

АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ТРАНСПОРТНОЇ МЕДИЦИНИ:

навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

Засновники: Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України та Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського Національної Академії наук України

№ 1 (39), 2015 р.

Заснований у серпні 2005 р.



Головний редактор
Науковий редактор

д.м.н. А.І.Гоженко
д.м.н. Л.М.Шафран

The editor-in-chief
The scientific editor

A.I.Gozhenko
L.M.Shafran

Редакційна колегія

Л.В.Басалаєва, д.м.н. Є.П.Белобров, д.м.н. В.С. Белоприницкий, Д.В.Большой (відповідальний секретар), д.м.н. Г.К.Васильєв, д.б.н. М.Я.Головенко, д.м.н. О.В.Горша, В.М.Євстаф'єв, Т.Л.Лебедева, д.м.н. В.О.Лісобеєв, д.б.н. І.А.Кравченко, д.м.н. Б.А.Насібуллін, Б.В.Панов, д.б.н. Н.Ф.Петренко, О.Г.Пихтєєва, д.б.н. Е.М.Псядло, Д.П.Тімошина

Editorial board

L.V.Basalaeva, E.P.Belobrov, V.S.Belokrinititskiy, D.V.Bolshoy (the responsible secretary), G.K.Vasiljev, M.J.Golovenko, O.V.Gorsha, V.M.Evstafjev, T.L.Lebedeva, V.A.Lisobey, I.A.Kravchenko, B.A.Nasibullin, B.V.Panov, N.F.Petrenko, E.G.Pykhteyeva, E.M.Psiadlo, D.P.Timoshina

Склад наукової редакційної ради:

С.А.Андронаті (Україна), В.П.Антонович (Україна), К.Д.Бабов (Україна), Л.І.Власик (Україна), Ю.Л.Волянський (Україна), М.Р.Гзеготський (Україна), В.А.Голіков (Україна), М.Я. Головенко (Україна), Ю.І.Губський (Україна), В.М.Запорожан (Україна), В.О.Капцов (Росія), М.О.Колесник (Україна), Ю.І.Кундієв (Україна), Р.Ольшанський (Польща), А.Є.Поляков (Україна), М.Г.Проданчук (Україна), В.Г.Руденко (Україна), Х.Саарні (Фінляндія), А.М.Сердюк (Україна), А.В.Скальний (Росія), Д.Г.Ставрев (Болгарія), І.Твардовська (Польща), І.М.Трахтенберг (Україна), Ш.Хан (США), А.З.Цфасман (Росія), К.Ш.Шайсултанов (Казахстан), К.О.Шаріпов (Казахстан), К.Шрамм (Німеччина), Б.М.Штабський (Україна), О.П.Яворівський (Україна)

Structure of scientific editorial council:

S.A.Andronati (Ukraine), V.P.Antonovich (Ukraine), K.D.Babov (Ukraine), L.I.Vlasik (Ukraine), Yu.L.Volianskiy (Ukraine), M.R.Gzhegotskiy (Ukraine), V.A.Golikov (Ukraine), M.J.Golovenko (Ukraine), Yu.I.Gubskiy (Ukraine), V.M.Zaporozhan (Ukraine), V.O.Kaptsov (Russia), M.O.Kolesnik (Ukraine), Yu.I.Kundiev (Ukraine), R.Olszanski (Poland), A.E.Poljakov (Ukraine), M.G.Prodanchuk (Ukraine), V.G.Rudenko (Ukraine), H.Saami (Finland), A.M.Serdjuk (Ukraine), A.V.Skalny V.V. (Russia), D.G.Stavrev (Bulgaria), I.Twardowska (Poland), I.M.Trakhtenberg (Ukraine), Sh.U.Khan (USA), A.Z.Tsfasman (Russia), K.Sh.Shajisultanov (Kazakhstan), K.O.Sharipov (Kazakhstan), K.Shramm (Germany), B.M.Shtabskiy (Ukraine), O.P.Yavorovsky (Ukraine)

Адреса редакції:

вул. Канатна, 92, 65039, м. Одеса, Україна
Тел/факс: +380-48-726-47-93, 728-01-47
E-mail: journal-medtrans@rambler.ru

The address of editorial office:

Kanatnaya str., 92, 65039, Odessa, Ukraine
Phone/fax: +380-48-726-47-93, 728-01-47
E-mail: journal-medtrans@rambler.ru

Журнал зареєстрований Держкомітетом по телебаченню та радіомовленню України 31 травня 2005 р. Свідоцтво: серія KB № 9901 ISSN 1818-9385

The Journal is registered by the State Committee on TV and broadcasting of Ukraine May 31, 2005. The certificate: series KB № 9901 ISSN 1818-9385

Рукописи не повертаються авторам. **Відповідальність за достовірність та інтерпретацію даних несуть автори статей.** Редакція залишає за собою право скорочувати матеріали по узгодженню з автором.

Manuscripts are not returned to the authors. Authors bear all responsibilities for correctness and reliability of the presented data. Edition retain the right to reduce the size of the materials in agreement with the author.

Журнал внесений до переліку видань, у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт з біології та медицини (Бюл. ВАК України, № 11, 2009)

Журнал зареєстрований в міжнародних наукометричних базах «Російський Індекс Научного Цитування» (РИНЦ, Росія) та Scopus (Польща)

Роботи, що представлені в цьому номері, рекомендовані до друку Вченою радою УкрНДІ медицини транспорту та Редакційною колегією журналу.

**Періодичність — 4 рази на рік
Передплатний індекс 95316**

Адреси електронної версії:

<http://aptm.org.ua/>; <http://www.medtrans.com.ua>
http://www.nbuv.gov.ua/portal/Chem_Biol/Aptm/texts.html

© Науковий журнал „АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ТРАНСПОРТНОЇ МЕДИЦИНИ”, 2005 р.

Подписано в печать 30.03.2015 г. Гарнитура Pragmatica. Формат 64x90/8. Печать офсетная. Усл. печ. лист. 17,2. Отпечатано с готового макета в типографії "ART-V". г. Одеса, ул. Комитетская, 24А.

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ТРАНСПОРТНОЙ МЕДИЦИНЫ:

окружающая среда; профессиональное здоровье; патология

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Украинского научно-исследовательского
института медицины транспорта
Министерства здравоохранения Украины и
Физико-химического института
им. А.В.Богатского Национальной академии
наук Украины

№ 1 (39), 2015 г.

Основан в августе 2005 г.



Содержание:		Content:
Обзорные статьи	7	Review Articles
НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ ГИПОТЕЗЫ В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ АУТИЗМА — <i>Шафран Л.М.</i>	7	NEUROTOXIC HYPOTHESES IN THE PATHOGENESIS OF AUTISM — <i>Shafran L.M.</i>
БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВЫХ ВОД — <i>Квасневская Н.Ф., Лебедева Т.Л., Бадюк Н.С., Гоженко А.И.</i>	24	BIOASSAY IN THE ASSESSING OF DRINKING WATER QUALITY — <i>Kvasnevskaya N.F., Lebedeva T.L., Baduk N.S., Gozhenko A.I.</i>
Гигиена, эпидемиология, экология	36	Hygiene, Epidemiology, Ecology
ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НАСЕЛЕНИЯ УКРАИНСКОГО ПРИДУНАВЬЯ: К АНАЛИЗУ ВКЛАДА ВОДНОГО ФАКТОРА — <i>Ковальчук Л.Й., Мокиенко А.В., Садкова, А.Б., Тарасюк Е.Ф., Закусило В.Н.</i>	36	CHARACTERISTICS OF INTESTINAL INFECTIONS IN UKRAINIAN DANUBE POPULATION: TO THE ANALYSIS OF WATER FACTOR CONTRIBUTION — <i>Kovalchuk L.Y., Mokienko A.V., Sadkova A.B., Tarasyuk E.F., Zakusilo V.N.</i>
РОЛЬ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА В БЕЗОПАСНОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ МОРСКИХ ТАНКЕРОВ — <i>Голикова В.В.</i>	46	THE HUMAN FACTOR IN THE SAFE EXPLOITATION OF THE SEA TANKERS — <i>Golikova V.V.</i>
ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ТРУДА ВОДИТЕЛЕЙ АВТОПОЕЗДОВ И РАБОЧИХ МАСЛОЭКСТРАКЦИОННЫХ ЗАВОДОВ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С ФУМИГИРОВАННЫМИ ЗЕРНОВЫМИ ГРУЗАМИ — <i>Сидоренко С.Г.</i>	59	HYGIENIC ASSESSMENT OF WORKING CONDITIONS OF TRAINS DRIVERS AND OIL EXTRACTION PLANT WORKERS IN CONTACT WITH FUMIGATED GRAIN CARGOES — <i>Sidorenko S.G.</i>
АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХОДІВ В ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАКЛАДАХ — <i>Морозова Н.С., Рідний С.В., Попов О.О., Грицай І.М., Дехтярь О.В., Коробкова І.В.</i>	72	ACTUAL PROBLEMS OF IMPROVING THE EFFECTIVENESS OF DISINFECTION MEASURES IN HEALTH CARE FACILITIES. — <i>Morozova N.S., Ridnyj S.V., Popov A.A., Gritsay I.M., Dekhtyar A.V., Korobkova I.V.</i>

Содержание:		Content:
ОБГРУНТУВАННЯ ГРАНИЧНО ДОПУСТИМОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ (ГДК) ПРЕПАРАТУ «АКУМЕР» (ПОЛІМЕРУ АКРИЛОВОЇ КИСЛОТИ) ДЛЯ ВОДНИХ ОБ'ЄКТІВ РИБОГОСПОДАРСЬКОГО ВОДОКОРИСТУВАННЯ — <i>Третьякова О.В.</i>	77	MAXIMUM ALLOWED CONCENTRATION (MAC) OF THE SYNTHETIC INDUSTRIAL DETERGENT “AKUMER” (ACRYLIC ACID POLYMER) JUSTIFICATION FOR FISHERY WATER BODIES USE — <i>Tretyakova E.V.</i>
Клинические аспекты медицины транспорта	84	Clinical Aspects of Transport Medicine
КОМПЛЕКСНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ ОСНОВНИХ РЕГУЛЯТОРНИХ СИСТЕМ ТА ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСУ У ВАГІТНИХ З ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ЛЕГЕНЬ, ОБТЯЖЕНИМ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ — <i>Задорожний О.А.</i>	84	THE COMPLEX DESCRIPTION OF THE BASIC REGULATORY SYSTEMS AND OF FETOPLACENTAL COMPLEX IN PREGNANT WOMEN WITH PULMONARY TUBERCULOSIS, BURDENED WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA — <i>Zadorozhniy O.A.</i>
ЕФЕКТИВНІСТЬ ПІПОГОМОЦИСТЕЇНЕМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ — <i>Пристапа Л.Н., Атаман Ю.О., Грек А.В., Жаркова А.В., Сусол Ю.М.</i>	91	EFFICIENCY OF HYPOHOMOCYSTEINEMIC THERAPY IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME — <i>Prystupa L.N., Ataman Yu.A., Grek A.V., Zharkova A.V., Susol Yu.M.</i>
ПІСЛЯРЕАНІМАЦІЙНА ХВОРОБА У ПАЦІЄНТІВ, КОТРІ ПЕРЕНЕСЛИ ГОСТРІ ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ — <i>Тещук В.Й., Тещук В.В., Скочко С.П.</i>	96	POSTRESUSCITATIVE DISEASE IN PATIENTS WHO HAVE SUFFERED ACUTE-ON VIOLATIONS OF CEREBRAL CIRCULATION — <i>Teschuk V.I., Teschuk V.V., Skochko S.P.</i>
Экспериментальные исследования	112	The Experimental Researches
МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗКОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА H9N2, ВЫДЕЛЕННЫХ В ИЗРАИЛЕ — <i>Тендлер Е., Голендер Н., Шкода И., Драбкин М., Лапин К., Паншин А.</i>	112	MOLECULAR AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LOW-PATHOGENIC H9N2 INFLUENZA VIRUSES ISOLATED IN ISRAEL — <i>Tendler Ye.*, Golender N., Shkoda I., Drabkin M., Lapin K., Panshin A.</i>
ФАРМАКОКИНЕТИКА 14С-ЕТИЛОВОГО ЭСТЕРУ ИБУПРОФЕНУ ЗА УМОВ ЙОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ — <i>Кравченко І.А., Александрова О.І., Кірева М.В.</i>	137	PHARMACOKINETICS OF ORALLY ADMINISTERED 14C-IBUPROFEN ETHYL ESTER — <i>Kravchenko I.A., Aleksandrova A.I., Kiryeva M.V.</i>
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОЖИРОВЫЕ РАЦИОНЫ — <i>Васюк В.Л., Гоженко А.И., Левицкий А.П.</i>	142	BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE LIVER STATE OF RATS RECEIVED A HIGH-FAT DIET — <i>Vasyuk V.L., Gozhenko A.I., Levitsky A.P.</i>

<u>Содержание:</u>		<u>Content:</u>
ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КОМПЛЕКСА БИОАНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ФЛЮОРОЗЕ — <i>Цебржинский О.И.</i>	149	THE PROTECTIVE EFFECT OF COMPLEX BIOANTIOXIDANTS WITH FLUOROSIS — <i>Tsebrzhinsky O.I.</i>
РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ГРИППЕ — <i>Дивоча В.А.</i>	154	DEVELOPMENT OF A NEW ANTIVIRAL MEDICATION FOR THE GRIPPE — <i>Divocha V.A.</i>
ВЗАИМОСВЯЗЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЧЕЧНОГО РЕЗЕРВА И СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА — <i>Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Шухтин В.В., Бобрик Л.М., Гоженко А.И.</i>	161	A CORRELATION BETWEEN THE RENAL FUNCTIONAL RESERVE AND GLOMERULAR FILTRATION RATE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES — <i>Kuznetsova E.S., Kuznetsov S.G., Bobryk L.M., Shukhtin V.V., Gozhenko A.I.</i>
МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АЛЬФА-ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ ЗА УМОВ ПІДГОСТРОГО ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ДЕКАЕДРИЧНОЇ ФОРМИ — <i>Андрійчук Н.Й.</i>	167	MORPHOMETRIC ANALYSIS OF PROTECTIVE EFFECT OF ALPHA LIPOIC ACID UNDER CONDITIONS OF SUBACUTE EFFECT OF DECAHEDRON SILVER NANOPARTICLES — <i>Andriychuk N.I.</i>
Рецензии	173	Reviews
ПАТОЛОГИЯ КЛЕТКИ КАК ОСНОВА ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА: СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД — <i>Шафран Л.М.</i>	173	CELL PATHOLOGY AS A BASIS FOR HUMAN DISEASES: SYSTEMS APPROACH — <i>Shafran L.M.</i>
Наши поздравления!	175	Our Congratulations!
К 75-ЛЕТИЮ ВРАЧА, МОРЯКА, УЧЁНОГО (юбилей Е.П.Белоброва)	175	75th ANNIVERSARY OF DOCTOR, SAILOR AND SCIENTIST (E.P.Belobrov's Jubilee)
Правила для авторов	178	Rules for Authors

УДК 616.89-008.485-02:616.8-09

НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ ГИПОТЕЗЫ В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ АУТИЗМА

Шафран Л.М.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса; shafranlm@rambler.ru

Аутизм является собирательным понятием, под которым понимается нарушение развития нервной системы преимущественно в пренатальном, постнатальном периоде и в детском возрасте. В соответствии с принятыми международными требованиями (DSM-V — 2013) диагноз аутизма и расстройств аутистического спектра (ASD) ставится на основе наличия трех категорий психопатологических признаков: нарушений социального взаимодействия, снижения коммуникативности и стереотипности поведения. При этом имеющиеся многочисленные генетические, биохимические и морфофизиологические маркеры используются лишь как вспомогательные, что аргументируется отсутствием надежных и доступных лабораторных тестов. Проведенный мета-анализ данных литературы и материалы собственных исследований подтвердили наличие существенного вклада в этиопатогенез аутизма генетических и экологических факторов. Причем, роль тяжелых металлов прослеживается достаточно четко, а ее доказательность аргументируется не только результатами мониторинга экспозиции, но и наличием характерных паттернов нарушения развития и функционирования нервной системы, прежде всего, со стороны нейротрансмиттеров, синапсов, нейро-эндокринных дизрапторных эффектов. Это позволяет рассматривать аутизм и ASD в значительном ряде случаев как проявление лежащих в их основе металлонеуротоксикозов. Последние по своему генезу представляют весьма наглядный и убедительный пример дизрегуляционной патологии. На основе сделанных обобщений предлагается проведение дальнейших комплексных исследований, которые позволят интегрировать накопленную разрозненную информацию об этом, принявшем эпидемический характер, виде патологии и использовать полученные знания для уточнения существующей классификации, ранней и дифференциальной диагностики, повышения степени доказательности проводимых лечебных терапевтических и восстановительных психологических мероприятий.

Ключевые слова: аутизм, микроэлементы, нейротоксичность, геномная диагностика.

Введение

“Информационное общество” XXI столетия – это и всеобъемлющий научно-технический прогресс, и глобальный информационный стресс [1, 2]. Всеобщая информатизация и компьютеризация, телекоммуникации, интернет, достижения мобильной связи не только кардинально изменили все сферы и формы жизнедеятельности населения, но и оказали существенное негативное влияние на его наименее подготовленную и наиболее уязвимую категорию – детей и

подростков [3, 4]. Интенсивное развитие информационных технологий, их широкое применение в промышленности, на транспорте, в военной и других сферах профессиональной деятельности привели к трансформации концептуальных и методических основ общего и специального образования, вызвали повышение нагрузки на психофизиологический статус учащегося, процессы формирования и развития психики, одновременно повысив не только количественные показатели статистики нейропсихологических,

поведенческих отклонений и расстройств, но и социальной составляющей процесса развития ребенка, проявляющейся прежде всего в характере взаимосвязей в ходе общения, взаимодействия и обучения [5, 6].

Важными особенностями сложившейся ситуации являются такие, как:

- наибольшая уязвимость к действию рассматриваемых факторов детского и юношеского контингентов населения в критические периоды жизни: внутриутробного развития плода, возраст 1-3, 5-7 и 13-19 лет;

- этиологическая гетерогенность наблюдаемых с преобладанием генетической, социально-экологической составляющих либо их сочетания;

- патогенетический полиморфизм с выраженными индивидуальными особенностями в проявлениях поведенческих, психологических, физиологических, морфологических и метаболических механизмов, качественных и количественных признаков, паттернов и маркеров, что затрудняет выявление наиболее типичных и релевантных индикаторов заболевания;

- широта и разнообразие временных и пространственных границ, наличие изменений морфофункционального состояния на уровне генов, клетки, организма и личности;

- профессиональная разобщенность специалистов в постановке диагноза, выборе средств и методов терапевтического, психологического, социального воздействия в периоды высокой активности, ремиссии, выздоровления.

Среди основных следствий этого процесса в контексте данной работы необходимо выделить такие, как смещение доминанты в патологических нарушениях здоровья населения от соматических к психосоматическим и собственно психологическим (клинической психологии), а также рост разнообразия видов, форм, психофизиологических и поведенческих паттернов такого рода фун-

кциональных изменений, среди которых одним из наиболее типичных и предствительных является **аутизм**.

1. Аутизм как социально значимое эпидемическое явление (элементы исторического экскурса)

Термин «аутизм» (А) был введен в психиатрию в начале 20-го столетия Е. Bleuler [7, 8] для характеристики наблюдаемых у больных шизофренией признаков замкнутости, немотивированного ухода в себя, отрыва от реальности упорного и длительного отказа от контактов с внешним миром, отрыва от реальности с наличием своей внутренней жизни, особого мира грез и фантазий. Автор усмотрел в патологической замкнутости явление фундаментальное, не обусловленное другими психическими расстройствами. В этом проявились глубина и продуктивность его наблюдения [9]. Это был **первый этап** изучения аутизма, когда данное понятие в основном ассоциировалось с диагнозом шизофрении.

Позже, в результате дальнейшей разработки проблемы А, наблюдениями были выявлены характерные признаки, присутствующие в клинической картине и других болезнях, таких как маниакально-депрессивный психоз, шизоидная психопатия, ряд истерических и аффективных расстройств. Аутистические элементы в разных сочетаниях и степени выраженности стали обнаруживаться чаще и вошли в практику клинической психиатрии, стали широко использоваться применительно не только к шизофрении, но и к другим патологическим состояниям [10-12].

Началом принципиально нового, **второго этапа**, следует считать появление работ детских психиатров – L. Kanner [13] и G. Asperger [14], в которых был описан А как самостоятельная полиэтиологическая болезнь, не родственная классическим эндогенным психозам. Они, как справедливо подчеркивает Г.М. Назлоян [9], сумели радикально отделить А не только от шизофрении и сделать

приложимым к другим, в том числе и органическим расстройствам, но и поставить вопрос о более широком понятии аутизма как такового, выходящего за рамки клинической психиатрии вплоть до практически здоровых детей. При этом исследователи раннего детского аутизма прагматически отказались от понятия аутистического мышления, оставив за рассматриваемым феноменом прежде всего функцию нарушения контактов пациента с внешним миром. Такой человек «живет в своем личном мире; болезненно реагирует на прикосновения; беспричинно, как многие считают, плачет; не спит, якобы плохо сообщает и не способен к обучению. Он не смотрит в глаза собеседника и воспринимает мир в непонятном нам измерении» [15]. Долгие годы такие люди (особенно дети) считались умственно отсталыми, однако по мере того как они вырастали, становилось ясно, что многие из них — талантливы, неординарно мыслящие и имеющие оригинальные подходы к решению сложных задач [16].

В патологии это привело к углубленному изучению генетических основ таких видов заболеваний [17], а в психологии, социологии, педагогике — признанию важности сочетания индивидуальных технологий в работе по воспитанию молодежи с необходимостью социальной интеграции и применения средств повышения позитивной, социально направленной коммуникабельности детей и подростков [18].

В 50-х годах прошлого века страдающих аутизмом детей и взрослых были зарегистрированы единицы, в 80-х — уже у одного из 2500 детей устанавливался этот диагноз, в 90-х — у одного из 350, сейчас — у одного из 150 и чаще [19]. Как показали С. Rice et al. [20], у 17 % детей и подростков США в возрасте до 18 лет наблюдаются разнообразные нарушения процесса развития (DDs — *developmental disabilities* в английской терминологии). Они характеризуются функциональными сдвигами в физичес-

кой, умственной, психологической, сенсорной, адаптивной сферах [21]. В Южной Корее таких встречается в соотношении 1 из 38 обследованных детей [22], а в Китае их может быть порядка 10-20 миллионов [23]. В то же время число специализированных центров в стране, по мнению авторов, явно недостаточно (267 на страну с почти полуторамиллиардным населением).

Причины DDs у большинства детей остаются неизвестны. Однако накопленный в течение последних десятилетий эпидемиологический, клинический материал, результаты психологических и социально-психологических исследований, а также успешные попытки экспериментального моделирования на лабораторных животных позволили существенно продвинуться в изучении проблемы аутизма. По мере того, как наши знания об этом виде патологии расширяются, общее представление об этом состоянии, вызывающих его причинах и сущности претерпевает существенные изменения. Удалось перейти на новый содержательный уровень, признать множественный, гетерогенный по этиологическим, патогенетическим, клиническим признакам, характер объединенных этим интегральным термином видов патологии, пограничных состояний и функциональных нарушений.

Мы поддерживаем доминирующее в настоящее время положение о полиэтиологическом происхождении, структурно-функциональной гетерогенности и даже множественном характере объединяемых понятием «аутизм» видов психофизиологических состояний и патологических нарушений вплоть до самостоятельных видов патологии (от симптомов, синдромов до нозологических форм) [24]. При этом следует напомнить, что еще в 1979 году интенсивно работающие по проблеме А исследователи Lorna Wing & Judith Gould [25] провели эпидемиологическое обследование аутичных детей и детей с умственной отсталостью и ввели термин “нарушения аутистического

спектра» (*autism spectrum disorders* — ASD в английской терминологии). Понятие получило дальнейшее развитие не только в последующих работах авторов, но и многих других исследователей [26-28]. Оно также нашло отражение в наиболее авторитетных международных классификационных документах. К ним безусловно относится «Диагностическая классификация нарушений психического здоровья и развития в младенчестве и раннем детстве», четвертое издание которого (DSM-IV) вышло в 1994 году [29], а его новый вариант DSM-V — в 2013 г. [30]. Согласно предложенной классификации и в соответствии с Международной классификацией болезней (МКБ-10) [31] в перечень связанных с аутизмом психических расстройств входят 28 позиций. Для постановки диагноза «аутизм» согласно этим документам необходимо, чтобы пациент проявлял аутичные симптомы в трех основных сферах: социальное взаимодействие, коммуникация и стереотипность поведения. Однако, количество симптомов, необходимых для постановки диагноза, по сравнению с предыдущими изданиями, сократилось с 16 до 12, что сделало эту диагностическую категорию более однородной. Уже в ДСС-IV также были добавлены диагностические критерии для трех близких аутизму видов нарушений: синдромов Ретта [32], Аспергера [33] и «Распространенных нарушений развития, если не указано иное» (“Pervasive Developmental Disorder Not Otherwise Specified” — PDD-NOS) [34]. Документ предусматривает обязательное выяснение в ходе комплексного обследования ребенка особенностей конституции и степени зрелости путем оценки его сенсорных, аффективных, моторных, речевых и когнитивных возможностей. Одновременно предусмотрена оценка психосоциальных стрессоров, уровня функционального эмоционального развития, сопутствующих соматических, неврологических и психических расстройств, диагностируемых по другим классификациям, в первую очередь, МКБ-10 [31].

Таким образом, гетерогенность понятия «аутизм» и его отличия от классических психических заболеваний были официально закреплены международным медицинским сообществом. Именно эпидемический характер, который приобрел аутизм с 90-х годов 20-го столетия ознаменовал **начало третьего этапа** в истории изучения данного вида патологии. В то же время следует констатировать, что в большинстве случаев исследования по различным аспектам А (генетика, нейробиохимия, токсикология, психология, клиника и т.д.) оставались довольно-таки не связанными друг с другом [35]. И поэтому «проблема аутизма все еще остается похожей на историю о слепых и слоне: слепые касались различных частей слона, и каждый давал свое описание животного: различных животных оказалось столько, сколько было слепых людей». Проблема аутизма и родственных состояний становится все более актуальной и даже ее инициальные аспекты требуют внимательного рассмотрения и комплексного изучения.

2. Трудности определения понятия, нозологический полиморфизм и гетерогенность феномена аутизма

Попытки раскрытия патогенетических механизмов развития А нашли отражение в исследованиях последних лет, в которых, в частности, отстаивается позиция, что «аутизм – явление многослойное, комплекс симптомов и нарушений в разных системах и биохимических процессах в организме» [36] или же аутизм рассматривается как «совокупность сложных нейробиологических дисфункций, возникающих вследствие прежде всего нарушения развития головного мозга, которые в итоге формируют тяжелое психическое расстройство с крайними формами самоизоляции» [37].

Превалирование медико-психологической составляющей и ее клинических паттернов в диагностике, дифференцировании, прогнозировании течения и вероятных исходов ASD у детей и взрослых делает эти задачи трудными, в из-

вестной мере ситуативными, с высокой степенью неопределенности. Даже в «Диагностическом и статистическом руководстве по психическим расстройствам» (DSM-IV) [29] критерии для установления диагноза PDD-NOS (Pervasive Developmental Disorder-Not Otherwise Specified) излагаются, к сожалению, лишь в одном пункте, согласно которому «эта категория должна использоваться, когда имеются серьезные и широко распространенные изменения в развитии социального взаимодействия, связанного с нарушением вербальных или невербальных навыков общения или с наличием стереотипного поведения, интересов и деятельности, но критерии не укладываются в патологические расстройства личности, характерные, например, для шизофрении».

Поэтому, не случайно, среди почти 30 тысяч доступных в библиографических базах данных публикаций наиболее важное место занимают работы с попытками объективизировать этот процесс путем проведения соответствующей лабораторной диагностики. Это и понятно, поскольку ключевой позицией для постановки диагноза, дифференциации множественных, гетерогенных по этиологии и патогенетическим механизмам, форм ASD, построения наиболее эффективных индивидуально ориентированных и социально детерминированных лечебных программ, является поиск адекватных паттернов, достаточно специфических, информативных и высокочувствительных маркеров А у детей и взрослого населения.

Такие исследования проводятся преимущественно в двух направлениях: 1. В связи с признанием наличия у значительной части аутистической патологии генетического компонента, проводятся интенсивные исследования и делаются настойчивые попытки расшифровки генетических механизмов аутизма и установления причинно-следственных взаимосвязей между изменениями наследственной информации на разных

уровнях и в различных компонентах генома [38, 39]. 2. Большое количество открываемых в последнее десятилетие показателей и признаков метаболических и функциональных нарушений у больных аутизмом придает определенный стимул попыткам использовать соответствующие паттерны в качестве биомаркеров указанных видов патологии [40-42]. Необходимо хотя бы кратко обозначить эти направления.

3. Генетические исследования при аутизме

Проведенные за последние 30 лет исследования существенно изменили и дополнили предложенные ранее концепции этиопатогенеза А. Сейчас данная патология уже не рассматривается как тип психоза шизофренического или какого-то иного генеза, или только как результат неблагоприятного психологического окружения [43]. Стало практически общепризнанным фактом, что расстройства аутистического спектра (ASD) являются сложным и гетерогенным по этиологии и патогенезу комплексом патологических состояний и синдромов, характеризующихся прежде всего нарушениями развития нервной системы, которые в настоящее время становятся диагнозом исключительно на основе обнаруженных в ходе психофизиологического обследования отклонений от принятых норм в вербальных функциях, аномальных проявлениях социального развития и навыков, а также стереотипных формах поведения.

Признание ведущей роли генетических факторов в развитии наблюдаемых при ASD нейрофизиологических и поведенческих нарушений поставило перед исследователями ряд сложных вопросов, среди которых доминирующими являются такие, как установление ответственных за наблюдаемые нарушения генов, топологии и характера происходящих в них мутаций, взаимосвязей сопричастных генов между собой, спектра посттранскрипционных изменений, их динамики и лежащих в их основе ме-

ханизмов. Важнейшим для клиницистов вопросом является также использование конкретных генетических маркеров в ранней диагностике А и разработка на этой основе адекватных и эффективных мер лечения и профилактики ASD.

Показано, что около 90 % генов высокого риска А определяют уровень индукции синтеза структурных и метаболитических белков и раннего созревания нейробластов. Кроме того, 80 % этих же генов влияют на последующие этапы дифференциации, в том числе созревание нейронов, установление межнейронных связей и синаптогенез [44]. Из 15 генов, входящих в патологическую интерактивную сеть, объединяющую психологические и генетические признаки ASD, у части обследованных была нарушена экспрессия гена AANAT, ответственного за синтез фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы, которая участвует в индукции регулирующего процесс сна гормона мелатонина [44, 45]. Другой ген (DPYD) ответственен за продукцию дигидропиримидиндегидрогеназы – фермента, дефицит которого приводит к умственной отсталости и приступам эпилепсии. Оба фермента интересны в диагностическом и лечебном плане у больных с разными формами А [46].

Третий, причастный к ASD ген, обеспечивает обмен ретиноевой кислоты, а его нарушения приводят к блокированию альфа-орфанорецептора ретиноевой кислоты, с нарушениями (как и в двух первых случаях) циркадных ритмов в регуляции ВНД [47, 48]. Приведенные примеры связаны с мутациями хромосом 7q and 13q в процессе развития нервной системы, а полиморфизм конкретных генов проявляется в типичных для А поведенческих актах, что характерно для генетически обусловленных психологических признаков ASD.

В частности, имеют место существенные различия в организации транскриптома аутистического и нормального мозга, открываемые с помощью сетево-

го анализа генной коэкспрессии [49]. При этом, как правило, основные изменения наблюдаются в лобной и височной коре, со значительным ослаблением в мозге детей с ASD, предполагая наличие отклонений и в корковом рисунке. Кроме того, определены связанные с аутизмом дискретные модули совместной экспрессии генов, в том числе специфического фактора сплайсинга A2BP1 / fox1 нейронов и модуля, обогащенного по иммунным генам и глиальным маркерам [50]. Нарушения регуляции сплайсинга A2BP1 зависят от альтернативных экзонов пораженного ASD мозга.

В целом, исследования последних лет дают веские доказательства наличия генетически обусловленных молекулярных нарушений при ASD, вовлечение процессов транскрипции и сплайсинга, изменений функциональной организации транскриптома головного мозга в качестве основных механизмов дизрегуляции и дисфункции нейронов при этих видах патологии.

Предполагается, что образующиеся генные продукты обладают длительным последствием на развитие клеток, а также вносят элементы избыточности в процессы нервной пролиферации, роста и созревания клеток [51]. Поэтому большинство авторов в качестве основной задачи дальнейших исследований выдвигает валидизацию, углубление и развитие существующих представлений о причинных фенотипических и эпигенетических механизмах тех аномальных нейрохимических и патофизиологических процессов, проявлением которых являются психологические и клинические черты аутизма [35, 52].

Следует, однако, подчеркнуть, что сегодня об определенной этиологии заболевания на основании генетических исследований можно говорить лишь применительно к не более чем 15 % — 20 % детей, страдающих аутизмом; в остальных же 80 % и более случаев причины остаются неизвестными [53]. Тем не менее, роль генетических исследований в диаг-

ностике А и ASD постоянно возрастает благодаря широкому внедрению в практику геномного анализа, биоинформационных технологий и методов микроанализа [54]. Ставится вопрос о том, что цитогенетические и молекулярно-цитогенетические исследования матерей и детей с признаками А должны рассматриваться как обязательные для выявления возможных генетических причин заболевания и для генетического консультирования семей, в которых имеются дети с аутистическими расстройствами [55].

В этой связи, следует безусловно согласиться с позицией Valerie W. Hu [52], что без генетических и молекулярных маркеров для скрининга этот вид патологии, как правило, и не может диагностироваться в возрасте до 2 лет, а в более легких случаях диагноз может быть поставлен только гораздо позже. В перспективе, генетические предпосылки А могут быть выявлены в группе риска еще в перинатальном периоде. Поэтому исследования в данном направлении обусловлены прежде всего медицинской необходимостью.

