24	21.33±5.85	14.22±1.92
7.	<i>Escherichia coli</i>	7.00±1.50	28.11±2.71	4.00±0.71	9.22±2.22	10.11±2.09
8.	Hemolytic <i>Escherichia coli</i>	-	20.33±5.00	3.11±0.93	-	-
9.	β -hemolytic streptococci	-	27.11±5.93	-	-	-
10.	Coagulase Positive staphylococci	-	16.11±2.03	6.00±0.71	-	-
11.	<i>Klebsiella</i>	-	12.00±1.50	1-2	-	-
12.	Fungal microflora	-	1-2	6.00±0.50	16.33±2.29	14.22±3.07

According to the experimental scheme, animals of group 4 were exposed to opioid for two weeks, followed by withdrawal and drug correction for four weeks, using an 11-day course of ceftriaxone at the end of the experiment. Bacterioscopic smears mainly visualized gram-positive microflora in the form of small clusters or short chains of coccal microorganisms, as well as a small number of epithelial cells with cocci adsorbed on their surfaces. Obligatory anaerobic gram-negative bacteroids were not detected in the field of view.

Bacteriological studies after a course of antibiotic therapy revealed a decrease in the quantitative composition of non-hemolytic streptococci in 11 times compared with intact animals - up to 4.00 ± 0.71 CFU / 002 ml. and, accordingly, 15 times compared to similar animals when opioid was administered for six weeks. Gram-positive non-spore and gram-positive spore bands naturally sensitive to antibiotics were not detected.

Quantitative indicators of opportunistic bacterial species also decreased. Thus, the number of α -hemolytic streptococci decreased 7.2 times compared with the intact group of rats - up to 9.11 ± 1.05 CFU / 002 ml and 4.5 times compared with six weeks of opioid administration. The number of coagulase-negative staphylococci was halved to 4.00 ± 0.87 CFU / 002 ml compared to intact animals and 8.9 times compared to similar animals in opioid administration for six weeks. Significant differences in the quantitative indicators of enterococci (21.33 ± 5.85 CFU / 002 ml.) Compared with the intact group of animals were not detected, however, their number decreased by 1.4 times, compared with the corresponding indicators in animals with six weeks of opioid action. During this period of the study, the quantitative indicators of *Escherichia coli* (9.22 ± 2.22 CFU / 002 ml.) Remained close to the indicators of the intact group of animals, however, decreased by 3.1 times compared with the corresponding indicators in animals with opioids for six weeks. In animals of this subgroup were also sown *Candida albicans* fungal microflora in the amount of 16.33 ± 2.29 CFU / 002 ml. It should be noted that pathogenic bacterial species, such as β -hemolytic streptococci and coagulase-positive staphylococci were eliminated as a result of experimental antibiotic therapy (table 1).

In group 5 animals, in order to study the effectiveness of pathogenetic treatment of cervical and gingival dysbiosis, which developed with prolonged opioid exposure for six weeks, antibacterial therapy with ceftriaxone was used as part of a comprehensive drug correction 32 days at the end of the experiment. Bacterioscopic studies of smears in the study area indicated a decrease in the activity of formation of extracellular structures in the form of a biofilm, the predominance of gram-positive microflora and epitheliocytes with adsorbed coccal microflora.

Bacteriological studies in group 5 of animals showed changes in the species and quantitative composition of the microbiota of this subbiotope of the oral cavity. In particular, the quantitative values of non-hemolytic streptococci decreased 2.8 times - up to 16.11 ± 2.03 CFU / 002 ml compared to the intact group of animals and 3.7 times compared to the group in animals treated with opioids for six weeks without corrective action. Gram-positive non-spore and spore rods that were naturally sensitive to antibiotics were not sown on standard nutrient media (Table 1). The quantitative composition of opportunistic bacterial species also changed significantly. Thus, the number of α -hemolytic streptococci decreased 9.3 times - up to 7.00 ± 0.71 CFU / 002 ml compared with the intact group of animals and 5.8 times compared with those in animals with six weeks of opioid administration without antibiotic therapy. There was a slight increase in the quantitative indicators of coagulase-negative staphylococci - up to 14.11 ± 1.54 CFU / 0.02 ml. compared with intact animals, however, the rates decreased 2.5-fold compared with opioid-treated animals for six weeks without corrective action.

The number of enterococci (14.22 ± 1.92 CFU / 002 ml.) Was slightly reduced compared to the corresponding values in intact animals, and was twice lower than in animals with six weeks of opioid administration without drug correction. The quantitative composition of *Escherichia coli* was 10.11 ± 2.09 CFU / 002 ml, ie did not differ significantly from intact animals, but decreased by 2.8 times compared to animals treated with opioids for six weeks without the use of antibacterial drugs. Under the action of ceftriaxone, hemolytic *Escherichia coli* was eliminated at the sixth week, but the fungal microflora remained in the amount of 14.22 ± 3.07 CFU / 002 ml. In almost all cases, under the conditions of antibiotic administration, at the end of the experiment there were signs of significant restriction of pathogenic bacterial groups, in particular, no β -hemolytic streptococci and coagulase-positive staphylococci were sown (Table 1).

Conclusions. 1. Detected changes in the microbiome under the action of opioids for two weeks and its four-week withdrawal indicated a violation of microbiocenoses in the neck region in the gingival margin and as a consequence - a probable violation of protective antimicrobial factors of the oral cavity of animals.

2. In animals exposed to nalbuphine for two weeks, followed by discontinuation and administration of ceftriaxone antibacterial therapy, there were signs of elimination or reduction in the quantitative composition of bacterial species that are potentially etiological agents of inflammatory processes.

3. With the introduction of ceftriaxone on the background of opioid activity for six weeks eliminated bacterial species that are likely to cause inflammation, and the number of other indicator species decreased, indicating the normalization of microbiocenoses of the studied biotope compared with animals correction under such conditions.

