УДК 616.72-002-018.3-089.843 *DOI: https://doi.org/10.22141/1608-1706.2.23.2022.889*

Оліфіренко О.І.[1, 2], Герцен Г.І.[1], Мовчан О.С.[1], Сергієнко Р.О.[2], Бурсук Ю.Є.[2, 3]
[1]Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна
[2]МПП Фірма «Реабілітація», м. Київ, Україна
[3]Інститут травматології та ортопедії НАМН України, м. Київ, Україна

Новітні регенеративні технології в лікуванні остеоартриту великих суглобів

Резюме. *У період з 2018 по 2021 рік на лікуванні знаходилось 114 хворих з діагнозом: остеоартрит колінного суглоба 1–3-ї ст. за Kellgren-Lawrence. Діагноз верифікували рентгенологічно, деталізували за даними магнітно-резонансної томографії, інтраопераційно артроскопічно. Пацієнтів було проліковано відповідно до розробленого алгоритму з використанням малоінвазивних регенеративних методик: збагачена тромбоцитами плазма, концентрат червоного кісткового мозку (BMAC) та гіалуронова кислота. Контрольна група не передбачалась через низку етичних та технічних причин. Виходячи з твердження, що остеоартрит — це прогресуюче захворювання, стійкі позитивні зміни в суб'єктивній оцінці колінного суглоба та відсутність ознак прогресування при використанні інструментальних методів обстеження можна вважати за успіх даної методики. Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців за допомогою міжнародних опитувальних шкал Knee and Osteoarthritis Outcome Score, Western Ontario McMaster Universities OA Index, International Knee Documentation Committee, даних повторних магнітно-резонансних досліджень та безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях. Відповідно до міжнародних суб'єктивних шкал оцінки функції та болю суглоба у пацієнтів після лікування з використанням ін'єкційних регенеративних засобів виявили стійке покращення в терміні спостереження до 12 місяців. Спираючись на ці клінічні результати, можна дійти висновку, що розроблена схема лікування — це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає відновити ушкоджені ділянки опорно-рухової системи завдяки впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. Вироблений алгоритм виготовлення та застосування BMAC є безпечним та раціональним.*

Ключові слова: *остеоартрит; збагачена тромбоцитами плазма; концентрат червоного кісткового мозку; регенеративна медицина*

Вступ

Остеоартрит (ОА) — гетерогенна група захворювань різної етіології з подібними біологічними, морфологічними, клінічними проявами і наслідками, в основі яких лежить ураження всіх компонентів суглоба, у першу чергу хряща, а також субхондральної кістки, синовіальної оболонки, зв'язок, капсули, навколосуглобових м'язів.

ОА є найпоширенішою формою артриту, що вражає приблизно 15 % всього населення земної кулі та справляє великий вплив на суспільство з точки зору як якості життя людей, так і високих витрат для системи охорони здоров'я [1]. ОА частіше розвивається в суглобах нижніх кінцівок, таких як колінні та кульшові суглоби. Його поширеність за останні 20 років подвоїлась унаслідок значної тенденції до старіння населення та збільшення питомої ваги серед пацієнтів молодих вікових груп [2].

Bone marrow aspirate concentrate (BMAC; досл.: концентрат аспірату кісткового мозку) — це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає природним шляхом відновити ушкоджені ділянки опорно-рухової системи шляхом впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. BMAC став важливим біологічним інструментом для ортопедичного хірурга, оскільки він є однією з небагатьох форм доставки стовбурових клітин та факторів росту, які

© «Травма» / «Trauma» («Travma»), 2022
© Видавець Заславський О.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2022

Для кореспонденції: Оліфіренко Олексій Іванович, кафедра ортопедії та травматології № 1, Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112, Україна; e-mail: olifirenkodoc@ukr.net; контактний телефон +38 093 141 88 27
For correspondence: Oleksii Olifirenko, Department of Orthopedics and Traumatology 1, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Dorohozhytska st., 9, Kyiv, 04112, Ukraine; e-mail: olifirenkodoc@ukr.net; phone: +38 093 141 88 27
Full list of authors information is available at the end of the article.

на сьогодні затверджені Управлінням контролю за продуктами та ліками США (FDA).

Червоний кістковий мозок (ЧКМ) є напіврідкою субстанцією, похідною мезенхімального ростка, виконує низку функцій, основна з яких кровотворна і забезпечення регенераторного потенціалу організму за рахунок збереження стовбурових фракцій клітин протягом життя. Червоний кістковий мозок містить мезенхімальні стовбурові клітини, гематопоетичні стовбурові клітини, тромбоцити (містять фактори росту) та цитокіни. Концентрат червоного кісткового мозку порівняно з нативним кістковим мозком та збагаченою тромбоцитами плазмою має у своєму складі більший спектр факторів росту і фракцій клітин, і тому, ймовірно, має кращий регенераторний потенціал [3].