Диагностировать ASD необходимо оперативно. Однако, как справедливо подчеркивают Muhle R. et al. [43], генетические консультации и тестирование оправданы лишь в тех случаях, когда речь идет о моногенных дефектах (например, у лиц с мутациями гена, ответственного за синтез метил-СрG-связывающего белка 2 (MeCP2) гена при синдроме Ретта). До тех пор, пока гены аутизма не выявлены и их функции не поняты, пренатальная диагностика будет существовать только для выявления ожидаемых или явных хромосомных дефектов.

Хромосомные аномалии, мутации в одном или небольшой группе генов, как и связанные с ними виды патологии, такие как синдром Жубера и другие ольфакторно-фациально-дигитальные синдромы (*Orofaciodigital syndromes* – OFD) [56], синдром Ретта и другие проявления синдрома ломкой X хромосомы

(*Fragile X Syndrome* — FXS) [57] могут приводить к А, однако каждый из них не превышает по частоте встречаемости 2 % всех случаев ASD, а их сумма не превышает 10 % от общего числа случаев А [42, 43]. Идиопатический аутизм, синдром Аспергера, PDD-NOS не связаны с какой-либо одной конкретной генетической или негенетической причиной [58]. Гетерогенность и поликаузальность являются основными характеристиками и отличительными особенностями ASD, определяющими коэкспрессию заинтересованных генов. В частности, показано, что около 90 % генов высокого риска А влияют на индукцию синтеза структурных и метаболических белков и раннее созревание нейробластов. Кроме того, 80 % этих же генов влияет на последующие этапы дифференциации, в том числе созревание нейронов, установление межнейронных связей и синаптогенез [59].

С учетом вышеизложенного, роль генетических исследований в диагностике А и ASD постоянно возрастает благодаря широкому внедрению в практику геномного анализа, биоинформационных технологий и методов микрочипов [60-62]. Ранняя диагностика аутизма является чрезвычайно важным для лечения у детей и повышает вероятность их восстановления и возвращения в обычную социальную среду. Эта задача может быть решена путем использования микрочипов для ускоренной экспрессии генов и геномных исследований. Для этого выявляют набор наиболее важных генов, которые строго связаны с аутизмом. Предложены различные методы отбора генов, чтобы выбрать наиболее представительные входные атрибуты для ансамбля классификаторов. Набор классификаторов несет ответственность за выделение маркерных генов аутизма из опорного класса. Одновременное применение нескольких методов отбора генов позволяет анализировать даже слабо связанные с экспрессией генов матрицы с разных позиций. Результаты отбора в сочетании с генетическим алгорит-

мом и применением метода опорных векторов (англ. SVM, support vector machine) для отбора классификаторов показали увеличение точности распознавания генетических предикторов аутизма [62].

Несмотря на генетическую основу значительной части заболеваний аутистического спектра, проводимые в этом направлении интенсивные и глубокие научные исследования традиционными методами классической генетики, продолжающееся накопление конкретных данных, увеличение числа генов-кандидатов и их ассоциаций, все это, к сожалению, не приводит само по себе к решению проблемы борьбы с аутизмом [63]. Надежды исследователей связаны с внедрением «омикс»-технологий и достижениями биоинформатики, раскрытием структуры и интегративных функций генома человека. Именно такие новые подходы позволили в последние годы получать все больше доказательств того, что патологические нарушения аутистического спектра могут возникать на основе относительно редких мутаций и геномного дисбаланса. На основе тщательного мета-анализа С. Betancur [64] представила данные о 103 генах и 44 геномных локусах, достоверно выявленных у пациентов с функциональными расстройствами типа ASD или нарушениями поведения по типу аутизма. Оказалось, что, во-первых, оба эти вида нарушений развития нервной системы имеют общие генетические основы. Во-вторых, все эти гены и локусы были причинно связаны с умственной отсталостью. В-третьих, в подавляющем большинстве случаев имеет место коэкспрессия этих генов, что указывает на полимодальность фиксируемых клинических проявлений, в частности, на наличие генетической общности между ASD и эпилепсией. Автор приходит к справедливому и обоснованному выводу, что во многих случаях клиническая сущность аутизма и его поведенческие проявления являются интегрированным следствием десятков или, возможно, сотен генети-

ческих и геномных нарушений. Более широкое признание этиологической гетерогенности ASD позволит значительно расширить число генов-мишеней, используемых для последующих нейробиологических исследований и ранней диагностики ASD и аутизма.

4. Нейротоксические маркеры аутизма и ASD

До сего времени нет надежных и доступных лабораторных тестов для подтверждения диагноза аутизма [35]. Поэтому делаются многочисленные попытки определения потенциальных биомаркеров А с позиций поиска этиологических факторов, прослеживания происходящих в ходе развития заболевания патологических процессов и лежащих в их основе патогенетических механизмов, происхождения, кинетики и динамики образования и биотрансформации многочисленных метаболитов, так или иначе связанных с ASD. Это и желудочно-кишечные факторы [65], иммунные нарушения [66], тяжелые металлы (ТМ) [67], аномалии нейротрансмиттеров [68] и синаптогенеза [69], оксидативный стресс [70], как модульные характеристики измененных в результате аутистических нарушений метаболических и патофизиологических фенотипов [71].

Что объединяет эти, казалось бы, столь разнородные и, в принципе, фрагментарные позиции? Как следует из представленного материала, аутизм, как и практически все виды объединяемых в синдромы ASD, представляет патологическое состояние, проявляющееся в характерных глубоких (стойких, переходящих либо интермиттирующих) расстройствах социального, психологического и физиологического статуса ребенка либо взрослого человека. Но прежде всего ASD включает в себя фундаментальные нарушения ВНД, которые, с одной стороны, связаны с процессами переработки социально-коммуникативной информации и их отражением в эмоционально-поведенческой сфере, а с другой, отражают изменения в строго опреде-

ленных анатомических структурах мозга, сигналы которых регистрируют в современных исследованиях методом функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) [72]. Одновременно обнаруживаемые у обследованных пациентов с ASD изменения в микроциркуляторной венозной оксигенации соответствуют нейронам, ответственным за мимику лица, распознавание зрительных образов и реакции «социального мозга» (веретенообразная **затылочно-височная латеральная и нижневисочная** извилина), в то время как активность областей мозга, связанных с соматосенсорной и премоторной корой (правая миндалина, нижняя лобная кора, верхняя височная борозда), существенно снижена [72, 73]. Эти данные свидетельствуют о наличии морфофункциональных изменений нейрональной активности, микроциркуляции мозга, указывают на их взаимосвязь и единство клинических проявлений ASD с эмоционально-поведенческими и психологическими нарушениями, что является убедительным аргументом в пользу проведения комплексных междисциплинарных исследований при изучении проблемы аутизма в целом [74].

По одной из существующих на сегодня теорий, объясняющих причины нарастания эпидемии аутизма, других нейродизрегуляторных и нейродегенеративных хронических заболеваний в мире, проблема связана с экологическим кризисом, в частности, с ростом антропогенного загрязнения токсичными металлами (ТМ) окружающей среды, принявшим глобальный характер [75]. Имеющаяся информация по результатам клинических и экспериментальных исследований действительно достаточно убедительно свидетельствует о наличии признаков нейротоксичности и патологии химической этиологии в патогенезе отравлений и заболеваний, протекающих нередко по типу металлонеуропатий при профессионально и экологически обусловленной экспозиции организма различными металлами. Не случайно, как

указывает Prof. E. Koles [76], по мнению экспертов ВОЗ, с накоплением ТМ (в первую очередь Hg) связаны признаки не менее 258 различных заболеваний.

Перспективы изучения роли ртути в этиологии аутизма на клеточном уровне, по нашему мнению, наиболее четко сформулированы M. Garrecht and D.W. Austin [77]. Авторы на примере MeHg показали, что существуют и появляются все новые доказательства, подтверждающие гипотезу, что аутизм может быть следствием сочетания генетической предрасположенности и воздействия токсинов окружающей среды в критические моменты развития организма. При этом следует обратить внимание на «генетическую предрасположенность», т.е. понятие, которое указывает на потенциальную возможность развития патологического процесса, но отнюдь еще не его реализацию. Второе ключевое положение – «критические моменты развития организма». К таким безусловно относится период эмбриогенеза, когда формирующаяся нервная система особенно чувствительна к экзогенным и (подчеркиваем!) эндогенным токсическим факторам. Это существенно усложняет токсикодинамику метаболических нарушений в нервных сетях в первую очередь, на ранних стадиях развития. Вероятно, поэтому существующие традиционные схемы этого вида патологии нервной системы не согласуются с наблюдаемыми множественными (иногда даже противоположно направленными) челночными, каскадными и циклическими процессами, характеризующимися выраженной специфичностью в разных типах клеток (нейроны, астроциты, глия) и их компартаментах, по отношению к разным группам генов со сцепленными свойствами, посттрансляционным процессам в энергетической и биосинтетической составляющих, а также в разных видах обмена. В этих сложных схемах трудно выделить, а там более дифференцировано оценить, роль отдельных металлов, их констелляций и соотношений (избыток, дефицит, дисбаланс) в нарушениях не-

рвных процессов и функций, тем более, что сама оценка ведется в основном по косвенным признакам, а защитные, кор-регирующие и лечебные свойства определяются нередко *ex juvantibus* [78].

Тем не менее, в последние годы появляется все больше информации и дискуссий о потенциальном вкладе ТМ в развитие аутизма и нарушения развития нервной системы, в том числе аутистического спектра [79]. Идет интенсивный поиск новых биомаркеров вызванных ТМ нарушений, оценки степени воздействия, сопоставления эпидемиологических данных и результатов экспериментальных исследований на животных [80]. Показано, например, что метилртуть (MeHg) поступает и накапливается в организме плода при употреблении матерью в период беременности рыбы и морепродуктов с повышенным содержанием металла MeHg накапливается преимущественно в астроцитах, которые играют ключевую роль в индуцированной ею нейротоксичности по возбудительному типу [81]. Это связано с тем, что MeHg специфично ингибирует поглощение глутамата в астроцитах. Усиленная индукция возбуждения в клетках связана с синергизмом действия глутамата и ртути. Причем, дисфункция нейронов является вторичной по отношению к метаболическим и функциональным нарушениям в астроцитах. Нейротоксическое действие MeHg осуществляется преимущественно по трем механизмам: нарушение гомеостаза Ca²⁺, индукция оксидативного стресса, блокирование тиоловых групп белков и пептидов. В опытах *in vivo* и *in vitro* показано, что указанный ксенобиотик осуществляет сигнальную функцию, запуская каспазный каскад апоптоза нервных клеток [77, 82].

Нейротоксикоз усиливается при поступлении в организм других токси-кантов, относимых, в частности, к категории нейроэндокринных разрушителей (дизрапторов): пестицидов, полихлорби-фенилэфиров, полибромдифенилэфиров (последние в составе антипиренов),

органических растворителей, лекар-ственных препаратов [83-85]. Нейроэн-докринные разрушители представляют загрязняющие вещества в окружающей среде, которые способны выступать в роли агонистов / антагонистов или мо-дуляторов синтеза и / или метаболитов, участвуют в механизмах действия нейро-пептидов, нейротрансмиттеров, нейро-гормонов, синаптогенезе, которые затем изменяют разнообразные физиологичес-кие, поведенческие или гормональные процессы, психоневрологические пат-терны ЦНС и ВНС, влияют на способ-ность воспроизводить, развиваться и расти, или справиться со стрессом и других проблем [86].

Подобные исследования традици-онно проводятся применительно к упо-мянутому и другим ТМ, в том числе в нашей лаборатории [86-88]. Их необхо-димо расширить применительно к аутиз-му и ASD, направив на решение таких вопросов, как: 1. пути и клеточные ме-ханизмы воздействия ТМ при аутизме; 2. поиск примеров возможных генетичес-ких переменных, которые одновременно проявляют чувствительность к ТМ и яв-ляются маркерами аутизма; 3. роль ТМ как токсического фактора, индуцирую-щего окислительный стресс и иммунную дисрегуляцию, их потенциальный вклад в патогенез аутизма; 4. особенности суб-клеточной (митохондриальной, лизосо-мальной, нуклеарной), дифференциро-ванной нейрональной, глиальной, астро-цитарной дисфункции и их взаимосвязь со спектром аутистических нарушений; 5. возможности использования транскрип-томного и протеомного анализа в изуче-нии индукции и / или репрессии синте-за, ферментов, транспортных и других белков, ответственных за развитие ней-ротоксичности, дисрегуляторных про-цессов в пре- и постнатальном периоде, а также последующей жизнедеятельно-сти организма.

Проведенный нами по данным ли-тературы мета-анализ и результаты соб-ственных исследований показывают, что,

с одной стороны, металло-нейротоксикоз признается одним из ведущих эпигенетических факторов, инициирующим нарушения развития нервной системы в пренатальном периоде [89]. С ТМ связывают подтвержденные экспериментальными и постмортальными исследованиями генные нарушения, хромосомные aberrации, дисфункции синапсов [90]. В то же время, с другой стороны, практически не учитываются убедительные данные о роли наблюдаемых нарушений обмена эссенциальных металлов в нормальном функционировании и нарушении работы генома, транскриптома и протеома [91], дисфункциях нейротрансмиттеров и соответствующих патологических психосоматических расстройствах, хотя отдельные работы в указанных направлениях появляются в научной периодике. Так, например, показано, что дефицит цинка влечет за собой изменения в работе системы синаптических белков ProSAP1/Shank2 и ProSAP2/Shank3, а также снижении их активности в осуществлении шаперонных функций [92]. При этом одновременно манифестируют себя симптомы ASD. Снижение биодоступности Zn^{2+} по-видимому, связано с повышенной частотой развития судорог, гипотонией, нарушениями функций внимания и гиперактивностью. Как полагают Stefanie Grabrucker et al. [93], молекулярной подоплекой пренатального дефицита цинка в качестве фактора риска для больных аутизмом может быть дисрегуляция процесса связывания металла с белками — членами семейства ProSAP/Shank. Тем не менее, нельзя исключить и снижение индукции синтеза транспортных белков, в первую очередь, металлотионеинов [94], как это было показано ранее на экспериментальных моделях при экспозиции белых крыс Hg^{2+} и Cd^{2+} в нашей лаборатории [95, 96]. Эти механизмы не являются альтернативными по отношению к имеющейся информации о мутациях генов ряда постсинаптических белков, ответственных за развитие ASD (нейролигины, нейрексыны и члены семейства ProSAP/Shank, slc39a12

/ ZIP12). Последние обеспечивают жизнеспособность эмбриона и регулируют процессы развития нервной системы у плода [93]. Определенный прорыв имеет место в отношении роли Cu и Fe в физиологии и патологии ЦНС [97-99]. Однако, теоретические аспекты проблемы металлотоксикозов во взаимосвязи с развитием аутизма и ASD, возможности использования полученной информации в лечебных и профилактических целях, требуют проведения дальнейших комплексных исследований.

Выводы

1. Аутизм — это специфическое состояние, когда ребенок, а потом и взрослый, живет в своем личном мире, неадекватно воспринимая и реагируя на окружающее, плохо или вообще не вступает в коммуникации с окружающими его людьми, родителями, друзьями, учителями, проявляет слабые способности к обучению по традиционной системе оценок, иногда демонстрируя оригинальные подходы к решению сложных задач..

2. Стало практически общепризнанным фактом, что расстройства аутистического спектра (ASD) представляют сложный и гетерогенный по этиологии и патогенезу комплекс патологических состояний и синдромов, характеризующихся прежде всего нарушениями развития нервной системы, которые в настоящее время становятся диагнозом исключительно на основе данных психологического скрининга и психофизиологического обследования.

3. До сего времени нет надежных и доступных лабораторных тестов для подтверждения диагноза аутизма, хотя получены обнадеживающие результаты по генетической и геномной диагностике, число перспективных биомаркеров ASD исчисляется десятками, а их спектр охватывает практически все уровни социально-биологической организации человека.

4. Перспективным направлением эпидемиологических, клинко-физиологических и экспериментальных (молеку-

лярно-генетических, биохимических и психофизиологических) исследований является нейротоксикологическое, которое базируется на аргументируемой доказанными фактами взаимосвязи наблюдаемых при аутизме дизрегуляторных нарушений функционирования соответствующих генов, процессов синтеза белка, работы ферментов, нейротрансмиттеров, синапсов, связанных прежде всего с нарушениями гомеостаза эссенциальных и экспозицией организма в пренатальном периоде и раннем детском возрасте токсичными металлами.

5. Комплексное изучение закономерностей формирования, патогенетических механизмов развития данного вида патологии как нейротоксикоза, соотношения лежащих в его основе фенотипических и эпигенетических факторов, позволит более четко проводить диагностику заболевания, дифференцировать разные формы и виды, верифицировать тяжесть процесса, совершенствовать классификацию ASD и повысить эффективность лечебно-профилактических мероприятий.

Литература (References)

1. Информационное общество: Сб. – М.: ООО «Издательство И74 АСТ, 2004. – 507 с.
2. Бодров В.А. Психологический стресс: развитие и преодоление / В.А. Бодров. — М.: ПЕР СЭ, 2006. — 528 с.
3. Брайант Д., Томпсон С. Основы воздействия СМИ.: Пер. с англ. — М., К.: Издательский дом «Вильяме», 2004. — 432 с.
4. Морозова А.А. Медиа-безопасность в эпоху информации / Информационное поле современной России: практики и эффекты: Материалы IX Международной научно-практической конференции, 18-20 октября 2012 г. / под ред. Р.П. Баканова: в 2-х т. — Т. 1. — Казань: Казан. ун-т, 2012. — С. 280 – 287.
5. Гаврилушкина О.П. Проблемы социальной и коммуникативной компетентности дошкольников и младших школьников с трудностями в общении / О.П. Гаврилушкина, А.А. Малова, М.В. Панкратова // Современная зарубежная психология, 2012. — Т. 1. — № 2. — С. 5–16.
6. Солдаткин В.А. Концепции формирования компьютерной зависимости / В.А. Солдаткин, А.В. Дьяченко, М.Д. Чандракант // Социальная и клиническая Психиатрия. — 2013. — Т. 23. — №. 3. — С.
7. Блейер Е.А. Аутистическое мышление. — Одесса, 1928.
8. Bleuler E. Lehrbuch der psychiatrie. Uniferanderten Nachtdruck der 15. von Manfred Bleuler Bearbeiten Auflage – Berlin: J. Springer, 1983. – 705 S.
9. Назлоян Г.М. К концепции патологического одиночества / Г.М. Назлоян // Московский Психотерапевтический Журнал. — 2000. — № 2. — с. 57-58.
10. Рассел Б.А. Дети с вызывающим поведением: клиническое руководство по обследованию ребенка и тренингу родителей / Под ред. Н.Н. Заваденко. — М., 2011. — 272 с.
11. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism / S.J. Sanders, A.G. Ercan-Sencicek, V. Hus et al. // Neuron., 2011 — Vol. 70. — No. 9. — P. 863-885.
12. Lugnegerd T. Asperger syndrome and schizophrenia: Overlap of self-reported autistic traits using the Autism-spectrum Quotient (AQ) / T. Lugnegerd T¹, M.U. Hallerbdck, C. Gillberg // Nord J. Psychiatry, 2014. — No. 11. — P. 1-7.
13. Kanner L. Early infantile autism / Kanner L. / J. Pediatr., 1944/ — Vol. 25. — Iss. — 3. — P. 211-217.
14. Asperger H. Die “Autistischen Psychopathen” im Kindesalter. // Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten, 1944. — Vol. 117. — No. 9. — P. 76-136.
15. Башина В.М. Аутизм в детстве. — М.: Медицина. — 1999. — 240 с.
16. Naito K. Evaluation of the Validity of the Autism Spectrum Quotient (AQ) in Differentiating High-Functioning Autistic Spectrum Disorder from Schizophrenia / K. Naito, Y. Matsui, K. Maeda, K. Tanaka // Kobe J. Med. Sci., 2010. — Vol. 56. — No. 3. — P. E116-E124.
17. Bhat S. Autism: cause factors, early diagnosis and therapies / S. Bhat, U.R. Acharya, H. Adeli, G.M. Bairy, A. Adeli // Rev. Neurosci., 2014. — Vol. 25. — No.6. — P. 841-850.
18. Докукина Т. В. Исторический аспект психологических проблем детского аутизма

- / Т.В. Докукина, Н.К. Григорьева, Т.Н. Алыко, Н.А. Сергеева // Психическое здоровье детей и подростков. – 2014. – Т. 14. – №. 1. – С. 23-29.
19. Communication, interventions, and scientific advances in autism: a commentary / D.C.Llaneza, S.V. DeLuke, M. Batista et al. // *Physiol. Behav.*, 2010. – Vol. 100. – No. 3. – P. 268-276.
 20. Rice C. Public health monitoring of developmental disabilities with a focus on the autism spectrum disorders / C. Rice, D. Schendel, C. Cunniff, N. Doernberg // *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, 2004. – Vol.125. – Iss. 1. – P. 22-27.
 21. CDC: Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years — autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. — *MMWR Surveill. Summ.*, 2014. – Vol. 63. – P. 1–21.
 22. Kim Y.S. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample / Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, et al. // *Am. J. Psychiatry*, 2011. – Vol. 168. – Iss. 10. – P. 904–912.
 23. Statistical analysis of twenty years (1993 to 2012) of data from mainland China’s first intervention center for children with autism spectrum disorder / W.-Z. Zhou, A. Y. Ye, Z.-K. Sun et al. // *Molecular Autism*, 2014. – No. 5. – P. 52-66.
 24. Siniscalco D. Epigenetic findings in autism: new perspectives for therapy / D. Siniscalco, A. Cirillo, J.J. Bradstreet, N. Antonucci // *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2013. – Vol.10. – Iss. 9. – P. 4261-4273.
 25. Wing, L., Gould, J. (1979). Severe impairment of social interaction and associated abnormalities in children: Epidemiology and classification. *J. of Autism and Developmental Disorders*, 1979. – Vol. 9. – Iss. 1. – P. 11–29.
 26. Wing L. Autism spectrum disorders in the DSM-V: better or worse than the DSM-IV? / L. Wing, J. Gould, C. Gillberg // *Res. Dev. Disabil.*, 2011. – Vol. 32. – Iss. 2. – P. 768-773.
 27. Meyer-Lindenberg A. Introduction to topic: Autism spectrum disorders / A. Meyer-Lindenberg // *Der Nervenarzt*, 2011. – No. 5. – P. 551-552.
 28. Jeste S.S. Disentangling the heterogeneity of autism spectrum disorder through genetic findings / S.S. Jeste, D.H. Geschwind // *Nat. Rev. Neurol.*, 2014. – Vol.10. – No. 2. – P. 74-81.
 29. American Psychiatric Association: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed., text rev.)*. (DSM-IV-TR) — Washington, DC: Author; 2000.
 30. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5)* — Fifth ed. — Arlington, VA: American Psychiatric Publishing, 2013. – P. 5–25.
 31. Международная статистическая классификация болезней (10-й пересмотр – МКБ-10). Клинические описания и указания по диагностике. Под ред. Ю.Л. Нуллера. Женева, 1995. — СПб.: Оверлайд, 1995 (World Health Organization. The Tenth Revision of the International Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD — 10). — Geneva, Switzerland: WHO; 1992).
 32. Gharesouran J. First case report of Rett syndrome in the Azeri Turkish population and brief review of the literature / J. Gharesouran, A.F. Khalili, N.S. Azari, L. Vahedi // *Epilepsy Behav. Case Rep.*, 2015. – No. 3. – P.15-19.
 33. Lugnegerd T. Asperger syndrome and schizophrenia: Overlap of self-reported autistic traits using the Autism-spectrum Quotient (AQ) / T. Lugnegerd, M.U. Hallerbäck, C. Gillberg // *Nord. J. Psychiatry*, 2014. – No. 11. – P. 1-7.
 34. Is pervasive developmental disorder not otherwise specified less stable than autistic disorder? A meta-analysis / E. Rondeau, L.S. Klein, A. Masse et al. // *J. Autism Dev. Disord.*, 2011. – Vol. 41. – Iss. 9. – P. 1267-1276.
 35. Wang L. A review of candidate urinary biomarkers for autism spectrum disorder / L. Wang, M.T. Angley, J.P. Gerber, M.J. Sorich // *Biomarkers*, 2011. – Vol.16. – No. 7. – P. 537-552.
 36. Симашкова Н.В. Атипичный аутизм в детском возрасте: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 2006. — 44 с.
 37. Fletcher-Watson S. Interventions based on the Theory of Mind cognitive model for autism spectrum disorder (ASD) / S. Fletcher-Watson, F. McConnell, E. Manola, H. McConachie // *Cochrane Database Syst. Rev.*, Published by John Wiley & Sons, Ltd., 2014. – 80 p.
 38. Geschwind D.H. Autism: Many Genes, Common Pathways? / D.H. Geschwind // *Cell*, 2008. – Vol. 135. – Iss. 3. – P. 391–395.
 39. Miles J.H. Autism spectrum disorders — a

- genetics review / Miles J.H. // *Genet Med.*, 2011. — Vol. 13. — Iss. 4. — P. 278-294.
40. Palmieri L. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: cause or effect? / L. Palmieri, A.M. Persico // *Biochim. Biophys. Acta*, 2010. — Vol. 1797. — No. 6-7. — P. 1130-1137.
41. Naviaux R.K. Metabolic features of the cell danger response / R.K. Naviaux // *Mitochondrion*, 2014. — Vol. 16. — No. 1. — P. 7-17.
42. The need for a comprehensive molecular characterization of autism spectrum disorders / Broek J.A., Brombacher E., Stelzhammer V. et al. // *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 2014. — Vol. 17. — No. 4. — P. 651-673.
43. Muhle R. The genetics of autism / R. Muhle, S.V. Trentacoste, I. Rapin // *Pediatrics*, 2004. — Vol. 113. — No. 5. — P. e472-486.
44. Abrahams B.S. Connecting Genes to Brain in the Autism Spectrum Disorders / B.S. Abrahams, D.H. Geschwind // *Arch. Neurol.*, 2010. — Vol. 67. — Iss. 4. — P. 395-399.
45. Rossignol D.A. Melatonin in autism spectrum disorders / D.A. Rossignol, R.E. Frye // *Curr. Clin. Pharmacol.*, 2014. — Vol. 9. — No. 4. — P. 326-334.
46. Chromosome 1p21.3 microdeletions comprising DPYD and MIR137 are associated with intellectual disability / M.H. Willemsen, A. Vallius, L.A. Kirkels et al. // *J. Med. Genet.*, 2011. — Vol. 48. — No. 12. — P. 810-818.
47. Are retinoids potential therapeutic agents in disorders of social cognition including autism? / R.P. Ebstein, D. Mankuta, N. Yirmiya, F. Malavasi // *FEBS Lett.*, 2011. — Vol. 585. — Iss. 11. — P. 1529-1536.
48. Neurexin regulates visual function via mediating retinoid transport to promote rhodopsin maturation / Y. Tian, T. Li, M. Sun et al. // *Neuron*, 2013. — Vol. 77. — No. 2. — P. 311-322.
49. Prediction of autism by translation and immune/inflammation coexpressed genes in toddlers from pediatric community practices / T. Pramparo, K. Pierce, M.V. Lombardo et al. // *JAMA Psychiatry*, 2015. — Vol. 72. — Iss. 4. — P. 386-394.
50. Cytogenetic and molecular characterization of A2BP1/FOX1 as a candidate gene for autism / C.L. Martin, J.A. Duvall, Y. Ilkin et al. // *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.*, 2007. — Vol. 144 B. — Iss. 7. — P. 869-876.
51. Casanova E.L. Genetics studies indicate that neural induction and early neuronal maturation are disturbed in autism E.L. Casanova, M.F. Casanova // *Front. Cell. Neurosci.*, 2014. — Vol. 8. — P. 1-13.
52. Hu V.W. Subphenotype-dependent disease markers for diagnosis and personalized treatment of autism spectrum disorders / V.W. Hu // *Disease Markers*, 2012. — Vol. 33. — Iss. 3. — P. 277-288.
53. Schaefer G.B. Genetics evaluation for the etiologic diagnosis of autism spectrum disorders / G.B. Schaefer, N.J. Mendelsohn // *Genetics in Medicine*, 2008. — Vol. 10. — No. 1. — P. 4-12.
54. Johnson N.L. Genomics and autism spectrum disorder / N.L. Johnson, E. Giarelli, C. Lewis C., C.E. Rice // *J. Nurs Scholarsh.*, 2013. — Vol. 45. — Iss. 1. — P. 69-78.
55. Olza-Fernández I. Neuroendocrinology of childbirth and mother-child attachment: the basis of an etiopathogenic model of perinatal neurobiological disorders / I. Olza-Fernández, M.A. Gabriel, A. Gil-Sanchez, L.M. Garcia-Segura, M.A. Arevalo // *Front. Neuroendocrinol.*, 2014. — Vol. 35. — No. 4. — P. 459-472.
56. Detailed clinical, genetic and neuroimaging characterization of OFD VI syndrome / V. Darmency-Stamboul, L. Burglen, E. Lopez et al. // *Eur. J. Med. Genet.*, 2013. — Vol. 56. — No. 6. — P. 301-308.
57. Fragile x syndrome / Saldarriaga W., Tassone F., González-Teshima L.Y. et al. // *Colomb. Med. (Cali)*, 2014. — Vol. 45. — Iss. 4. — P. 190-198.
58. Santangelo S.L. What is known about autism: genes, brain, and behavior / S.L. Santangelo, K. Tsatsanis // *Am. J. Pharmacogenomics*, 2005. — Vol. 5. — Iss. 2. — P. 71-92.
59. Li X. Genes associated with autism spectrum disorder / X. Li, H. Zou, W.T. Brown // *Brain Res. Bull.*, 2012. — Vol. 88. — Iss. 6. — P. 543-552.
60. Whole-genome sequencing of quartet families with autism spectrum disorder / R.K. Yuen, B. Thiruvahindrapuram, D. Merico et al. // *Nat. Med.*, 2015. — Vol. 21. — No. 2. — P. 185-191.
61. Rapid identification of PAX2/5/8 direct downstream targets in the otic vesicle by combinatorial use of bioinformatics tools / M. Ramialison, B. Bajoghli, N. Aghaallaei et al. // *Genome Biology*, 2008. — Vol. 9. — P. R145-R156.
62. Latkowski T. Computerized system for

- recognition of autism on the basis of gene expression microarray data / T. Latkowski, S. Osowski // *Comput. Biol. Med.*, 2015. – Vol. 56. – No. 1. – P. 82-88.
63. Bacchelli E. Autism spectrum disorders: molecular genetic advances / E. Bacchelli, E. Maestrini // *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, 2006. – Vol.142C. Iss.1. – P. 13-23.
 64. Betancur C. Etiological heterogeneity in autism spectrum disorders: more than 100 genetic and genomic disorders and still counting / C. Betancur // *Brain Res.*, 2011. – Vol. 1380. – No. 1. – P. 42-77.
 65. Evaluation, Diagnosis, and Treatment of Gastrointestinal Disorders in Individuals With ASDs: A Consensus Report / T. Buie, D.B. Campbell, G.J. Fuchs 3rd, et al. // *Pediatrics*, 2010. – Vol. 125. — Suppl.1. – P. S1–18.
 66. Stigler K.A. Autism and immune factors: A comprehensive review / K.A. Stigler, T.L. Sweeten, D.J. Posey, C.J. McDougle // *Res. Autism Spect. Dis.*, 2009. – Vol. 3. — No. 9. – P. 840–860.
 67. Blaurock-Busch E. Heavy Metals and Trace Elements in Hair and Urine of a Sample of Arab Children with Autistic Spectrum Disorder / E. Blaurock-Busch, O.R. Amin, T. Rabah // *Maedica. A Journal of Clinical Medicine*, 2011. – Vol. 6. — No. 4. — P. 247-258.
 68. GABA and glutamate pathways are spatially and developmentally affected in the brain of Mecp2-deficient mice / R. El-Khoury, N. Panayotis, V. Matagne et al. // *PLoS One*, 2014. – Vol. 9. – No. 3. – 15 p. e92169. doi: 10.1371/journal.pone. 0092169
 69. Autism-associated mutation inhibits protein kinase C-mediated neuroligin-4X enhancement of excitatory synapses / M.A. Bemben, Q.A. Nguyen, T. Wang et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2015. – Vol. 112. – Iss. 8. – P. 2551-2556.
 70. Sajdel-Sulkowska E.M. Brain region-specific changes in oxidative stress and neurotrophin levels in autism spectrum disorders (ASD) / E.M. Sajdel-Sulkowska, M. Xu, W. McGinnis, N. Koibuchi // *Cerebellum*, 2011. – Vol. 10. – No.
 71. Hadjikhani N. Abnormal Activation of the Social Brain During Face Perception in Autism / N. Hadjikhani, R.M. Joseph, J. Snyder, H. Tager-Flusberg // *Hum. Brain Mapp.*, 2007. – Vol. 28. – No. 5. – P. 441–449. (4.2)
 72. Abnormal Activation of the Social Brain Network in Children with Autism Spectrum Disorder: An fMRI Study / S.-Y. Kim, U.-S. Choi, S.-Y. Park et al. // *Psychiatry Investig.*, 2015. – Vol.12. – No.1. – P. 37-45.
 73. CDC: Prevalence of Autism Spectrum Disorders — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 Sites, United States, 2008/ *MMWR Surveill. Summ.*, 2012. — Vol. 61. — No. 3. – P. 1-24.
 74. Distinguishing between autism spectrum disorder and attention deficit hyperactivity disorder by using behavioral checklists, cognitive assessments, and neuropsychological test battery / N. Matsuura, M. Ishitobi, S. Arai et al. // *Asian J. Psychiatr.*, 2014. — Vol.12. – No. 1. – P. 50-57.
 75. Кундиев Ю.И. Химическая опасность в Украине и мероприятия по ее предупреждению / Ю.И. Кундиев, И.М. Трахтенберг // *Журн. АМН Украины.* – 2004. — № 2. – С. 259-267.
 76. Koles E. Autism. U-OK Optimal Health Center / <http://www.36-6c.com>
 77. Garrecht M. The plausibility of a role for mercury in the etiology of autism: a cellular perspective / M. Garrecht, D.W. Austin // *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2011. — Vol. 93. — Nos. 5–6. – P. 1251–1273.
 78. Obrenovich M.E. The role of trace elements, thiamin (e) and transketolase in autism and autistic spectrum disorder / M.E. Obrenovich, D. Shola, K. Schroedel, A. Agrahari, D. Lonsdale // *Front. Biosci. (Elite Ed.)*, 2015. – Vol. 7. – Iss.3. — 229-241.
 79. Prediction of autism by translation and immune/inflammation coexpressed genes in toddlers from pediatric community practices / T. Pramparo, K. Pierce, M.V. Lombardo et al. // *JAMA Psychiatry*, 2015. – Vol. 72. – Iss. 4. – P. 386-394.
 80. Gore A.C. Implications of prenatal steroid perturbations for neurodevelopment, behavior, and autism / A.C. Gore, K.M. Martien, K. Gagnidze, D. Pfaff // *Endocr. Rev.*, 2014. – Vol. 35. – No. 6. – P. 961-991.
 81. Raymond L.J. Potential Role of Selenoenzymes and Antioxidant Metabolism in relation to Autism Etiology and Pathology / L.J. Raymond, R.C. Deth, N.V.C. Ralston / *Autism Research and Treatment*, 2014, Article ID 164938, 15 p. // <http://dx.doi.org/10.1155/2014/164938>
 82. Ceccatelli S. Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis / S. Ceccatelli,