REFERENCES

1. Горобец С.М. Стоматологические аспекты проявления нежелательных лекарственных реакций / С.М. Горобец, И.Г. Романенко, А.А. Джерелей, С.А. Бобкова, Д.Ю. Крючков, О.В. Горобец // Таврический медико-биологический вестник. 2018; 3(21): 166-174.
2. Евстратенко В.В. Стоматологический статус у наркозависимых пациентов, принимающих героин и метадон [диссертация]. Москва: Первый Моск. гос. мед. ун-т; 2018. 127 с.
3. Ісакова Н. М. Вплив дентальної вкладки на стан мікрофлори пародонтальних кишень у пацієнтів з генералізованим пародонтитом / Н.М. Ісакова, П.А. Ісаков, О.С. Киніна, Т.Р. Закалата // Вісник морфології. 2016; 2(22): 332-335.
4. Кривенко Л.С. Гінгівіт у дітей з atopічними захворюваннями (клініка, діагностика, профілактика та лікування) [автореферат]. Харків: Харківський національний медичний університет; 2018. 36 с.
5. Мельник А.Л. Интегральная характеристика инфекційно-запальних захворювань порожнини рота / А.Л. Мельник, І.М. Довга, Г.Є. Христян, О.О. Радченко, І.В. Поволокіна, В.В. Казмірчук // Клінічна та експериментальна патологія. 2015; 1 (XIV): 215-220.
6. Токмакова С.И., Луницына Ю.В. Особенности стоматологического статуса больных опийной наркоманией / С.И. Токмакова, Ю.В. Луницына // Дальневосточный медицинский журнал. 2014; 1: 130-135.
7. Фік В.Б. Аналіз антибіотикочутливості ізолятів бактерій, виділених у діялці пришийкової частини зубів та ясенного краю наприкінці шостого і десятого тижнів опіоїдного впливу / В.Б. Фік, Й.М. Федечко, Є.В. Пальтов, Ю.Я. Кривко // Вісник проблем біології та медицини. 2020; 3(157): 213-216.
8. Шнайдер С.А. Патогенетичні механізми радіаційно-індукованого патоморфозу хронічного пародонтиту [автореферат]. Одеса: Одес. нац. мед. ун-т; 2012. 32 с.
9. Bogacz M. Evaluation of Drug Susceptibility of Microorganisms in Odontogenic Inflammations and Dental Surgery Procedures Performed on an Outpatient Basis / M. Bogacz, T. Morawiec, J. Smieszek-Wilczewska, K. Janowska-Bogacz, A. Bubilek-Bogacz, R. Roj, K. Pinocy, A. Mertas // BioMed Res Int. 2019; 3:1-12.
10. Dutra K.L. Incidence of reactive hyperplastic lesions in the oral cavity: a 10 year retrospective study in Santa Catarina, Brazil / K.L. Dutra, L. Longo, L.G. Grando, E.R. Rivero // Braz J Otorhinolaryngol. 2018; 85(4): 399-407.
11. Hasturk H. Activation and resolution of periodontal inflammation and its systemic impact / H. Hasturk, A. Kantarci // Periodontol 2000. 2015; 69(1): 255–273.
12. Miech R., Johnston L., O'Malley P.M., Keyes K.M., Heard K. Prescription opioids in adolescence and future opioid misuse / R. Miech, L. Johnston, P.M. O'Malley, K.M. Keyes, K. Heard // Pediatrics 2015;136:e1169–177.
13. Shah A., Hayes C.J., Martin B.C. Characteristics of initial prescription episodes and likelihood of long-term opioid use—United States, 2006–2015 / A. Shah, C.J. Hayes, B. C. Martin // MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2017;66:265–269.
14. Venkatasubramanyam A. Local Drug Delivery in Periodontics- A review / A. Venkatasubramanyam, D. Chakravarty // International Journal of Medical and Biomedical Studies // 2018; 6 (2): 1-6.

CHEMISTRY

**ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ
ОТРИМАННЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ
РЕЧОВИН**

*О. В. Османова, кафедра Безпека праці та навколишнього середовища, Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», Харків, Україна,
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2572-5900>*

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7298

ARTICLE INFO

Received 10 October 2020
Accepted 26 November 2020
Published 30 December 2020

KEYWORDS

surfactants,
enzymatic esterification,
lipase,
non-aqueous medium,
sugar fatty acid esters.

ABSTRACT

Surfactants are used in various industries: in foods, pharmaceuticals, textiles, personal care products, detergents, polymers, paints and coatings, etc. Scientific researches of technological and ecological aspects of surfactants (sugars fatty acids esters) production are carried out. Traditionally, sugars fatty acids esters are synthesized by chemical methods (using high temperature and pressure, in the presence of basic or acid catalysts and organic solvents). Replacing chemical catalysts with enzymes is an example of “green” production. Various approaches to the use of a non-aqueous medium for biocatalytic esterification are reviews. The most ecological approach is determined – esterification in a solvent-free environment, which ensures improved enzyme activity retention, the absence of costs associated with solvent usage and recovery, facilitates further product purification, reduces the impact on the environment, increases safety in the workplace.

Citation: Osmanova O. V. (2020) Technological and Ecological Aspects of Surfactants Production. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7298

Copyright: © 2020 Osmanova O. V. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Вступ. Поверхнево-активні речовини – хімічні продукти, що споживаються у великій кількості у світовому масштабі. Поверхнево-активні речовини використовуються в різних галузях промисловості: в харчовій, фармацевтичній, текстильній, у виробництві засобів особистої гігієни, миючих засобів, полімерів, фарб та покриттів та інші. На відміну від мила та миючих засобів, виготовлених до початку ХХ століття, більшість з яких виготовлялися з тваринних жирів або рослинних олій, поверхнево-активні речовини, вироблені протягом останніх ста років, все більше залежать від нафти.

З тих пір, як стало відомо, що поверхнево-активні речовини можуть несприятливо впливати на водне докільля, здатність ПАР до біологічного розкладання та біологічна сумісність стали такими ж важливими для споживача, як і їх функціональні властивості [1-2].

Останнім часом у екологів та науковців викликає стурбованість довгострокова екологічна стійкість ПАР на основі викопних видів палива, що призводить до відновлення інтересу до біологічної сировини. Джерелом біологічної сировини, який найчастіше використовується для виготовлення поверхнево-активних речовин, є жирна ацильна група, отримана з рослинних олій. Гідрофільна частина поверхнево-активних речовин також може бути отримана з поновлюваних джерел, таких як цукри, гліцерин, амінокислоти та їх похідні.

Мета роботи. Проведення аналітичного огляду способів отримання поверхнево-активних речовин – складних ефірів жирних кислот й цукрів. Визначення найбільш екологічного й технологічно обґрунтованого підходу для отримання жирнокислотних ефірів цукрів.

Аналіз основних досягнень і літератури. Поверхнево-активні речовини традиційно виготовляють за допомогою хімічних процесів, які споживають велику кількість енергії, наприклад, при температурах, що перевищують 100 °С, вимагають високої кислотності або лужності реакційного середовища або використання органічних розчинників. Заміна хімічних процесів на ферментні, є прикладом "зеленого виробництва".

Використання ферментних каталізаторів має ряд переваг у порівнянні з хімічними:

-знижується температура процесів, (більш низьке енергоспоживання, що призводить до зниження викидів CO₂ та інших парникових газів в навколишнє середовище),

-зменшується кількість відходів виробництва та побічних продуктів, відсутні токсичні металічні каталізатори, кислоти та луки (підвищується безпека на робочому місці та у навколишньому середовищі).