Концепція терапевтичного впливу ін'єкцій

1. BMAC, за своє суттю, є моделлю перелому плоскої кістки з внутрішньосуглобовим виливом червоного кісткового мозку і відповідною запальною, імунною, хемотаксичною та відновною реакцією організму. Можна провести порівняння з тим, що в дітей після перелому кістки регенерація та ремоделяція відбуваються значно ефективніше. Це може бути пов'язано з тим, що в дитячому віці в кістках скелета всередині є червоний кістковий мозок, у дорослому віці склад кісткового мозку суттєво змінюється і він стає жовтим кістковим мозком. «Активний» червоний кістковий мозок зберігається в дорослому віці тільки в кістках таза, грудині, тілах хребців. Тому, уводячи в уражений суглоб концентрат червоного кісткового мозку, ми вводимо наш організм в оману, і він це сприймає наче травму скелета дитячого віку і відновлює пошкоджені структури.

2. Збагачена тромбоцитами плазма (PRP, platelet rich plasma) — модель травми м'яких тканин з крововиливом та відповідною реакцією. Коли відбувається пошкодження структур опорно-рухового апарату (м'язів, зв'язок, сухожилків, фасцій тощо), завжди виникає гематома. Вона виступає субстратом для формування сполучнотканинного рубця та загоєння. Гематома проходить серію перетворень.

3. Гіалуронова кислота (HA) — завершальна ін'єкція, яка виконується перед поверненням до фізичних навантажень і має на меті профілактувати повторні пошкодження та перевантаження. Активна речовина гіалуронат натрію є важливим компонентом екстрацелюлярного матриксу, відновлює фізіологічний гомеостаз та реологічні властивості синовіальної рідини, нормалізує склад синовіальної рідини, активуючи біосинтез гіалуронової кислоти у клітинах синовіальної оболонки.

Відсутні уніфіковані рекомендації з отримання та використання BMAC в ортопедії і травматології. Спираючись на власний досвід, наукові публікації та конкретні клінічні завдання, ми розробили оптимальний алгоритм використання BMAC при остеоартриті. Перед виконанням процедури проводиться лабораторне обстеження, що включає загальний аналіз крові, коагулограму, скринінговий біохімічний аналіз крові. Пацієнт госпіталізується в денний стаціонар. Аспірація червоного кісткового мозку проводиться в умовах операційної з дотриманням принципів мінімальної маніпуляції з біологічними продуктами.

Опис методики

Процедура виконується під седаційним трансвенозним знеболюванням. Місцеві анестетики не використовували у зв'язку з повідомленнями про їх цитотоксичний вплив на мезенхімальні стовбурові клітини та інші клітини кісткового мозку (рис. 1).

Положення пацієнта на операційному столі на спині. Після трикратної обробки ділянки крила таза антисепти-

Рисунок 1. Набір для проведення пункції червоного кісткового мозку, концентрування та внутрішньосуглобового введення (у 2 суглоби): 1 — кістковомозкова голка типу Jamshidi (Biomedical, Італія); 2 — розчин гепарину 100 МО/мл (ТОВ «ФАРМЕКС ГРУП», Україна); 3 — скальпель № 11; 4 — пробірка типу Falcon; 5 — набір одноразових хірургічних покриттів; 6 — шприци для забору кісткового мозку; 7 — шприци для навігації; 8 — Cutasept F (Bode Chemie GmbH & Co, Німеччина); 9 — шприци для забору концентрату кісткового мозку

ком (Cutasept F, Bode Chemie GmbH & Co, Німеччина) виконується розріз шкіри 3–4 мм за допомогою скальпеля № 11. У більшості випадків пункція виконувалась з лівого крила таза — для зручності під праву руку (якщо оператор ліворукий — з правого крила таза). Кістковомозкова голка типу Jamshidi товщиною 9G та довжиною стилета 10 см з додатковими бічними отворами ретельно промивається в розчині гепарину 100 МО/мл (ТОВ «ФАРМЕКС ГРУП», Україна). Попереднє промивання розчином антикоагулянта пов'язане з тим, що метал при контакті з ЧКМ є фактором запуску каскаду тромбоутворення. Технікою free-hand у проміжку 4–8 см до заду від передньої верхньої ості таза голка занурюється в спонгіозну кістку на глибину близько 5 см під кутом нахилу до сагітальної і фронтальної площини близько 45 градусів (рис. 2). Аспірується червоний кістковий мозок шприцами 20 мл з попередньо набраним цитратом декстрози (ACD-A, MacoPharma, France) у співвідношенні 1 : 8. Загальний об'єм аспірату разом з цитратом декстрози 50 мл на один суглоб чи таргетну ділянку. Під час пункції важливо не створювати надмірного від'ємного тиску, адже це спричинює додаткову гемодилюцію та може провокувати тромбоутворення. Червоний кістковий мозок порівняно з венозною кров'ю активніше піддається тромбоутворенню, тому важливо, щоб різниця у масі пробірок була мінімальною, це запобігатиме вібраціям під час центрифугування. Для контролю маси використовуються міліграмові ваги, у роботі допустима різниця між пробірками була 0,1 грама (рис. 3).