- 22
- E. Darй, M. Moors // *Chemico-Biological Interactions*, 2010. – Vol. 188. – No. 4. – P. 301–308.
83. Dickerson S.M. Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle / S.M. Dickerson, A.C. Gore // *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2007. – Vol. 8. – Iss. 2. – P. 143–159.
84. Waye A. Neuroendocrine disruption: more than hormones are upset / A. Waye, V.L. Trudeau // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 2011. – Vol. 14. – No. 3. – P. 270–291,
85. Khan A. Disrupted brain thyroid hormone homeostasis and altered thyroid hormone-dependent brain gene expression in autism spectrum disorders / A. Khan, J.W. Harney, A.M. Zavacki, E.M. Sajdel-Sulkowska // *J. Physiol. Pharmacol.*, 2014. – Vol. 65. – Iss. 2. – P. 257–272.
86. Gozhenko A.I. Screening of different mercury compounds nephrotoxicity / A.I. Gozhenko, L.M. Shafran, D.V. Bolshoy, E.G. Pykhteeva // *Industrial Toxicology*, 2005. — P. 21–25.
87. Bolshoy D. Small doses of mercury exposure: what doses it mean? / D. Bolshoy, E. Pykhteeva, L. Shafran, E. Tretiakova // *J. Cell. Biology and Toxicology*, 2008. — Vol. 24. — Supplement No. 1. — P. S92.
88. Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г. Сравнительная оценка метаболических нарушений при действии малых доз кадмия и ртути. // *Актуальные проблемы транспортной медицины*, 2006.- № 1 (3). — С. 12–18.
89. Marques R.C. Perinatal multiple exposure to neurotoxic (lead, methylmercury, ethylmercury, and aluminum) substances and neurodevelopment at six and 24 months of age / R.C. Marques, J.V.E. Bernardi, J.G. Dyrea, M.F.R. Moreira, O. Malm // *Env. Poll.*, 2014. – Vol. 187. – Iss. 2. –P. 130–135.
90. Dyrea J.G. Exposure to Mercury and Aluminum in Early Life: Developmental Vulnerability as a Modifying Factor in Neurologic and Immunologic Effects / J.G. Dyrea // *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2015. – No. 12. – P. 1295–1313.
91. Rose S. Increased Susceptibility to Ethylmercury-Induced Mitochondrial Dysfunction in a Subset of Autism Lymphoblastoid Cell Lines / S. Rose, R. Wynne, R.E. Frye, S. Melnyk, S. J. James // *Journal of Toxicology*, 2015. — Article ID 573701, 13 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/573701>
92. Zn²⁺ reverses functional deficits in a de novo dopamine transporter variant associated with autism spectrum disorder / P.J. Hamilton, A. Shekar, A.N. Belovich et al. // *Molecular Autism*, 2015. – Vol. 6. – P. 8–10
93. Grabrucker A.M. A Role for Synaptic Zinc in ProSAP/Shank PSD Scaffold Malformation in Autism Spectrum Disorders / A.M. Grabrucker // *Developmental Neurobiology*, 2014. – Vol. 74. – No. 2. – P. 136–146.
94. Takeda A. Cognitive decline due to excess synaptic Zn²⁺ signaling in the hippocampus / A. Takeda, H. Tamano // *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2014. – Vol. 6. – 7 p. doi: 10.3389/fnagi.2014.00026
95. Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В. Металлотионеины / Под редакцией проф. Л.М. Шафрана – Одесса: Издательство “Чорномор’я”, 2011. – 428 с.
96. Пыхтеева О.Г. Металотіонеїн у токсикології важких металів: Автореф. дис.. д. біол.н.... 14.03.06 – токсикологія. – К., 2015. – 40 с.
97. McArdle H.J. The role of the placenta in iron transfer from mother to fetus and the relationship between iron status and fetal outcome / H.J. McArdle, R. Danzeisen, C. Fosset, L. Gambling // *Biometals*, 2003. – Vol. 16. – Iss. 2. – P. 161–167.
98. Lenartowicz M. Transcriptional regulation of copper metabolism genes in the liver of fetal and neonatal control and iron-deficient rats / M. Lenartowicz, C. Kennedy, H Hayes, H.J. McArdle // *Biometals*, 2014. – 9 p. DOI 10.1007/s10534-014-9802-z
99. Jburegui-Lobera I. Iron deficiency and cognitive functions / I. Jburegui-Lobera // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2014. – Vol. 10. – P. 2087–2095.

Резюме

НЕЙРОТОКСИЧНІ ГІПОТЕЗИ В ПАТОГЕНЕЗІ АУТИЗМУ

Шафран Л.М.

Український НДІ медицини транспорту,
Одеса

Аутизм є збірним поняттям, під яким розуміється порушення розвитку нервової системи, переважно в пренатальному, постнатальному періоді і в дитячому віці. Відповідно до прийнятих міжнародних вимог (DSM-V — 2013) діагноз аутизму і розладів аутистичного спектру (ASD) ставиться на основі наяв-

ності трьох категорій психопатологічних ознак: порушень соціальної взаємодії, комунікативних розладів і стереотипності поведінки. При цьому наявні численні генетичні, біохімічні та морфологічні маркери використовуються лише як допоміжні, що аргументується відсутністю надійних і доступних лабораторних тестів. Проведений мета-аналіз даних літератури і матеріали власних досліджень підтвердили наявність істотного внеску в етіопатогенез аутизму генетичних і екологічних факторів. Причому, роль важких металів простежується досить чітко, а її доказовість аргументується не тільки результатами моніторингу експозиції, але і наявністю характерних паттернів порушення розвитку і функціонування нервової системи, насамперед, з боку нейротрансмітерів, синапсів, нейроендокринних дізрапорторних ефектів. Це дозволяє розглядати аутизм і ASD у значному ряді випадків як прояв таких, що лежать в їх основі, металлонеуротоксикозів. Останні за своїм генезом представляють досить наочний і переконливий приклад дізрегуляційної патології. На основі зроблених узагальнень пропонуються проведення подальших комплексних досліджень, які дозволять інтегрувати накопичену розрізнену інформацію щодо апоптозу, який прийняв епідемічний характер, і використовувати отримані знання для уточнення існуючої класифікації, ранньої і диференціальної діагностики, підвищення ступеня доказовості лікувальних терапевтичних та відновлювальних психологічних заходів.

Ключові слова: аутизм, мікроелементи, нейротоксичність, геномна діагностика.

Summary

NEUROTOXIC HYPOTHESES IN THE PATHOGENESIS OF AUTISM

Shafran L.M.

Ukrainian Scientific and Research Institute of Transport Medicine, Odessa

Autism is an integral term which refers to a developmental disorder of the nervous system, mainly in the prenatal, early

postnatal periods and childhood. In accordance with the requirements of the International requirements (DSM-V — 2013) diagnosis of autism and autism spectrum disorders (ASD) is delivered on the basis of presence of the three categories of psychopathological symptoms: impaired social interaction, breakdown in communications, and stereotyped behavior. In this case, the existing numerous genetic, biochemical and morphological markers are used only as auxiliary measures that argues the lack of reliable and affordable laboratory tests. Meta-analysis of the literature and materials of own researches confirmed the presence of significant contribution to the etiology and pathogenesis of autism genetic and environmental factors. Moreover, the role of heavy metals can be traced quite clearly, and its conclusiveness argued not only the results of monitoring of exposure, but the presence of the characteristic patterns of developmental disorders and functioning of the nervous system, primarily by the neurotransmitter, synapses, neuroendocrine disruptor effects. All this allowed us to consider autism and ASD in a significant number of cases, as a manifestation of the underlying induced by metals neurotoxicosis. The last one is of its genesis a very illustrative and convincing example of disregulative pathology. On the basis of integration it become available to undertake further comprehensive research that will integrate the accumulated fragmentive information about the diseases, which took the form of epidemic, and to use this knowledges to refine the existing classification, put on the early and differential diagnosis, increasing evidence held medical therapeutic and psychological rehabilitative measures.

Keywords: autism, minerals, neurotoxicity, genomic diagnostics.

Впервые поступила в редакцию 10.03.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 613.31:543.3:57.083

БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ПИТЬЕВЫХ ВОД

Квасневская Н.Ф., Лебедева Т.Л., Бадюк Н.С., Гоженко А.И.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса

Приведен обзор литературных данных существующих методов биотестирования, как способа биологической оценки качества питьевых вод. Рассмотрены тест-объекты используемые в биотестировании питьевых вод и их реакции на токсическое действие веществ.

Ключевые слова: биотестирование, тест-объект, тест-реакция, питьевая вода, ксенобиотки.

Вода является самым распространенным веществом нашей планеты, незаменимым компонентом человеческого организма и необходимым условием для жизни. Физико-химические функции, которые выполняет вода в любом живом организме, обеспечивают нормальное протекание биохимических процессов. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) — 85 % заболеваний передается водным путем и ежегодно 25 миллионов потребителей умирает от этих заболеваний.

От качества питьевой воды зависит состояние здоровья населения, экологическая чистота продуктов питания и наличие других экологических последствий [1]. Количество загрязняющих химических соединений в окружающей среде составляет уже несколько тысяч, и многие из них находясь в микродозах, совместно воздействуют на живые организмы как токсический агент, распознать который химическими методами порой невозможно. Кроме того, иногда нельзя вовремя и быстро получить информацию о качестве питьевой воды, поэтому все популярнее становятся независимые исследования и методика биотестирования, благодаря которой по реакции живой системы можно констатировать непосредственное токсичное влияние питьевой воды на организм [2, 3].

Во многих странах биотестирование является ведущим в тестировании качества воды [4]. Биотестирование предус-

матривает целенаправленное использование тест-организмов и методов для определения токсичности водных образцов, и в широком смысле представляет собой методический прием, основанный на оценке влияния фактора среды на организм, его отдельную функцию или систему. Находясь в исследуемой среде, «тест-объекты» сигнализируют об опасности независимо от того, какие вещества и в каких сочетаниях приводят к изменениям их жизненно важных функций. Предпочтение отдается самым чувствительным и универсальным «тест-объектам», способным реагировать на внешнее воздействие, с помощью которых определяют даже незначительные изменения окружающей среды на начальных стадиях негативного влияния. Из-за видовых особенностей восприимчивости к загрязнителям как правило должен использоваться набор объектов, представляющих разные таксономические группы. Во многих случаях биологические методы технически проще и значительно дешевле, ограничены во времени, более чувствительны по сравнению с химическим анализом. В целом, это приводит к уменьшению числа необходимых процедур, значительному упрощению исследовательского процесса по оценке качества воды [5, 6, 7]. А значит, биотестирование должно быть основным в определении влияния и возможных последствий на живые организмы, а также одним из главных этапов определения качества воды [8].

На современном этапе известно большое количество методов биотестирования с применением более чем 145 различных тест-объектов, но стандартизированных не так уж и много. В Украине это тесты с пресноводными рыбами (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, *Poecillia reticulata* Peters), ракообразными (*Daphnia magna* Straus, *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg), водорослями (*Scenedesmus subspicatus*, *Selenastrum capricornutum*), инфузориями (*Tetrahymena pyriformis*), бактериями (*Photobacterium phosphoreum*), мухами (*Drosophila melanogaster*) [9-22]. Выбор тест-организмов определяется их распространенностью, простотой содержания и культивирования в лаборатории, низкой стоимостью, легкостью наблюдений эффектов ксенобиотиков на организм и разработанностью простых методик таких наблюдений, предпочтительны также краткосрочные (экспрессные) автоматизированные методы с использованием чувствительных живых организмов или их систем [23, 24]. В настоящее время однозначно не установлено, какие тест-объекты наиболее подходят для оценки качества питьевых вод методами биотестирования. Поэтому исследования качества воды из разных источников, применяемых для питьевых целей, с помощью различных тест-объектов (комплексного подхода к оценке безопасности питьевых вод) являются актуальными.

В качестве источников питьевых вод для тестирования используют:

- поверхностные воды;
- родниковые воды;
- колодезные воды;
- межпластовые воды на примере скважинного водозабора;
- артезианские воды;
- водопроводные воды;
- талые воды;
- бутилированные воды [25-32].

Задачами исследований является создание системы эколого-токсикологической оценки водных объектов, которая позволяет охватить разные категории ис-

точников питьевых вод, а также учесть вред токсичных поллютантов как для организмов, так и для человека [33].

Влияние токсичности изучают как на организменном, так и клеточном уровнях методами, которые дают возможность получать комплексную оценку токсичного действия водной среды. В частности, по реакциям целостного организма анализируют реакции представителей разных трофических уровней (острая токсичность – при кратковременном биотестировании; хроническая токсичность – при длительном биотестировании). Культуры клеток используются для изучения закономерностей протекания внутриклеточных процессов, общих для всех типов клеток: механизмов регуляции ионного транспорта, метаболизма, клеточного цикла, внутриклеточной сигнализации, структурных и функциональных изменений генома (гено- и цитотоксичность). Существенную роль играет выбор тест-реакции – того параметра организма, который собственно и измеряется при тестировании [34].

Важное место среди тест-объектов, применяемых при разработке новых методов биотестирования токсичности водной среды, занимают светящиеся бактерии. Природные их штаммы (*Vibrio aquamarinus*) и генно-инженерные конструкции (трансформация клеток *E. coli*) могут быть использованы в качестве биологической основы биосенсоров, позволяющих в режиме *on-line* регистрировать гибель, либо изменение параметров метаболизма живых систем. Билюминесцентные тесты обладают достаточной степенью чувствительности и могут быть успешно использованы для определения интегральной токсичности, генотоксичности и прооксидантной активности воды. Экспрессность биотестов с использованием бактериальных биосенсоров (время ответа не более двух часов), способность к детекции приоритетных токсикантов позволяют значительно сократить время анализа и подвергать последующему химическому анализу в первую очередь пробы, показавшие токсичность в исследова-

нии с применением биосенсоров [35]. Также используют фотобактерию *Photobacterium phosphoreum* (рис.1), где критерием токсичности является снижение уровня люминесценции на 50 % за 30 минут по сравнению с контролем. Такой метод чаще применим для токсикологического анализа вод с высоким уровнем токсичности: сточных, загрязненных питьевых, подземных и поверхностных. Токсикологическая оценка водной среды с помощью люминесцирующих бактерий обеспечивает раннюю диагностику качества воды [21, 36, 37].

Кроме светящихся бактерий, используют изобретенный штамм бактерий *Enterobacter aerogenes*, используемый в качестве индикаторного при биотестировании качества питьевой воды. *Enterobacter aerogenes* является достаточно чувствительным к суммарному действию загрязнителей для оценки интегральной токсичности питьевой воды, позволяет проследить реакцию на вредные примеси одновременно на миллионах индивидуальных клеток (особей) и поэтому обеспечивает наибольшую достоверность результатов. Качество исследуемой воды оценивают по способности индикаторного штамма выживать после выдерживания в ней. Если штамм сохраняет выживаемость, то это свидетельствует в пользу хорошего качества этой воды, о ее нетоксичности и безвредности для живых организмов [38].

Среди водорослей в биотестировании наиболее часто используют виды *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus subspicatus*, *Scenedesmus quadricauda* (рис.2), *Ankistrodesmus falcatusi*, *Chlorella vulgaris* (рис.3). При исследовании фиксируют изменения размерно-возрастной структуры и функциональных характеристик клеток водорослей под влиянием различных токсикантов [14, 19, 39, 40].

Широкое применение в методиках биотестирования находит лук репчатый *Allium cepa* (рис.4) благодаря высокой чувствительности, устойчивой реакции как на молекулярно-клеточном, так и организ-

менном (ингибирование роста корней) уровнях, простоте и оперативности методик [41, 42]. Методы биотестирования на растительных тест-объектах по изучению влияния различных поллютантов позволяют выявить мутагенность и цитотоксичность исследуемых веществ [43]. Корневые клетки лука содержат определенные ферменты, которые способствуют превращению многих немутагенных веществ в мутагенные. Подобная система активации позволяет обнаружить те химические вещества, которые усиливают свой токсический эффект в процессе метаболизма [44]. Биометрические показатели пророщенного семени *Allium test* можно использовать для экспресс-анализа качества питьевой воды [45].

Среди растений также используют пшеницу *Triticum aestivum L.*, фасоль *Phaseolus vulgaris*, при этом измеряется скорость и схожесть семян, а также сравнение показателей массы и длины проростков [46], а также используют при создании биологически активных вод в качестве технологического контроля в процессе обработки воды [47, 48].

В число организмов используемых в биотестировании входят представители подцарства простейших. История применения *Protozoa* в качестве тест-организмов насчитывает не одно десятилетие. Преимуществами методов биотестирования, основанных на применении одноклеточных организмов в качестве тест-объектов являются: относительно короткий жизненный цикл; объединение признаков отдельной клетки и целого организма; сходство с животными по кислотно-щелочному типу пищеварения, аналогичных ферментных систем, хорошо развитых митохондрий и характеризуются универсальным кодом нуклеиновых кислот, сходным с кодом высших животных [49]. Биотестирование на инфузориях (рис.5) позволяет прогнозировать интегральное воздействие изучаемого объекта на живые организмы, поскольку реакция биологической тест-системы зависит не только от отдельных токсичных соединений, содержащих-

ся в объекте исследования, но и от их взаимодействия между собой, а также от присутствия веществ, обладающих ярко выраженным влиянием на токсичность указанных соединений [50]. При постановке тестов на токсичность регистрируются, как правило, гибель/выживаемость, интенсивность движения, изменения внешней формы, иногда изменение интенсивности размножения; описывается действия токсикантов на тест-объекты, прежде всего, изменения размеров и внешней формы инфузорий. Под действием токсических веществ у многих видов инфузорий наблюдаются различные изменения в клетке: разрушение пелликулы, иногда и всей клетки; временное нарушение осморегуляции (набухание), при котором наблюдается интенсивное перемещение, образование и исчезновение различных структур; повышение вязкости и дифференцировка цитоплазмы; образование дополнительных пульсирующих вакуолей [51].

Также используют в качестве тест-объекта в биотестировании представителя кишечнорастворимых *Hydra* (рис.6), при анализе регистрируются морфологические изменения и выживаемость особей при 96-часовой экспозиции в исследуемых растворах [46]. Используют и двухстворчатых моллюсков, позволяющих диагностировать хроническое воздействие загрязняющих веществ [52].

По чувствительности среди тест-организмов, используемых для биотестирования водных объектов выделяют ракообразных, среди которых по степени изученности наиболее часто используют *Daphnia magna* (рис.7) и *Ceriodaphnia affinis*. Ракообразные легко культивируются в лабораторных условиях в любое время года, являются очень чувствительными к токсикантам различной природы. Такая высокая чувствительность может объясняться физиологическими особенностями питания дафний, при котором за счет фильтрации у этих ракообразных происходит накопление токсических веществ на фильтрующем органе с дальнейшей интоксикацией организма. Оценка

токсичности проводится по разнообразным тест-функциям: плодовитости, выживаемости, поведенческим реакциям, двигательной активности, по качеству потомства [10, 25, 34, 46].

Среди гидробионтов для оценки состояния водных экосистем применяют также и коловраток, которые реагируют изменением численности и биомассы, перестройкой и изменением видового состава и массовым развитием отдельных видов, толерантных к определенному фактору. Биотестирование требует использования не столько регистрации гибели организмов, но, в первую очередь, изучения питания, обеспечивающего размножение и в конечном итоге сохранение вида [53].

Для определения генотоксичности питьевых вод используют мух *Drosophila melanogaster* (рис. 8) [22]. Дрозофила имеет малое число хромосом, короткий жизненный цикл, большую плодовитость; метаболическая активация веществ, поступающих в организм, близка к человеку. Данные, полученные при помощи этого тест-организма, могут быть использованы как прогноз риска загрязнения среды для здоровья человека [33, 36, 37].

Все больше внимания в биотестировании уделяют рыбам, наиболее часто используемые из них в качестве тест-объекта виды *Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan* (рис.9) [11-13, 15], *Poecilia reticulata Peters* (рис.10) [18], *Carasius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Abramis brama* и др. Рыбы являются очень удобным объектом в водной токсикологии. Большинство исследований проводят на организменном уровне с учетом выживаемости, поведенческих реакций, двигательной активности, качества потомства и т.д. Не меньшего внимания заслуживают исследования с помощью микроядерного теста, который является очень чувствительным методом оценки генотоксичности действия веществ. При этом используют клетки жабр, хвостового плавника и эритроциты периферической крови. Образование в клетке микроядер объясняется поврежде-



Рис. 1. *Photobacterium phosphoreum*

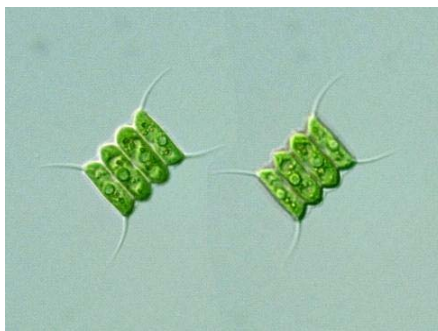


Рис. 2. *Scenedesmus quadricauda*

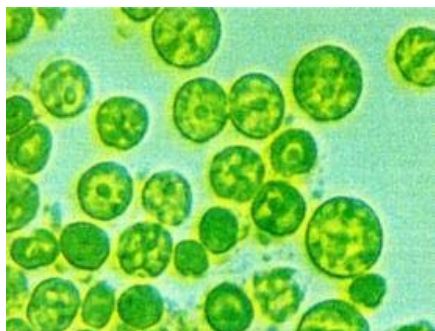


Рис. 3. *Chlorella vulgaris*



Рис. 4. *Allium cepa*



Рис. 5. *Tetrahymena pyriformis*



Рис. 6. *Hydra*



Рис. 7. *Daphnia magna*

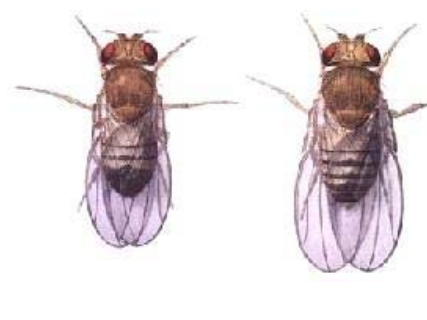


Рис. 8. *Drosophila melanogaster*



Рис. 9. *Brachydanio rerio*
Hamilton-Buchanan



Рис. 10. *Poecilia reticulata*
Peters

нием молекул ДНК и/или хромосомных белков. Анализ ядерных аномалий эритроцитов рыб позволяет получить информацию об уровне антропогенной нагрузки мест существования рыб в мониторинговых исследованиях. А сочетание микроядерного теста с определением формулы крови позволяет получить информацию о возможном влиянии исследуемых проб на структурную целостность ядра и об их влиянии на систему крови данных тест-организмов.

Также особое внимание уделяется методу выявления апоптоза, которое происходит за счет отрицательного химического действия на клетки-мишени [54, 55]. Такие методы выявления изменений в генетическом аппарате под действием загрязнителей используют при анализе пресной воды и могут быть экстраполированы на здоровье человека, учитывая тот факт, что речная вода является одним из основных источников поставки питьевой воды для населения Украины и других стран Европы [56].

Следовательно, биотестирование как

способ оценки качества питьевых вод является перспективным направлением для выявления токсичности и скрининговой оценки. В настоящее время имеется настоятельная необходимость систематизации существующих материалов на основе биологической значимости и физиологических механизмах их ответа на воздействие ксенобиотиков, а также сформированная на основе их комплексной линейки биологических объектов для тестирования качества питьевых вод.

Выводы

1. Методы биотестирования позволяют давать оценку физиологического состояния живых организмов в ответ на воздействия различных веществ, находящихся в водной среде, и направлены на улучшение качества питьевой воды.
2. Изучение влияния токсичности необходимо как на организменном, так и клеточном уровнях методами, которые дают возможность получать комплексную оценку токсичного действия водной среды.
3. Биологический анализ качества вод требует использования чувствительных тест-объектов, способных отвечать реакциями различных тест-показателей на воздействие низких концентраций комплекса загрязняющих веществ.
4. В настоящее время особую важность приобретает вопрос о комплексном подходе к биотестированию. Биотестирование существенно использовать одновременно с химическими и микробиологическими методами оценки качества питьевых вод.
5. Из-за видовых особенностей восприимчивости к загрязнителям целесообразно использовать набор объектов, представляющих разные таксономические группы.
6. Необходимо способствовать развитию, стандартизации и унификации уже разработанных методов, а также созданию новых, более совершенных (расширение круга тест-объектов, учет специфики оценки качества вод и обеспечение гарантий качества биологической информации).

Таким образом, можно заключить, что исследования в указанной области являются актуальными и имеют важное теоретическое и прикладное значение.

Литература

1. Визначення рівня токсичності фасованої води методом біотестування [Електронний ресурс] /Антонова Г.С., Засядько Т.А. // 6 режим доступу: <http://intkonf.org/antonova-gs-zasyadko-ta-viznachennya-rivnya-toksichnosti-fasovan>.
2. Вишневецкий В.Ю. Принципы построения биотестовой системы / Вишневецкий В.Ю., Булавкова Н.Г., Ледеява В. С.// Известия ЮФУ. 6 2011. 6 № 9. 6 Т. 122. 6 С. 12-17.
3. Зерщикова Т.А. Современная проблематика анализа качества питьевой воды путем биотестирования /Зерщикова Т.А., Флоринская Л.П. // «Современное естественнонаучное образование»: III научная конференция с международным участием, 1-8 октября 2006г. 6 Лутраки (Греция), 2006. 6 С. 54-55.
4. Біотестування як метод оцінки якості питних вод // Вісник національної академії наук України. 6 2006. 6 № 10. – С. 54 – 57.
5. Веялкіна Н. М. Використання клітинних біомаркерів рослинних і тваринних тест-організмів для оцінки токсичності води: автореф. дис. на здобуття канд. біол. наук, спец. 03.00.16 – «Екологія»/ Веялкіна Н. М. 6 Киев, 2011. 6 20 с.
6. Биотестирование качества воды в системе водоподготовки [Електронний ресурс] / Шевцова Л. В., Серенко П. В. // 6 режим доступу: <http://0973.ru/archives/645>
7. Єфремова О.О. Біотестування. Сучасний стан практичного використання /Єфремова О.О., Крайнов І.П. // Вісник КДПУ. 6 2006. 6 №. 6 (41), Ч. 1. 6 С. 142-144.
8. Авраменко А.Є. Визначення стану екологічної безпеки поверхневих і підземних вод центральної частини Полтавської області / Авраменко А.Є. // Екологічна безпека. 6 2014. 6 №1 (17). 6 С. 46-49.
9. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD): ДСТУ

- 4173-2003. 6 [Чинний від 01.07.2004]. 6 22 с.
10. Якість води. Визначання сублетальної та хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 1076:2000, MOD): ДСТУ 4174-2003. 6 [Чинний від 01.07.2004]. 6 26 с.
 11. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Частина 1. Статичний метод (ISO 7346-1:1996, MOD): ДСТУ 4074-2001. 6 [Чинний від 01.07.2003]. 6 21 с.
 12. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Частина 2. Напівстатичний метод (ISO 7346-2:1996, MOD): ДСТУ 4075-2001. 6 [Чинний від 01.07.2003]. 6 20 с.
 13. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності хімічних речовин та води на прісноводній рибі [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Частина 3. Проточний метод (ISO 7346-3:1996, MOD): ДСТУ 4076-2001. 6 [Чинний від 01.07.2003]. 6 22 с.
 14. Якість води. Випробування на гальмування росту прісноводних водоростей із застосуванням *Scenedesmus subspicatus* та *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692:1989, MOD): ДСТУ 4166-2003. 6 [Чинний від 01.07.2004]. 6 16 с.
 15. Якість води. Метод визначення цито- та генотоксичності води і водних розчинів на клітинах крові прісноводної риби Даніо реріо (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan): ДСТУ 7387:2013. 6 [Чинний від 2014.07.01]. 6 16 с.
 16. КНД 211.1.4.055-97. Методика визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 17. КНД 211.1.4.056-97. Методика визначення хронічної токсичності води на ракоподібних *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 18. КНД 211.1.4.057-97. Методика визначення гострої летальної токсичності води на рибках *Poecilia reticulata* Peters. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 19. КНД 211.1.4.058-96. Методика визначення гострої токсичності води на водоростях *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 20. КНД 211.1.4.059-97. Методика визначення токсичності води на інфузоріях *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenbrg) Schewiakoff. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 21. КНД 211.1.4.060-97. Методика визначення токсичності води на бактеріях *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford. Затв. наказом Мінприроди України від 21.05.97 № 68.
 22. НД Методика визначення генотоксичності об'єктів довкілля за частотою виникнення домінуючих летальних мутацій у мух *Drosophila melanogaster*. Затв. наказом Мінекобезпеки України 12.08.99 № 189.
 23. Черкашин С.А. Биотестирование: терминология, задачи, основные требования и применение в рыбохозяйственной токсикологии / Черкашин С.А. // Известия Тихоокеанского научно-исследовательского рыбохозяйственного центра. – 2001. – № 1-3. – Т. 128. – С.1020-1035.
 24. Опыт ЦИКВ по определению токсичности водных сред методом биотестирования [Электронный ресурс] / Зайцева И.И. // 6 режим доступа: // [https://cikv.ru/v\(id=3940883297711669273,ald=633472092167258137\)](https://cikv.ru/v(id=3940883297711669273,ald=633472092167258137)).
 25. Дегтярь С.В. Сравнительный анализ результатов биотестирования водопроводной воды в Кременчугском районе / Дегтярь С.В. // Экологія та неосферологія. – 2012. – № 1-2. – Т.23. – С. 79-83.
 26. Токсичность воды поверхностного источника водоснабжения [Электронный ресурс] / В.В. Артамонов, М.Г. Василенко / 6 режим доступа: <http://www.ecologylife.ru/voda-i-zdorovje-2002/toksichnost-vodyi-poverhnostnogo.html>
 27. Никифоров В.В. Биотестирование в системе гидроэкологического мониторинга / Никифоров В.В., Штрбова Э.Д. // Экологічна безпека. 2011 6 №1(11). 6 С. 31-35.
 28. Биоиндикация и биотестирование как методы определения загрязненности водных объектов [Электронный ресурс] / Е.С. Фомина, Е.А.Трошина // Сборник статей V Международной научной конф. студентов и аспирантов "Охрана окружающей

- среды и рациональное использование природных ресурсов”, 12 — 14 апреля 2006 г, Донецк. 6 режим доступа: <http://www.uran.donetsk.ua/masters/2006/feht/fomina/library/library.htm>.
29. Визначення рівня токсичності фасованої води методом біотестування [Електронний ресурс] / Антонова Г.С., Засядько Т.А // 6 режим доступа: <http://intkonf.org/antonova-gs-zasyadko-ta-viznachennya-rivnya-toksichnosti-fasovan>.
 30. Гончарук В. Комплексна оцінка якості фасованих вод / Гончарук В., Архипчук В., Терлецька Г., Корчак Г. // Вісник НАН України. 6 2005. 6 № 3. – С. 47-58.
 31. Ильина Е.Г. Определение качества питьевых вод, расфасованных в емкости / Ильина Е.Г. // Известия Алтайского гос. университета. – 2011. – № 3-1. – С. 118-120.
 32. Содоль Г.А. Методы биотестирования в оценке качества бутилированных вод / Содоль Г.А., Ружицкая Н.А. // Збірник тез доповідей III науково-практичної конференції «Вода в харчовій промисловості. 6 2012, Одеса: ОНАХТ. – С. 26-27.
 33. Использование биотестирования для эколого-токсикологической оценки водной среды [Электронный ресурс] / Е.В. Усенко // 6 режим доступа: http://www.rusnauka.com/4_SWMN_2010/Ecologia/58821.doc.htm.
 34. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: [Учебное метод-пособие] / Бубнов А.Г., Буймова С.А., Гуцин А.А., Извекова Т.В. 6 Иваново, 2007. 6 112с.
 35. Кхатаб З. С. Эколого-генетическая оценка качества воды родников г. Ростова-на-Дону методом биотестирования с использованием светящихся бактерий : дис. кандидата биологических наук : 03.02.08, 03.02.07 / Кхатаб Зозк Сардар. 6 Ростов-на-Дону, 2013. 6 184 с.
 36. Использование биологического тестирования для эколого-токсикологической оценки объектов окружающей среды [Электронный ресурс] / С. В. Журавлева, А. В. Панкина, Т. Г. Сахарова // 6 режим доступа: http://sociosfera.com/publication/conference/2013/170/ispolzovanie_biologicheskogo_testirovaniya_dlya_ekologotoksikologicheskoy_ocenki_obektov_okruzhayuwej_sredy.
 37. Усенко Е.В. Использование биотестов на бактериях *Photobacterium phosphoreum*, инфузориях *Tetrahymena pyriformis* и мухах *Drosophila melanogaster* для эколого-токсикологической оценки / Е.В. Усенко // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. 6 2006. 6 Вип. 3. 6 № 729. – С. 202-207.
 38. Патент RU 2225000 Штамм бактерий *Enterobacter aerogenes*, используемый в качестве индикаторного при биотестировании питьевой воды (s- чувствительный) [Электронный ресурс] / Леванова Г.Ф., Кашников С.Ю., Мазепа В.Н., Якимычева Е.А. // 6 режим доступа: <http://bd.patent.su/2225000-2225999/pat/servlet/servlet3fff.html>.
 39. Моисеенко Т.И. Биологические методы оценки качества вод: часть 2. Биотестирование / Моисеенко Т.И., Гашев С.Н., Петухова Г.А., Елифанов А.В., Селюков А.Г. // Вестник Тюменского гос. университета. – 2010. – № 7. – С. 40-51.
 40. Прохоцкая В. Ю. Структурно-функциональные характеристики модельной популяции *Scenedesmus quadricauda* при интоксикации: дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.18 / Прохоцкая Валерия Юрьевна. – Москва, 2000. – 135 с.
 41. Влияние биологически-активных веществ на морфометрические и биохимические показатели *Allium sera L.* [Электронный ресурс] / Толкачева Т.А. // 6 режим доступа: http://www.rusnauka.com/30_NNM_2012/Biologia/2_119605.doc.htm.
 42. Биотестирование с помощью лука обыкновенного [Электронный ресурс] / Geirid Fiskesjo // 6 режим доступа: <http://masters.donntu.edu.ua/2006/feht/fomina/library/article5a.htm>.
 43. Верголяс М.Р. Цитотоксичний вплив хлорфенолів на клітини кореневої меристеми насіння цибулі батуну (*Allium fistulosum L.*) / Верголяс М.Р., Луценко Т.В., Гончарук В.В. // Цитология и генетика. 6 2013. 6 Т. 47. 6 № 1. 6 С. 44-49.
 44. Концевая И.И. Совершенствование методики биотестирования на основе *Allium test* / И.И. Концевая, Т.А. Толкачева // Веснік ВДУ. 6 2012. 6 № 6(72). – С. 57-65.
 45. Сидорович М.М. Використання біометричних показників *Allium test* для визначення якості питної води міста / Сидорович М.М. // Науковий часопис Національного педагогічного університету ім.М.П.Драгоманова. 6 2013. 6 Вип. 5. 6 С. 182-192.