Більш низькі температури знижують небажані побічні реакції, такі як деградація подвійних зв'язків у ненасичених ацильних групах. Заміна металевих, кислотних або лужних каталізаторів на ферментні зменшує викид важких металів і інших потенційно шкідливих речовин у навколишнє середовище, а також їх вміст у кінцевому продукті. Крім того, через високу селективність біокаталізаторів розподіл продуктів часто звужується порівняно з хімічними синтезами. При використанні стехіометричних пропорцій субстратів у ферментативних процесах зменшується кількість невикористаних субстратів у кінцевому продукті, таким чином зменшується навантаження для очищення [3].

До недоліків ферментного отримання поверхнево-активних речовин можна віднести наступні: висока вартість ферментів, низька швидкість реакції, необхідність використання високо очищених вихідних матеріалів, обмеження операційних умов, а саме температурного інтервалу та значення рН. Ці недоліки стримують сучасне використання ферментних процесів, оскільки вони вимагають попередніх процесів очищення та створюють обмеження робочих умов (температура нижче 100 °С, щоб уникнути денатурації ферментів). Нові досягнення в галузі ензимології, такі як розробка технології іммобілізації ферментів, отримання більш активних та стабільних ферментних препаратів дозволяють збільшити термін їх використання і зробити ферментативні технології більш привабливими і перспективними [3].

Ефіри цукрів та жирних кислот виробляються з відновлюваних ресурсів, таких як цукри та жирні кислоти. Вони біологічно розкладаються, не мають запаху, не токсичні, не викликають подразнення, знайдено їх широке застосування в харчовій, косметичній та фармацевтичній галузях. Складні ефіри цукрів та жирних кислот можуть бути синтезовані шляхом етерифікації жирними кислотами або переетерифікації з карбоновими ефірами у неводних середовищах для запобігання можливого гідролізу ефірного продукту.

Традиційно ефіри цукрів й жирних кислот синтезуються хімічними методами в екстремальних умовах (з застосуванням високої температури й тиску, у присутності лужних або кислотних каталізаторів [4-5]). Так, синтез складних ефірів сорбітану та жирних кислот включає двостадійний процес, що складається з дегідратації сорбітану в присутності NaH₂PO₃ при 150-200 °С, а потім в присутності каталізатора карбонату натрію етерифікація жирними кислотами при 200-250 °С [6]. Ефіри сахарози синтезують у присутності каталізатора карбонату калію переетерифікацією з метиловим ефіром жирної кислоти в диметилформаміді при 90 °С [6-7].

Для отримання ефірів цукрів й жирних кислот з використанням ферментних препаратів в лабораторному масштабі у неводних середовищах автори застосовували органічні розчинники, надкритичний діоксин вуглецю, іонні рідини, евтектичні суміші та середовища, що не містять розчинників. Ферменти каталізують реакції в неводному середовищі за м'яких умов, дозволяють отримати вузький розподіл продуктів при порівняно високих швидкостях реакції [8]. Розчинники зазвичай використовують для ферментного синтезу ефірів цукрів й жирних кислот у лабораторних масштабах, щоб допомогти солюбілізувати реакційну суміш. Тип розчинника чинить різний вплив на ферментну реакцію. В літературі багато прикладів порівняння використання різних типів розчинників (ацетон, діоксан, 2-метил-2-бутанол, етилметилкетон, тетрагідрофуран, ацетонітріл, гептан, толуол та інші) та джерел ліполітичних ферментів для оптимізації швидкості реакції та виходу ефірів [9-17].

Синтез моно- та діефірів трегалози каприлової, лауринової та пальмітинової кислот каталізували ліпазою Fermase CALB™ 10000. Активність ферменту сильно залежить від природи розчинника. Більшість ферментів демонструють кращу стабільність у неполярних

розчинниках а отже, і високу активність. Однак неполярні розчинники не є кращим реакційним середовищем для етерифікації через низьку розчинність полярних сполук, таких як дисахариди. Отже, відповідний розчинник дав би кращий вихід цукрового ефіру, демонструючи кращу розчинність дисахариду та / або демонструючи кращу стабільність ферменту. Оскільки етерифікація є реакцією дегідратації, реакційне середовище для опосередкованого ліпазою синтезу ефірів жирних кислот має бути неводним. Ідеальним розчинником для синтезу ефірів цукрових жирних кислот буде той, який показує максимальну розчинність обох реагентів і не перешкоджає активності ферментів. Серед досліджуваних розчинників лише ацетон показав перетворення трегалози в складні ефіри жирних кислот. Жоден з інших розчинників не виявив ніякої етерифікації. Синтез моно- та діефірів трегалози був успішно проведений в ацетоні з використанням дигідрату трегалози та пальмітинової кислоти. Оптимізоване молярне перетворення 35% трегалози в її складні ефіри пальмітату було отримано в ацетоні при 60 °C з молярним співвідношенням трегалоза: пальмітинова кислота 1: 5 за 4 год. [18].

Дві іммобілізовані ліпази з *Candida antarctica* (SP 382) і *C. cylindracea* були використані для синтезу нових ацетильованих ефірів жирних кислот та глюкози з пентаацетатом глюкози та рослинним маслом (80 % олеїну) як субстратами в органічних розчинниках. Відносний вихід продуктів реакції склав 6,4–52 %, а включення олеїнової кислоти в глюкозу становила 31–100 %. Крім того, ці два фермента змогли каталізувати синтез складних ефірів жирних кислот і глюкози з вільною глюкозою як субстратом. [19].

Walsh M.K. порівнював різні ліпази (з *Pseudomonas cepacia*, *R. miehei*, *Candida antarctica* і *Thermomyces lanuginosus*) та розчинники (2-метил-2-бутанол, ацетон і метилетилкетон) у ферментному синтезі монолаурату лактози та монолаурату сахарози. Оптимальні умови синтезу спостерігались при використанні 2-метил-2-бутанолу та ліпази *R. miehei* (*Lipozyme IM*, *Novozymes*) при 61°C, при початковому мольному співвідношенню вініллаурат : лактоза 3,8:1, з виходом 99,3 % [9].

В роботі Sabeder S. M. та ін. досліджено вплив органічних розчинників (2-метил-2-бутанол, третбутанол, ацетона, метилетилкетона) на синтез пальмітату фруктози. Ступінь перетворення 82 % було отримано для метилетилкетона за 72 години при 40 °C з використанням 10 % масових молекулярних сит для видалення реакційної води. Іммобілізовані препарати ліпази *Candida antarctica* B (SP 435 та SP 382 від *Novozymes*) успішно каталізували етерифікацію фруктози та пальмітинової кислоти з отриманням 53 % та 44 % пальмітату фруктози в 2-метил-2-бутанолі при 40°C, швидкості перемішування 600 об/хв з додаванням молекулярних сит [20]. Ефіри лактози жирних кислот були ферментативно синтезовані з жирних кислот та лактози з використанням ліпази *Candida antarctica* B (CALB) в органічних розчинниках. Результати показали, що гексан та ацетонітрил забезпечують найвищі показники перетворення як вільних, так і іммобілізованих ліпаз, до 77% та 93% відповідно. Швидкість перетворення етерифікації залежить від розчинника для вільної ліпази; ступінь перетворення іммобілізованої ліпази демонструє залежність від розчинника, але в меншій мірі [21].