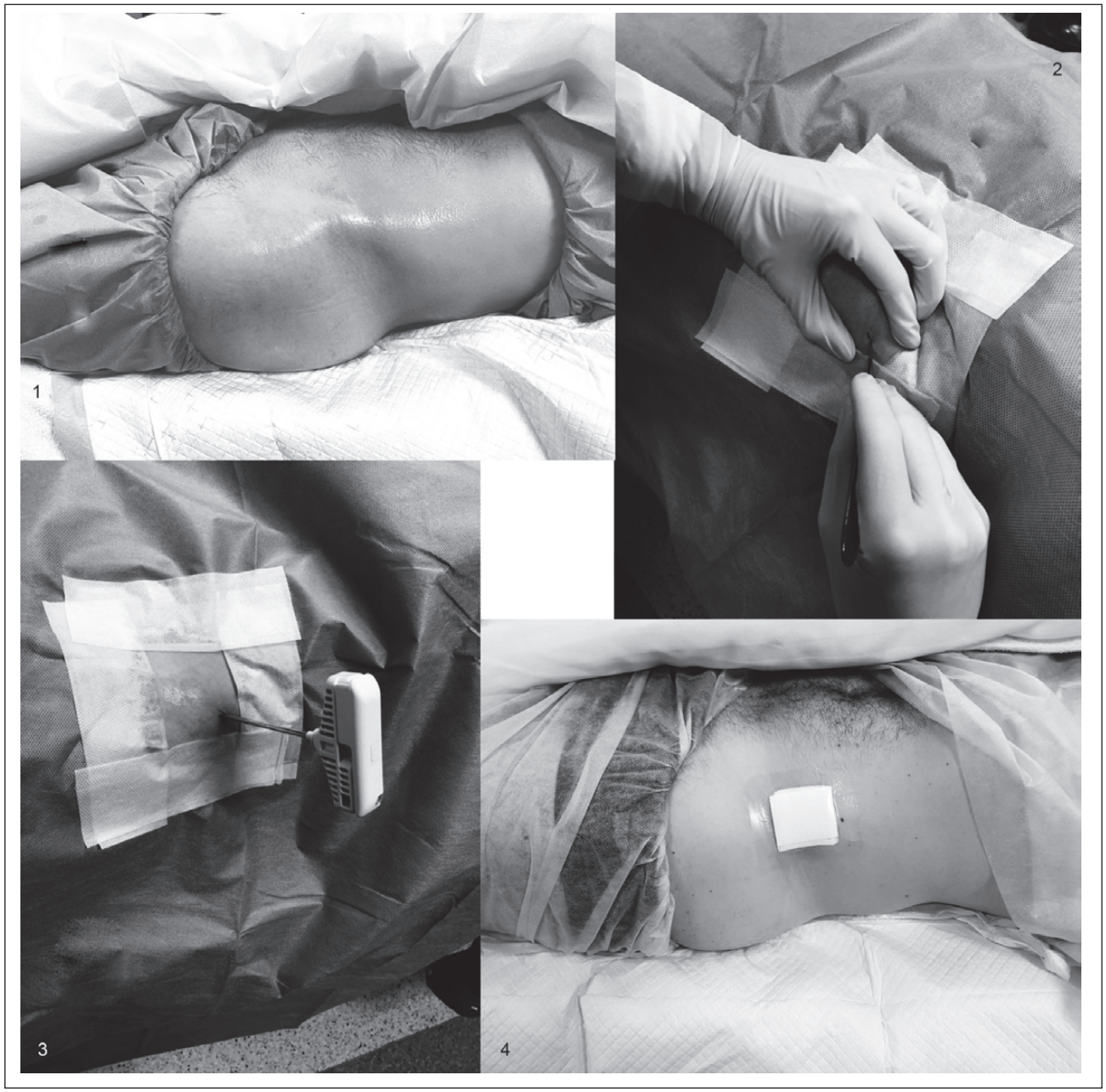

Рисунок 2. Етапи пункції кісткового мозку

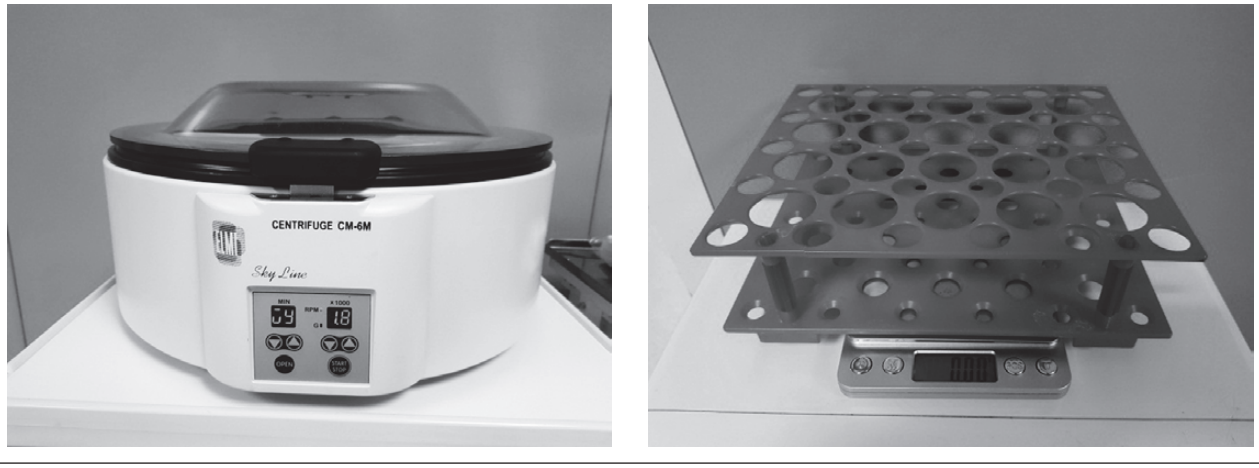

Рисунок 3. Центрифуга Elmi CM-6M (Латвія). Міліграмові ваги для контролю маси пробірок

Центрифугування проводиться при 2000 обертах (738 RCF/G) 10 хв в умовах операційної. Від моменту пункції червоного кісткового мозку до внутрішньосуглобового введення концентрату червоного кісткового мозку важливо мінімізувати час. При злагодженості процесу від початку пункції до внутрішньосуглобового введення минає 14–16 хвилин.

Після розділення ЧКМ на шари відбирається середній «багатий шар» (рис. 4). Допускається незначний захват еритроцитарного шару. На один великий суглоб (колінний, кульшовий, плечовий) забирається 8–10 мл концентрату червоного кісткового мозку. Забір здійснюється ручним способом за допомогою «спінальної» голки товщиною 19G (рис. 5).

Трикратна обробка ділянки внутрішньосуглобової ін'єкції антисептиком (Cutasept F, Bode Chemie GmbH & Co, Німеччина) з дотриманням експозиції. Внутрішньосуглобове введення здійснюється під ультразвуковою навігацією (рис. 6).

Як мінімум три тижні до та після ін'єкції ВМАС не рекомендується використовувати глюкокортикостероїди. Протягом тижня до та після ін'єкції ВМАС не рекомендується використовувати нестероїдні протизапальні препарати. У перші 24–48 годин за наявності больового синдрому в ділянці ін'єкції чи ділянці пункції рекомендується використання сухого холоду локально по 15–20 хв до 5 р/добу. За наявності вираженого больового синдрому препаратом вибору є парацетамол у таблетках 1000 мг 1–2 р/добу. Після ін'єкції пацієнт перебуває в умовах денного стаціонару 2–3 години. Контрольний огляд та УЗД проводиться через 5–7 днів. Післяопераційні рани заживають первинним натягом без ушивання до 10-ї доби. Рекомендується утриматись від фізичного навантаження та занять спортом протягом 7 днів після процедури.

Через 3 тижні та 6 тижнів після ін'єкції ВМАС амбулаторно виконувались внутрішньосуглобові ін'єкції PRP під ультразвуковим контролем. До нас не вивчалось поєднання почергового використання внутрішньосуглобових ін'єкцій ВМАС, двічі PRP та кроссшкованої гіалуронової кислоти при остеоартриті.