46. Кравченко О.О. Визначення токсичності наноаквацитратів срібла та міді за допомогою тест-організмів різних трофічних рівнів / Кравченко О.О., Максін В.І., Коваленко В.Ф. // Наукові записки Тернопільського нац. пед.університету імені В.Гнатюка. 6 2013. 6 №1(54). 6 С.70-75.
47. Определение оптимальной экспозиции питьевой воды на красном свете методом биотестирования проростков пшеницы [Электронный ресурс] / Софронова Н.М., Пятков Е.А. // 6 режим доступа: // <http://rudocs.exdat.com/docs/index-327031.html>.
48. Яковлев В.В. Биотестирование природных вод Харьковской области для оценки их токсичности /Яковлев В.В., Бирюкова Т.Ю., Мацюк С.А.// «Коммунальное хозяйство городов»: научно-технический сборник. 6 2008. 6 № 84. 6 С.102-110.
49. Влияние детергентов на живые системы [Электронный ресурс] / Налимова Е.А., Журавлева С.В., Панкина А.В. // 6 режим доступа:// <http://sibac.info/index.php/2009-07-01-10-21-16/6789-2013-03-11-09-47-53>.
50. Виноходов Д.О. Научные основы биотестирования с использованием инфузорий: дис. на соискание ученой степени доктора биол. наук: 03.00.23/ Виноходов Дмитрий Олегович. 6 Санкт-Петербург, 2007. 6 270 с.
51. Присный А.В. Механизмы устойчивости инфузорий к химическим повреждениям и их преодоление летальными концентрациями синтетических поверхностно активных веществ (СПАВ) / Присный А.В., Волынкин Ю.Л., Кампос Н.Н.// Научные ведомости Белгородского государственного университета. 6 2009. 6 № 9-2. 6 Т. 11. 6 С. 45-54.
52. Каниева Н.А. Воздействие тяжелых металлов на химический состав организма двухстворчатых моллюсков / Каниева Н.А., Андреев А.А., Федорова Н.Н., Гольбина О.В. // Вестник АГТУ. 6 2013. 6 № 1. – С. 135-139.
53. Бакаева Е.Н. Эколого-биологические основы жизнедеятельности коловраток в норме и в условиях антропогенной нагрузки: дис. доктора биол. наук: 03.00.29. 6 Москва, 2000. 6 317 стр.
54. Верголяс М.Р. Проапоптичні зміни в еритроцитах риби *Danio rerio* за впливу катіонів міді /М.Р. Верголяс, Р.О. Білий, Р.С. Стойка, В.В. Гончарук // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2009. – Том 3, № 2. – С. 15-22.
55. Верголяс М.Р. Морфофункціональні зміни клітин крові, зябер і хвостового плавця риб при оцінці якості водного середовища і дії токсичних чинників: автореф.на здобуття наук. ступеня. к. біолог. наук: спец. 03.00.11 «Цитологія, клітинна біологія, гістологія» / Верголяс М.Р. – Львів, 2010. – 21 с.
56. Верголяс М.Р. Використання морфофункціональних змін клітин риб як біоіндикаторів хімічного забруднення водойм /Верголяс М.Р., Гончарук В.В. // Збірник наукових статей “III-го Всеукраїнського з’їзду екологів з міжнародною участю”. – Вінниця, 2011. – Том.1. – С.298–301.

References

1. Determination of toxicity of packaged water by biotesting [Electronic resource] / Antonova G.S., Zasad'ko T.A. // 6 access mode: <http://intkonf.org/antonova-gs-zasyadko-ta-viznachennya-rivnya-toksichnosti-fasovan>
2. Vishnevetskii V.Y. Principles of construction biotesting system / Vishnevetskii V.Y., Bulavkova N.G., Ledjaeva V.S. // Journal SFU. Technical sciences. Special Issue. 6 2011. 6 Number 9, V. 122. 6 P. 12-17.
3. Zerschikova T.A. Modern problems of drinking water quality analysis by bioassay/ Zerschikova T.A., Florinskaya L.P. // III scientific conference with international participation «Modern science education», October 1-8, 2006. 6 Loutraki (Greece), 2006. 6 P. 54-55.
4. Biotesting as a method of assessing the quality of drinking water // Proceedings of the National Academy of Sciences of Ukraine. 6 2006. 6 № 10. 6 P. 54 – 57.
5. Vyeyalkina N.M. The use of cellular biomarkers of plant and animal test organisms for assessing water toxicity : abstract of dissertation for Cand. of Biol. Sciences, spec. 03.00.16 – “Ecology”/ Vyeyalkina N.M. – Kyiv – 2011. – 20 p.
6. Biological testing of water quality in the water treatment system [Electronic resource] / Shevtsova L.V., Serenko P.V. // 6 access mode: <http://0973.ru/archives/645>
7. Efremova O.O. Biotesting. The current state of practical use / Efremova O.O., Krainov I.P. // Journal Kirovograd State Pedagogical University. 6 2006. 6 № 6 (41), part 1. 6 P.142-144.
8. Avramenko A.E. Defining the environmental

- safety of surface and groundwater central part of Poltava region / Avramenko A.E. // Environmental Safety. 6 2014. 6 №1 (17). 6 P. 46-49.
9. The quality of water. Determination hostroi letalnoi toksychnosti on *Daphnia magna* Straus and *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea)(ISO 6341:1996, MOD): SSU 4173-2003. 6 [Effective as of 01.07.2004]. 6 22 p.
 10. The quality of water. Determination subletalnoi and hronichnoi toksychnosti chemical substances and water *Daphnia magna* Straus i *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea) (ISO 1076: 2000, MOD): SSU 4174-2003. 6 [Effective as of 01.07.2004]. 6 26 p.
 11. The quality of water. Determination of acute lethal toxicity of chemicals and water for freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Part 1. Static method (ISO 7346-1: 1996, MOD): SSU 4074-2001. [Effective as of 01.07.2003]. 6 21 p.
 12. The quality of water. Determination of acute lethal toxicity of chemicals and water for freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Part 2. (ISO 7346-2: 1996, MOD): SSU 4075-2001. 6 [Effective as of 01.07.2003]. 6 20 p.
 13. The quality of water. Determination of acute lethal toxicity of chemicals and water for freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Part 3. (ISO 7346-3: 1996, MOD): SSU 4076-2001. 6 [Effective as of 01.07.2003]. 6 22 p.
 14. The quality of water. Test algae growth inhibition using *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692: 1998, MOD): ДСТУ 4166-2003. 6 [Effective as of 01.07.2004]. 6 16 p.
 15. The quality of water. Method of determining the cyto- and genotoxicity of water and aqueous solutions in blood cells of freshwater fish *Danio rerio* (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan): ДСТУ 7387:2013. 6 [Effective as of 2014.07.01]. 6 16 p.
 16. GRD 211.1.4.055-97. Method of determining the acute lethal toxicity water on crustacean *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated om 21.05.97 № 68.
 17. GRD 211.1.4.056-97. Method of determining the chronic toxicity of water on crustaceans *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 21.05.97 № 68.
 18. GRD 211.1.4.057-97. Methods for determining acute lethal toxicity water for fishes *Poecillia reticulata* Peters. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 21.05.97 № 68.
 19. GRD 211.1.4.058-96. Method of determining the acute toxicity of water algae *Scenedesmus quadricauda* (Turp) Breb. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 21.05.97 № 68.
 20. GRD 211.1.4.059-97. Methods for determining the toxicity of water on *Tetrahymena pyriformis* (Ehrenbrg) Schewiakoff. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 21.05.97 № 68.
 21. GRD 211.1.4.060-97. Methods for determining the toxicity of water for bacteria *Photobacterium phosphoreum* (Cohn) Ford. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 21.05.97 № 68.
 22. RD Method of determining the genotoxicity of the environment on the occurrence of dominant lethal mutations in flies *Drosophila melanogaster*. Approved by order of the Ministry of Nature of Ukraine dated 12.08.99 № 189.
 23. Cherkashin S.A. Biotesting: terminology, tasks, basic requirements and application in fisheries Toxicology/ Cherkashin S.A. / News Pacific Fisheries Research Center. – 2001. – № 1-3, T. 128. – P.1020-1035.
 24. Experience Center for the Study of water quality to determine the aquatic toxicity biotesting method [Electronic resource] / Zaitseva I.I. // 6 access mode: [https://cikov.ru/v\(id=3940883297711669273,ald=633472092167258137\)](https://cikov.ru/v(id=3940883297711669273,ald=633472092167258137)).
 25. Degtar S.V. Comparative analysis of the biological testing of tap water in the area Kremenchug / Degtar S.V./Ecology is the neosferologiya. – 2012. – № 1-2, T.23. – C.79-83.
 26. The toxicity of the water surface water source [Electronic resource] / V.V. Artamonov, M.G. Vasilenko // 6 access mode: <http://www.ecologylife.ru/voda-izdorovje-2002/toksichnost-vodyi-poverhnostnogo.html>.
 27. Nikiforov V.V. Biotesting system hydroecological monitoring / Nikiforov V.V., Shtrbova E.D. //Ecological security. 6 2011. 6 №1 (11) P.31-35.
 28. Bioindication and biotesting methods for

- determining how pollution of water bodies [Electronic resource] / E.S.Fomina, E.A.Troshina // Collection of articles V International scientific conference of students and graduate students "Environmental protection and sustainable natural resources use". 6 12 — 14 April 2006, Donetsk. 6 access mode: <http://6www.uran.donetsk.ua/masters/2006/feht/fomina/library/library.htm>.
29. Determining the level of toxicity of packaged water by biotesting [Electronic resource] / Antonov A.S., Zasad'ko T.A. // 6 access mode: <http://intkonf.org/antonova-gs-zasyadko-ta-viznachennya-rivnyatoksichnosti-fasovan>.
30. Goncharuk V. Comprehensive assessment of quality of packaged water / V. Goncharuk, Arkhynchuk V. Terletska G., G. Korczak / Herald NAS of Ukraine. – 2005. – № 3. – С. 47-58.
31. Iliina E.G. Determination of quality of drinking water, packaged in a container / Iliina E.G. / News of Altai State University. – 2011. – № 3-1. – P.118-121.
32. Sodol G.A. Biotesting methods to assess the quality of bottled water / Sodol G.A., Ruzhitsky N.A. / Abstracts of the III scientific-practical conference «Water in the food industry». – Odessa: ONAFT, 2012. – S.26-27.
33. Using a biotesting for eco-toxicological evaluation of water environment [Electronic resource] / Usenko E.V. // 6 access mode: http://www.rusnauka.com/4_SWMN_2010/Ecologia/58821.doc.htm.
34. Bubnov A.G. Analysis of biotesting — an integrated method for assessing the quality of the environment [The training method-manual] / Bubnov A.G., Buymova S.A., Gushchin A.A., Izvekova T.V. – Ivanovo, 2007. – 112c.
35. Khatab Z.S. Ecological and genetic evaluation of the quality of water springs in Rostov-on-Don by biotesting using the luminescent bacteria: The dissertation of the candidate biological sciences: 03.02.08, 03.02.07 / Khatab Zozk Sardar. 6 Rostov-on-Don, 2013. 6 184.
36. The use of biological testing for eco-toxicological assessment of the environment [Electronic resource] / S. Zhuravlev, A. Pankin, T. Sakharov // 6 access mode: // http://sociosfera.com/publication/conference/2013/170/ispolzovanie_biologicheskogo_testirovaniya_dlya_ekologotoksikologicheskoy_ocenki_obektov_okruzhayuwej_sredy.
37. The use of bioassays on bacteria *Photobacterium phosphoreum*, ciliate *Tetrahymena pyriformis* and *Drosophila melanogaster* for eco-toxicological evaluation / Usenko E.V. // Bulletin of the Kharkiv National University V.N.Karazina. 6 2006. 6 V. 3, № 729. 6 P. 202 -207.
38. Patent RU 2225000 The strain of the bacteria *Enterobacter aerogenes*, used as an indicator in drinking water during biotesting (s- sensitive) [Electronic resource] / Levanova G.F., Kashnikov S.Y., Mazepa V.N., Yakimycheva E.A. // 6 access mode: <http://bd.patent.su/2225000-2225999/pat/servlet/servlet3fff.html>.
39. Moiseenko T.I. Biological methods of water quality assessment: Part 2. Biotesting / Moiseenko T.I., Gashev S.N., Petukhov G.A., Elifanov A.V. Selyukov A.G. // Bulletin of the Tyumen State University. – 2010. – № 7. – P. 40-51.
40. Prohotskaya V.Y. Structural and functional characteristics of the model population *Scenedesmus quadricauda* intoxication: the thesis for the degree of cand.of boil. sciences: 03.00.18 / Prohotskaya Valeria Yu. — Moscow, 2000. — 135 c.
41. Influence of biologically active substances on morphological and biochemical indices of *Allium cepa* L. [Electronic resource] / Tolkacheva T.A. // 6 access mode: http://www.rusnauka.com/30_NNM_2012/Biologia/2_119605.doc.htm.
42. Biotesting using ordinary onions [Electronic resource] / Geirid Fiskesjo // 6 access mode: <http://masters.donntu.edu.ua/2006/feht/fomina/library/article5a.htm>.
43. Vergolyas M.R. The cytotoxic effect of chlorine phenols in the root meristem cells of welsch onion seeds onion (*Allium fistulosum* L.) / Vergolyas M.R., Lutsenko T.V., Goncharuk V.V. // Cytology and Genetics. – 2013. – V. 47, № 1. – P. 44-49.
44. Kontsevaya I. Improving methods of biotesting based on the *Allium* test / I.Kontsevaya, T. Tolkacheva // Herald VNU. – 2012. – № 6 (72). – P.57-65.
45. Sidorovich M.M. The use of biometric indicators *Allium* test for determining the quality of drinking water of the city / Sidorovich M.M. // Scientific journal of the National Pedagogical University im. M.P.Dragomanova. – 2013. – № 5. – P.182-192.

46. Kravchenko A.A. Toxicity nanoakvacitrate silver and copper with the test organisms of different trophic levels / Kravchenko A.A., Maxine V.I. Kovalenko V.F. / Scientific Notes Ternopil nat. ped.universitetu the V. Hnatiuk. – 2013. – №1 (54). – P.70-75.
47. Determination of the optimal exposure of drinking water on a red light by biotesting wheat germ [Electronic resource]/ Sofronova N.M., Pyatkov E.A.// 6 access mode: <http://rudocs.exdat.com/docs/index-327031.html>.
48. Yakovlev V.V. Biotesting natural water Kharkov region to assess their toxicity / Yakovlev V.V. Biryukov T.Y., Matsyuk S.A. // "Utilities cities" scientific and technical collection. – 2008. – № 84. – P.102-110.
49. Effect of detergents on living systems [Electronic resource]/ Nalimova EA., Zhuravlev S.V., Pankina A.V. // 6 access mode: <http://sibac.info/index.php/2009-07-01-10-21-16/6789-2013-03-11-09-47-53>.
50. Vinohodov D.O. Scientific basis of biotesting using ciliates: Thesis for the degree of doctor of biol. sciences: 03.00.23 / Vinohodov Dmitry. 6 St. Petersburg, 2007. 6 270.
51. Mechanisms of resistance to chemical damage ciliates and overcoming them lethal concentrations of synthetic surfactants (detergents) / Prisniy A.V. Volinkin Y.L., Campos N.N. // scientific statements Belgorod State University. – 2009. -- № 9-2, m. 11. – P. 45-54.
52. Effects of heavy metals on the chemical composition of the body clam / Kanieva N.A., Andreev A.A., Fedorova N.N., Golbina O.V. / Bulletin ASTU. – 2013. – № 1. – P. 135-139.
53. Bakaeva EN Ecological and biological foundations of the life of rotifers in normal conditions and anthropogenic pressures: The thesis of the doctor biological sciences: 03.00.29. 6 Moscow, 2000. 6 317 p.
54. Vergolyas M.R. Pro-apoptosis changes in erythrocytes of fish Danio rerio when exposed copper cations / M.R. Vergolyas, R.O. Biliy, R.S. Stoika, V.V. Goncharuk / Biological Studios / Studia Biologica. – 2009. – V. 3, № 2. – P. 15-22.
55. Vergolyas M.R. Morphological changes of blood cells, gills and tail fin fish in assessing water quality and the effect of toxic factors: abstract for the degree of candidate biologist. sciences specialty 03.00.11 "Cytology, Cell Biology, Histology" / MR Verholyas — Lviv, 2010. — 21 p.
56. Vergolyas M.R. The use of morphological and functional changes in the cells of fish as bioindicators of chemical pollution of water bodies / Vergolyas M.R., Goncharuk V.V. / Collected articles "Third All-Ukrainian Congress of ecologists with international participation". — Ball, 2011. — Tom.1. — S.298-301. Collected articles "III-th All-Ukrainian Congress of ecologists with international participation". – Vinnitsa, 2011. – Tom.1. – P. 298-301.

Резюме

БІОТЕСТУВАННЯ В ОЦІНЦІ ЯКОСТІ ПИТНИХ ВОД

Квасневська Н.Ф., Лебедева Т.Л., Бадюк Н.С., Гоженко А.І.

Наведено огляд літературних даних існуючих методів біотестування, як способу біологічної оцінки якості питних вод. Розглянуто тест-об'єкти, які використовуються в біотестуванні питних вод та їх реакції на токсичну дію речовин.

Ключові слова: біотестування, тест-об'єкт, тест-реакція, питна вода, ксенобіотики.

Summary

BIOASSAY IN THE ASSESSING OF DRINKING WATER QUALITY

Kvasnevskaya N.F., Lebedeva T.L., Baduk N.S., Gozhenko A.I.

An overview of existing literature data concerning bioassay methods as a way of assessing the biological quality of drinking water is provided. Test objects used in the bioassay of drinking water and their reactions to the toxic effects of different substances are considered.

Keywords: biological testing, test object, test reaction, drinking water, ksenobiotiki

Впервые поступила в редакцию 30.01.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

Гигиена, эпидемиология,
экология

Hygiene, Epidemiology,
Ecology

УДК 616.34:616.9]+613.31

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НАСЕЛЕНИЯ УКРАИНСКОГО ПРИДУНАВЬЯ: К АНАЛИЗУ ВКЛАДА ВОДНОГО ФАКТОРА

¹Ковальчук Л.Й., ²Мокиенко А.В., ³Садкова, А.Б. ⁴Тарасюк Е.Ф.,
⁵Закусило В.Н.

¹Одесский национальный медицинский университет;

²ГП Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта
МЗ Украины, г. Одесса; gigiena@kurort.odessa.net

³Главное управление государственной санитарно-эпидемиологической
службы в Одесской области,

⁴ГУ «Одесский областной лабораторный центр госсанэпидслужбы Украины»;

⁵ГУ «Украинский научно-исследовательский противочумный институт им. И.И.
Мечникова МЗ Украины», г. Одесса

Работа посвящена анализу взаимосвязи контаминации водопроводной воды вирусами и заболеваемости населения Украинского Придунавья кишечными инфекциями. Математический анализ показал конгрегационный (волнообразный) характер распределения при сопоставления заболеваемости населения гастроэнтероколитами установленной и не установленной этиологии, вирусным гепатитом А, и контаминации питьевой воды аденовирусами, энтеровирусами, реовирусами, вирусом гепатита А, ротавирусами. Это является косвенным свидетельством влияния вирусов на заболеваемость кишечными инфекциями в этом регионе, что обусловлено низкой эффективностью очистки поверхностных вод. Установлена доминантность аденовирусов в питьевой воде гг. Измаил, Болград, Килия, Рени. Многообразие биоценоза вирусов в питьевой воде в гг. Болград (1,6994) и Килия (2,0635) объяснено тем, что эти населенные пункты водоснабжаются из поверхностных водозаборов, наиболее подверженных загрязнению неочищенными либо недостаточно очищенными сточно-фекальными водами. Обоснована необходимость качественного и количественного расширения санитарно-вирусологического мониторинга водных объектов украинского Придунавья.

Ключевые слова: вода, вирусы, кишечные инфекции, население, украинское Придунавье

Введение

Неоспоримый факт взаимосвязи заболеваемости населения острыми кишечными инфекциями и биологической контаминацией воды различного вида пользования (питьевой, поверхностных водоемов, сточной) диктует необходимость тщательного исследования этой проблемы с гигиенической и эпидемиологической позиций [1-3]. Вместе с тем, количество исследований в этом направ-

лении в Украине весьма ограничено, причем наиболее заметные касаются Одессы и Одесской области [4, 5]. В этом регионе обращает особое внимание Украинское Придунавье, поскольку здесь проблема качества воды в последние десятилетия приобрела особую остроту, что оказывает несомненное влияние на заболеваемость населения и демографическую ситуацию в целом [6, 7]. Целенаправленные исследования в этом контексте практически отсутствуют,

за исключением гигиенической оценки вирусной контаминации водных объектов Украинского Придунавья [8]. Поэтому, цель настоящей работы состояла в анализе взаимосвязи контаминации водопроводной воды вирусами и заболеваемости населения этого региона кишечными инфекциями.

Материалы и методы

В работе применяли аналитические и математические методы исследований.

Источником аналитических исследований служили материалы санитарно-вирусологического мониторинга водных объектов Украинского Придунавья, выполненного Центральной иммуно-вирусологической лабораторией ГУ «Одесский областной лабораторный центр госсанэпидслужбы Украины» в течение 1996-2003 гг. За этот период в пробах питьевой воды определены аденовирусы (АВ), энтеровирусы (ЭВ), реовирусы (РеВ), вирус гепатита А (ВГА), ротавирусы (РВ). Информацией по заболеваемости населения кишечными инфекциями (гастроэнтероколиты установленной этиологии /ГУЭ/, гастроэнтероколиты неустановленной этиологии /ГНЭ/, ВГА) служили отчеты районных санэпидемстанций за период с 1999 по 2013 гг., поступающие в Главное управление государственной санитарно-эпидемиологической службы в Одесской области.

Статистическую обработку проводили классическими методами.

Определяли среднюю величину показателя, ошибку и 95 % доверительный интервал ($\Delta_{(95)}$) [9].

Характер распределения (равномерное, случайное, конгрегационное) определяли по формуле, приведенной в книге «Основы экологии» [10].

Процентное соотношение и 95 % доверительные интервалы вычисляли по стандартным формулам. При малых выборках расчет процентного отношения проводили по формуле Фишера. При оценке и сравнении показателей относи-

тельной доли при показателях, равных 0 % или 100 % показатель относительной доли вычисляли по формуле Ван дер Вардена [11].

Для сравнения двух альтернативных распределений использовали критерий χ^2 . В этом случае достоверными считались значения $\geq 3,841$, что соответствует ошибке ≤ 5 % допустимой в медико-биологических исследованиях. При малых выборках достоверность различия рассчитывали по формуле Фишера: достоверными в этом случае считали данные при ошибке ≤ 1 % [12]. В соответствующих таблицах достоверные результаты подчеркнуты.

Для вычисления степени многообразия системы, как математического выражения разнообразия структуры и частоты встречаемости компонентов, использовали формулу:

$$I = \sum_{i=0}^k - p_i \log_2 p_i$$

где I – показатель степени многообразия, p_i – вероятность встречаемости каждого компонента (в процентах, деленных на 100). Максимум средней информации означает неустойчивое состояние популяции (сообщества), меняющей свой состав. Минимум – решительное преобладание нормы, редкость вариантов и, следовательно, устойчивость популяции. Этот же показатель вычисляли и при оценке многообразия биоценозов ввиду его применимости в общем виде для оценки любых гетерогенных систем [13].

Результаты и их обсуждение

В табл. 1-12 представлено сопоставление результатов оценки заболеваемости населения ГУЭ, ГНЭ и ВГА в гг. Измаил, Болград, Килия, Рени с выделением кишечных вирусов из водопроводной воды.

Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что заболеваемость ГУЭ в г. Измаиле с 1999 по 2003 год имеет конгрегационный характер распределения, сле-

Таблица 1

Заболееваемость гастроэнтероколитами и ВГА в г.Измаиле (1999-2003 гг.)

	1999	2000	2001	2002	2003	средняя	Характер распределения	χ^2
ГУЭ	112,9	115,1	217,2	229,8	271,9	189,4 ± 91,5	Конгрегационный	64,006
ГНЭ	186,8	139	210,6	243,4	140	183,8 ± 57,7	Конгрегационный	27,825
ВГА	22,8	33,7	130,3	61,2	66,6	62,9 ± 27,9	Конгрегационный	73,494

Примечание: Здесь и далее для заболеваемости по годам достоверность различия χ^2 рассчитана для различия между минимальным и максимальным показателями

Таблица 2

Результаты выделения вирусов из водопроводной воды г. Измаил (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РеВ	Среднее значение ¹	Характер распределения
Всего проб	39	40	28	37	10	9,8 ± 13,8	Конгрегационный
Кол-во ПЦР+	2	0	8	0	0		
% ± ? ₍₉₅₎	7,3 ± 6,8	2,4 ± 4,6	28,6 ± 16,7	2,6 ± 4,9	8,3 ± 15,0		

¹В таблицах 2, 5, 8, 11 рассчитано среднее арифметическое значение процентного отношения, так как в данном случае именно этот расчет позволяет оценить характер распределения

Таблица 3

Достоверность различия χ^2 средних значений по выделению вирусов из водопроводной воды г. Измаил

	ВГА	РВ	АдВ	ЭВ
РВ	0,539			
АВ	5,329	10,346		
ЭВ	0,461	0,000	9,553	
РеВ	0,271	0,000	2,104	0,000

довательно, можно утверждать, что статистически достоверно в разные годы фиксировались спады и всплески заболеваемости. Действительно, достоверность различия между 1999 годом (минимум заболеваемости) и 2003 годом (максимум заболеваемости) высокая, $\chi^2 = 64,006$, ошибка значительно ниже 1 %.

Такая же картина наблюдается и для ГНЭ. Однако, в данном случае минимум заболеваемости отмечен в 2000 и 2003 гг., а максимум — в 2002 г. — $\chi^2 = 27,825$, различие высокодостоверно, ошибка значительно ниже 1 %.

Для ВГА минимум — максимум заболеваемости зарегистрированы в 1999 и 2001 г. соответственно, $\chi^2 = 73,494$, различие высокодостоверно, ошибка значительно ниже 1 %.

В водопроводной воде за период 1996-2003 гг. были обнаружены только ВГА и АВ (табл. 2), при этом АВ обнаруживались статистически высокодостоверно в 4 раза чаще, чем ВГА (табл. 3), $\chi^2 = 5,329$, различие высокодостоверно, ошибка значительно ниже 1 %. Также этот вирус статистически достоверно выделялся из водопроводной воды чаще,

чем РВ, ЭВ и РеВ.

РВ, ЭВ и РеВ по результатам ПЦР в водопроводной воде обнаружены не были. Однако, учитывая чувствительность реакции, а также небольшую выборку (40, 37 и 10 исследований соответственно) нельзя утверждать, что они в воде реально отсутствуют. Статистические расчеты показывают, что при данных выборках они могут присутствовать, но с частотой обнаружения меньше 7,0, 7,5 и 23,3 процентов соответственно, хотя не исключено и их полное отсутствие (табл. 2). Следует также отметить определенные трудности в интерпретации результатов санитарно-вирусологического мониторинга, что отражено в предыдущей работе [8], а именно высокую долю (15-30 % проб) отсутствия определений отдельных вирусов в связи с нехваткой соответствующих тест-систем.

В г. Болград (табл. 4-6) заболеваемость ГУЭ, ГНЭ и ВГА также имеет конгрегационный характер распределения, то есть статистически достоверно имеются годы с подъемами и спадами заболеваемости (табл. 4). Максимум заболеваемости ГУЭ приходится на 2000 г., а

Таблица 4

Заболееваемость гастроэнтероколитами и ВГА в г. Болград (1999-2003 гг.)

	1999	2000	2001	2002	2003	средняя	Характер распределения	χ^2
ГУЭ	142,1	150,9	95,6	107,8	105	120,3 ± 31,3	Конгрегационный	11,820
ГНЭ	94,3	91,8	81,7	59,4	47	74,8 ± 26,5	Конгрегационный	15,018
ВГА	81,7	116,9	80,5	151,2	55,3	97,1 ± 47,6	Конгрегационный	43,856

Таблица 5

Результаты выделения вирусов из водопроводной воды г. Болград (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РсВ	Среднее значение	Характер распределения
Всего проб	39	39	36	37	6	26,7 ± 23,1	Конгрегационный
Кол-во ПЦР+	3	17	15	1	2		
% ± ? (95)	9,8 ± 8,2	43,6 ± 15,6	41,7 ± 16,1	5,1 ± 5,1	33,4 ± 38,8		

Таблица 6

Достоверность различия χ^2 средних значений по выделению вирусов из водопроводной воды г. Болград

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ
РВ	11,369			
АВ	10,057	0,004		
ЭВ	0,211	15,372	13,990	
РсВ	1,352	0,000	0,004	3,490

минимум – на 2001 г., различие статистически высокодостоверно, $\chi^2 = 11,820$, ошибка значительно меньше 1 %. Для ГНЭ максимум заболеваемости пришелся на 1999 г., а минимум – на 2003 г., $\chi^2 = 15,018$, ошибка незначительно меньше 1 %. Максимальная заболеваемость ВГА отмечена в 2002 г., а минимальная – в 2003 г., $\chi^2 = 43,856$, ошибка значительно меньше 1 %.

Из воды в г. Болград, в отличие от г. Измаил, за период 1996-2003 гг. выделялись все 5 изученных возбудителей (табл. 5). При этом характер распределения конгрегационный, следовательно, статистически достоверно различные вирусы выделялись с разной частотой. При этом (табл. 6), частота выделения ВГА статистически высокодостоверно ниже, чем РВ и АВ (χ^2 значительно выше 3,841, ошибка значительно ниже 1 %) и находится на уровне частоты выделения ЭВ ($\chi^2 = 0,211$, различие статистически недостоверно). В то же время РВ и АВ выделялись статистически высокодостоверно чаще, чем ЭВ.

В г. Килия заболеваемость ГУЭ, ГНЭ и ВГА также в 1999-2003 годах имела конгрегационный характер (табл. 7).

Для ГУЭ максимум зарегистрирован в 1999 и 2000 г., минимум – в 2001 году ($\chi^2 = 6,029$, ошибка менее 5 %); ГНЭ максимум в 2002 г., минимум – в 2000 г. ($\chi^2 = 10,046$, ошибка менее 1 %); ВГА — в 2002 и 2001 гг. соответственно ($\chi^2 = 59,266$, ошибка менее 1 %).

Как и в г. Болград, в отличие от г. Измаил, из воды в период 1996-2003 гг. были выделены все 5 изучаемых вирусов (табл. 8). Вирусы статистически достоверно выделялись с разной частотой, о чем свидетельствует конгрегационный характер распределения. При этом статистически достоверное различие в частоте выделения отмечается только между вирусами АВ-ЭВ (табл. 9). Между другими вирусами статистически достоверного различия в частоте выделения не отмечается.

В г. Рени, как и в предыдущих случаях, констатирована тенденция к конгрегационному характеру распределения заболеваемости гастроэнтероколитами и ВГА по годам (табл. 10). Максимум заболеваемости ГУЭ пришелся на 2001, а минимум – на 2003 г. Однако, в отличие от рассмотренного выше, это различие находится на самом крайнем пределе

Таблица 7

Заболеваемость гастроэнтероколитами и ВГА в г. Килия (1999-2003 гг.)