Висока активність ферментів та стабільність досягається при використанні неполярних розчинників, які також придатні для ферментної переетерифікації олій та жирів [22], однак розчинність цукрів у них дуже низька. Існує обмежена кількість органічних розчинників, що можуть бути ефективно використані для синтезу складних ефірів цукрів та жирних кислот: трет-бутанол, трет-пентанол, ацетон і тетрагідрофуран. Більш полярні розчинники, незважаючи на їх здатність сольобілізувати цукри, працюють погано, оскільки призводять до втрати ферментної активності завдяки здатності видаляти молекули води з мікросередовища ферменту, та сприяють гідролізу ефірних продуктів і утворенню побічних продуктів, зменшують вихід цільового продукту [23-24]. Окрім поліпшення сольобілізації і відсутності інактивації ферменту, ідеальне органічне середовище повинно бути екологічно чистим і легко відновлюватися і перероблятися після завершення реакції [25-26]. Серед розчинників середньої полярності, які найкраще підходять для ферментної етерифікації цукрів жирними кислотами, ацетон найбільш відповідає умовам ідеального розчинника [27]. Корисними для синтезу були системи розчинників, що поєднують два або більше органічних розчинників. Бінарна система розчинників 2-метил-2 бутанол: диметилсульфоксид (4:1) була використана для етерифікації глюкози, сахарози та мальтози в присутності ліпази з *Candida antarctica* і *Thermomyces lanuginosus* шляхом поєднання невеликої частки розчинника, що значно покращує

солубілізацію ефірів (диметилсульфоксид) з більшою часткою розчинника, що дозволяє зберегти високу активність ферментів, але погано солубілізує акцептор ацилу (2-метил-2-бутанол). За допомогою такого підходу вихід монолаурату сахарози становить більше 80 % [28]. Хоча використання органічних розчинників у ферментному синтезі має певне значення, існує декілька недоліків для їх широкомасштабного впровадження у промислового синтезі, такі як втрата активності ферментів, яку вони часто спричиняють, турбота про вплив на екологію та особисту безпеку. Таким чином, необхідно вести пошуки альтернативних підходів.

Інший підхід, винайдений для ферментного синтезу складних ефірів цукрів та жирних кислот, полягає у використанні переважно твердофазної системи, що складається з цукрів, жирної кислоти та продукту реакції у присутності невеликої кількості органічного розчинника, наприклад, трет-бутанолу або ацетону [29]. Порівняно з реакціями в середовищі органічного розчинника початкова швидкість реакції та загальна продуктивність реакції в твердій фазі часто вища в кілька разів [11]. Успіх такого підходу можна пояснити твердофазною підкладкою, що діє як «резервуар» для поповнення рідкофазного субстрату, що перетворюється у продукт. Крім того, осадження продукту спрощує подальше очищення продукту і може посилити вибірковість продукту. Наприклад, монофір сахарози та жирної кислоти, утворений у твердофазному середовищі, легко випадає в осад, зменшуючи здатність ліпази каталізувати утворення диефірів. Евтектична суміш, що складається з твердої та рідкої фази, забезпечує спосіб, при якому зменшується температура плавлення суміші. Органічний розчинник зазвичай зменшує температуру плавлення, що призводить до евтектичної суміші при кімнатній температурі або нижче [29]. Евтектична суміш містить переважно молекули субстрату і невелику кількість органічного розчинника. Евтектичні середовища демонструють стабільну біокаталітичну рідку фазу з надзвичайно високою концентрацією субстратів. Найнижча температура плавлення називається евтектичною точкою, яку можна визначити за певним складом суміші. Завдяки використанню невеликої кількості органічних розчинників у евтектичному середовищі, їх можна вважати більш біосумісними та сприятливими для ферментних реакцій, ніж у чистому органічному розчиннику [30-31]. В результаті ацилювання β -D-глюкози пальмітиновою кислотою у трет-бутанолі у присутності ліпази з *Candida antarctica* В у твердофазній системі був синтезований ефір з високою селективністю (98 % моноацилювання). Селективність в ацилюванні суттєво пов'язані з типом органічного розчинника. Моноацилювання відбувалось в присутності менш гідрофобного розчинника, наприклад, трет-бутанолу [32]. Хоча синтез ефірів жирних кислот в твердофазній системі демонструє високу швидкість реакції, кількісний вихід ефірів цукрів та жирних кислот, високу селективність реакції, він є реакцією на основі органічних розчинників, що веде до збільшення вартості процесу та негативно позначається на безперервності процесу.

Надкритичний вуглекислий газ – привабливе альтернативне середовище для синтезу ефірів цукрів і жирних кислот. Він має ряд переваг у порівнянні з органічними розчинниками як реакційне середовище через відсутність токсичності, негорючість порівняно з традиційними підходами хімічного синтезу. Робочий стан: температура більше 31°C, тиск більш 7,3 МПа. Потужність розчинника надкритичного CO₂ контролюється за допомогою регулювання температури та тиску. Простий процес відновлення продуктів і частинок ферментного препарату з реакції представляє додаткову перевагу [33]. Експерименти демонструють задовільну стабільність ферментів у надкритичному CO₂ у порівнянні зі стабільністю ферментів в органічних розчинниках [34]. Створено пристрій з перемішуванням для етерифікації фруктози пальмітиновою кислотою з каталізатором ліпазою *Candida antarctica* В (Новозим 435) в надкритичному діоксиді вуглецю. Було отримано ступінь перетворення 60 % при 60°C та 10 МПа за 24 години [35]. Хоча надкритичний вуглекислий газ є корисною та перспективною заміною органічних розчинників у синтезі складних ефірів цукрів та жирних кислот, існують два основних недоліки, які необхідно подолати при використанні такого реакційного середовища: низька розчинність неполярних сполук та великі капітальні затрати та експлуатаційні витрати [36].