Рекомендації різних науковців відрізняються щодо інтервалу між ін'єкціями. Багато авторів сходяться

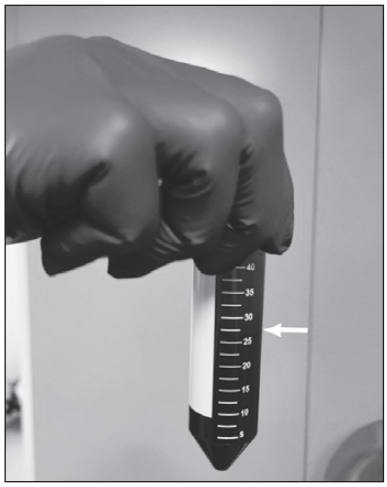

Рисунок 4. «Багатий шар» ЧКМ (відмічено білою стрілкою)

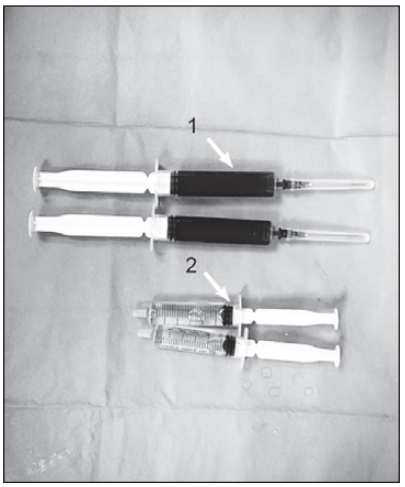

Рисунок 5. Концентрат червоного кісткового мозку (1) та «навігаційні» шприци з розчином 0,9% NaCl (2)

Рисунок 6. При внутрішньосуглобовому введенні обов'язково використовується ультразвукова навігація

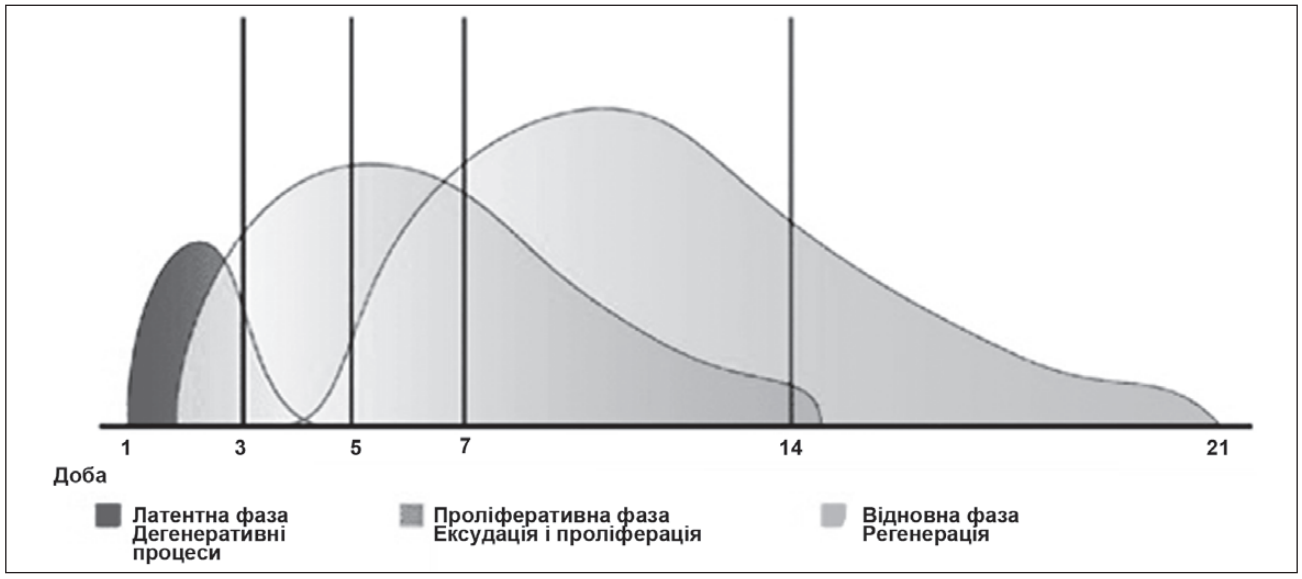

Рисунок 7. Стадії перебігу післятравматичної реакції організму людини

на думці, що інтервал між ін'єкціями має бути близько 7–10 днів. Ми ж спираємося на теорію каскадного наростання реакції організму. BMAC і PRP є штучними моделями травми, а відповідь організму на м'якотканинну травму триває близько 3 тижнів. Тобто прихильники цієї теорії, посилаючись на зростання реакції організму на кожну наступну ін'єкцію, пропонують не дочікуватись, доки закінчиться реакція від попередньої ін'єкції. Проте є дослідження, які свідчать про взаємоінгібуючий вплив різних факторів росту як у BMAC, так і в PRP. Тому вважаємо за доцільне робити ці внутрішньосуглобові ін'єкції один раз на три тижні, дочекавшись, поки реакція організму на попередню ін'єкцію мине всі етапи і закінчиться (рис. 7).