	1999	2000	2001	2002	2003	средняя	Характер распределения	χ^2
ГУЭ	167,7	163,1	125	159,1	141,1	151,2 ± 22,7	Конгрегационный	6,029
ГНЭ	131,1	112,8	144,8	157,5	167,3	142,7 ± 27,5	Конгрегационный	10,046
ВГА	45,7	51,8	44,2	152,6	149,3	88,7 ± 72,6	Конгрегационный	59,266

Таблица 8

Результаты выделения вирусов из водопроводной воды г. Килия (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РеВ	Среднее значение	Характер распределения
Всего проб	71	86	74	80	50	26,7 ± 23,1	Конгрегационный
Кол-во ПЦР+	5	8	10	1	4		
% ± ? ₍₉₅₎	6,7 ± 5,6	9,3 ± 6,1	13,5 ± 7,8	2,4 ± 2,4	9,6 ± 7,4		

Таблица 9

Достоверность различия χ^2 средних значений по выделению вирусов из водопроводной воды г. Килия

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ
РВ	11,369			
АВ	10,057	0,004		
ЭВ	0,211	15,372	13,990	
РеВ	1,352	0,000	0,004	3,490

достоверности. Для ГНЭ установлена статистически высоко достоверная частота заболеваемости в 1999 г. по сравнению с минимумом в 2003 г. ($\chi^2 = 7,928$, ошибка менее 1 %). Заболеваемость ВГА была максимальной в 2001 году, а минимальная – в 1999 году ($\chi^2 = 7,606$, ошибка менее 1 %).

В период с 1996 по 2003 г. из воды были выделены 4 из 5 изучаемых вирусов (табл. 11). ЭВ зарегистрированы не были, однако, учитывая небольшой размер выборки (16 исследований), статистический расчет показывает, что если бы эти вирусы присутствовали в количестве менее 15,9 % проб, то обнаружить их не представилось бы возможным. Конгрегационный характер частоты выделения свидетельствует о статистически достоверном различии. Как видно из приведенных в табл. 12 данных, статистически достоверного различия не отмечается у вирусов ВГА-РВ, ВГА-ЭВ и РВ-ЭВ. Различие в частоте обнаружения в воде между всеми остальными вирусами статистически высоко достоверно, ошибка для одной пары вирусов (ВГА-РеВ) меньше 5 % допустимых в медико-биологических исследованиях, а для остальных 6 – даже меньше 1 %.

Как видно из данных табл. 13 (результаты обработки данных табл. 2, 5, 8,

11), ВГА выделяется из водопроводной воды во всех городах практически с одной частотой (различие не достоверно) и при этом является минорным компонентом ценоза. РВ статистически достоверно чаще выделяется в г. Болград, чем в гг. Измаил и Килия. АВ статистически достоверно в г. Рени выделяется чаще, чем в гг. Измаил, Болград и Килия. ЭВ практически с одной частотой выделяется во всех обследованных городах (различие статистически не достоверно). РВ только в Рени выделяется статистически достоверно чаще, чем в Килие. Между остальными вирусами по городам различия не наблюдается. Это позволяет нам усреднить данные и рассмотреть выделение вирусов суммарно по придунайским городам Одесской области (табл. 14, 15).

Данные табл. 14 свидетельствуют, что распределение частоты обнаружения вирусов в водопроводной воде суммарно в городах Придунавья носит конгрегационный характер. Следовательно статистически достоверно можно утверждать, что рассмотренные вирусы различаются по частоте их обнаружения в воде. При этом, различие в частоте обнаружения между всеми вирусам в воде статистически достоверно (табл. 15). Исключение составляют только АВ-РеВ

Таблица 10

Заболееваемость гастроэнтероколитами и ВГА в г. Рени (1999-2003 гг.)

	1999	2000	2001	2002	2003	средняя	Характер распределения	χ^2
ГУЭ	57,3	55,1	74,9	59,7	52,2	59,8 ± 11,3	Конгрегационный	3,813
ГНЭ	59,5	48,5	50,7	42,3	32,3	45,9 ± 9,8	Конгрегационный	7,928
ВГА	13,2	17,6	39,7	24,9	22,4	23,6 ± 9,6	Конгрегационный	7,606

Таблица 11

Результаты выделения вирусов из водопроводной воды г. Рени (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РеВ	Среднее значение	Характер распределения
Всего проб	13	16	12	16	7	39,0 ± 51,3	Конгрегационный
Кол-во ПЦР+	1	1	12	0	5		
% ± ? (95)	13,8 ± 13,8	11,4 ± 11,4	92,9 ± 13,0	5,6 ± 10,3	71,4 ± 33,5		

Таблица 12

Достоверность различия χ^2 средних значений по выделению вирусов из водопроводной воды г. Рени

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ
РВ	0,342			
АВ	17,764	20,608		
ЭВ	0,011	0,000	24,066	
РеВ	6,028	7,615	12,281	10,707

и РВ–РеВ, для которых различие в частоте обнаружения статистически не доказано.

Анализ структуры биоценозов вирусов в воде изученных городов показал следующее.

В г. Измаил доминируют АВ, субдоминантную группу представляет ВГА: достоверность различия $\chi^2 = 5,329$, различие достоверно, ошибка менее 5 %. Остальные 3 вируса можно отнести к минорному компоненту ценоза. Они либо отсутствуют в воде, либо присутствуют в незначительном количестве, ниже уровня чувствительности метода выделения.

В г. Болград в ценозе доминируют РВ и АВ. Различие между ними статистически не достоверно, что позволяет отнести их к одной экологической группе. При этом они статистически достоверно отличаются от ВГА и ЭВ, которые представляют минорный компонент ценоза. Отнести РеВ к какой-либо группе не представляется возможным в связи с малой выборкой изученного материала.

В г. Килия в вирусном биоценозе воды существенного различия в частоте выделения вирусов не прослеживается. Статистически достоверное различие регистрируется только между АВ и ЭВ,

что позволяет вирус АВ отнести к доминантной группе, а ЭВ – к минорному компоненту ценоза. Учитывая общую тенденцию, вирусы ВГА, РВ и РеВ можно отнести к субдоминантной группе, однако, не исключено, что при большей выборке исследования некоторые из них могли бы относиться к доминантной группе.

В г. Рени доминирует АВ, субдоминантный компонент ценоза представлен РеВ – различие статистически достоверно. Остальные вирусы представляют минорный компонент ценоза, статистически достоверно отличаясь от АВ и РеВ, а между собой статистически не различаются.

Суммарно по всем 4-м городам в воде доминирует АВ, РеВ и РВ представляют субдоминантную группу. Вирусы ВГА и ЭВ представляют минорный компонент ценоза.

Таким образом, можно судить с определенной степенью достоверности, что во всех изученных городах и суммарно по региону в водопроводной воде доминирует АВ, а ЭВ встречается редко, остальные вирусы встречаются с разной частотой между указанными.

Расчет степени многообразия биоценоза вирусов в воде 4-х городов по-

Таблица 13

Достоверность различия в частоте обнаружения вирусов в водопроводной воде городов украинского Приднурья (1996-2003 гг.)

Город	Достоверность различия χ^2 в частоте выделения вирусов				
	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РеВ
Измаил-Болград	0,000	19,711	0,9733	0,000	$p = 12,5^1$
Измаил-Киля	0,000	2,563	2,218	0,158	0,054
Измаил-Рени	0,118	0,229	14,405	0,000	0,000
Болград-Киля	0,067	17,631	9,386	0,041	1,434
Болград-Рени	0,361	5,589	10,187	0,190	$p = 18,3$
Киля-Рени	0,252	0,007	36,154	0,808	14,115

¹ При малых выборках расчет достоверности проводится не по формуле χ^2 , а по Фишеру. Считается сразу ошибка. При $p > 1$ различие считается не достоверным.

Таблица 14

Суммарные результаты выделения вирусов из водопроводной воды городов украинского Приднурья (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ	РеВ	Среднее значение	Характер распределения
Исследовано	162	181	150	170	73	14,74 ± 14,3	Конгрегационный
Кол-во ПЦР+	11	26	45	2	15		
%	6,8	14,4	30,0	1,7	20,5		
? (95)	3,9	5,1	7,3	1,6	9,3		

Таблица 15

Достоверность различия χ^2 средних значений обнаружения вирусов в водопроводной воде городов Украинского Приднурья (1996-2003 гг.)

	ВГА	РВ	АВ	ЭВ
РВ	4,340			
АВ	26,935	10,991		
ЭВ	5,536	19,013	50,560	
РеВ	8,333	1,04	1,776	26,552

казал следующие результаты: Измаил – 0,7219; Болград – 1,6994; Киля – 2,0635; Рени – 1,3727; суммарно по региону – 1,9463.

Высокая степень многообразия, особенно в гг. Болград, Киля, Рени и суммарно по всему региону, свидетельствует о нестабильности вирусных биоценозов в воде и о возможной смене доминирования вирусов в ценозах.

Следует отметить, что отсутствие возможности размножения вирусов в воде не отрицает существование их биоценозов в этой экосистеме. Вода в данном случае является одной из экологических составляющих системы циркуляции этих вирусов в природе, куда они попадают из системы паразит-хозяин и вторично передаются хозяину. Следовательно, эта система объективно отражает состояние экологического комплекса хозяин-паразит-среда и является индикатором вирусного биоценоза, что подробно рассмотрено в монографии [3].

Полученные результаты подтверждают установленный нами ранее факт [8] доминирования АВ как основных вирус-

ных контаминантов воды. Поскольку АВ значительно чаще и в больших количествах (по сравнению с ЭВ) выявляют в неочищенных сточных водах, в настоящее время превалирует мнение об их использовании как индикаторов вирусного загрязнения воды [14]. Такую же мысль высказывают авторы недавней работы [15], ссылаясь на убиквитарность и исключительную выживаемость этих вирусов в воде.

В отличие от предыдущих эпидемиологических исследований [4, 5], в которых установлена достоверная корреляционная связь контаминации водопроводной воды вирусом гепатита А и заболеваемости населения ВГА, здесь такой зависимости не обнаружено, что объясняется, прежде всего, малой выборкой результатов санитарно-вирусологического мониторинга, значительной долей отсутствия определений конкретных вирусов, различными временными периодами санитарно-вирусологических и эпидемиологических исследований. Однако, это не отрицает влияние вирусов не только на сезонность и циклич-

ность вирусных кишечных инфекций, но, что особенно важно, на спорадичность такой заболеваемости [5]. Последнее подчеркивает необходимость верификации этих возбудителей и тщательного молекулярно-эпидемиологического расследования каждого случая инфекции.

Выводы

1. Конгрегационный (волнообразный) характер распределения, выявленный при математическом анализе сопоставления заболеваемости населения Украинского Придунавья гастроэнтероколитами установленной и неустановленной этиологии, а также ВГА, и контаминации питьевой воды аденовирусами, энтеровирусами, реовирусами, вирусом гепатита А, ротавирусами, является косвенным свидетельством влияния вирусов на заболеваемость кишечными инфекциями в этом регионе. Это тем более вероятно в связи с низкой эффективностью очистки поверхностных вод в этом регионе.
2. Аденовирусы являются доминантной группой биоценоза вирусов в питьевой воде гг. Измаил, Болград, Килия, Рени, что свидетельствует о необходимости типирования этих вирусов в воде, верификации этих возбудителей у больных и эпидемиологической оценки такой взаимосвязи.
3. Наибольшее многообразие биоценоза вирусов в питьевой воде в гг. Болград (1,6994) и Килия (2,0635), свидетельствующее о возможной смене доминирования вирусов в ценозах, может объясняться тем, что эти населенные пункты водоснабжаются из поверхностных водозаборов (оз. Ялпуг и р. Дунай соответственно), которые в большей степени, нежели подземные (гг. Измаил, Рени), подвержены загрязнению неочищенными либо недостаточно очищенными сточно-фекальными водами.
4. Следует признать крайне недостаточным объем санитарно-вирусоло-

гического мониторинга водных объектов этого региона и необходимость качественного и количественного его расширения.

Литература

1. Guidelines for drinking water quality.- The 4nd ed.- Vol.1. Recommendations.-World Health Organisation.- Geneva.- 2011.-501 p.
2. Вода и водно-обусловленные инфекции /А. В. Мокиенко, А. И. Гоженко, Н. Ф. Петренко, А. Н. Пономаренко / Одесса: «Лерадрук». – 2008. – Т. 1. – 412 с.
3. Вода и водно – обусловленные инфекции / А. В. Мокиенко, А. И. Гоженко, Н. Ф. Петренко, А. Н. Пономаренко / Одесса: ООО «РА «АРТ – В». – 2008. – Т. 2. – 288 с.
4. Козішкурт О. В. Епідеміологічна характеристика та роль водного фактору в поширенні гепатиту А в м.Одесі : автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук : спец. 14.02.02 «Епідеміологія» / О. В. Козішкурт. – К., 2006. – 21 с.
5. Мокієнко А.В. Еколого-гігієнічні основи безпечності води, що знезаражена діоксидом хлору : автореф. дис. ... доктора мед. наук : спец. 14.02.01 «Гігієна та професійна патологія» / ДУ “Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М.Марзєєва” АМН України / А.В.Мокієнко. – К., 2009. – 36 с.
6. Топчів О.Г. Одещина у складі єврорегіону “Нижній Дунай”: пріоритети загальнодержавної та регіональної політики у прикордонному співробітництві // Актуальні проблеми державного управління. – 2000. – Вип. 3. – С. 91 – 101.
7. Ковальчук Л.Й. Сучасний еколого-гігієнічний стан водних об’єктів Українського Придунав’я / Л.Й. Ковальчук, А.В. Мокієнко // Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров’я; патологія. – 2014. – №3 (37). – С. 171 – 183.
8. Ковальчук Л.Й. Гігієнічна оцінка вірусної контамінації водних об’єктів Українського Придунав’я / Л.Й. Ковальчук, А.В. Мокієнко // Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров’я; патологія. – 2014. – № 4, т. 2 (38-II). – С. 41 – 48.
9. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах // М., 1975. – 295 с.

10. Дажо Р. Основы экологии / пер. В.И. Назаров; ред. В.В. Алпатов. – Москва : Прогресс, 1975. – 415 с.
11. Сепетлиев Д. Статистические методы в научных медицинских исследованиях / Д. Сепетлиев // М.: 1968. – 420 с.
12. Минцер О. П. Методы обработки медицинской информации / О. П. Минцер, Б. Н. Угаров, В. В. Власов // Киев, 1982. – 160 с.
13. Шмальгаузен И. И. Кибернетические вопросы биологии. – Новосибирск, 1968. – 224 с.
14. Quantification and Stability of Human Adenoviruses and Polyomavirus JCPyV in Wastewater Matrices / S. Bofill-Mas, N. Albinana-Gimenez, P. Clemente-Casares [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – V. 72, N 12. – P. 7894 – 7896.
15. Evaluation of human adenovirus and human polyomavirus as indicators of human sewage contamination in the aquatic environment / J. Hewitt, G. E. Greening, M. Leonard [et al.] // Water Research. – 2013. – V. 47, N 17. – P. 6750 – 6761.
6. Topchiyev O. G. The Odessa Region in the Content of European Region “The Low Danube”: Urgent Problems of the State and Regional Policy in Near-Boundary Collaboration // Urgent Problems of State Management. – 2000. – Iss. 3. – P. 91 – 101 (Ukr.).
7. Kovalchuck L. I. Modern environmental and health condition of the water objects of Ukrainian Near-Danube Region / L. I. Kovalchuck, A. V. Mokiyeenko // Urgent Problems of Transport Medicine. – 2014. – №3 (37). – P. 171 – 183 (Ukr.).
8. Kovalchuck L. I. Hygienic estimation of virus contamination of water objects of Ukrainian Near-Danube Region / L. I. Kovalchuck, A. V. Mokiyeenko // Urgent Problems of Transport Medicine. – 2014. – №4, T.2 (38-II). – P. 41 – 48 (Ukr.).
9. Urbach VY. Statistical analysis in biological and medical research / VY Urbach. - Moscow, 1975. — 295 p. (Rus.)
10. Dazho R.. Fundamentals of Ecology / Transl. VI Nazarov; Ed. VV Alpatov. — Moscow: Progress, 1975. — 415 p. (Rus.)
11. Sepetliev D. Statistical methods in medical research / D. Sepetliev. – Moscow, 1968. — 420 p. (Rus.).

References

1. Guidelines for drinking water quality.- The 4nd ed.- Vol.1. Recommendations.-World Health Organisation.- Geneva.- 2011.-501 p.
2. Water and waterborne infection / A. V. Mokiyeenko, A. I. Gozhenko, N. F. Petrenko, A.N. Ponomarenko / Odessa: «Leradruk». – 2008. – T. 1. – 412 p.
3. Water and waterborne infection / A. V. Mokiyeenko, A. I. Gozhenko, N. F. Petrenko, A.N. Ponomarenko / Odessa: LTD “RA” ART – B». — 2008. — T. 2. — 288 p.
4. Kozishkurt OV. Epidemiological characteristic of the role of water factor in hepatitis A spreading in Odessa: Candidate Thesis in Spec. 14.02.02 “Epidemiology”, Synopsis / OV Kozishkurt. — Kiev, 2006. — 21 p. (Ukr.)
5. Mokiyeenko A. V. Ecological-and-Hygienic Foundations of the Safety of Water Disinfected with Chlorine Dioxide: Synopsis of Doctor Thesis on Specialty 14.02.01 / SE “O. M. Marzyeev Institute for Hygiene and Medical Ecology of Academy of Medical Sciences of Ukraine. – Kiyev, 2009. – 28 p. (Ukr.).
12. Mintzer OP. Methods of processing of medical information / OP Mintzer, BN Ugarov, VV Vlasov.- Kiev: Prosveshcheniye, 1982. — 160 p. (Rus.)
13. Shmal'gauzen I.I. Cybernetic questions of biology. — Novosibirsk, 1968. — 224 p. (Rus.).
14. Quantification and Stability of Human Adenoviruses and Polyomavirus JCPyV in Wastewater Matrices / S. Bofill-Mas, N. Albinana-Gimenez, P. Clemente-Casares [et al.] // Applied and Environmental Microbiology. – 2006. – V. 72, N 12. – P. 7894 – 7896.
15. Evaluation of human adenovirus and human polyomavirus as indicators of human sewage contamination in the aquatic environment / J. Hewitt, G. E. Greening, M. Leonard [et al.] // Water Research. – 2013. – V. 47, N 17. – P. 6750 – 6761.

Резюме

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАХВОРЮВАНОСТІ
КИШКОВИМИ ІНФЕКЦІЯМИ
НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО
ПРИДУНАВ'Я: ДО АНАЛІЗУ ВНЕСКУ
ВОДНОГО ФАКТОРА**

*Ковальчук Л.Й., Мокієнко А.В.,
Садкова О.Б., Тарасюк О.П.,
Закусило В.М.*

Робота присвячена аналізу взаємозв'язку контамінації водопровідної води вірусами і захворюваності населення Українського Придунав'я кишковими інфекціями. Математичний аналіз показав конгрегаційний (хвилеподібний) характер розподілу при співставлення захворюваності населення гастроентероколітами встановленої і невстановленої етіології, вірусним гепатитом А, і контамінації питної води аденовірусами, ентеровірусами, реовірусами, вірусом гепатиту А, ротавірусами. Це є непрямим свідченням впливу вірусів на захворюваність кишковими інфекціями в цьому регіоні, що обумовлено низькою ефективністю очищення поверхневих вод. Встановлена домінантність аденовірусів у питній воді м. Ізмаїл, Болград, Кілія, Рені. Різноманіття біоценозу вірусів у питній воді в м. Болград (1,6994) і Кілія (2,0635) пояснене тим, що ці населені пункти водозабезпечуються з поверхневих водозаборів, які найбільш забруднюються неочищеними або недостатньо очищеними стічно-фекальними водами. Обґрунтована необхідність якісного і кількісного розширення санітарно-вірусологічного моніторингу водних об'єктів українського Придунав'я.

Ключові слова: вода, віруси, кишкові інфекції, населення, українське Придунав'я.

Summary

**CHARACTERISTICS OF INTESTINAL
INFECTIONS IN UKRAINIAN DANUBE
POPULATION: TO THE ANALYSIS OF
WATER FACTOR CONTRIBUTION**

*Kovalchuk L.Y., Mokienko A.V.,
Sadkova A.B., Tarasyuk E.F.,
Zakusilo V.N.*

The relationship of tap water contamination by viruses and morbidity of Ukrainian Danube population by intestinal infections has been analyzed. The mathematical analysis done showed that congregation (wavy) distribution pattern takes place when comparing morbidity by gastroenterocolitis of established and unknown etiology, hepatitis A, and contamination of drinking water by adenoviruses, enteroviruses, reoviruses, hepatitis A virus, rotaviruses. This is an indirect evidence of the impact of viruses on the incidence of intestinal infections in the region, due to the low efficiency of surface water purification. The dominance of adenoviruses in drinking water in Izmail, Bolgrad, Kiliya, Reni has been established. The diversity of ecological community of viruses in drinking water in the cities of Bolhrad (1.6994) and Kealia (2.0635) is explained by their water supply from surface water intakes, the most exposed to pollution by untreated or insufficiently treated sewage, fecal waters. The necessity of the qualitative and quantitative expansion of sanitary and virological monitoring of Ukrainian Danube Region water bodies is proved.

Keywords: water, viruses, intestinal infections, population, Ukrainian Danube region.

*Впервые поступила в редакцию 03.02.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.68:629.543:628.8.02

РОЛЬ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА В БЕЗОПАСНОЙ ЭКСПЛУАТАЦИИ МОРСКИХ ТАНКЕРОВ

Голикова В.В.

*Одесская национальная морская академия,
Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса; golikovavladislava@i.ua*

Одним из наиболее многочисленных по количеству и дедевету типов морских транспортных судов являются танкеры, предназначенные для перевозки наливных грузов (нефти и нефтепродуктов, химикатов и сжиженных газов, вина и растительных масел и др. грузов). По разным источникам они составляют порядка 20-30 % общей численности судов мирового морского транспортного флота. В зависимости от выполняемых транспортных функций их размеры и грузоподъемность варьируют в широком диапазоне величин от малых бункеровщиков и судов типа «река-море» до крупнейших супертанкеров, превосходящих по своим линейным и объемным характеристикам суда всех других типов. Это определяет не только эксплуатационные особенности, но и условия труда и трудового процесса членов экипажей, требования всех видов безопасности, энергетические и психофизиологические нагрузки на моряков. Показано основополагающее влияние на организм химических факторов, что вытекает из номенклатуры перевозимых грузов, невозможности полного исключения миграции в воздух судовых помещений летучих углеводородов, компонентов применяемых в оборудовании и отделке судовых помещений полимерных материалов, отработавших газов энергетической установки, органических растворителей. Отмечено сочетанное действие химических, физических и других производственных факторов, подчеркнута роль времени воздействия как интегрального показателя для регламентирования продолжительности непрерывного плавания, а также гигиенически и психофизиологически обусловленной минимальной численности судового экипажа. В работе приведены материалы анализа литературы и результаты собственных исследований, характеризующие основные гигиенические, токсикологические, психофизиологические и экологические особенности труда и обитаемости нефтеналивных судов и аргументированы рекомендации по безопасности жизнедеятельности, сохранению здоровья моряков и предотвращению загрязнения вод Мирового океана. В решении этих задач вопросам профессиональной компетентности, перманентной переподготовке и тренингу членов экипажей, в первую очередь судовых операторов, принадлежит важная, а по ряду позиций – решающая роль.

Ключевые слова: суда нефтеналивные, моряки, условия труда, психофизиология, экологическая безопасность

Введение

Одной из основных тенденций развития морского транспортного флота является прогрессивный рост в его составе специализированных судов, предназначенных для перевозки наливных, навалочных и насыпных грузов, а также большегрузных контейнеров [1]. Среди них по праву доминируют нефтеналивные танкеры, которые начали строить в последней четверти XIX века,

а уже через 100 лет их удельный вес по количеству эксплуатируемых судов в составе мирового морского флота превысил 30 % [2]. Морской танкер — это судно, предназначенное для перевозки жидких грузов (нефти и нефтепродуктов, растительных масел, виноматериалов, кислот, расплавленной серы и др.) в судовых цистернах (танках). Поскольку перевозка нефти и нефтепродуктов танкерами по экономическим критери-

ям уступает только трубопроводному транспорту, а по ряду показателей превосходит его, нефтеналивные танкеры доминируют среди наливных судов. Сегодня в мировом торговом флоте эксплуатируется более 11000 нефтеналивных судов. Их техническое совершенствование и повышение всех видов безопасности является актуальной проблемой морского транспорта [3].

Эколого-гигиенические, токсикологические, психофизиологические исследования и их результативность отстают от технических, технологических и организационных решений в этой области, а основные требования в сфере медицины труда и экологической безопасности находятся по ряду важных показателей на уровне 80-х годов 20-го столетия [4]. Анализ состояния проблемы, статистика высокой аварийности, разливов нефти в разных районах Мирового океана свидетельствует об актуальности дальнейших исследований в этой области профилактической медицины с целью повышения потенциала здоровья моряков танкерного флота, безопасности судоходства, защиты окружающей среды от загрязнения с судов. Работы в данном направлении проводятся нами в рамках программ медицины транспорта и безопасности жизнедеятельности плавсостава. Они корреспондируются с усилиями Международной морской организация (ИМО), которая регулирует не только вопросы технической эксплуатации флота, безопасности мореплавания, но и осуществляет совместно с профсоюзами, Международной организацией труда (МОТ) и Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) разработку эффективных мер по защите интересов моряков, безопасности труда, охране окружающей среды и сохранению здоровья плавсостава. Выработанные требования и перечни необходимых мер нашли отражение в ряде основополагающих документов, таких как Международная конвенция по предотвращению загрязнения

моря с судов (МАРПОЛ 73/78) [5] Международная конвенция по охране человеческой жизни на море (СОЛАС 74) [6], Международная конвенция о подготовке и дипломировании моряков и несении вахты (ПДНВ 78/95 с Манильскими поправками 2010 г.) [7], Конвенция МОТ «О труде в морском судоходстве» (MLC-2006) [8] и др. Поскольку украинские моряки работают на судах (в том числе и танкерах) судовладельцев разных стран мира, все позиции, касающиеся «человеческого фактора» на судах нефтеналивного флота должны быть согласованы с международными документами и требуют специального рассмотрения.

1. Основные тенденции развития нефтеналивного флота

Строительство и эксплуатация танкерного флота определяются, прежде всего, сформировавшимся международным рынком нефтепродуктов, основными направлениями грузопотоков, соотношением между добычей и спросом на поставки данного ценного энергетического и химического сырья. Поскольку перечень эксплуатационных задач для танкеров достаточно широк (ближние, дальние, фидерные перевозки, рейдовые дозагрузки, обслуживание морских нефтяных промыслов, бункеровка судов и т.п.), существует спрос на суда разной вместимости и типоразмеров. Это нашло свое отражение в Международной классификации судов [9], вытекающей из требований IACS [10]. Тем не менее, на мировом рынке не только преобладают по суммарному дедвейту крупнотоннажные суда, но и прослеживается четкая тенденция к пополнению флота супертанкерами, общий вид крупнейшего из которых в истории мирового танкерного флота представлен на рис. 1.

Наряду с положительными моментами (возможность перевезти одновременно 564,7 тыс. т нефти при увеличении экономических затрат всего на 15 % по отношению к серийным судам), в

процессе эксплуатации супертанкеров возникает ряд эксплуатационных, производственных и экологических трудностей. Это не просто объект длиною в полкилометра — 458,5 м, шириной 68,9 м и осадкой 24,6 м, но и трудно управляемое движущееся транспортное средство, тормозной путь которого порядка 10 км, а для разворота (с буксирами) ему необходимо



Рис. 1. Общий вид наибольшего в истории судостроения супертанкера «Jahre Viking» [11]

акватория диаметром в 2 км. Судно не могло пройти Суэцкий и Панамский канал ввиду огромных габаритов, более того ему не разрешали проходить через Ла-Манш, ввиду риска сесть на мель.

Поэтому выбор остается за судовладельцем. Тем не менее, было построено еще 6 танкеров класса ULCC (ультра большой нефтеналивной танкер), которые превзошли отметку 500000 т дедвейта (до 655000 т у т/х «Batillus» с 4 паровыми турбинами в качестве двигателей с мощностью по 64800 л.с. каждая), Среди эксплуатирующихся в настоящее время супертанкеров следует выделить 4 однотипных, общий вид одного из которых представлен на рис. 2 [11].

Суда построены в 2002 г. Судно с типоразмерами: длина — 380 м, ширина — 68 м, осадка — 24,52 м, способно перевозить в своих грузовых танках до

441585 т сырой нефти.

В современной международной практике танкеры подразделяются на несколько классов, характеристики наиболее типичных представителей которых суммированы в табл. 1 (адаптировано из [9]). Как видно из приведенных данных, с всех табличных характеристик представляют крупнотонажные суда, которые доминируют в составе мирового транспортного флота. Это создает, как уже упоминалось в приведенном выше примере, большие трудности в обеспечении маневренности судов, безопасности в прибрежном плавании, при проведении швартовных операций и в дру-



Рис. 2. Находящийся в эксплуатации супертанкер «T1 Oceania»

Подразделение нефтеналивных судов на классы

Класс	Длина, м	Ширина, м	Осадка, м	Дедвейт, т	
				мин.	макс.
Small*	100,0	18,0	4,0	3,000	10,000
Middle*	150	20,0	6,0	10,000	30,000
Seawaymax	225,0	24,0	8,2	10,000	60,000
Panamax	228,6	32,3	12,6	60,000	80,000
Aframax	253,0	44,2	11,6	80,000	120,000
Suezmax	270,0	50,0	16,5	120,000	200,000
VLCC (Malaccamax)	330,0	60,0	20,0	200,000	320,000
ULCC	450,0	70,0	25,0	320,000	655,000

Примечание: * — классы малых и средних танкеров характеризуется большим разнообразием типов, размеров и грузоподъемности

гих сложных навигационных условиях. Поэтому предпринимаются настоячивые технические и технологические меры для повышения надежности современных танкеров.

Наибольшим спросом пользуются танкеры классов Seawaymax, Panamax, Aframax. Так, все 94 танкера, построенные за последние 15 лет для одной из крупнейших судоходных компаний MAERSK, относятся к первым двум из упомянутых классов. Среди их важных достоинств выделяются такие, как высокая маневренность, способность проходить Панамским и Суэцким каналами, а также наличие двойного корпуса, что обеспечивает высокий уровень экологической безопасности.

Второй особенностью танкеров является преобладание в их составе судов для перевозки сырой нефти («грязные») и низкокипящих нефтепродуктов («чистые» суда), требования к безопасной эксплуатации которых также постоянно возрастают. Этот фактор приходится учитывать судовладельцам как ограничивающий при решении вопроса о допустимом сокращении экипажей, что не случайно стало предметом специального обсуждения в 2014 г. на заседании второго подкомитета ИМО по «Влиянию человеческого фактора, подготовки и несению вахты» (НТW2) [12]. На основании выработанных в Лондоне рекомендаций в Украине был утвержден новый порядок определения минималь-

ного состава экипажа судна (приказ Министерства инфраструктуры от 10.11.2014 г. № 575). Согласно этому документу в минимальном экипаже должны быть комсостав и судовая команда, обеспечивающие за сохранность судна, груза, безопасность моря-

ков и окружающей среды. Экипажа зависит от района плавания, суммарного времени работы экипажа и его регулярного отдыха на берегу, режима эксплуатации судна, охраны окружающей среды, защиты команды и пассажиров от действия экстремальных судовых, внешних социальных и природных факторов [13].

Танкеры относятся к приоритетным в плане обеспечения компетентными членами экипажа судам. Особенно остро стоит вопрос о достаточной по численности команде и профессионально важных качествах офицерского состава. Этот вопрос требует дальнейшего комплексного изучения силами гигиенистов, физиологов и психологов труда совместно с эксплуатационниками и судовладельцами. Не случайно, ИМО уделяет все большее внимание человеческому фактору в судоходстве, о чем свидетельствует повестка дня второго заседания подкомитета НТW2, которое состоялось 2-6.02.2015 г. в Лондоне. Из 19 вопросов повестки дня не менее 6 касались непосредственно этой проблемы [12]. Принятые решения будут способствовать повышению компетенций персонала, безопасности судовых операций в полярных водах перманентной специальной подготовке плавсостава.

Третьей, экологически значимой, особенностью строительства современных танкеров по соображениям безо-

пасноси, является, как уже упоминалось выше, устройство не только двойного дна, но и такого же корпуса, а также устройство изолированных танков для приема балластов, исключая вероятный непосредственный контакт перевозимого груза с окружающей средой при аварии судна. Так, например, одна из крупнейших судоходных компаний в мире – «Совкомфлот» — располагает 132 танкерами дедвейтом 9,5 млн. т со средним возрастом около 6 лет. Строится еще 30 танкеров дедвейтом 2,6 млн. т [14]. При этом подчеркивается, что только у 2 судов нет двойного корпуса, а только двойное дно. Это одно из относительно новых требований к экобезопасности нефтеналивного флота. Освоение континентального шельфа, особенно в Арктических широтах, сопряжено с переориентацией нефтяных грузопотоков и направлений работы нефтеналивного флота. Так, согласно данным Росморпечфлота грузооборот Российских портов в 2008 г. составлял 455 млн. т. Навалочные и наливные грузы составили 59 % грузооборота, из них экспортные – 75 % или 344 млн т. Северо-восточные порты России перерабатывают 47,0, южные – 35,0 и восточные – 18,0 % грузов. На 2015 г. благодаря интенсивному освоению заполярного шельфа и береговых месторождений в районе Баренцева моря планируется перевезти 100 млн т сырой нефти, причем, значительную ее часть – вдоль берегов Норвегии. Неблагоприятные погодные условия, сложная ледовая обстановка, особенно в зимний период года, несмотря на наличие танкеров ледового класса, проводку судов 28 ледоколами (из них 7 — атомных), представляет реальную угрозу побережью и северным городам этой страны, что вызывает обеспокоенность не только экологов, но и всего населения Норвегии [15]. В этих условиях экологический аспект проблемы безопасной эксплуатации нефтеналивного флота приобретает особое значение.