Іонні рідини, що складаються з органічних солей, які знаходяться в рідкій фазі при температурі навколишнього середовища, представляють унікальний клас неводних та полярних середовищ розчинників, що привертають все більше уваги в органічному синтезі через відсутність тиску парів та відмінну хімічну та термічну стабільність [36-38]. Через низькі температури плавлення та нелетучу природу іонні рідини, які називаються «зеленими» розчинниками, є привабливою альтернативою летким органічним розчинникам [39]. Крім того,

їх широко регульовані властивості щодо полярності, гідрофобності, характеру змішуваності можна змінити, вибравши хімічну структуру їх катіонних та аніонних фрагментів [40]. Для більшості неводних досліджень в ензимології відносно неполярні іонні рідини, такі як 1-бутил-3-метил імідазолій гексафторфосфат або 1-бутил-3-метил імідазолій тетрафторборат ([Bmim][PF₆], [Bmim][BF₄] відповідно) можуть бути використані як замітники органічних розчинників. Було досліджено, що ліпаза В *Candida antarctica* та термолізін не виявляють різниці в стабільності та селективності в іонних рідинах порівняно з гексаном, тетрагідрофураном та ацетонітрилом у біокаталітичних реакціях [38, 41]. Було виявлено, що ліпаза В *Candida antarctica*, модифікована ковалентним приєднанням поліетиленгліколю, каталізувала етерифікацію глюкози та жирних кислот у чистому [Bmim][BF₄] та [Bmim][PF₆] зі ступенем перетворення 30 % та 35 % відповідно. Хоча ступінь перетворення 30 % та 35 % є низьким, додавання трет-бутанолу до іонних рідин з утворенням двофазної системи, збільшило ступінь перетворення до 89 % [42]. Селективний каталізований ліпазою синтез ефірів глюкози жирних кислот у двофазних системах, що складаються з іонної рідини (1-бутил-3-метилімідазолій тетрафторборат [BMIM] [BF₄] або 1-бутил-3-метил імідазолій гексафторфосфат [BMIM] [PF₆]) та т-бутанол як органічний розчинник. Найкращим ферментом була комерційно доступна ліпаза В з *Candida antarctica*. Після ретельної оптимізації кількох умов реакції (довжина ланцюга та тип донора ацилу, температура, час реакції, відсоток співрозчинника) можна досягти перетворень до 60%, використовуючи вініловий ефір жирних кислот як донорів ацилу в [BMIM] [PF₆] у присутності 40% t-BuOH з CAL-B при 60°C [24]. Lee S.H. та співавтори досліджували етерифікацію перенасиченого розчину D-глюкози в іонних рідинах, що каталізується ліпазою. Отримано вихід монофіру (6-О-лауроїл- D-глюкози) 96 %. Високу початкову швидкість у [Bmim] [TfO] було досягнуто при застосуванні перенасиченого розчину глюкози у іонній рідині. Ці результати вказують на корисність перенасичених розчинів для ферментної етерифікації цукрів з жирними кислотами [43].

Реакційне середовище, що не містить розчинника, бажано для синтезу складних ефірів цукрів та жирних кислот, що каталізуються ліпазою завдяки низькій вартості, підвищеній безпеці експлуатації та покращеній біосумісності для застосування в харчовій, косметичній, фармацевтичній галузях [44-45].

Ефіри цукрів та жирних кислот були синтезовані при молярному співвідношенні ацильної групи жирних кислот до акцептора ацилу цукру 1:1 та 2:1 при зниженому тиску для видалення побічних продуктів (води або метанолу, що утворюються при використанні вільної жирної кислоти або метилового ефіру жирної кислоти як донора ацилу відповідно) [46]. Складні ефіри технічного класу олеїнової кислоти та сахарози та фруктози були синтезовані біокаталітично без розчинника при 65°C без подальшого очищення. Для збільшення ступеня перетворення олеату сахарози та фруктози, отриманого раніше біокаталітичною етерифікацією без розчинника у присутності ліпази *Rhizomucor miehei* (з виходом 81 % та 83 % відповідно), умови ферментативної реакції продовжували у присутності сульфату кальцію і ліпази В *Candida antarctica* з гідрофобною матрицею для забезпечення низької водної активності, та з гомогенізацією під високим тиском для утворення метастабільної суспензії сахаридних частинок розміром 2,0-3,3 мкм у рідкофазному реакційному середовищі. Це призвело до збільшення вмісту складних ефірів сахарози і фруктози до 89 % та 96 % відповідно. Це дослідження демонструє важливість контролю активності води біокаталізаторів для досягнення високого ступеня перетворення [47].

Для застосування посиленої змішуваності в синтезі ефірних продуктів цукрів D.G. Hayes та його колеги розробили системи біореакторів для етерифікації жирних кислот та цукрів, каталізованих ліпазою у середовищі без розчинників при температурі 65 °C [48-49]. Високий вихід (85%) був досягнутий при використанні біореактора з упакованим шаром з безперервною рециркуляцією.

Висновки. Розробка нових екологічно чистих поверхнево-активних речовин залишається актуальним питанням. Отримання складних ефірів жирних кислот й цукрів біокаталітичною етерифікацією за допомогою ліпаз призводить до зменшення споживання розчинників, зниження температури та зниження відходів. Більш екологічний підхід у середовищі без використання розчинника забезпечує збереження активності ферментів, мінімальні вимоги до подальшого очищення, відсутність витрат, пов'язаних з використанням та відновленням розчинника.