Як мінімум три тижні до та після ін'єкції PRP не рекомендується використовувати глюкокортикостероїди. Протягом тижня до та після ін'єкції PRP не рекомендується використовувати нестероїдні протизапальні препарати. За 4 години до забору крові рекомендується не їсти, не пити солодких напоїв, рекомендується більше пити звичайної води.

Процедура проводиться амбулаторно в умовах маніпуляційного кабінету. Забір крові з кубітальної вени — 20 мл на один суглоб. Кров переміщується в одноразову стерильну пластикову пробірку типу Falcon і центрифугується на 0,6 G (1803RPM) протягом 8 хв центрифугою Elmi CM-6M (Латвія).

У клінічній роботі немає необхідності використовувати антикоагулянти чи гемоконсерванти, адже час від забору крові до початку центрифугування і далі до введення в таргетну ділянку надто малий для тромбоутворення. Це досягається завдяки злагодженості процесу.

Перед початком центрифугування зразки зважувались для максимальної симетричності пробірки та контрпробірки і мінімізації вібрацій. Важливо, щоб пробірки були пластикові і загалом не було контакту крові зі скляними

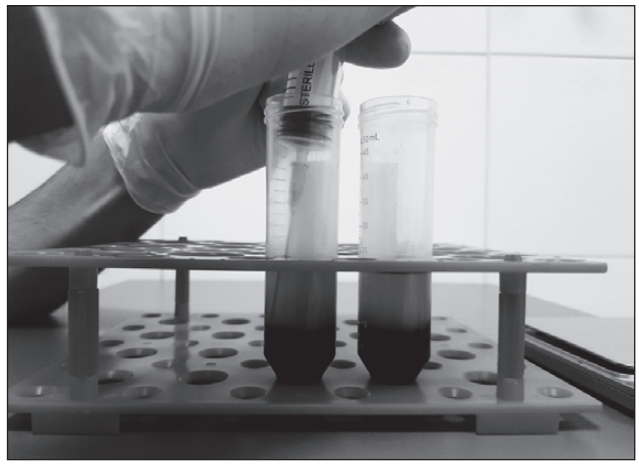

Рисунок 8. Ручний забір збагаченої тромбоцитами плазми

поверхнями, оскільки діоксин кремнію здатний запускати каскад тромбоутворення.

Після закінчення центрифугування ручним способом забирається шар плазми, багатий тромбоцитами, в об'ємі близько 3,5–4 мл (рис. 8) та під ультразвуковим контролем вводиться внутрішньосуглобово.

Через 9 тижнів після операції вводиться препарат гіалуронової кислоти («ПроФЛЕКС ІНТРА» 20 мг/мл (3 мл), Delta Medical Promotions AG).

Препарат містить гіалуронат натрію, синтезований і структурований методами біоінженерії із метаболітів стрептококової ферментації, який має високу в'язкоеластичну, змащувальну здатність, фізичну мінливість та високу біосумісність. Стерильний, вільний від пірогенів, алергенів, генетичної токсичності; не чинить подразнювальної дії на шкіру. При використанні у формі внутрішньосуглобової ін'єкції «ПроФЛЕКС ІНТРА» об'ємно заміщає синовіальну рідину, стимулює синовіальну оболонку виробляти власний високомолекуляр-

ний гіалуронат, який підвищує рухливість суглоба, діє як амортизатор, зменшує вираженість болю, активує процеси відновлення тканин суглобового хряща і уповільнює прогресування захворювання.

Матеріали та методи

Дизайн дослідження та етапи його проведення

У період з 2018 по 2021 р. на лікуванні знаходилось 114 хворих з діагнозом: остеоартрит колінного суглоба 1–3-ї ст. за Kellgren-Lawrence. Діагноз верифікували рентгенологічно, деталізували за даними магнітно-резонансної томографії, інтраопераційно артроскопічно. Пацієнтів було проліковано відповідно до розробленого алгоритму з використанням малоінвазивних регенеративних методик: збагаченої тромбоцитами плазми, концентрату червоного кісткового мозку та гіалуронової кислоти.

Критерії включення: вік 18 років і старше; клінічно та/або рентгенологічно підтверджений діагноз ОА колінного суглоба (1–3-ї ст. за Kellgren-Lawrence) за останні 6 місяців; біль у коліні (≥ 3 за візуально-аналоговою шкалою), що турбує протягом 6 місяців або більше; відмова від прийому знеболюючих препаратів на час проходження лікування.