2. Гигиенические аспекты труда моряков танкерного флота

Специфика эксплуатации судов нефтеналивного флота в гигиеническом плане, как показали результаты проведенного нами анализа годового рейс-оборота 9 нефтеналивных судов, определяется такими факторами, как наличие на борту в течение всего периода эксплуатации судна опасных грузов. Поэтому не удивительно, что среди действующих на организм моряка вредных факторов большое значение по результатам замеров и субъективной оценки условий труда и обитаемости членами экипажей имеет химический фактор. В ходовом режиме в открытом море относительно низкие концентрации паров перевозимых грузов в значительном числе проб (около 70 %) не превышают ПДК_{РЗ}. Тем не менее, учитывая непрерывное многосуточное пребывание членов экипажей на борту судна, равномерность использования указанного норматива является дискуссионным. Единство зон труда и отдыха, ограничение сферы обитания жилой надстройкой судна, в которой практически осуществляется вся жизнедеятельность моряка в рейсе, — все это требует применения в качестве отправных нормативных величин для оценки качества судовой среды более жестких показателей по типу ПДК_{СС} [16]. Это относится как к парам углеводородов, отработавших газов, так и компонентам широко применяемых в интерьере судовых помещений полимерных материалов. И хотя в настоящее время доступ на суда для проведения гигиенического мониторинга крайне ограничен, даже проведенные в период стоянки под грузовыми операциями в портах и заводского ремонта санитарно-химические исследования проб воздуха из жилых кают свидетельствуют о превышении ПДК_{СС} по ксилолу, толуолу, фталатам, эпихлоргидрину в 1,7-7,0 раз, что создает потенциальный риск экспозиции моряков указанными контаминантами, опасными

в общетоксическом и (последних двух) в аллергенном плане.

Наиболее высокие концентрации в воздухе судовых помещений углеводородов нефти, определялись во время грузовых операций в портах Ильичевск, Одесса, Южный (у манифольдов, на грузовой палубе и в насосном отделении по максимальным значениям почти на порядок выше ПДКрз), а также во время приема бункера, мытья и дегазации танков при смене груза и перед постановкой в ремонт. Эти показатели повышаются также в портах Персидского залива и других регионах погрузки – выгрузки при плавании в тропиках. Во время работы двигателя в маневренном режиме на подходе к порту, постановке к причалу и отшвартовке судовых помещений резко возрастает содержание в воздухе отработавших газов судовой силовой установки (NOx, CO, CO₂, частиц аэрозоля – до 1,5-2,8 соответствующих ПДКрз). Этот последний из химических факторов будет постепенно утрачивать свою эколого-гигиеническую значимость, поскольку по инициативе Европейских экологических организаций организовано проведение инспектирования судов при посещении ими крупнейших портов данного континента. 27 портов разных континентов уже последовали этому примеру и начисляют бонусы судам со сниженными выбросами в атмосферу. Еще 55 портов поддержали эту инициативу. Развернута система ранжирования судов по выростам экологически опасных паров и газов, что находит отражение в регулярно публикуемых сводках. Это уже побудило судовладельцев усилить борьбу с вредными выбросами путем установки мощных катализаторов для нейтрализации отработавших газов, перехода на стоянках в порту на береговое энергоснабжение, сбора содержащего углеводороды нефти воздуха из надгрузового пространства танков при проведении грузовых операций. Тем не менее, для организации силами судового экипажа

контроля воздушной среды судовых помещений, особенно плоховентилируемых, длительно закрытых и редко посещаемых (как и в случаях необходимости спуска людей в балластные и другие танки), резолюцией MSC.380 (94) ИМО были приняты поправки к конвенции СОЛАС, которые вступят в силу с 01.07.2016. Они предусматривают наличие на всех танкерах и балкерах (а затем и судах других типов) носимых средств контроля состава атмосферы в закрытых помещениях, способных определять содержание, как минимум, кислорода, воспламеняющихся газов/паров, сероводорода и окиси углерода, а также наличие на борту средств калибровки указанных средств контроля. Резолюцией MSC.381(94) приняты поправки к «Международному кодексу по расширенной программе проверок при освидетельствовании навалочных и наливных судов (2011 ESP Code), которые также вступят в силу с 01.07.2016 [16].

Из физических факторов по уровню неблагоприятного воздействия на организм моряка доминируют шум и вибрация. Эти показатели превышают допустимые уровни (в сопоставлении с требованиями «Санитарных правил для морских судов») на 5-15 дБ с максимумом в помещениях машинно-котельного отделения. Что касается производственного микроклимата, то этот фактор в известной мере утратил свою актуальность, поскольку объем саморемонтных работ силами экипажа в рейсе существенно снизился, а вахты в машинно-котельном отделении моряки не несут. Сохраняется влияние погодных условий при проведении грузовых и швартовных операций в портах, обеспечении безопасности при плавании в высоких и низких широтах, но их удельный вес в суммарном времени рейса, как правило, невысок (< 10 %).

В целом результаты проведенного анализа и гигиенических исследований свидетельствует, что данная составляющая вносит определенный вклад в об-

щую оценку труда моряков. Однако, параметры вредных факторов в подавляющем большинстве случаев не достигает критического, а тем более, экстремального уровня при штатных условиях эксплуатации, надлежащем уровне профессиональной подготовки ответственных за безопасность и остальных членов экипажей в части выполнении правил охраны труда и производственной санитарии, соблюдения всех регламентируемых видов безопасной эксплуатации судна, рационального режима труда и отдыха. Уровень выполнения этих требований безопасности жизнедеятельности свидетельствует также о профессиональной культуре моряков, воспитание в духе которой начинается с морских вузов и продолжается постоянно на протяжении всей профессиональной деятельности моряков.

3. Показатели физиологии труда

Традиционно изменения, происходящие в организме моряка, в процессе трудовой деятельности, оцениваются интегрально, по характеристике тяжести и напряженности трудового процесса [17]. Основу наших исследований в указанном направлении составили суточные профессиограммы, разработанные раздельно, для ходового и стояночного периода рейса, в суточном масштабе времени. Для этого члены экипажей танкеров составляли суточ-

ные профессио-граммы с интервалом времени 15 мин. Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из представленных в таблице данных, суточная нагрузка на организм рядового моряка распределяется в ходовом режиме, достаточно стереотипно: 7-8 ч – сон; 1-2 ч – активный отдых; до 2-х часов прием пищи в строго регламентированное время и 8-9 ч – производственная деятельность. У командного состава последний показатель увеличен на 1-2 ч в связи с тем, что помимо 2-х четырехчасовых вахт, практически все офицеры выполняют работы по заведыванию и оформлению документации во вне вахтенное время. Кроме того, у всех членов экипажей не менее 2-х часов в неделю занимают учебные тревоги, которые регулярно проводятся с требованиями ИМО. Авральные операции, главным образом, швартовные, зависят от района плавания, частоты захода в порты при работе «на коротком» либо «длинном плече». При стоянках в порту к этому прибавляются работы по приему снабжения, продуктов питания, бункера, воды и т.п.

Практически все производственные операции, осуществляемые членами экипажа в штатных условиях плавания, по величине энерготрат, относятся к категории легкого труда и средней тяжести. Что касается напряженности тру-

да (по суммарному информационному и нервно-эмоциональному компонентам), то эти показатели, как правило, не превышают допустимых величин, за исключением экстремальных погодных условий, при которых степень тяжести и напряженности труда существенно возрастает. По

Суточная профессиограмма моряков нефтеналивного флота

Вид деятельности	Режим работы, контингент, продолжительность в % за сутки			
	На ходу		На стоянке	
	Комсостав	Команда	Комсостав	Команда
1. Вахта, работа	33,61 ± 1,27	9,28 ± 0,85	39,96 ± 2,64	30,56 ± 1,22
2. Работа с документами, по заведыванию	11,24 ± 2,05	—	9,27 ± 0,83	—
3. Общесудовые работы	4,22 ± 0,39	33,44 ± 1,28	—	11,51 ± 0,74
4. Прием пищи	8,64 ± 0,69	8,21 ± 0,62	5,92 ± 0,65	6,64 ± 0,33
5. Свободное время, активный отдых	10,15 ± 1,12	9,46 ± 0,59	10,30 ± 0,88	8,24 ± 0,55
6. Сон	28,26 ± 2,35	32,32 ± 2,85	26,12 ± 1,15	33,08 ± 1,92
7. Авральные работы, учебные тревоги*	4,53 ± 0,52	7,11 ± 0,52	9,35 ± 0,68	9,85 ± 0,57
Итого:	100,0	100,0	100,0	100,0

Примечание: */ не регулярно, в зависимости от направления, линии, условий плавания, см. в тексте

оценке моряков (результатов анкетирования), в зависимости от района плавания, времени года и других климатических параметров, они встречаются в среднем в 15-25 % ходового времени, не отличаясь существенно от аналогичных показателей на судах других типов. Гигиенически значимым, как уже упоминалось выше, является высокий удельный вес ходового времени ($80,6 \pm 5,3$ % рейсооборота) и короткие стоянки в портах ($12,7 \pm 2,4$ %), что придает выраженный динамизм климато-географическим показателям.

Принципиально другие соотношения представлены в профессиограмме моряков при стоянке судов под грузовыми операциями в порту, которые составляют до 10-15 % общего времени рейса. Все элементы жизнедеятельности моряков этот период можно разделить на 4 типичных блока: обеспечение грузовых операций; работа с грузоотправителями, грузополучателями, агентами, портовыми властями, оформление грузовых и других текущих документов; получение снабжения, бункера, воды, подготовка к предстоящему рейсу; несение стояночных вахт, участие в ремонтно-профилактических работах и др. Учитывая сокращенную численность судовых экипажей, показатели тяжести и напряженности у всех моряков в этот период, существенно возрастают, включают элементы тяжелого и очень тяжелого труда, а также высокого уровня напряженности. Свободное время крайне ограничивается в связи со спецификой стояночных вахт и работ, сон носит прерывистый характер (продолжительность непрерывного сна нередко менее 3-4 ч). Данный фактор лежит в основе кумулирующего утомления, которое снимается (иногда лишь частично) на очередном переходе судна морем [18]. Процесс реституции описывается моделью нулевого порядка, зависимость от времени близка к линейной по большинству анализируемых показателей [19]. Это, в частности, объясняет более час-

тые случаи аварийных ситуаций при выходе из порта, а также на 1-е сутки плавания (см. например, анализ причин посадки на риф танкера «Экксон Валдис» и характеристику разлива 35,0 тыс. т нефти [20, 21]). «Человеческому фактору», как уже отмечалось выше, и в этой аварии отводят ведущую роль.

Поскольку рейсовые обследования членов экипажей в настоящее время практически невыполнимы, можно оперировать для аргументации положений о уровне изменений физиологического состояния моряка лишь по его субъективной оценке. Как показывают результаты анкетирования, элементы кумулирующего утомления развиваются и ощущаются самими обследованными членами экипажей танкеров на 2 недели раньше, чем на сухогрузных (универсальных) судах. Наиболее информативные паттерны хронического утомления при увеличении продолжительности рейсового периода переходят в соответствующий синдром, который сохраняется при смене экипажей и возвращении из рейсов. Они проявляются в признаках нейроциркуляторной дистонии, гормонально-медиаторной диссоциации в деятельности САС и других дизрегуляторных функциональных нарушениях, коррелирующих с возрастом, стажем работы, морской профессией и занимаемой должностью.

По данным анкетирования члены экипажей нефтеналивных судов по возвращению из рейсов предъявляли жалобы, характерные для астении (вялость, повышенная утомляемость, раздражительность) – 17,8, вегетативных изменений (лабильность пульса, артериального давления, гипергидроз) – 24,5, а также связанные с расстройствами сна (нарушения засыпания, неглубокий и прерывистый сон, отсутствие чувства бодрости при пробуждении) – 31,9 % случаев. Частота этих жалоб, закономерно возрастала с увеличением суммарной продолжительности пребывания в рейсе.

Наблюдаемые различия в функциональном состоянии организма моряка после возвращения из рейса интегрально оценивали с помощью теста САН. В основной группе число лиц со снижением самочувствия выросло по отношению к исходному в 2,7, активности — в 3,1, настроения — 2,6 раза. Повторные исследования через 1 месяц после возвращения из рейса показали наличие выраженной тенденции к нормализации психофизиологических функций. Проведенные исследования показывают, что специфика условий труда и трудового процесса отражается на психофизиологическом статусе моряков нефтеналивного флота в существенно большей мере, чем среди экипажей универсальных сухогрузных судов. Это необходимо учитывать при разработке и, особенно, внедрении рекомендаций по рациональному использованию рекреационных и реабилитационных возможностей на борту судна (активный отдых, борьба со стрессом, аутотренинг) и в межрейсовом периоде [22].

4. Экологические аспекты работы моряков танкерного флота

Преимущественное строительство и эксплуатация крупнотоннажных судов нефтеналивного флота, рост интенсивности движения судов на основных направлениях, сокращение численности

судовых экипажей и широкое совмещение профессий стали весомым фактором в существенном повышении риска загрязнения моря при авариях танкеров, число которых по информации ассоциации судовладельцев за последние 40 лет достигло 10000 случаев. В их число вошли разливы нефти из грузовых танков при авариях, а также утечки нефтепродуктов в количестве более 7 т в результате перелива при грузовых операциях, разрывах шлангов, утечках при бункеровке и т.п.

Отсчет аварийности ведут обычно от аварий т/х «Торри Каньон» в 1967 г. Несмотря на принимаемые международным морским сообществом профилактические меры, такого рода аварии происходят достаточно часто, делая угрозу загрязнения Мирового океана реальным бедствием. Для иллюстрации этого положения нами проводится в табл. 3 данные о 15 наибольших авариях танкеров, которые произошли за упомянутое время [23].

Среди них доминируют случаи, связанные с «человеческим фактором» [24]. Наиболее четко это может быть продемонстрировано на примере аварии танкера «Экксон Валдис» при выходе из порта на Аляске. В опасном для мореплавания районе капитан покинул мостик, вахтенный помощник находился в состоянии

утомления, а матрос – рулевой не обладал необходимыми профессиональными и психофизиологическими качествами для работы в столь сложных навигационных условиях. Подобные аргументы могут быть обнаружены при анализе аварии и других танкеров. Так, Е.П. Белобров с соавт. [25] описа-

Наиболее крупные аварии нефтеналивных судов, начиная с 1967 г. [23]

№ п/п (*)	Наименование судна	Год	Место аварии	Вылито нефти, тыс. т
1. (7)	Torrey Canyon	1967	UK	119,0
2. (4)	Amoco Cadiz	1978	France	223,0
3. (1)	Atlantic Empress	1979	West India, Tobago	287,0
4. (2)	Abt Summer	1991	Angola	260,0
5. (3)	Castillo de Bellver	1983	South Africa	252,0
6. (5)	Haven	1991	Italy	144,0
7. (6)	Odissey	1988	Canada	132,0
8. (8)	Sea Star	1972	Oman	115,0
9. (9)	Irenes Serenade	1980	Greece	100,0
10. (10)	Urquiola	1976	Spain	100,0
11. (12)	Independenta	1979	Turkey	95,0
12. (13)	Jacob Maersk	1975	Portugal	88,0
13. (14)	Braer	1993	UK	85,0
14. (20)	Prestige	2002	Spain	63,0
15. (35)	Exxon Valdez	1989	Alaska	37,0

Примечание: */ место в списке по величине разлива

ли подробности гибели 4 российских нефтеналивных судов в Керченском проливе осенью 2007 г.

Игнорирование капитанами требований безопасности при наличии штормового предупреждения и необходимости следовать в порт – укрытия привело не только к гибели судов, но и серьезным экологическим последствиям. Все это показывает взаимосвязь всех аспектов безопасности мореплавания с профессиональной культурой и компетентностью плавсостава, ответственностью за жизнь людей, сохранность судна и грузов, защиту окружающей среды от загрязнения с судов.

Выводы

1. Приведенные исследования показали, что нефтеналивные суда, несмотря на активное внедрение современных, достаточно эффективных систем безопасности, представляют объекты повышенного риска в гигиеническом, психофизиологическом и прежде всего в экологическом плане.
2. Организация службы на судах, создание условий для рационального режима труда и отдыха, эксплуатация судна достаточным по численности компетентным экипажем являются обязательными условиями безаварийной работы нефтеналивного флота, охраны окружающей среды и сохранения здоровья моряков.
3. Особая роль в системе профилактических мероприятий принадлежит организации перманентной профессиональной подготовки плавсостава, повышению компетентности моряков по основным позициям Конвенции ПДНВ 78/95, культуры производственных отношений и безопасности жизнедеятельности, осознанию ответственности каждого члена экипажа за охрану вод Мирового океана. Это выдвигает необходимость проведения специальной подготовки членов экипажей нефте-

наливных судов с целью повышения их компетентности в сфере экологической безопасности.

4. С учетом динамичности мирового рынка морского труда, повышения требований ко всем аспектам компетентности членов экипажей, наличие профессионально обусловленных рисков для здоровья и жизни моряка судовладельцы, профсоюзные организации, крьюинговые компании должны уделять больше внимания соблюдению Конвенции МОР МLC-2006 в части гарантии прав, обеспечения благополучия и безопасности плавсостава. В этом направлении необходимо проведение дальнейших комплексных исследований.

Литература

1. Branch A.E. Elements of Shipping. — Completely revised 8 ed. — Abingdon: Routledge, 2007. — 510 p.
2. Stopford M. Maritime Economics. — 3 ed.—London: Taylor & Francis, 2009. — 816 p.
3. Туркин В.А. Анализ риска и безопасность эксплуатации технических средств танкеров: Монография. – СПб.: Судостроение, 2003. – 236 с.
4. Шафран Л.М. Физиолого-гигиенические особенности профессиональной деятельности моряков специализированного флота / Л.М.Шафран, В.В. Голикова // Український журнал з проблем медицини праці, 2014. — № 3 (40). — С. 29-39.
5. Международная конвенция по предотвращению загрязнения с судов — МАРПОЛ 73/78 [англ. International Convention for the Prevention of Pollution from Ships, MARPOL 73/78. Consolidated Edition, 2013. – 459 p.]
6. Международная конвенция по охране человеческой жизни на море — СОЛАС, [англ. SOLAS, International Convention for the Safety of Life at Sea. Consolidated Text of the 1974 SOLAS Convention. – London: IMO, 2014. — Sixth edition. – 423 p.
7. Міжнародна конвенція про підготовку і дипломування моряків та несення вахти (ПДНВ) 1978 року зі змінами 1995,

- 2000 р. та Манільськими поправками 2010 р. — Лондон, 2011. — 278 с.
8. MLC-2006 Сводная конвенция о труде в морском судоходстве. — Женева: Международное бюро труда, 2006. — 112 с.
 9. Ships and cargoes – guidance. Vessel classification and certification. – London: Maritime and Coastal Agency (MCA UK), 2012. – 17 p.
 10. Classification Societies – What, Why and How? – London: International Association of Classification Societies (IACS), 2011. – 25 p.
 11. Самый большой танкер в мире // <http://masterok.livejournal.com/320879.html>
 12. Заседание второго подкомитета ИМО по «Влиянию человеческого фактора, подготовке и несению вахты» (HTW2). – Морское обозрение, 2015. — № 1 (57). – С. 20.
 13. Горб С. Состав экипажа судна определяет судовладелец а не органы власти / С. Горб // Порты Украины, 2015. — № 01 (143). – С. 25-28.
 14. Bambulyak A. Oil transport from the Russian part of the Barents Region. Status per January 2011 / A. Bambulyak and B. Frantzen. — Oslo: The Norwegian Barents Secretariat and Akvaplan-niva, Norway, 2011. – 101 p.
 15. Nilsson A.E. Russian Interests in Oil and Gas Resources in the Barents Sea. Working paper No. 2013-05 / A.E. Nilsson, N. Filimonova // Stockholm: SEI, 2013. — 34 p.
 16. Использование на судах газоанализаторов (по страницам Marine Link. com) // Морское обозрение, 2014. — № 4 (56). – С.7.
 17. Borovnik M. Occupational health and safety of merchant seafarers from Kiribati and Tuvalu / M. Borovnik // Asia Pacific Viewpoint, 2011. — Vol. 52. — No. 3. – P. 333–346.
 18. Guidance on Fatigue Mitigation and Management. – IMO: MSC/Circ.1014-2001. – 103 p.
 19. Нетудыхатка О.Ю. Физиолого-гигиеническое обоснование системы мероприятий оптимизации труда плавсостава транспортного флота: автореф. дисс. докт. мед. н....14.00.32 – авиац., косм. и морская мед. – М. 1989. – 48 с.
 20. Spill. The Wreck of the Exxon Valdes. Implications for Safe Transportation of Oil. Alaska Oil Spill Commission. Final Report. – Anchorage, Alaska, 1990. – 239 p.
 21. Holba C. Exxon Valdes Oil Spills: FAQs, Links, and Unique Resources at ARLIS. – Anchorage: Alaska Resources Library & Information Services (ARLIS), 2014. – 17 p.
 22. Стресс, обусловленный работой на судах (судовые источники, признаки, предотвращение, управление: Методические указания / В.В. Голикова, Т.С. Незавитина. – Одесса: ОНМА, 2012. – 30 с.
 23. Oil Tanker Spills Statistics. – London: The International Tanker Owners Pollution Federation Limited (ITOPF), 2013. – 12 p.
 24. Кацман Ф.М. Аварийность морского флота и проблемы безопасности судоходства / Ф.М. Кацман, А.А. Ершов // Транспорт Российской Федерации, 2006. — № 5. — С. 82-84.
 25. Белобров Е.П. Эколого-гигиенические аспекты последствий гибели судов с опасными грузами на борту в Керченском проливе / Е.П. Белобров, А.Н. Пономаренко, В.Д. Репетей, Л.М. Шафран // Актуальные проблемы транспортной медицины, 2007. — № 4 (10). — С. 9-18.

References

1. Branch A.E. Elements of Shipping. — Completely revised 8 ed. — Abingdon: Routledge, 2007. — 510 p.
2. Stopford M. Maritime Economics. — 3 ed.—London: Taylor & Francis, 2009. — 816 p.
3. Turkin VA Risk analysis and safety of technical means operation on tankers: Monograph. — SPb.: Shipbuilding, 2003. — 236 p.
4. Shafran L.M. Physiologo-Hygienic Peculiarities of Seamen’s Occupational Activity on the Specialized Fleet / L.M. Shafran, V.V. Golikova // Ukrainian Journal of Occupational Health, 2014. – No. 3 (40). — P. 29-39.
5. International Convention for the Prevention of Pollution from Ships, MARPOL 73/78. Consolidated Edition, 2013. – 459 p.
6. SOLAS, International Convention for the Safety of Life at Sea. Consolidated Text of the 1974 SOLAS Convention. – London: IMO, 2014. — Sixth edition. – 423 p.
7. International Convention on Standards of

- Training, Certification and Watchkeeping for Seafarers (STCW 78/95) with Manila amendments adopted on 25 June 2010. – The 3-d complete ed. 2011. – London: IMO, 2013. – 425 p.
8. Maritime Labour Convention, 2006. A Seafarers' Bill of Rights, MLC-2006. – Geneva: ILO, 2012. – 105 p.
 9. Ships and cargoes – guidance. Vessel classification and certification. – London: Maritime and Coastal Agency (MCA UK), 2012. – 17 p.
 10. Classification Societies – What, Why and How? – London: International Association of Classification Societies (IACS), 2011. – 25 p.
 11. The largest tanker in the world // <http://masterok.livejournal.com/320879.html>
 12. The second meeting of the IMO Sub-Committee on “the human factor, training and watchkeeping» (HTW2). — Naval Review, 2015. – No. 1 (57). – P. 20.
 13. Gorb S. Crew of a vessel determines the owner and not the authorities / S. Gorb / Ports of Ukraine, 2015. – No. 01 (143). – P. 25-28.
 14. Bambulyak A. Oil transport from the Russian part of the Barents Region. Status per January 2011 / A. Bambulyak and B. Frantzen. — Oslo: The Norwegian Barents Secretariat and Akvaplan-niva, Norway, 2011. – 101 p.
 15. Nilsson A.E. Russian Interests in Oil and Gas Resources in the Barents Sea. Working paper No. 2013-05 / A.E. Nilsson, N. Filimonova // Stockholm: SEI, 2013. — 34 p.
 16. Using gas analyzers on ships (the pages of Marine Link. com) // Marine Review, 2014. – No. 4 (56). — P. 7.
 17. Borovnik M. Occupational health and safety of merchant seafarers from Kiribati and Tuvalu / M. Borovnik // Asia Pacific Viewpoint, 2011. — Vol. 52. — No. 3. – P. 333–346.
 18. Guidance on Fatigue Mitigation and Management. – IMO: MSC/Circ.1014-2001. – 103 p.
 19. Netudyhatka O. Physiological and hygienic substantiation of a system of measures to optimize work of crew transport fleet: Doct. diss. Thesis.... 14.00.32 — Aviation., spies and maritime med. — M., 1989. — 48 p.
 20. Spill. The Wreck of the Exxon Valdes. Implications for Safe Transportation of Oil. Alaska Oil Spill Commission. Final Report. – Anchorage, Alaska, 1990. – 239 p.
 21. Holba C. Exxon Valdes Oil Spills: FAQs, Links, and Unique Resources at ARLIS. – Anchorage: Alaska Resources Library & Information Services (ARLIS), 2014. – 17 p.
 22. Stress due to work on ships (ship sources, symptoms, prevention, control: Guidelines / V.V. Golikova, T.S. Nezavitina. — Odessa: ONMA, 2012. — 30 p.
 23. Oil Tanker Spills Statistics. – London: The International Tanker Owners Pollution Federation Limited (ITOPF), 2013. – 12 p.
 24. Katzman FM Accident Navy and Security Shipping / FM Katzman, AA Ershov // Transport of the Russian Federation, 2006. — No. 5. — P. 82-84.
 25. Belobrov E.P. Ecological and hygienic aspects of the consequences of the loss of ships carrying dangerous goods on board in the Kerch Strait / E.P. Belobrov, A.N. Ponomarenko, V.D. Repetey, L.M. Shafran // Actual problems of transport medicine, 2007. – No. 4 (10). — P. 9-18.

Резюме

РОЛЬ ЛЮДСЬКОГО ФАКТОРА В БЕЗПЕЧНОЇ ЕКСПЛУАТАЦІЇ МОРСЬКИХ ТАНКЕРІВ

Голікова В.В.

Одним з найбільш численних за кількістю та дедвейту типів морських транспортних судів є танкери, призначені для перевезення наливних вантажів (нафти і нафтопродуктів, хімікатів і зріджених газів, вина і рослинних олій та ін. Вантажів). За різними джерелами вони складають близько 20-30 % загальної чисельності судів світового морського транспортного флоту. Залежно від виконуваних транспортних функцій їх розміри і вантажомісткість варіюють у широкому діапазоні величин від малих бункерувальників і суден типу «річка-море» до найбільших супертанкерів, що перевершують за своїми лінійним і об'ємним характеристикам судна всіх інших типів. Це визначає не тільки експлуатаційні особливості, але й умови праці і трудового процесу членів екіпажів, вимоги усіх видів безпеки,

енергетичні та психофізіологічні навантаження на моряків. Показано основоположне вплив на організм хімічних чинників, що впливає з номенклатури перевезених вантажів, неможливості повного виключення міграції в повітря судових приміщень летючих вуглеводнів, компонентів застосовуваних в обладнанні і обробці судових приміщень полімерних матеріалів, відпрацьованих газів енергетичної установки, органічних розчинників. Відзначено поєднане дію хімічних, фізичних та інших виробничих факторів, підкреслена роль часу впливу як інтегрального показника для регламентування тривалості безперервного плавання, а також гігієнічно і психофізіологічно обумовленої мінімальної чисельності судового екіпажу. У роботі наведені матеріали аналізу літератури та результати власних досліджень, що характеризують основні гігієнічні, токсикологічні, психофізіологічні та екологічні особливості праці та населеності нафтоналивних суден та аргументовані рекомендації з безпеки життєдіяльності, збереження здоров'я моряків та запобігання забрудненню вод Світового океану. У вирішенні цих завдань питань професійної компетентності, перманентної переподговке та тренінгу членів екіпажів, в першу чергу судових операторів, належить важлива, а по ряду позицій — вирішальна роль.

Ключові слова: судна нафтоналивні, моряки. умови праці, психофізіологія, екологічна безпека

Summary

THE HUMAN FACTOR IN THE SAFE EXPLOITATION OF THE SEA TANKERS

Golikova V.V.

One of the most numerous in quantity and deadweight types of marine vessels are tankers for the transport of liquid cargo (oil and oil products, chemicals and liquefied gases, wine and vegetable oils and others. Cargo). According to various sources, they make up about 20-30 % of the total number of ships in the world maritime transport fleet.

Depending on your transport functions of their size and cargo capacity vary over a wide range of sizes from small bunker and "river-sea" to the largest supertankers that are superior to their linear and volumetric characteristics of all other types of ships. It determines not only the operational features, but also working conditions and labor process crew members, the requirements of all types of security, energy and the physiological burden on seafarers. Displaying a fundamental impact on the body of chemical factors, which follows from the range of goods carried, the impossibility of complete elimination of migration in the air ship premises volatile hydrocarbons, the components used in the equipment and finishing ship premises polymeric materials, the exhaust gas power plant, organic solvents. Noted the combined effect of chemical, physical and other factors of production, emphasized the role of exposure time as the integral indicator to regulate the length of continuous swimming, as well as hygienic and psychophysiological due to the minimal number of the ship's crew. The paper presents the analysis of the literature materials and the results of their own research characterizing the basic hygienic, toxicological, physiological and ecological characteristics of the labor and habitability of oil tankers and reasoned recommendations on the safety of life, the preservation of the health of seafarers and prevention of pollution of the oceans. In addressing these challenges on professional competence, permanent perepodgovke and training of crew members, primarily ship operators, an important, and in some aspects — a decisive role.

Keywords: oil tankers ships, seafarers, working conditions, psychophysiology, ecological safety

Впервые поступила в редакцию 15.03.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616-099-057:656.6-083

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ТРУДА ВОДИТЕЛЕЙ АВТОПОЕЗДОВ И РАБОЧИХ МАСЛОЭКСТРАКЦИОННЫХ ЗАВОДОВ, КОНТАКТИРУЮЩИХ С ФУМИГИРОВАННЫМИ ЗЕРНОВЫМИ ГРУЗАМИ

Сидоренко С.Г.

Главное Управление Государственной санэпидслужбы Украины в
Кировоградской области, г. Кировоград; krad.dses@ukr.net

Проведены комплексные санитарно-гигиенические исследования по изучению условий труда водителей большегрузных автопоездов и операторов приёмных пунктов при разгрузках пылящих грузов зерновых грузов и масличных культур на элеваторах и маслоэкстракционных заводах. Посредством электронных приборов электрохимического газоанализа определяли степень загазованности фумигационным газом фосфином, разгружаемых на приёмных пунктах грузов. Методом структурно-фракционного лазерного анализа считываемых частиц витающей пыли размерами: $PM_{1,0}$, $PM_{2,5}$, $PM_{5,0}$ впервые выявлены качественные и количественные различия витающей растительной пыли, существенно ниже существующих ПДК ($4,0 \text{ мг/м}^3$), разгружаемых грузов масличных культур рапса и семян подсолнечника, а также шрота и лузги подсолнечника.

Проведенные с применением способа электронного газоанализа фосфина и метода лазерного измерения концентрации пыли комплексные исследования позволили установить важную роль витающей пыли, образующейся при высыпании пылящих грузов и накапливаемых в кабинах автомобилей, помещениях операторов разгрузки, и здании узла разгрузки большегрузных автопоездов, как вероятных источников ее поступления в организм водителей, операторов и работников завода частиц витающей пыли.

Ключевые слова: зерновые грузы, масличное сырье, пыль, фосфин, условия труда

Актуальность темы

Интенсивное развитие аграрной отрасли Украины обеспечивает не только прогрессивно возрастающий сбор зерновых культур в объеме десятков миллионов тонн в год, но и дало возможность стать одним из основных его экспортеров. Украина, экспортировав 32,3 млн. т зерна в 2013-2014 маркетинговом году, вошла в тройку крупнейших мировых экспортеров зерна, впереди только США — 72,3 млн. т и ЕС — 38,5 млн. т [1]. Кроме того, увеличение спроса на семена рапса и подсолнечника на мировом рынке, потребовало перевода площадей под эти масличные культуры. Так, например, только в Черкасской области за период 2005-2012 гг. сбор рапса воз-

рос с 3,7 до 120 тыс. т, в 2013 году он превысил исходный показатель более чем в 30 раз, а вывоз его за границу водным транспортом возрос со 112 до 2000 тыс. т [2]. Производство аграрным комплексом семян зернофуражных (пшеница, ячмень, кукуруза), зернобобовых (горох, фасоль, соя) культур и продуктов переработки масличных культур (подсолнечный шрот, соевый шрот, хлопковый шрот) также неуклонно возрастает. Это определяется потребностью в них, прежде всего, комбикормовой и пищевой промышленности, а также широким использованием. семян рапса для производства биотоплива [3].

Гигиенические характеристики условий труда работающих при различных

технологиях выращивания, сбора, хранения, перевозки автотранспортом и переработки пищевых, зернофуражных, комбикормовых культур и рапса достаточно полно описаны в отечественной и зарубежной литературе [4-6]. В частности, приводятся данные об относительно высоких уровнях запыленности воздуха рабочей зоны. Из 17 обследованных ферм в Южной Африке на 11 в пробах зерновой пыли обнаружен респирабельный кварц, а на 6 – зависящие от запыленности заболевания у сельскохозяйственных рабочих [7]. Содержание кварца достигало 626 мкг/м³ при нормативе 2,0 мкг/м³. Показано также, что в условиях производства, очистки, кондиционирования зерна и кормов особое внимание необходимо обращать на биологический фактор, так как загрязнение бактериями и грибами растительной пыли воздуха производственных помещений оказывает вредное воздействие на здоровье рабочих.

В растительной пыли обычно наблюдают присутствие грибных клеток в виде мицеля, спор, обломков клеток и клеточных мембран, физиологически активных токсичных органических соединений. В сельскохозяйственной пыли обнаружены грибы рода *Aspergillus*, *Penicilium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* и др. источники высокомолекулярных фитотоксинов [8]. Во время обмолота кукурузы на 14 фермах Южной Индии наиболее распространенными микроорганизмами были термофильные актиномицеты (40 % от общего количества) и мезофильные представители рода *Streptomyces* (39 %), в то время как во время обмолота проса наиболее распространенными были коринебактерии (68 %) и грамотрицательные бактерии (22 %) [9].