REFERENCES

1. Infante, M.R., Perez L., Pinazo A. (2004), "Amino acid-based surfactants", *Comptes Rendus Chimie*, 7, 583–592.
2. Clapés, P., Infante, M. R. (2002), "Amino Acid-based Surfactants: Enzymatic Synthesis, Properties and Potential Applications", *Biocatalysis and Biotransformation*, 20 (4), 215-233.
3. Hayes D. G. (2012), "Using enzymes to prepare biobased surfactants". Retrieved from <https://www.aocs.org/stay-informed/inform-magazine/featured-articles/using-enzymes-to-prepare-biobased-surfactants-july/august-2012>
4. Feuge, R.O., Zerinque, H.J., Weiss, T.J., Brown, M. (1970), "Preparation of Sucrose Esters by Interesterification", *Journal of the American Oil Chemists Society*, 47 (2), 56-60.
5. Cauglia, F., Canepa, P. (2008), "The enzymatic synthesis of glucosylmyristate as a reaction model for general considerations on 'sugar esters' production", *Bioresource Technology*, 99 (10), 4065-4072.
6. Hill, K., Rhode O. (1999), "Sugar-based surfactants for consumer products and technical applications", *Fett-Lipid*, 101 (1), 25-33.
7. Polat, T. and Linhardt R.J. (2001), "Synthesis and applications of sucrose-based esters", *Journal of Surfactants and Detergents*, 4, 415-421.
8. Lee, M.Y. and Dordick, J.S. (2002), "Enzyme activation for nonaqueous media", *Current Opinion in Biotechnology*, 13 (4), 376-384.
9. Walsh, M.K., et al. (2009), "Synthesis of lactose monolaurate as influenced by various lipases and solvents", *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 60 (3- 4), 171-177.
10. Arcos, J.A., Bernabe, M., Otero, C. (1998), "Quantitative enzymatic production of 6- O-acylglucose esters", *Biotechnology and Bioengineering*, 57 (5), 505- 509.
11. Cao, L.Q., et al. (1997), "Lipase-catalyzed solid phase synthesis of sugar fatty acid esters", *Biocatalysis and Biotransformation*, 14 (4), 269-283.
12. Khaled, N., et al. (1991), "Fructose Oleate Synthesis in a Fixed Catalyst Bed Reactor", *Biotechnology Letters*, 13(3), 167-172
13. Ward, O.P., Fang, J.W., Li, Z.Y. (1997), "Lipase-catalyzed synthesis of a sugar ester containing arachidonic acid", *Enzyme and Microbial Technology*, 20 (1), 52-56.
14. Oguntimein, G.B., Erdmann, H., Schmid, R.D. (1993), "Lipase Catalyzed Synthesis of Sugar Ester in Organic-Solvents", *Biotechnology Letters*, 15 (2), 175- 180.
15. Yadav, G.D. and Lathi, P.S. (2005), "Lipase catalyzed transesterification of methyl acetoacetate with n-butanol", *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 32 (3), 107-113.
16. Xiaoming, Z., et al. (2002), "Lipase-catalyzed synthesis of 6-O-vinylacetyl glucose in acetonitrile", *Biotechnology Letters*, 24 (13), 1097- 1100.
17. Ren, K., Lamsal, B. P. (2017), "Synthesis of some glucose-fatty acid esters by lipase from *Candida Antarctica* and their emulsion functions", *Food Chemistry*, 214(1), 556-563.
18. Marathe, S.J., Shah, N.N., Singhal, R.S. (2020), "Enzymatic synthesis of fatty acid esters of trehalose: Process optimization, characterization of the esters and evaluation of their bioactivities", *Bioorganic Chemistry*, 94, 103460.
19. Akoh, C.C. (1994), "Enzymatic synthesis of acetylated glucose fatty acid esters in organic solvent", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, 319–323.
20. Sabeder, S., Habulin, M., Knez, Z. (2006), "Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid fructose esters", *Journal of Food Engineering*, 77(4), 880-886.
21. Yijing, M., Gong, Y., Goddard, J.M., Abbaspourrad, F. (2018), "Synthesis and characterization of lactose fatty acid ester biosurfactants using free and immobilized lipases in organic solvents", *Food Chemistry*, 266 (15), 508-513.
22. Carrea, G., Ottolina, G., Riva, S. (1995), "Role of Solvents in the Control of Enzyme Selectivity in Organic Media", *Trends in Biotechnology*, 13 (2), 63-70.
23. Hayes, D.G. (2004), "Enzyme-catalyzed modification of oilseed materials to produce eco-friendly products", *Journal of the American Oil Chemists Society*, 81 (12), 1077-1103.
24. Ganske, F., Bornscheuer, U.T. (2005), "Optimization of lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in a two-phase system containing ionic liquids and t-BuOH", *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 36 (1-6), 40-42.
25. Villeneuve, P. (2007), "Lipases in lipophilization reactions", *Biotechnology Advances*, 25 (6), 515-536.
26. Chang, S.W., Shaw, J.F. (2009), "Biocatalysis for the production of carbohydrate esters", *New Biotechnology*, 26 (3-4), 109-116.
27. Degn, P. and Zimmermann, W. (2001), "Optimization of carbohydrate fatty acid ester synthesis in organic media by a lipase from *Candida Antarctica*", *Biotechnology and Bioengineering*, 74 (6), 483-491.
28. Ferrer, M., et al. (2005), "Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties", *Enzyme and Microbial Technology*, 36 (4), 391-398.
29. Gill, I., Vulfson, E. (1994), "Enzymatic Catalysis in Heterogeneous Eutectic Mixtures of Substrates", *Trends in Biotechnology*, 12 (4), 118-122.

30. Gill, I., Vulfson, E.N. (1993), "Enzymatic-Synthesis of Short Peptides in Heterogeneous Mixtures of Substrates", *Journal of the American Chemical Society*, 115 (8), 3348-3349.
31. Cao, L.Q., Bornscheuer, U.T., Schmid, R.D. (1996), "Lipase-catalyzed solid phase synthesis of sugar esters", *Fett-Lipid*, 98 (10), 332-335.
32. Cao, L.Q., Bornscheuer, U.T., Schmid, R.D. (1999), "Lipase-catalyzed solid-phase synthesis of sugar esters. Influence of immobilization on productivity and stability of the enzyme", *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 6 (3), 279-285.
33. Sabeder, S., Habulin, M., Knez, Z. (2005), "Comparison of the esterification of fructose and palmitic acid in organic solvent and in supercritical carbon dioxide", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 44 (25), 9631- 9635.
34. Tai, H.P., Brunner, G. (2009), "Sugar fatty acid ester synthesis in high-pressure acetone-CO₂ system", *Journal of Supercritical Fluids*, 48 (1), 36-40.
35. Tsitsimpikou, C., et al. (1998), "Acylation of glucose catalysed by lipases in supercritical carbon dioxide", *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 71 (4), 309-314.
36. Kragl, U., Eckstein, M., Kaftzik, N. (2002), "Enzyme catalysis in ionic liquids", *Current Opinion in Biotechnology*, 13 (6), 565-571.
37. van Rantwijk, F., Lau, R.M., Sheldon, R.A. (2003), "Biocatalytic transformations in ionic liquids", *Trends in Biotechnology*, 21 (3), 131-138.
38. Park, S., Kazlauskas, R.J. (2003), "Biocatalysis in ionic liquids - advantages beyond green technology", *Current Opinion in Biotechnology*, 14 (4), 432-437.
39. Sureshkumar, M., Lee, C.K. (2009), "Biocatalytic reactions in hydrophobic ionic liquids", *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, 60 (1-2), 1-12.
40. Gangu, S.A., Weatherley, L.R., Scurto, A.M. (2009), "Whole-Cell Biocatalysis with Ionic Liquids", *Current Organic Chemistry*, 13 (13), 1242-1258.
41. Kaar., J.L. (2003), "Impact of Ionic Liquid Physical Properties on Lipase Activity and Stability". *Journal of the American Chemical Society*, 125 (14), 4125- 4131.
42. Ganske, F. Bornscheuer, U.T. (2005), "Lipase-catalyzed glucose fatty acid ester synthesis in ionic liquids", *Organic Letters*, 7 (14), 3097-3098.
43. Ye, Ran (2011), "Bioreactor system design for lipase-catalyzed synthesis of saccharide-fatty acid esters in solvent-free media".
44. Foresti, M.L., et al. (2007), "Multiple effects of water on solvent-free enzymatic esterifications", *Enzyme and Microbial Technology*. 41 (1-2). 62-70.
45. Ogawa, S., Endo, A., Kitahara, N., et al. (2019), "Factors determining the reaction temperature of the solvent-free enzymatic synthesis of trehalose esters", *Carbohydrate Research*, 482 (8), 107-139.
46. Fregapane, G., Sarney, D.B., Vulfson, E.N. (1991), "Enzymatic Solvent-Free Synthesis of Sugar Acetal Fatty-Acid Esters", *Enzyme and Microbial Technology*, 13 (10). 796-800.
47. Ye, Ran, Hayes, D.G., Burton, R., Liu, A. (2016), "Solvent-Free Lipase-Catalyzed Synthesis of Technical-Grade Sugar Esters and Evaluation of Their Physicochemical and Bioactive Properties", *Catalysts*, 6 (6), 78-82.
48. Pyo, S.H., Hayes, D.G. (2008), "Desorption of Fructose from a Packed Column to an Oleic Acid/Fructose Oleate Mixture for Employment in a Bioreactor System", *Journal of the American Oil Chemists Society*, 85 (11), 1033-1040.
49. Pyo, S.H., Hayes, D.G. (2009), "Designs of Bioreactor Systems for Solvent-Free Lipase-Catalyzed Synthesis of Fructose-Oleic Acid Esters", *Journal of the American Oil Chemists Society*, 86 (6), 521-529.