Критерії виключення: неможливість надати інформовану згоду; діагностовані захворювання опорно-рухового апарату ревматоїдного характеру; злоякісні онкологічні захворювання в анамнезі; захворювання крові, згортальної системи крові та системи кровотворення в анамнезі; осьові деформації, нестабільність колінного суглоба; будь-які внутрішньосуглобові ін'єкції за останні 6 місяців.

Контрольна група не передбачалась через низку етичних та технічних причин. Виходячи з твердження, що остеоартрит — це прогресуюче захворювання, стійкі позитивні зміни в суб'єктивній оцінці колінного суглоба та відсутність ознак прогресування при використанні інструментальних методів обстеження можна вважати за успіх даної методики. Об'єктивно оцінити зміни хряща та інших структур колінного суглоба на практиці складно. МРТ з картуванням має значну вартість і не є широко доступною. Гістологічно оцінювати стан хряща в динаміці неможливо через етичні причини. Рутинна діагностична артроскопія в динаміці неможлива. Саме тому суб'єктивні опитувальники, МРТ та рентгенографія в динаміці залишаються єдиними можливими критеріями оцінки. Окремі випадки ревізійних артроскопій за наявності показань також дозволяли візуально оцінити зміни хрящової тканини.

Таблиця 1. Результати лікування

Термін / Шкала оцінки	До лікування	1 місяць	3 місяці	6 місяців	9 місяців	12 місяців
KOOS pain	47,25	70,13	70,35	77,55	71,46	65,63
KOOS overall	42,28	66,38	67,03	68,09	68,84	68,52
WOMAC	44,34	29,09	26,64	25,21	21,21	24,34
IKDC	36,29	49,13	64,2	66,18	56,94	57,62

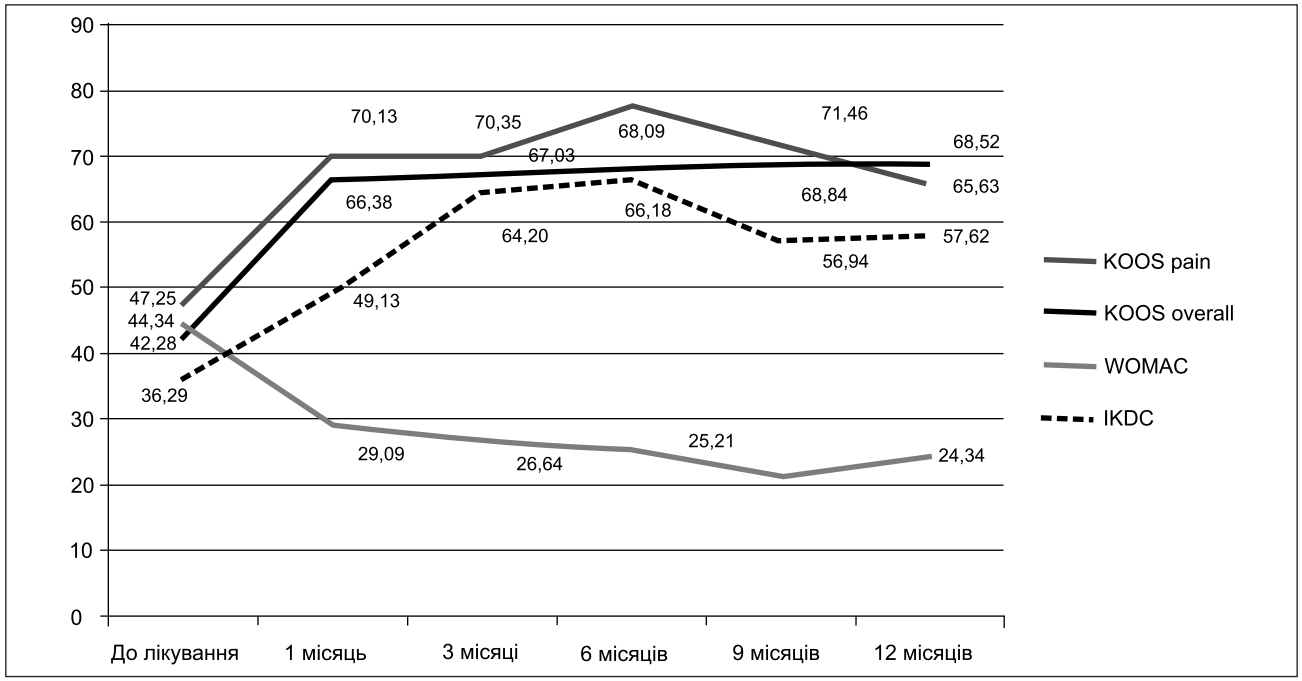

Рисунок 9. Результати лікування

Результати та обговорення

Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців за допомогою міжнародних опитувальних шкал Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), Western Ontario McMaster Universities OA Index (WOMAC), International Knee Documentation Committee (IKDC), даних повторних магнітно-резонансних досліджень та безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях (табл. 1, рис. 9).