Зерновая пыль образуется во время обмолота, транспортировки и обработки зерна. Рабочие зерновых элеваторов и комбикормовых заводов могут подвергаться воздействию высоких уровней зерновой пыли во время рабо-

ты, что нередко приводит к появлению симптомов поражения слизистой оболочки глаз, дыхательных путей, кожных покровов и таких заболеваний, как бронхиальная астма, зерновая лихорадка и токсический пневмонит (токсический синдром органической пыли), что необходимо учитывать при разработке эффективных мер профилактики и защиты рабочих [10, 11]. В частности, подобные исследования по изучению, оценке и оптимизации условий труда проведены при выращивании, перевозке, перегрузке и переработке рапса [12]. Именно пылящие насыпные грузы масличных культур (рапса, подсолнечника), в первую очередь, фумигированное сырье, определяют производственную опасность цехов приемки сырья и загрузки твердых остатков экстракционных продуктов (жмых, шрот), где риск пылевой патологии среди работающих наиболее вероятен.

Учитывая вышеизложенное, определение основных источников загазованности фосфином и пылеобразования, изучение условий труда водителей автомобильных поездов, операторов приемки сырья масличных культур и рабочих загрузки в железнодорожные вагоны жмыха, шрота, лузги на маслоэкстракционных заводах является актуальной гигиенической проблемой в решении задач химической и биологической безопасности на производстве и в транспортной отрасли.

Поэтому **целью настоящего исследования** было установить основные источники загрязнения производственной среды фосфином и растительной пылью масличных культур, перегружаемых твердых отходов экстракционного производства, изучить условия труда персонала при проведении погрузочно-разгрузочных работ и обосновать гигиенические мероприятия, направленные на оздоровление условий труда водителей автомобилей и работников маслоэкстракционных заводов.

Для достижения этой цели в рабо-

те решались следующие **основные задачи:**

1. На примере выгрузки из большегрузных автомобилей (ИВЕКО, МАН, ДАФ, КАМАЗ) в цехе приемки сырья масличных культур (рапса и подсолнечника), вскрыть закономерности процесса пылеобразования (включая витающую пыль) и поступления в воздух фосфина из фумигированного зерна, формирования зоны загрязнения растительной пылью и изучить динамику миграции вредных газов и аэрозолей в окружающую среду;
2. Изучить условия труда водителей автомобилей, операторов цеха приемки сырья и рабочих цеха загрузки вагонов отходами жмыха, шрота и других продуктов маслоэкстракционного завода;
3. Провести анкетирование и опрос водителей, операторов и работников цехов маслоэкстракционного завода по самооценке условий труда, наличию и характеру жалоб на состояние здоровья работающих;
4. На основе полученных данных разработать мероприятия по оздоровлению условий труда работников транспорта и маслоэкстракционных заводов.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач в работе были использованы общепринятые гигиенические, химико-аналитические и статистические методы исследования. Определяли параметры микроклимата, шума, вибрации, концентрации пыли в воздухе при перегрузке рапса, подсолнечника и шрота с помощью приборов «Измерителя пыли — ИП-124», (Новотек-Электро», Украина), основанного на принципе лазерного измерения различных фракций витающей пыли в диапазонах: 0,3-1,0 мкм, 1,0-2,5 мкм, 2,5-5,0 мкм [13], суммы взвешенных веществ с помощью электронного газоанализа типа «Тоху-Pro» (США), а также

фосфина с помощью мультигаздетектора «Аккура» (Дрегер, Германия) с использованием набора индикаторных трубок согласно ГОСТ 12.1.014-84, сертифицированных в Украине. Исследования выполняли в разные сезоны года на постоянных (в кабинах автомобилей и зонах нахождения операторов) и на непостоянных (открытые площадки погрузки вагонов и автомобилей шротом, лузгой подсолнечника, вспомогательных помещениях) рабочих местах. Полученные результаты обрабатывали методами вариационного и корреляционного анализа с помощью пакета компьютерных программ в Microsoft Excel [14].

Характеристика перевозимых и перерабатываемых грузов:

1. Рапс — семена сельскохозяйственной масличной культуры в виде мелких, размером 1-3 мм, овально сплюснутых зерен с блестящей поверхностью, темно-коричневого, до черного цвета, с легким специфическим запахом. Рапс — пылящий груз, в общей массе которого отмечаются включения в виде легких пленочных образований, способных свободно витать в облаке пыли, образованном при разгрузке автомобилей.
2. Шрот семян рапса, не гранулированный, согласно ГОСТ 139794, изготавливается из семян рапса. Однородная сыпучая масса, от светло-коричневого с зеленоватым оттенком до темно-коричневого цвета, с характерным запахом (затхлости, плесени, прогорклости). Влажность — 8-12 %. Содержание растворителя (бензина) — 0,1 %. Плотность — от 530 до 600 кг/м³ (насыпная плотность — 0,530–0,600 т/м³).
3. Подсолнечник: семена длиной 5-9 см, с шероховатой поверхностью, темно-серого — черного цвета, с легким специфическим запахом, присутствием в массе пылевидных органических и неорганических частиц.

4. Шрот семян подсолнечника, согласно ДСТУ 4638:2006. Продукт серого цвета, изготавливаются как не гранулированный в виде однородной сыпучей массы, и гранулированный, в виде гранул серого цвета, с запахом, характерным для подсолнечного масла. Влажность – 7-10 %. Содержание растворителя (бензина нефрас) — 0.1 %. Плотность – 520 – 560 кг/ м³ (насыпная плотность 0,520 – 0,560 т/м³).
5. Лузга подсолнечника: продукт отходов при экстракции масла из семян подсолнечника, согласно ДСТУ 7122: 2009, агрегатное состояние — мелкая сыпучая масса серого цвета серый разных оттенков, запах — характерный для подсолнечного масла. Влажность – до 12 %. Плотность – от 85 до 150 кг/ м³ (насыпная плотность 0,085 – 0,150 т/м³).

Перечисленные выше сельскохозяйственное сырье масличных культур, доставляемое на перерабатывающие предприятия и склады автомашинами и автопоездами, на пункте выгрузки проявляют опасные для здоровья человека свойства в связи с интенсивным пылеобразованием и риском отравления остаточными концентрациями фосфина после предшествующей перевозке или проводимой в процессе движения обработки фумигационными препаратами на основе фосфина. Не исключено попадание ядохимиката в готовую продукцию, а побочных продуктов — в экстрагированное масло. Большую опасность фосфида даже в малых количествах, поступая в воздух рабочей зоны представляет для водителей транспорта работников завода и всех технологических

этапах производства.

Результаты исследований

Цех приема сырья масличных культур завода (рис. 1) — представляет собой крытое помещение с двумя подъездными путями и четырьмя проёмами для сквозного въезда и выезда автомашин, доставляющих рапс и подсолнечник. Размер проёмов 6,7 x 7,0 м. Разгрузочная платформа внутри помещения цеха (12 x 5 м) изготовлена из массивных решетчатых конструкций для въезда автомобиля и просыпания сквозь них доставленного груза. Высота проёмов помещения 6 м. К средней части передней стены между проёмами для въезда автомашин примыкает помещение, из которого оператор цеха через обзорные окна контролирует и управляет процессом разгрузки сырья. Помещение полностью изолировано имеет вход с торцевой части, что предотвращает попадание и загрязнение пылью рабочего места оператора. Все процессы разгрузки автомобилей автоматизированы. Помещение для приемки сырья имеет смешанное (естественное и искусственное) освещение, естественную вентиляцию и не оборудовано принудительной механической вентиляцией.

При изучении условий труда водителей большегрузных автомобилей при

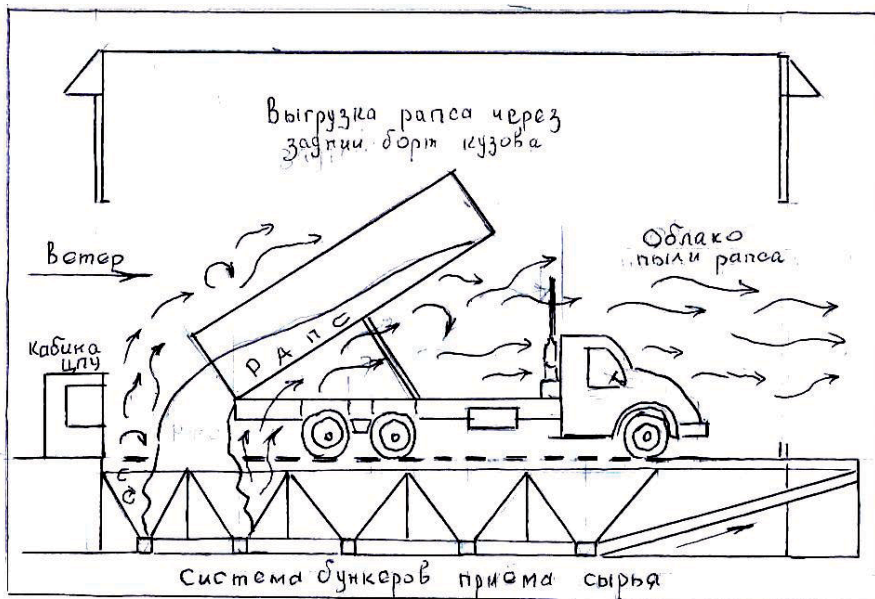


Рис. 1. Цех разгрузки автомобилей и приема сырья масличных культур

Таблица 1

Показатели микроклимата на рабочих местах водителей транспорта и рабочих цехов и складов маслоэкстракционных предприятий

Рабочие места	Параметры микроклимата, периоды года			
	теплый		холодный	
	Температура, °С	Влажность, %	Температура, °С	Влажность, %
У въезда в помещения цехов приемки сырья и склада шрота	18,0 — 33,4	51,6 — 69,4	(+2,3) — (-24,4)	52,3 — 76,2
В здании разгрузки сырья из автомобилей	18,6 — 32,5	51,9 — 70,1	(+3,3) — (-23,0)	57,4 — 77,8
Кабина оператора цеха разгрузки автомобилей	<u>24,1 — 33,4</u> 25,4	54,0 — 71,2	<u>16,2 — 18,7</u> 16,4	56,2 — 76,8
Кабина водителей большегрузных автомобилей (автопоезда)	<u>20,3 — 23,2</u> 22,6	53,2 — 56,5	<u>19,7 — 23,2</u> 22,6	55,1 — 57,2
В складе загрузки шрота и лузги в автомобили	17,6 — 30,3	52,4 — 72,4	(+2,7) — (-22,3)	60,3 — 78,1
В складе загрузки шрота (жмыха) в ж/д вагоны-хопперы	18,6 — 31,4	52,6 — 71,7	(+3,4) — (-21,3)	59,4 — 77,61

операции разгрузки сырья, а также операторов цеха приемки масличных культур и рабочих склада было установлено, что в период проведения грузовых работ водители автотранспорта и рабочие подвергаются воздействию изменяющихся погодных условий и микроклимата, многокомпонентной растительной и органической пыли. Это, с одной стороны, согласуется с имеющимися в литературе результатами проведенных ранее исследований [15, 16], а с другой, открывает новые аспекты данного специфического вида трудовой деятельности (табл. 1).

В теплый период года в производственных помещениях разгрузки автомобилей и на складах максимальная температура воздуха повышалась до 30,3 – 33,4 °С. В холодное время года температура воздуха на этих же рабочих местах колебалась в пределах от + 3,4 до - 24,4 °С, что требует принятия мер для предотвращения перегревания и переохлаждения работающих, а также сохранения теплового комфорта.

Шумо-вибрационные характеристики на рабочих местах не выходили за пределы допустимых уровней. В 48,3 % определений в воздухе цеха были определены компоненты отработавших газов из двигателей разгружаемых автомобилей (СО, NO₂, углеводороды, сажа) в концентрациях, превышающих соответствующие ПДК_{крз} до 1,5-2,5 раз. Однако, загрязнение воздуха этими токсическими веществами носило кратковременный характер.

Исследуемые грузы (рапс, подсолнечник, шрот, жмых и лузга) перевозятся в значительных объемах внутри страны и отправляются на экспорт, преимущественно морским транспортом. Соглас-

но классификации IMO (IMDG Code 2006 [17]) относятся к насыпным пылящим опасным грузам. Многокомпонентная пыль шрота и жмыха, получаемых после экстракции масла из рапса и подсолнечника, может переноситься на большие расстояния, содержит в своём составе большое количество органических веществ, которые в сочетании с высокой температурой и влажностью воздуха помещений являются благоприятной средой условиями для сохранения и размножения различных видов микроорганизмов, в том числе способных к образованию болезнетворных спор и токсинов.

Характеристики изучаемых опасных грузов масличных культур и комбикормовых продуктов маслоэкстракционного процесса представлены в табл. 2.

Наличие в опасных насыпных пылящих грузах пыли фракций с размером частиц меньше 1 мм приводит к интенсивному пылеобразованию, в том числе и появлению витающей ингалябельных размеров пыли [18] в диапазонах: 0,3-1,0 мкм, 1,0-2,5 мкм, 2,5-5,0 мкм с распределением частиц по размерам PM_{1,0}, PM_{2,5} и PM_{5,0}, соответственно, которая отрицательно влияет на условия труда и способствует интенсивности загрязнения воздуха рабочих мест на транспорте и предприятиях по переработке сырья масличных культур и получении сельхозпродукции (табл.3).

Таблица 2

Транспортные и санитарно-гигиенические и характеристики изучаемых грузов, масличных культур и продуктов после экстракции масла

Характеристики и свойства изучаемых веществ	Величина показателя				
	Масличные культуры		Продукты переработки		
	рапс	подсолнечник	жмых	шрот	лузга
Вид	семена	семена	куски	пластинки, чешуйки	мелкая масса
Размер семян, толщина пластин или гранул, мм,	1-3	5-9	до 38	10	-
Содержание масла, %	30-50	42-57	8,4-10,2	1,3-1,6	-
Содержание бензина, %	-	-	-	0,1	-
Влажность, %	8-15	8-15	11- 16	8-10	4-12
Насыпная плотность, т/м ³	0,53-9,59	0,40- 0,39	0,6-0,64	0,50- 0, 64	0,08-0,15
Удельный погрузочный объём, м ³ /т	1,92 – 1,69	2,50 – 2,55	1,54 – 1,64	1,64 — 2,0	12,5–6,66
Способность к пылеобразованию и миграции пыли	умеренная	сильная	очень сильная	очень сильная	умеренная
Способность к генерированию статического электричества	сильная	умеренная	сильная	сильная	Не выражена
Взрывоопасность пыли, НПВК, г/м ³	18-21	-	7,5-10,1	20-22	-
ПДК в воздухе рабочей зоны, мг/м ³ , с содержанием SiO ₂ – 2 %	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
с содержанием SiO ₂ – 10 %	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
с содержанием SiO ₂ – 11 %	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Класс опасности по ГОСТ 12.1. 007-76 *	3	3	3	3	4
Класс транспортной опасности по ИМО МК МПОГ после фумигации фосфином **	6	6	6	6	6

Обозначение: * — 3 класс – умеренно опасное вещество, 4 – класс – малоопасное вещество

** — 6 класс – чрезвычайно опасный (ядовитый) груз

нию с исходными данными в 7,1 и 9,3 раза, соответственно. Время разгрузки рапса и подсолнечника из 30-40 тонных кузовов автомобилей и формирование пылевого облака занимает от 5,5 до 7,5 минут, концентрация пыли в период от начала до завершения разгрузки груза возрастает почти в 2 раза. На рабочем месте оператора при контроле процесса выгрузки сырья и общении с водителем в период вынужденного (из-за отсутствия громкоговорящей связи) открывания двери поста управления, концентрации пыли возросла в 6 раз, превышая ПДК р.з. в 2 раза. В процессе наблюдения за выгрузкой груза из

Как видно из приведенных в таблице данных, исследования степени фоновой запыленности на рабочих местах работников цеха приема сырья рапса, подсолнечника, кукурузы свидетельствует о наличии пыли рапса в допустимых пределах. Условия труда водителей большегрузных автомобилей отличаются весьма низким содержанием пыли внутри кабины ($0,065 \pm 0,01$ мг/м³), связанные с хорошей работой установки кондиционированием воздуха.. Наиболее высокие концентрации пыли наблюдались при разгрузке в приёмный бункер семян рапса и подсолнечника, особенно в конце опорожнения кузовов машин. Содержание пыли возросло по сравне-

кузовов машин, при выходе из кабины водителя, отмечается заброс облака пыли в кабину и загрязнение воздуха рабочей зоны водителя более чем в 30 раз, по сравнению с исходными данными. Однако выявленные концентрации пыли выгружаемого сырья не превышали существующие ПДК. Процесс разгрузки автомобиля и высыпания рапса сопровождается образованием турбулентных, практически не видимых глазом воздушно-пылевых потоков, выбрасываемыми из приемного бункера на высоту 3,0-4,5 м (рис. 1). Образовавшаяся пыль оседает в помещении цеха или в зависимости от направления сквозного движения воздуха выносятся за пределы по-

Таблица 3 тарно-гигиенического

Концентрации растительной и органической пыли в воздухе при проведении погрузо-разгрузочных работ на маслоэкстракционных предприятиях

№№ точек	Места отбора проб изучаемых объектов	Рабочие процессы	Общее содержание пыли и её фракций:			
			Концентрации пыли, сумма взвешенных веществ, мг/м ³ (TSP)	Взвешенные частицы по фракциям	0,3-1,0 мкм (PM _{1,0})	1,0-2,5 мкм (PM _{2,5})
1.	Перед цехом разгрузки автомобилей	Подготовка к разгрузке сырья	0,3 – 0,7 0,41 ± 0,1	60, 4 ± 8,1	12, 7 ± 1,4	4, 5 ± 1,2
2.	Внутри цеха на месте выгрузки грузов сырья, на посту оператора	Подготовка решетчатой площадки и бункера	0,8 – 1,3 1,1 ± 0,3	84,2 ± 16,4	17,7 ± 2,6	3,2 ± 0,8
3.	В кабине автомобиля перед разгрузкой груза	1. Груз рапса	0,06 – 0,08 0,065 ± 0,01	32,3 ± 3,8	5,1 ± 1,1	-
		2. Груз подсолнечника	0,06 – 0,08 0,065 ± 0,01	14,6 ± 2,1	10,4 ± 1,6	6,2 ± 1,4
4.	На месте высыпания рапса в бункер	1. Начало выгрузки	3,2 – 6,1 4,6 ± 0,7	396,3 ± 22,1	173,5 ± 19,4	41,3 ± 9,4
		2. Окончание выгрузки	6,6 – 9,2 7,9 ± 2,2	582,2 ± 47,6	185,5 ± 23,9	59,7 ± 13,4
5.	На месте высыпания подсолнечника в бункер	1. Начало выгрузки	2,8 – 8,4 5,2 ± 0,6	238,7 ± 31,4	131,1 ± 12,7	61,6 ± 12,3
		2. Окончание выгрузки	5,3 – 14,7 10,3 ± 3,7	287,6 ± 17,6	152,1 ± 14,7	84,3 ± 8,5
6.	Внутри поста оператора при выгрузки сырья	При открытии дверей поста	4,2 – 7,3 6,4 ± 1,5	231,3 ± 23,7	47,8 ± 5,2	15,8 ± 2,2
7.	Внутри кабины водителя автомобиля при выгрузки	При открытии дверей кабины	1,6 – 3,3 2,0 ± 0,9	142,1 ± 13,1	59,3 ± 11,6	9,8 ± 1,3
8.	На складе место загрузки шрота в кузов автомобиля	1. Шрот рапсовый	3,7 – 4,6 2,9 ± 0,6	129,4 ± 17,6	41,1 ± 3,6	19,5 ± 4,4
		2. Шрот подсолнечника	4,4 – 7,6 5,3 ± 1,7	98,9 ± 14,2	84,1 ± 12,3	23,9 ± 6,1
9.	На складе место загрузки лузги в кузов автомобиля	Загрузка лузги	1,4 – 3,6 2,7 ± 0,7	98,9 ± 14,2	72,1 ± 10,1	43,1 ± 8,1
10.	На складе место загрузки шрота в жд вагон-хоппер	Загрузка шрота рапсового	3,7 – 8,6 5,8 ± 0,8	159,1 ± 21,6	107,3 ± 19,8	63,1 ± 13,7

мещения приемки сырья масличных культур.

Необходимо отметить, что хотя полученные результаты содержания пыли в воздухе на рабочих местах водителей и операторов цеха приемки сырья и выявили вредного и опасного для здоровья и окружающей среды превышения гигиенических критериев безопасности пылевого загрязнения, обнаруженные на уровне 2-4 ПДК, эколого-гигиеническая опасность отнюдь не ограничивается этим показателем. При изучении скрытых механизмов формирования облака пыли и истинных причин вредного сани-

грузки из кузовов автомобилей семян подсолнечника, хотя и отличается значительным превышением выброса пыли из приемного бункера (почти в 2 раза по сравнению с запыленности при выгрузки рапса), однако сумма взвешенных частиц (TSP) и структурных анализ фракций частиц (PM_{1,0}-PM_{5,0}) значительно отличается от данных пылевого спектра рапса. Величина частиц пыли подсолнечника фракции PM_{1,0} снизилась в 2,1 раза, фракции PM_{2,5} практически не изменились, а число фракции более крупных частиц витающей пыли частиц с аэродинамическим диаметром PM_{5,0} увеличи-

того загрязнения пылью разгружаемых из автомобилей семян рапса и подсолнечника, исследовалась структура витающей пыли.

Как видно из данных таблицы 3, наибольшая число взвешенных частиц, гигиенического нормирования загрязнения воздуха производственной зоны цеха приемки сырья, обнаружены в период выгрузки рапса. Число наиболее опасных для здоровья работающих, частиц с аэродинамическим диаметром менее 1,0 мкм (PM_{1,0}) возросло с 84,2 ± 16,4 до 582,2 ± 47,6, а число частиц более «грубой фракции» 5,0 мкм (PM_{5,0}) с 3,2±0,8 до 59,7 ± 13,4, почти в 20 раз. Условия труда при окончании раз-

лось в 1,5 раза, что подтверждает приоритетность большей опасности загрязнения рабочих мест и воздействия невидимой пыли рапса на работников цеха перегрузки сырья и водителей автомобилей.

Помимо данных профессиональной группы работников цеха приемки сырья и водителей автомобилей и автопоездов, пылевой фактор имеет существенное значение для работников склада и цеха загрузки автомобильного и железнодорожного транспорта шротом и лузгой подсолнечника. Как следует из таблицы 3, пылевое загрязнение воздуха рабочих мест образованное при загрузке шрота рапса и шрота семян подсолнечника существенно отличается по показателям увеличением суммы взвешенных частиц (TSP) с $2,9 \pm 0,6$ до $5,3 \pm 1,7$ мг/м³ в сторону пыли шрота подсолнечника, здесь же, снижения числа частиц фракции PM_{1,0} и увеличение числа частиц более крупных фракций PM_{2,5} – PM_{5,0} при загрузке шрота подсолнечника. В меньшей мере подвержены воздействию пылевого фактора работники при загрузке автомобилей лузгой семян подсолнечника. Однако санитарно-гигиеническая оценка структурного анализа витающей пыли лузги отличается от таковой для пыли шрота рапса и подсолнечника, что связано с возрастанием более чем в 2 раза числа частиц тяжелых фракций PM_{2,5} – PM_{5,0}. Изменение показателей вредности условий труда по запыленности витающей пылью по критерию ПДК (TSP) и фракциям частиц с аэродинамическим диаметром менее 1-5 мкм (PM_{1,0} – PM_{2,5} – PM_{5,0}) при загрузке шрота масличных культур в железнодорожные вагоны-хопперы, связанной с технико-технологической особенностью пылеобразования при использовании вагонных шрото-загрузочных машин.

Все производственные операции в цехе в процессе выгрузки из автомашин сырья масличных культур (например, въезд на решетчатую платформу бункерной системы, подъем кузова и высыпа-

ния груза рапса и подсолнечника, контроль за процессом разгрузки со стороны оператора и водителя, опускание кузова на место и выезд автомобиля) сопровождаются выделением пыли в зону дыхания персонала. При отсутствии вентиляционных устройств в цехе разгрузки сырья, пылеобразование (формирование облаков пыли) зависит от объема груза в кузовах автомашин и прицепов, пылящих характеристик груза, скорости высыпания и высоты падения груза в бункер, скорости и направления движения внешних воздушных потоков.

Исследования показали, что формирующееся облако пыли в зависимости от способа высыпания груза (через задний или боковой борт), характера выбрасываемого из приемного бункера обратного, турбулентного пылевоздушного потока, имеет видимую, полупрозрачную 4-х слойную структуру, включающую: редкий слой пыли белого цвета вокруг высыпающегося через решетки бункера рапса, слой легких пленочных образований размер 2-3 мм, поднимающийся вверх, слой пыли светло-бежевого цвета высотой 1,5 -2 м и нижний, плотный слой пыли темно-коричневого цвета, поднимающегося над решетками на высоте 0,5-1.0 м. Скорость высыпания рапса составляет 125 кг/сек или 7,5 т/мин. Полная выгрузка сырья в зависимости от грузоподъемности кузова или прицепа занимает от 4,5 до 5,5 мин.

Объем облака пыли рассчитывали по формуле:

$$V = H \times B \times L \text{ мг/м}^3$$

где: V — объем облака рапса, м³,

H — видимая высота облака, м,

B — ширина, м,

L — расстояние видимой миграции, м.

В наших исследованиях объемы облака видимой пыли, образующиеся при высыпании рапса из кузовов автомобилей через задний борт, составляли от 183,6 до 204,7 м³. Общее время запыленности на месте разгрузки автомобилей в цехе сырья составляет $7,6 \pm 1,2$

минут. Время рассеивания «живучести» облака пыли рапса после окончания разгрузки и выезда автомобиля из цеха колеблется в пределах 1,5 до 3,0 минут. При высыпании груза сырья масличных культур через боковой борт временные и объёмные показатели процесса пылеобразования существенно снижены. Условия формирования облака пыли рапса и его застойных зон, значительно увеличивает область распространения и загрязнения воздуха рабочей зоны помещения и оборудования пылью, а также повышают риск ухудшения гигиенического состояния объекта и условий труда водителей и операторов цеха.

Полученные материалы указывают на необходимость пересмотра существующих и дальнейшей разработки в использовании эффективных мер борьбы с пылью при перегрузках из автомобилей сырья масличных культур, в первую очередь с образованием невидимых фракций витающей пыли рапса, переоборудования принудительной вентиляции в районе решеток приёмного бункера цеха, обеспечение пульта управления разгрузки сырья цеха громкоговорящей радиоустановкой, обеспечения водителей, операторов цеха приёмки сырья и раблотночников склада отгрузки вторичной продукции завода специальными СИЗОД защищающих персонал от воздействия витающей пыли.

В настоящих исследованиях особое внимание уделено изучению загазованности воздуха рабочих мест водителей и работников цеха приёма сырья и склада отгрузки вторичной продукции фосфористым водородом (фосфином). Гигиеническая оценка состояния воздуха производственной зоны проводилась на всех этапах транспортировки рапса и подсолнечника и включала проведение замеров в кабинах, кузовах автомобилей, на местах отстоя грузовиков перед сдачей груза, в кабине поста оператора и помещении цеха приёма сырья. Как показали результаты 846 инструментальных замеров, параметры загрязнения возду-

ха фосфином на рабочих местах соответствовали требованиям ПДК р.з. В то же время, в 3-х точках (0,36 % всех случаев) в кузовах автомобилей было обнаружены наличие фосфина (в концентрациях допустимых ПДК) в воздухе надзерновом пространстве кузовов автомобилей, загруженных семенами подсолнечника, что указывает на необходимость более строгого технико-технологического и санитарного контроля за содержанием чрезвычайно опасных фумигационных газов в сырье масличных культур, поступающих на переработку на маслоэкстракционные заводы и дальнейшего изучения проблемы загрязнения зерна и сырья масличных культур фумигационными ядохимикатами, транспортируемых автомобильным и железнодорожным транспортом.

Во время разгрузки рапса из автомобилей в бункер приёмки сырья водителями автомобилей и операторами цеха средства индивидуальной защиты органов дыхания не применяют, ссылаясь на отсутствие вредной пыли в воздухе рабочей зоны.

Анализ проведенного, выборочно, хронометража рабочего времени водителей, занятых перевозкой рапса показал, что при выполнении 9-ти часового рейса перевозки рапса от элеваторов до заводов по переработке сырья масличных культур, погрузка рапса составила 30 мин (5,55 % рабочего времени), перевозка, стоянка в очереди ожидания разгрузки, заняли 8 час.40 мин. (92,70 %), разгрузка груза составила 7 минут, т.е. 1.75 % всего время рейса. Период загрузки и выгрузки рапса, действительно сопряжены с воздействием витающей пыли рапса на организм водителей и этот период времени составил не более 37 минут или 7,30 % рабочего времени. Однако опасность вредного воздействия растительной пыли рапса обусловлена не столько временем контакта водителей с витающей пылью, сколько с особенностью воздействия её фракционного состава организм работающих, что требу-

ет дальнейшего подробного изучения этой проблемы.

Исследования санитарно-гигиенических условия труда водителей большегрузных автомобилей и автопоездов при перевозке пылящих подкарантинных зерновых грузов и семян масличных культур дополнялись изучением субъективных ощущений, жалоб на состояние здоровья и заболеваемость, проведенных методом анкетирования и дополнительного интервьюирования. Опрашивались лица мужского пола 27-48 лет со стажем работы 7-27 лет. Изучение проводилось с учетом работы в следующих видах автомобильных перевозок зерновых грузов и семян масличных культур: 1-й маршрут – внутри городские перевозки – 42 чел., 2-й – междугородние в пределах области – 39 чел., 3-й – маршруты между областных перевозок – 21 человек. Заболеваемость изучали по данным самооценки состояния здоровья и обращений водителей в здравпункты автопредприятий за медицинской помощью.

Данные анкетирования и опроса водителей выявили основное распределение лиц, отмечавших загрязнение воздуха на рабочих местах у кузовов машин и прицепов при контроле грузовых операциях (82,9 %), в период тентования кузовов и прицепов (51,7 %), в момент контроля опрокидывания кузовов и ссыпания груза в бункер (91,3 %). Запыленность внутри кабины при рейсовых перевозках отмечали водители 1-й (62,1 %) и 2-й групп (46,3 %). Наиболее низкий процент водителей (18,4 %), отмечающих наличие запыленности кабин в рейсах и при грузовых операциях, отмечается в 3-ей группе, что объясняется, эксплуатацией более новых машин и наличием установок кондиционирования воздуха.

Только в третьей группе опрошенных (11,8 %) водители отмечали случаи перевозки в кузовах зерна и масличных культур, обработанных фумигационными таблетками при доставке грузов в морские

и речные порты. При оценке степени вредного и опасного воздействия препарата на организм, в 92,2 % случаев водители не знали об опасности газа, выделяющегося из кузовов машин и прицепов. Как показали исследования, среди неприятных ощущений водители указывали на специфический запах карбида, гнилой рыбы (51,7 %), головную боль (21,5 %), першение в носоглотке (9,3 %). Время действия неприятного запаха (от 3,5 до 6,0 мин) возрастало в период растентовки кузовов и подготовки груза для выгрузки в портах. Выявленные у водителей жалобы на состояние здоровья и неприятные ощущения были выражены в слабой (42,2 %) и умеренной (11,2 %) степени. Все 100 % опрошенных лиц отметили, что при перевозках зерновых грузов и масличных культур в морские порты средства индивидуальной защиты не выдавались и не применялись.

Данные анкетирования водителей большегрузных автомобилей и автопоездов при транспортировке зерна и масличных культур в морские и речные порты свидетельствуют о выявлении случаев непрофессионального проведения фумигации фосфином непосредственно в кузовах автомашин, что вызывает необходимость разработки профилактических мероприятий, направленных на предупреждение острых отравлений фосфином водителей, операторов и работников морских зерноперегрузочных терминалов.

Выводы

1. Гигиенические исследования воздуха рабочих мест с применением метода лазерного измерения качественного и количественного состава растительной пыли рапса, подсолнечника, шрота и лузги позволили установить важную роль структуры витающей пыли ($PM_{1,0}$, $PM_{2,5}$, $PM_{5,0}$ и TSP), образующейся при грузовых операциях в цехе приемки сырья и отгрузки, на складе вторичной продукции, как основных путей по-

- ступления пыли в организм и причин опасного и вредного воздействия микрочастиц витающей пыли на состояние здоровья и представляющей большой риск острых и хронических отравлений, респираторной патологии среди наблюдаемых контингентов.
2. Методом анкетирования и интервьюирования водителей большегрузных автомобилей и автопоездов выявили случаи непрофессиональной (законодательно недозволенной) фумигации подкарантинных грузов зерна и масличных культур в пути следования, доставляемых в морские и речные порты.
 3. Превентивные мероприятия по микроаэрозольной пылевой безопасности при перегрузочных процессах цехов приемки сырья и складов отгрузки вторичной продукции маслоэкстракционных предприятий должны включать контроль сырья на наличие фосфина, систему вентиляции, пылеподавления и пылеотсоса, внедрения громкоговорящей радиосвязи на постах управления грузовых работ, пересмотра способа применения средств индивидуальной защиты органов дыхания от витающей пыли, а также предусматривать проведение эколого-гигиенического мониторинга на всех этапах транспортного процесса.
 4. Результаты настоящих исследований должны послужить основой пересмотра и реорганизации позиций Госсанэпидслужбы Украины по соблюдению требований гигиенической безопасности, сохранения здоровья водителей автомобилей и операторов цехов приемки сырья масличных культур маслоэкстракционных заводов, а также разработке предупредительных рекомендаций по контролю и недопущению попадания фосфина в воздух рабочей зоны работников маслоэкстракционных предприятий.