TOURISM AND RECREATION

SOME VISUAL CHARACTERISTICS OF FOREST LANDSCAPES ALONG THE TOURIST ROUTES

Emil Galev, PhD, Professor, Head of the Department of Landscape architecture, University of Forestry, Sofia, Bulgaria, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2284-4488>,

Fedir Markov, PhD, Associate Professor, Department of Forest Valuation and Forest Management, Faculty of Forestry, National Agroecological University, Zhytomyr, Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6482-8558>

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr/30122020/7321

ARTICLE INFO

Received 05 November 2020
Accepted 19 December 2020
Published 30 December 2020

KEYWORDS

visual features, open spaces, dynamics, eco-trails, forest landscapes.

ABSTRACT

This article discusses some visual landscape characteristics and illustrates several specific examples of changes occurring in the appearance of forest landscapes located along the trails of our popular mountain resorts or eco-trails in Bulgarian natural phenomena. This allows you to get a real idea of the dynamics of the landscape along the alleys or paths in the forests and meadows along the tourist routes in Bulgaria. This study may help to clarify many issues on the design of eco-trails, criteria and standards for their construction and their maintenance responsibilities. Bulgarian tourists and nature lovers themselves have created some of the most remarkable of them, surrounded by beautiful scenery of mountains, waterfalls, forests, cliffs and gorges. Landscape architects here are debtors of the society in this regard remain static observers of tourism issues. Bulgarian ecological trails are designed to facilitate the access of tourists to countless landmarks. These tourist routes allow for summer and winter trekking and walking, and are an excellent idea for a holiday weekend.

Citation: Emil Galev, Fedir Markov. (2020) Some Visual Characteristics of Forest Landscapes Along the Tourist Routes. *Science Review*. 8(35). doi: 10.31435/rsglobal_sr/30122020/7321

Copyright: © 2020 **Emil Galev, Fedir Markov**. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Введение. Выбор асфальтированных дорог и автомобилей, или же прогулки по велосипедным дорожкам и лесным тропинкам зависит от вкуса и способностей туристов. В любом случае ответ на вопрос, насколько привлекателен пейзаж, зависит от уровней живописности ландшафтов, составляющих его, и основан на наборе критериев, используемых при интерпретации визуальных характеристик. Это создает живописную привлекательность ландшафта.

Анализируя человеческое восприятие, ученые из различных областей знаний пришли к интересным выводам. Анализы показывают, что человек воспринимает окружающую среду как минимум через вкус - 1%, почти столько же через осязание - 1,5%, через обоняние - 3,5%, через слух 7% и наибольшая доля приходится на оптическое восприятие - 87%. Это означает, что мы в основном воспринимаем пейзаж на основе его визуальных характеристик [3].

Высокая степень привлекательности достигается сочетанием трех или более факторов, влияющих на восприятие, таких как плоскость, линия, свет, время, количество [1].

Материалы и методы. Пейзаж и живописный интерес представляют собой сочетание двух частей. С одной стороны, отношение наблюдателя и то, что его волнует, а с другой - глубина перспективы, т.е. расстояние от наблюдателя [2]. Существуют разные методы построения пейзажного вида вдоль пешеходных коммуникаций в зависимости от возможностей, предоставляемых сопутствующими ландшафтами [4]. При моделировании прибрежных и прибрежных ландшафтов соблюдается требование оптимального количества акцентов, а

периферия насаждений формируется таким образом, чтобы обеспечить динамику очертания массивов [5]. Создание внутренней линейной перспективы комбинируется и чередуется с комбинацией нескольких внутренних линейных перспектив на ответвлениях аллеи и моделированием пространства вдоль линейных объектов (рисунок 1-4). Факторы, влияющие на восприятие ландшафта, являются основными и разнообразными. Основные эффекты – это точка, линия, плоскость как геометрическое понятие, заполненные и открытые объемы. С точки зрения сенсорного восприятия, точка – это объект, который играет роль фокусного центра и привлекает к себе наше внимание [3]. Возможными вариантами здесь являются дерево, кусты или скала с декоративными качествами (рисунок 5-8).



Рис. 1-4. Внутренние линейные перспективы на развилках переулков.



Рис. 5-8. Центр внимания в визуальных перспективах вдоль лесных тропинок.

К переменным эффектам относятся: количество (число), положение, направление, ориентация, размер, формат, интервал между элементами, текстура, плотность цвета, почасовое время вместе с сезонным, свет, резкость (категоричность) объекта [1].

Развитию живописного интереса дополнительно способствует открытие глубоких линейных перспектив с неравномерными интервалами и внешних перспектив. Фактор света, время и сила зрения усиливают живописный интерес.

Формирование визуальных рамок, играющих роль сцен, за которыми что-то происходит, создают у туриста приятное напряжение и ощущение активности (рисунок 9-12).

Вдоль пешеходных маршрутов в горных районах открытые пространства и открывающиеся панорамы создают ощущение динамизма и пространства и основаны на физических визуальных расстояниях [2].



Рис. 9-12. Визуальные рамки в лесных пейзажах.



Рис. 13-14. Линейные объекты в лесных пейзажах.

Обсуждение результатов исследования. Определив ведущую роль точечных объектов как акцентов и визуальных фокусов, мы должны поставить на второе место линейные объекты (чаще всего тропинки или ручьи) как наиболее влиятельные из всех других реально существующих объектов, сопровождающих туристические маршруты (рисунок 13-14). За ними следуют плоские объекты разной формы. Это может быть горное озеро, открытый склон или любое открытое плоское пространство, в том числе антропогенное, или искусственные конструкции, такие как стены, крыши или автостоянки (рисунок 15-16).