Відповідно до міжнародних суб'єктивних шкал оцінки функції та болю суглоба у пацієнтів після лікування з використанням ін'єкційних регенеративних засобів відмічали покращення в терміні спостереження до 12 місяців.

Висновки

Таким чином, комплексне лікування остеоартриту колінних суглобів 1–3-ї ст. за Kellgren-Lawrence за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми, концентрату червоного кісткового мозку та препаратів гіалуронової кислоти є ефективним та безпечним. Перспективним є подальша розробка диференційного підходу до лікування різних фенотипів остеоартриту.

Спираючись на дані клінічні результати, можна стверджувати, що розроблена схема лікування — це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає відновити ушкоджені ділянки опорно-рухової системи шляхом впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. Вироблений алгоритм виготовлення та застосування ВМАС є безпечним та раціональним.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Litwic A., Edwards M.H., Dennison E.M., Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. Br. Med. Bull. 2013. 105. 185-99. doi: 10.1093/bmb/lds038.

2. Lawrence R.C., Felson D.T., Helmick C.G., Arnold L.M., Choi H., Deyo R.A., et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part 2. Arthritis Rheum. 2008. 58. 26-35.

3. Cassano J.M., Kennedy J.G., Ross K.A., et al. Bone marrow concentrate and platelet-rich plasma differ in cell distribution and interleukin 1 receptor antagonist protein concentration. Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc. 2016. DOI: 10.1007/s00167-016-3981-9.

Отримано/Received 16.04.2022
Рецензовано/Revised 04.05.2022
Прийнято до друку/Accepted 11.05.2022

Information about authors
O.I. Olifirenko, PhD Researcher of Department of Orthopedics and Traumatology 1, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: OlifirenkoDoc@ukr.net; https://orcid.org/0000-0003-2257-4622
H.I. Hertsen, Doctor of Sciences in Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Orthopedics and Traumatology 1, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: gercen.h@gmail.com
O.S. Movchan, Doctor of Sciences in Medical Sciences, Professor of the Department of Orthopedics and Traumatology 1, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: https://orcid.org/0000-0002-8678-6483
R.O. Serhiienko, Doctor of Sciences in Medical Sciences, Head of the Small private enterprise Firm "Rehabilitation", Kyiv, Ukraine; e-mail: polina.golovatenko@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-0497-3518
Yu.Ye. Bursuk, PhD Researcher, Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine; e-mail: bury89@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-2286-2221

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

O.I. Olifirenko[1, 2], H.I. Hertsen[1], O.S. Movchan[1], R.O. Serhiienko[2], Yu.Ye. Bursuk[2, 3]
[1]Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine
[2]Small private enterprise Firm "Rehabilitation", Kyiv, Ukraine
[3]Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The modern regenerative technologies in the treatment of osteoarthritis of the large joints

Abstract. In 2018–2021, 114 patients with the diagnosis of knee osteoarthritis of grade 1–3 according to the Kellgren and Lawrence classification underwent treatment. The diagnosis was verified radiologically, specified by magnetic resonance imaging, intraoperative arthroscopically. The patients underwent treatment according to the developed algorithm using minimally invasive regenerative techniques: platelet-rich plasma, bone marrow concentrate (BMC) and hyaluronic acid. The control group was not provided for a number of ethical and technical reasons. Based on the assumption that "osteoarthritis is a progressive disease", stable positive changes in the subjective assessment of the knee joint and the absence of signs of progression during instrumental examination can be considered a success of this technique. Treatment outcomes were assessed in 1, 3, 6, 9 and 12 months using the Knee and Osteoarthritis Outcome Score, Western Ontario McMaster Universities OA Index, International Knee Documentation Committee, data from repeated magnetic resonance imaging and direct macroscopic examination during repeated arthroscopies. According to the international subjective scales for assessing joint function and pain, patients after treatment with injectable regenerative agents showed a steady improvement in follow-up of up to 12 months. Based on the clinical results, it can be concluded that the developed treatment regimen is a modern regenerative therapy that helps to repair damaged areas of the musculoskeletal system due to the effect of a balanced complex of mesenchymal stem cells, growth factors, cytokines. The developed algorithm of obtaining and applying BMC is safe and rational.

Keywords: osteoarthritis; platelet-rich plasma; bone marrow concentrate; regenerative medicine