Нельзя не упомянуть трехмерные объекты, в которые входят камни, массивные стволы деревьев, здания и многое другое. Часто зритель наблюдает за этими объемами изнутри. Это случаи, когда турист находится под пологом леса в ажурном лесном массиве, в каньоне или ущелье реки и т.д. (рисунок 17-18).



Рис. 15-16. Плоские объекты в лесных пейзажах.

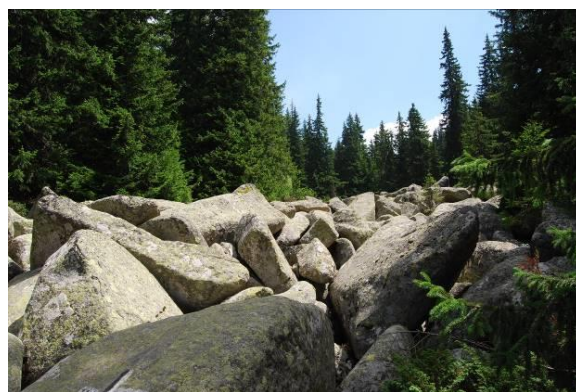
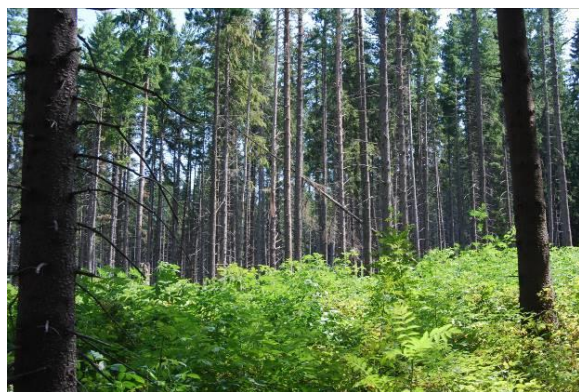


Рис. 17-18. Трехмерные объекты в лесных пейзажах.

Визуальные характеристики ландшафта – это то, что контролирует визуальные качества пространства. Когда эти качества положительны, они определяют живописную привлекательность пейзажных видов, привлекательные визуальные перспективы и открывающиеся панорамы. По самым общим критериям можно выделить следующие пять классов пейзажной живописи, основанные на основных элементах пейзажа:

1. Полностью сохранившиеся пейзажи. В эту категорию обычно входят только некоторые охраняемые территории, где минимальное вмешательство человека не привело к видимым нарушениям окружающей среды или экологическим проблемам.

2. Пейзажи сохранили свою живописность. К этой категории относятся территории, на которых умело ведется работа по строительству пешеходных коммуникаций, а сами дорожки и аллеи “копируют рельеф”, а растения и другие объемы, цвета и текстуры сохранены, поскольку они характерны для соответствующего ландшафта, а не должен измениться в будущем. Существующие неудобства все еще не очевидны для обычного туриста.

3. Пейзажи, частично сохранившие свою живописность. Допускается введение линий, форм, объемов или текстур, не типичных для соответствующего ландшафта, но если они останутся в этих измерениях, они не нанесут фатального вреда визуальному содержанию ландшафта. В отличие от предыдущей категории мелкие нарушения заметны, но не навязчивы и не привлекают внимания.

4. Пейзажи, утратившие живописность. Модификация довольно большая, изменения легко заметны и привлекают внимание туристов. В ландшафте преобладают сильные и очевидные для всех нарушения, но они по форме напоминают окружающую среду. Сооружения, дорожные сооружения, большие котлованы и насыпи и др. изменили в негативном направлении общий вид местности, и необходимы мероприятия для улучшения характеристик ландшафта.

5. Пейзажи, сильно нарушенные и нуждающиеся в срочной реабилитации, полностью утратили свою живописность. В эту категорию входят ландшафты, покрывающие участки,

резко отличающиеся от природного ландшафта, когда по какой-то причине положительные визуальные характеристики сменяются нежелательными визуальными эффектами, необходимо восстановить природный ландшафт. В большинстве случаев это медленный процесс, который достигается путем изменения, закрытия или удаления мешающих элементов, чтобы удаленная растительность не создавала навязчивых краев, форм и цветов, изменения ландшафта сливались с естественными склонами, чтобы закрыть, изменить или удалить конструкции, содержащие навязчивые формы и цвета, закрыть строительный мусор и т.д.

Выводы. Визуальные характеристики ландшафта – это фактор, наиболее тесно связанный с естественным желанием зрителя воспринимать и сравнивать различные точки, линии, плоскости и объемы ландшафта. Очевидные линии, такие как извилистая тропа, дорога или река, приглашают нас проследить за ними глазами и создают глубину пространства.

У каждого ландшафта есть возможность изменять свои характеристики в результате взаимодействия рельефа, растительности и плодородия почвы, климата и т.д. Однако визуальное восприятие ландшафта – это процесс, который зависит не только от существующих характеристик ландшафта, но и от местоположения зрителя. наблюдение и другие конъюнктурные факторы.

У разных ландшафтов есть свои особые способности впитывать и впитывать визуальные изменения. Степень контраста между существующими условиями рисования и изменениями можно измерить с точки зрения основных характеристик ландшафта (рельеф, растительность, скальные образования, вода и т.д.), а затем спрогнозировать развитие с точки зрения основных элементов (формы, линии, цвета, текстура и т.д.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гора и отдых, С., Земиздат, 1972.
2. Гуркова, М. Ландшафтно-архитектурни методи за оформление на природната среда на недвижими културни ценности в горски територии. 2016. Международна научна конференция по опазване на недвижимото културно наследство БАНИ 2016, ISBN: 978-954-8931-50-2, стр. 65-70.
3. Родичкин, И. Д. Человек, среда, отдых. - Киев, "Будивельник", 1977.
4. Робев, Р., Б. Китин, В. Власев, А. Шевкенова, Н. Тенчева, И. Делибеев. Социални функции на гората. - Земиздат, С., 1977.
5. Определение состояния и экологической емкости рекреационных лесов, Литовский научно-исследовательский институт, КАУНАС, 1981

Open Access Peer-reviewed Journal

Science Review

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_sr

8(35), December 2020

SCIENTIFIC EDITION

Indexed by:



Passed for printing 25.12.2020. Appearance 30.12.2020.

Typeface Times New Roman.

Circulation 300 copies.

Publisher RS Global Sp. z O.O., Warsaw, Poland, 2020

Numer KRS: 0000672864

REGON: 367026200

NIP: 5213776394

<https://rsglobal.pl/>