Литература

1. Каткевич Г.И. Морская зерноперевалка Украины: бум-2 / Транспорт, 2014. — № 28. — С. 62–67.
2. Гаркавенко Ю.І. Ріпак у тренді: 2013-2014 // Агробізнес сьогодні, 2013. — № 14 (261).
3. Масличные — УкрАгроКонсалт, 2014 // www.ukragroconsult.com/news-main/news-listing-extended/b_start.
4. Цапко В.Г. Значение биоаэрозолей в гигиенической оценке условий труда в сельском хозяйстве / В.Г. Цапко, А.Я. Чудновец, М.Ю. Стеренбоген // Український журнал з проблем медицини праці, 2006. — № 4 (8) — С. 65-71.
5. Панов С.Ю. Модернизация фильтров для обеспыливания аспирационных выбросов зерноперерабатывающих предприятий / С.Ю. Панов // Вестник ВГУИТ, 2012. — № 1. — С. 22-26.
6. Spankie S. Exposure to grain dust in Great Britain / S. Spankie, J.W. Cherrie // Ann. Occup. Hyg., 2012. — Vol. 56. — No.1. — P. 25-36.
7. Quartz exposure in agriculture: literature review and South African survey / A.J. Swanepoel, D. Rees, K. Renton et al. // Ann. Occup. Hyg., 2010. — Vol. 54. — No. 3. — P. 281-292.
8. Карпук В.В. Роль грибковых компонентов пыли в индукции легочных заболеваний человека / В.В. Карпук // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы. Материалы III Международной конференции 1-2 апреля 2005 г. — Минск. — Часть 2. — С. 105-109.
9. Exposure of Indian agricultural workers to airborne microorganisms, dust and endotoxin during handling of various plant products / E. Krysciska-Traczyk, B.N. Pande, C. Skyraska et al. // Ann. Agric. Environ. Med., 2005. — Vol.12. — No. 2. — P. 269-275.
10. Цапко В.Г., Стеренбоген М.Ю., Чудновец А.Я. Биологические агенты как факторы профессионального риска/ В.Г. Цапко, М.Ю. Стеренбоген, А.Я. Чудновец // Укр. журн. з пробл. медицини праці, 2005. — № 3-4. — С. 84-89.
11. Straumfors A. Work Tasks as Determinants of Grain Dust and Microbial Exposure in the Norwegian Grain and Compound Feed Industry / A. Straumfors, K.K. Heldal, I.M. Wouters, W. Eduard // Ann. Occup. Hyg., 2015. — No. 3. — P. 1-13.

12. Папач В.В. Гієнічна характеристика вирощування, транспортування та переробки ріпаку / В.В. Папач // Збірник наукових праць. Спец. Випуск "Новітні науково-навчальні досягнення медицини транспорту". – Миколаїв. – 2011. – С. 163-165.
13. Контуш С.М. Экспресс-измерения массовой концентрации взвешенных в воздухе частиц лазерными счётчиками / С.М.Контуш, С.А.Щекатолина, Е.П.Белобров // Безпека праці: освіта, наука, практика. Збірн. матер. Всеукраїнск. наук.- практикт. конф. 20.11.2014. – Харків. – С. 140.
14. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: МАРИОН. 2000. – 320 с.
15. Moloczniak A. Qualitative and quantitative analysis of agricultural dust in working environment / A. Moloczniak // Ann. Agric. Environ. Med., 2002. — No. 9. – P. 71-78.
16. Чудновец А.Я. Источники загрязнения производственной среды комбикормовых предприятий и обоснование санитарно-гигиенических мероприятий // Укр. журн. з пробл. медицини праці. – 2008. - № 1 (13). – С. 70-75.
17. International maritime dangerous goods code. – London, 2006. Vol. I. — Incorporating Amendment 33-06. – 461 p.
18. Градація взвешенных частиц по фракциям. Гигиеническое нормирование пыли фракций PM_{2,5} и PM₁₀ // Автоматизированная система мониторинга взвешенных веществ в атмосферном воздухе/ Науч.-информ. бюлл. УО МАНЭБ, серия «Экология, экономика, безопасность», вып. 2(30). Одесса. –2014. – С. 5-16.
6. Spankie S. Exposure to grain dust in Great Britain / S. Spankie, J.W. Cherrie // Ann. Occup. Hyg., 2012. – Vol. 56. — No.1. – P. 25-36.
7. Quartz exposure in agriculture: literature review and South African survey /A.J. Swanepoel, D. Rees, K Renton et al. //Ann. Occup. Hyg., 2010. – Vol. 54. – No. 3. — P. 281-292.
8. V.V. Karpuk The role of the fungal components of dust in the induction of lung diseases in humans / V.V. Karpuk // Medical and social environment of the person: Status and Prospects. Proceedings Third International Conference on 1-2 April 2005 - Minsk. - Part 2 - P. 105-109.
9. Exposure of Indian agricultural workers to airborne microorganisms, dust and endotoxin during handling of various plant products / E. Krysicska-Traczyk, B.N. Pande, C. Skyriska et al. // Ann. Agric. Environ. Med., 2005. – Vol.12. – No. 2. – P. 269-275.
10. Tsapko V.G. Sterenbogen M.Yu., A.Ya. Chudnovets Biological agents as factors Professional Risk / V.G. Tsapko, M.Yu. Sterenbogen, A.Ya. Chudnovets // Ukr. Zh. s probl. Medicine pratsi, 2005. - № 3-4. – P. 84-89.
11. Straumfors A. Work Tasks as Determinants of Grain Dust and Microbial Exposure in the Norwegian Grain and Compound Feed Industry / A. Straumfors, K.K. Heldal, I.M. Wouters, W. Eduard // Ann. Occup. Hyg., 2015. – No. 3. – P. 1-13.
12. Papach V.V. Hygienic characteristics of growing, transporting and processing of rape / V.V. Papach // Scientific Papers. Spec. Release "New scientific educational achievements of medicine of transport". - Nikolaev. - 2011. - P. 163-165.
13. SM Kontush Express-measuring the concentration of airborne particles by laser counters / S.M.Kontush, S.A.Schekatolina, E.P.Belobrov // Safety: education, science and practice. Proceedings of Ukrainian scientific-practical. conf. 11.20.2014. - Kharkov. - P. 140.
14. Lapach S.N., Gubenko A.V., Babich P.N. Statistical methods in biomedical research using Excel. - K.: MARION. 2000. - 320 p.
15. Moloczniak A. Qualitative and quantitative analysis of agricultural dust in working environment / A. Moloczniak // Ann. Agric. Environ. Med., 2002. — No. 9. – P. 71-78.

References

1. Katkevich G.I. Sea grain handling in Ukraine: the boom-2 / Transport, 2014. - № 28. - P. 62-67.
2. Garkavenko Yu.I. Rape in the trend: 2013-2014 // Agribusiness today, 2013. - № 14 (261).
3. Oilseeds - UkrAgroConsult 2014 // www.ukragroconsult.com/news-main/news-listing-extended/b_start
4. Tsapko V.G. The value of bioaerosols in the hygienic assessment of working conditions in agriculture / V.G. Tsapko, A.J. Chudnovets, M.Y. Sterenbogen // Ukrainian Journal of the problems of Occupational Medicine, 2006. - № 4 (8) - P. 65-71.
5. Panov S.Yu. Modernization of filters for dedusting aspiration emissions grain

16. A.Ya. Chudnovets. Sources of contamination of the working environment and feed business rationale sanitary measures // Ukr. Zh. s probl. Medicine pratsi. - 2008. - № 1 (13). - pp 70-75. Ukr. Zh. problems of occupational medicine. - 2008. - № 1 (13). - P. 70-75.
17. International maritime dangerous goods code. – London, 2006. Vol. I. — Incorporating Amendment 33-06. – 461 p.
18. Graduation particulate matter on fractions. Hygienic regulation of dust fractions PM2.5 and PM10 // Automated system for monitoring of particulate matter in ambient air / scientific-Inform. Bull. UO MANEB series "Ecology, economy, security," Vol. 2 (30). Odessa. -2014. - P. 5-16.

Резюме

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА УМОВ ПРАЦІ ВОДІЇВ АВТОПОЇЗДІВ І РОБОЧИХ ОЛІЙНОЕКСТРАКЦІЙНОГО ЗАВОДУ, ЩО КОНТАКТУЮТЬ З ФУМІГОВАНИМИ ЗЕРНОВИМИ ВАНТАЖАМИ

Сидоренко С.Г.

Проведено комплексні санітарно-гігієнічні дослідження з вивчення умов праці водіїв великовантажних автопоїздів і операторів приймальних пунктів при розвантаженні пилять зерновх вантажів і олійних культур на елеваторах і олійноекстракційних заводах. За допомогою електронних приладів електрохімічного газоаналізу визначали ступінь загазованості фумігаційним газом фосфіном, розвантажуються на прийомних пунктах вантажів. Методом структурно-фракційного лазерного аналізу зчитувальних частинок витає пилу розмірами: PM1,0, PM 2,5, PM5,0 вперше виявлені якісні та кількісні відмінності витає рослинної пилу, істотно нижче існуючих ГДК (4,0 мг / м³), розвантажуються вантажів олійних культур ріпаку та насіння соняшнику, а також шроту і лушпиння соняшника.

Проведені із застосуванням способу електронного газоаналізу фосфіну і методу лазерного вимірювання концентрації пилу комплексні дослідження дозволили встановити важливу роль витає пилу, що утворюється при висипанні пилять і накопичуються в кабінах автомобілів, розміщення операторів розвантаження, і

будівлі вузла розвантаження великовантажних автопоїздів, як ймовірних джерел її надходження в організм водіїв, операторів та працівників заводу частинок витає пилу.

Ключові слова: зернові вантажі, олійна сировина, пил, фосфін, умови праці

Summary

HYGIENIC ASSESSMENT OF WORKING CONDITIONS OF TRAINS DRIVERS AND OIL EXTRACTION PLANT WORKERS IN CONTACT WITH FUMIGATED GRAIN CARGOES

Sidorenko S.G.

Conducted complex hygiene study on the working conditions of drivers of heavy trucks and operators adoptive points during unloading of dusty cargoes zernovh goods and oilseeds at the elevators and oil extraction plant. Through electronic appliances electrochemical gas analysis determines the degree of gas contamination fumigant phosphine gas discharged to foster trip to Georgia methods of structural analysis, fractional laser readable airborne dust particle sizes: RM1,0, PM 2.5, RM5,0 first revealed qualitative and quantitative differences soaring vegetable dust significantly lower than the existing MPC (4.0 mg / m³) of cargo discharged oilseed rape and sunflower seeds, as well as meal and husk polsolnechnika.

Carried out using the method of gas analysis phosphine and electronic method of laser measuring the concentration of dust comprehensive studies have established the important role of airborne dust generated during the rash of dusty cargoes and accumulated in the cab, operators unloading areas, and the building site of discharge of heavy trucks as possible sources of its revenues the body of drivers, operators and employees of the plant airborne dust particles.

Keywords: grain cargo, oil raw materials, dust, phosphine, working conditions

*Впервые поступила в редакцию 04.03.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 614.48

АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХОДІВ В ЛІКУВАЛЬНО- ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАКЛАДАХ

**Морозова Н.С.¹, Рідний С.В.¹, Попов О.О.¹, Грицай І.М.², Дехтярь О.В.¹,
Коробкова І.В.¹**

¹Харківська медична академія післядипломної освіти;
sergey.readney@gmail.com

²Головне управління Держсанепідслужби на залізничному транспорті

У статті представлений комплексний підхід до вибору дезінфікуючих препаратів для конкретної епідеміологічної ситуації. Обґрунтовано терміни і послідовність ротації дезпрепаратів однієї хімічної групи на іншу як заходи подолання формування дезрезистентних штамів мікроорганізмів.

Ключові слова: дезінфекція, мікроорганізми, дезінфікуючі препарати, ротація.

Вирішення проблем боротьби з інфекційними захворюваннями значною мірою визначається використанням ефективних дезінфектологічних технологій, які забезпечують усунення збудників інфекційних захворювань з різних епідеміологічно значущих об'єктів довкілля.

Для реалізації такого підходу необхідна обґрунтована система застосування засобів і методів дезінфекції, а також забезпечення при цьому безпеки для персоналу і пацієнтів та щадної дії на матеріали і об'єкти навколишнього середовища. У зв'язку з цим практична медицина повинна мати відповідний арсенал дезінфекційних засобів з різними властивостями.

За сучасними уявленнями ідеальні дезінфікуючі засоби мають характеризуватися як мінімум широким спектром антимікробної активності, швидкою мікобактеріальною дією, легкою відмиваємістю деззасобів з виробів, відсутністю подразнюючої дії або запаху, тривалим терміном придатності, зберігання, відсутністю проблеми утилізації відпрацьованого розчину і т.п. [3].

Однак, якщо з позицій цих вимог оцінювати численні дезінфікуючі засоби, дозволені до застосування і наявні на ринку в нашій країні, то слід зазначити,

що різні з цих засобів різною мірою відповідають кожній з цих вимог [7, 8].

Сучасні деззасоби являють собою багатокомпонентні рецептури, що містять в якості діючих речовин різні хімічні сполуки і випускаються в різноманітних препаративних формах.

Впровадження в медичну практику понад 400 дезінфікуючих препаратів, які відрізняються своїми споживчими властивостями, вартістю тощо, зробило актуальною проблему їх оптимального вибору для конкретної епідеміологічної ситуації.

Мета роботи — обґрунтування системи вибору дезінфікуючих засобів для вирішення конкретного епідеміологічного завдання і визначення оптимальних термінів ротації дезпрепаратів.

Обираючи дезінфікуючий засіб для проведення дезінфекційних заходів, спочатку необхідно вивчити всі основні фактори, на які слід зважати при прийнятті рішень, а потім визначити значимість і рівень кожного з них, на підставі чого і будувати перші узагальнюючі критерії.

До узагальнюючих критеріїв, що лежать в основі вибору дезінфікуючого засобу, перш за все слід віднести мікроорганізми, які підлягають знищенню і масивність обсіменіння ними об'єктів, сумісність їх матеріалів з деззасобами,

режими і способи обробки, споживчі властивості дезінфікуючих засобів, їх вартість. Дезінфектологічні підходи до вибору деззасобів, технології та режими знезараження об'єктів лікарняного середовища представлені на рис. 1.

Визначення мікроорганізмів, які підлягають знищенню, дозволяє відразу виключити відповідну групу дезінфектантів, неефективних щодо даного виду збудників.

Визначившись з мікроорганізмами і виділивши групу ефективних дезінфектантів, слід відібрати ті з них, які рекомендовані для обробки намічених об'єктів.

Однак даний етап має певну складність вибору з числа придатних препаратів, які мають всі необхідні властивості, але з різним ступенем вираженості. Це і робоча концентрація препарату, і час експозиційної витримки, і сумісність з матеріалами виробів, можливість дезінфекції у присутності людей і т.п. На підставі зазначених складових виключаються препарати, які за тими чи іншими показниками менш підходять для знезараження конкретних об'єктів.

Базова оцінка препарату, на основі якої будується комплексна узагальнююча — це вартість рішення дезінфектологічного завдання. За основу береться вартісна оцінка чинників які визначають ефективність застосування того чи іншого дезінфікуючого засобу. Насамперед, це ринкова вартість самого засобу, далі — робоча концентрація під конкретне завдання (вартість 1л робочого розчину), зручність застосування (готовий для вжи-



Рис. 1. Фактори і умови, які визначають вибір дезінфікуючого засобу і технології знезараження об'єктів лікарняного середовища.

вання розчин), зручність приготування, час експозиційної витримки, суміщення процесу дезінфекції та передстерилізаційного очищення і т.п. Однак кожна позиція вимагає індивідуального підходу.

Так, наприклад, значна оптимізація процесу знезараження виробів медичного призначення, включаючи і складне за конструкцією обладнання, стала можливою за рахунок розробки засобів які поєднують м'які та антимікробні властивості. Однак, наявність у складі засобу таких антимікробних компонентів, як альдегіди, спирти, похідні амінів, як правило, призводить до появи небажаних властивостей, які полягають у фіксації органічних субстратів на виробках.[2]

Це слід враховувати, обираючи засіб для поєднання процесів очищення і дезінфекції. Повинні вибиратися засоби, які не виявляють фіксуючих властивостей в режимах застосування. При цьому в ряді ситуацій слід мати на увазі можливу наявність на виробках біоплівки. В даний час розроблені поліферментні препарати з дезінфікуючим компонентом, які гарантують високу ступінь очищення білкових, вуглеводних і жирових забруднень за рахунок ферментів і активних щодо мікроорганізмів, у тому числі і біоплівки, за рахунок дезінфектанту.

Також слід враховувати, що в медичних установах (підрозділах) з високим ризиком забруднення об'єктів лікарняного середовища та виробів медичного призначення фізіологічними рідинами пацієнтів, дезінфекційні заходи рекомендується проводити в режимі збудника найбільш стійкого до вживаного деззасобу.

В даний час для визначення дезінфекційної тактики в конкретній епідситуації виявлення тільки етіологічно значущого мікроорганізму вже недостатньо. Це обумовлено значним поширенням у зовнішньому середовищі мікроорганізмів стійких до дезінфектантів та антисептиків. Даний факт значною мірою впливає на формування локальної політики вибору деззасобу для знезараження об'єкту в конкретних умовах. При цьому виникає необхідність не тільки в ранньому виявленні несприятливих тенденцій, але і розробці заходів спрямованих на подолання формування дезрезистентних штамів мікроорганізмів [4, 5].

З цього впливає необхідність здійснення заходів, спрямованих на стримування селекції дезрезистентних штамів збудників інфекційних захворювань шляхом підвищення якості проведення дезінфекції, вдосконалення тактики дезінфекційних заходів.

З цією метою в даний час все ширше впроваджується методологія ротації дезпрепаратів однієї хімічної групи на іншу, яка не допускає тривалого застосування тільки одного дезінфікуючого засобу навіть широкого спектру дії та універсального призначення [6].

У цьому напрямку залишається дискусійним питання щодо оптимальної тривалості застосування кожного дезпрепарату, тобто про терміни можливої ротації.

Відповідно до поставленої мети був проведений мікробіологічний моніторинг динаміки наростання резистентних клінічних штамів стафілококу і грамнегативних бактерій (ГНБ), включаючи енте-

робактерії та псевдомонади. Дослідження проведені з використанням дезінфікуючих засобів з різними активно діючими речовинами і механізмом дії на мікробну клітину — хлорвміщуючі, четвертинні амонієві сполуки (ЧАС) і група гуанідинів. Для вивчення були взяті препарати до яких спочатку лікарняні штами були чутливі.

При випробуванні чутливості-резистентності мікроорганізмів до деззасобів основним критерієм була величина МБК препарату для конкретної культури за певний проміжок часу, яка порівнювалася з найменшою концентрацією препарату, рекомендованою для практичної дезінфекції. До клінічно резистентних відносили культури, що не гинули під впливом концентрації препарату, яка дорівнювала його робочій концентрації і найменшій експозиції.

Моніторинг динаміки збільшення числа стійких штамів мікроорганізмів проводили протягом шести місяців з початку застосування дезінфікуючого препарату у закладі.

Протягом періоду спостережень виявлена чітка тенденція до наростання питомої ваги резистентних лікарняних штамів в процесі тривалого застосування конкретного дезпрепарату. Вже через два місяці частота виявлення резистентних штамів стафілококів до препаратів хлорвміщуючої групи і четвертинних амонієвих сполук склала $37,0 \% \pm 2,0$ - $33,0 \% \pm 1,8$ відповідно. До препаратів групи гуанідину резистентних штамів виявлено $13,0 \% \pm 0,7$. Через чотири місяці кількість резистентних штамів значно збільшилася — $47,0 \% \pm 2,5$, $43,0 \% \pm 2,3$, $30,0 \% \pm 1,6$, а через шість місяців резистентні до хлоровмісних препаратів склали $63,0 \% \pm 3,5$, до ЧАС — $70,0 \% \pm 3,8$, до гуанідинів — $53,0 \% \pm 2,9$

Аналогічна тенденція мала місце і в групі ГНБ. Через два місяці спостереження резистентні до хлоровмісних склали $17,0 \% \pm 0,9$, ЧАС - $37,0 \% \pm 2,0$, до гуанідинів $30,0 \% \pm 1,6$.

Через чотири місяці кількість резистентних культур до всіх вивчених препаратів штамів ГОБ досягло $48,00 \pm 2,0$, $47,0 \pm 2,6$, $30,0 \pm 1,6$, а через 6 місяців склало $63,0 \% \pm 3,5$, $80,0 \% \pm 4,4$ і $63,0 \% \pm 3,5$.

Таким чином, проведені нами дослідження показали, що незалежно від виду мікроорганізмів і хімічної групи препарату через 2-4 місяці постійного їх використання було виявлено від $13,0 \pm 0,7$ до $48,00 \pm 2,0$ резистентних штамів. Через 6 місяців кількість резистентних штамів перевищувало $53,0 \% \pm 2,9$ — $80,0 \% \pm 4,4$.

У зв'язку з цим при організації дезінфекційних заходів в ЛПЗ через 2-4 місяці постійного застосування конкретного деззасобу, коли частка резистентних штамів досягає 30-40 % і більше, необхідно проводити ротацію дезінфікуючого препарату на препарат з іншою активно діючою речовиною.

Висновки

1. До вибору оптимального дезінфікуючого препарату для вирішення конкретного епідеміологічного завдання необхідно підходити комплексно з урахуванням конкретних завдань, особливостей дезпрепарату і умов його застосування.
2. Тривале застосування в лікувальних закладах дезінфікуючих препаратів різних хімічних груп призводить до селекції дезрезистентних варіантів збудників ІПМП і наростання частоти їх виділення з об'єктів навколишнього середовища.
3. Через 2-4 місяці постійного застосування конкретного деззасобу, коли частка резистентних штамів досягає 30-40 % і більше, необхідно проводити ротацію дезінфікуючого препарату на препарат з іншою активно діючою речовиною.

Література

1. Гудкова Е.И. 2011 Мониторинг устойчивости к дезинфектантам условно-патогенных бактерий, циркулирующих в

больничных стационарах// Скороход Г.А., Адарченко А.А., Слабко И.Н., Симоненко Л.И., Гаврилова И.А. Материалы международной научно-практической конференции «Внутрибольничные инфекции та механизмы резистентности их збудників до антимікробних препаратів» 29-30.09.2011, м. Київ. - с. 54-56

2. Дьяков В.В., Абрамова И.М. 2010 //Требования к средствам и оборудованию для предстерилизационной очистки изделий медицинского назначения. Тези конференції з питань ВЛІ і методів визначення механізмів резистентності їх збудників до антибактеріальних препаратів. 25-26.05.2010. м.Київ, Україна, с. 53-54.
3. Колосовская Е.Н., Терехова И.Г. 2010// Современное состояние выбора дезинфицирующих средств в лечебно-профилактических учреждениях. «Terra Medica» №1, 2010. с. 13-18.
4. Морозова Н.С., Мариевский В.Ф. 2009 / /Основы дезинфектологии. Киев. 2009. с.130.
5. Морозова Н.С. 2010 Механизмы устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим препаратам // Внутрибольничные инфекции и методы определения механизмов резистентности их возбудителей к антимикробным препаратам. Материалы Всеукраинской научно-практической конференции с международным участием 25.05.2010 -26.05.2010.- Киев, 2010,- с. 40-42
6. Пантелеева Л.Г. 2003 Новое в дезинфекционной профилактике внутри-больничных инфекций. Задачи современной дезинфектологии и пути их решения// Материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 70-летию НИИ дезинфектологии МЗ РФ, 22-24 октября 2003 г.-Москва,-с. 180-182
7. Шандала М.Г., Алешкин В.А., Селькова Е.И. и др. 2006 //Эпидемиологические и дезинфектологические обоснования рационального выбора методов средств и режимов дезинфекции и стерилизации в ЛПУ. Рекомендации для медицинских работников. Москва. 2006. с.37.
8. Шандала М.Г. 2002 //Перспективы и проблемы современной дезинфектологии. Ж. Дезинфекционное дело. №3. с. 19-26.

References

1. Gudkova E. I. 2011 Monitoring of resistance to disinfectants opportunistic bacteria circulating in the hospital inpatient //

Skorokhod G. A., Adarchenko A. A., Slabko I.N., Simonenko L. I., Gavrilov I. A. Proceedings of the International Scientific Conference "Nosocomial infection and resistance mechanisms of pathogens to antimicrobial agents" 29-30.09.2011. Kyiv.- p. 54-56 (in Russian)

2. Djakov V. V., Abramova I. M. 2010// Requirements for facilities and equipment for cleaning presterilizing medical products. Proceedings of Conference on VLI and methods for determining the mechanisms of resistance of pathogens to antibiotics. 25-26.05.2010. Kiev, Ukraine, p. 53-54. (in Russian)
3. Kolosovskaya EN, IG Terekhov // The current state of the selection of disinfectants in health care settings. «Terra Medica» №1, 2010. p. 13-18. (in Russian)
4. Morozova N. S., Marievsky V. F. // Basics disinfectology. Kiev. 2009. p.130. (in Russian)
5. Morozova N.S. Mechanisms of resistance to disinfectants preparations // Nosocomial infections and methods for determining the resistance mechanisms of pathogens to antimicrobial agents. Proceedings of the All-Ukrainian scientific-practical conference with international participation 25.05.2010 -26.05.2010.- Kiev, 2010 — p. 40-42 (in Russian)
6. Panteleeva L.G. New disinfection in prevention of nosocomial infections. Problems of modern disinfectology and solutions // Proceedings of the Scientific Conference dedicated to the 70th anniversary of the Research Institute disinfectology, 22-24 October 2003, Moscow, 2003. p. 180-182 (in Russian)
7. Shandala M. G., Aleshkin V. A., Selkova E. I. et al. // Epidemiological studies and disinfectology rational choice of means and methods of disinfection and sterilization conditions in hospitals. Recommendations for health professionals. Moscow. 2006. p.37. (in Russian)
8. Shandala MG // Prospects and problems of modern disinfectology. Disinfection business. №3. 2002. p. 19-26. (in Russian)

Резюме

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЯХ

*Морозова Н.С., Ридный С.В.,
Попов А.А., Грицай И.М., Дехтярь А.В.,
Коробкова И.В.*

*Харьковская медицинская академия
последипломного образования*

В статье представлен комплексный подход к выбору дезинфицирующих препаратов для конкретной эпидемиологической ситуации. Обоснованы сроки и последовательность ротации дезпрепаратов одной химической группы на другую как меры преодоления формирования дезрезистентных штаммов микроорганизмов.

Ключевые слова: дезинфекция, микроорганизмы, дезинфицирующие препараты, ротация.

Summary

ACTUAL PROBLEMS OF IMPROVING THE EFFECTIVENESS OF DISINFECTION MEASURES IN HEALTH CARE FACILITIES.

*Morozova N.S., Ridnyj S.V., Popov A.A.,
Gritsay I.M., Dekhtyar A.V.,
Korobkova I.V.*

*Kharkiv Medical Academy of
Postgraduate Education*

The paper presents an integrated approach to the selection of disinfectants for a particular epidemiological situation. A reasonable time frame and sequence of rotation of disinfectants one chemical group to another as a measure to overcome the formation of resistant strains of microorganisms.

Keywords: disinfection, microorganisms, disinfectants, rotation.

*Впервые поступила в редакцию 17.03.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 626.881:547.391.1-126

ОБГРУНТУВАННЯ ГРАНИЧНО ДОПУСТИМОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ (ГДК) ПРЕПАРАТУ «АКУМЕР» (ПОЛІМЕРУ АКРИЛОВОЇ КИСЛОТИ) ДЛЯ ВОДНИХ ОБ'ЄКТІВ РИБОГОСПОДАРСЬКОГО ВОДОКОРИСТУВАННЯ

Третьякова О.В.

Український НДІ медицини транспорту МОЗ України,
e-mail: helen.tre@rambler.ru)

Проведені комплексні хіміко-аналітичні, токсикологічні, гігієнічні та екологічні дослідження промислового синтетичного препарату «Акумер» для оцінки його потенційного впливу на еколого-гігієнічні показники води водойм рибогосподарського використання при надходженні з промисловими стічними водами. Дана оцінка стабільності препарату у воді, вплив на органолептичні, санітарні показники водного середовища, токсичність для найпростіших, фіто- і зоопланктон, риби на різних стадіях розвитку особин. За результатами комплексних експериментальних досліджень встановлено лімітуюча ланка — дафнії (зоопланктон), для яких максимальна недіюча концентрація стала визначальною при оцінці токсичної дії і встановлення еколого-гігієнічного нормативу. З урахуванням лімітуючої ланки і коефіцієнта стабільності обґрунтована гранично допустима концентрація препарату «Акумер» у воді водних об'єктів рибогосподарського призначення (ГДК_{вр}), яка склала 1,0 мг/л, 4-й клас небезпеки, лімітуючий показник токсичності — токсикологічний.

Ключові слова: поліакрилат натрію, тест-об'єкти, токсичність, водойми рибогосподарського призначення, еколого-гігієнічний норматив.

Актуальність

Розвиток сучасної економіки тісно пов'язаний із інтенсивним використанням хімічних речовин у різних галузях промисловості, технологічних процесах та побуті. В останні десятиріччя, в усьому світі інтенсивно зростають виробництво і споживання поліакрилатів, які досягли у ряді країн ЄС об'єму більш ніж 200 тис. т на рік. Серед таких сполук важливе місце займають акрилова кислота (АК) та її похідні, зокрема солі акрилової кислоти [1].

Сфера застосування поліакрилату натрію досить широка. Зокрема, він використовується як масштабний інгібітор відкладень та диспергатор для карбонатів, сульфатів та інших помірно розчинних солей в системах циркуляції води на електростанціях, металургійних заводах, у виробництві хімічних добрив, нафтоперегінних підприємствах, в системах кондиціонування повітря тощо. Він також вхо-

дить до складу миючих засобів, парфумерної продукції, лосьйонів, гелів, кремів, сонцезахисних засобів, засобів особистої гігієни (підгузниках), використовується для виготовлення штучного снігу [2].

Акрилові полімери (АП) та їх похідні найчастіше надходять у навколишнє середовище при порушеннях технології синтезу, правил техніки безпеки, в аварійних ситуаціях, при транспортуванні, зберіганні і застосуванні [3]. Промислове та побутове використання АП може супроводжуватися великою кількістю викидів шкідливих речовин у повітря та стічні води, що обумовлює реальну небезпеку забруднення природного середовища даними хімікатами і може становити реальну загрозу для здоров'я людини та природного довкілля [4-8].

Охорона водойм від забруднення, нормування якості води у водоймах здійснюється відповідно до діючих нор-

мативних документів, якими встановлено дві категорії водоймищ: I категорія — водойми питного та культурно-побутового призначення; II категорія — водойми рибогосподарського призначення [9-12]. Гранично допустимі величини (ГДК) для більшості гідрохімічних показників у водоймах II категорії більш вимогливі, ніж до якості води водойм I категорії. Тому обґрунтування нормативів для водойм рибогосподарського призначення потребують додаткових (по відношенню до вимог питного постачання) досліджень, що включають широкий спектр хіміко-аналітичних, токсикологічних і екологіко-гігієнічних компонентів [13-15].

Характеристика об'єкту досліджень за ISO: препарат «Акумер» — (акриловий гомополімер, поліакрилат натрію, натрієва сіль поліакрилової кислоти, полікарбоксилат, полі(проп-2-еноат натрію) має такий склад: — Na-сіль, частково нейтралізована кислота на 20,0 %; вміст основної речовини – 48,0 %. Основні фізико-хімічні показники: М.М 1425-2000. Т кипіння — 100 °С. Агрегатний стан – рідина. Розчинність у воді – повністю розчинний. Щільність 1,25 г / куб. см, рН – 3,6 [16]. В Україні даний препарат не нормований.

Тому **метою** даної роботи була розробка і обґрунтування гранично допустимої концентрації препарату «Акумер» (полімеру акрилової кислоти) для водних об'єктів рибогосподарського призначення.

Матеріали та методи досліджень

Хімічним структурним аналогом дослідженого препарату «Акумер» (полімер акрилової кислоти) є акриловий сополімер торгівельної марки «Екохім ДН-310», який, згідно додаткового переліку №1 гранично допустимих концентрацій шкідливих речовин у воді рибогосподарських водоймищ, відноситься до 4 класу (малонебезпечні речовини) з ГДК = 1,0 мг/л, лімітуючий показник шкідливості (ЛПШ) – токсикологічний [17]. Поліакрилат натрію та акрилова кислота не

входять до переліку хімічних канцерогенів МАІР [18].

Виходячи з наведених даних, при встановленні нормативу проводили токсикологічні дослідження за основними показниками. Згідно літературних посилань та нормативних документів [17, 12], подібна речовина поліакрилат натрію має ГДК у воді водних об'єктів господарсько-питного та культурно-побутового водокористування на рівні 15 мг/л, 2-й клас небезпеки за санітарно-токсикологічним показником шкідливості [19].

Дослідження препарату «Акумер» проведені в період з травня по вересень 2014 включно. На першому етапі оцінювали вплив препарату на органолептичні показники, гідрохімічний режим модельних водоймищ, процеси самоочищення водного середовища, вивчали стабільності речовини у воді (встановлювали параметр $\tau_{95\%}$).

Токсикологічні дослідження препарату проводили із застосуванням ключових тест-систем, що охоплюють основні екологічні групи і трофічні ланки водного середовища (мікроорганізми – сапрофітні бактерії, найпростіші – *Paramecium Caud*, фітопланктон — *Chlorella vulgaris Beyer*, зоопланктон – *Daphia Magna St*, нектон – риби даніо *Brachydanio*, *Cyprinus carpio* на різних стадіях розвитку). Результати, отримані при дії досліджуваної речовини (“дослід”), порівнювали з результатами спостережень за відсутності даної речовини в модельному середовищі (“контроль”). Концентрацію препарату в експериментальному середовищі розраховували за вмістом дослідженої речовини у воді судин. Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень проводили методами варіаційного і кореляційного аналізу з використанням критерію Стьюдента (t) [13].

На підставі статистичної обробки отриманих результатів встановлювали максимально допустимі концентрації для кожного тест-параметра використаного

тест-організму, а також для тест-організму в цілому. Максимальна недіюча концентрація для найбільш чутливого тест-об'єкта була прийнята як ГДК досліджуваної речовини. Ланка, до якої відноситься даний тест-об'єкт, була визначена як лімітуюча при обґрунтуванні нормативу. На основі отриманих даних встановлювали клас небезпеки та лімітуючий показник шкідливості (ЛПШ).

Результати досліджень

Результати досліджень з розробки і обґрунтування ГДК для препарату «Акумер» (полімеру акрилової кислоти) для водних об'єктів рибогосподарського призначення наведені в табл. 1.

Наведені в таблиці данні показують, що зниження токсичності препарату «Акумер» у водному середовищі на 95,0 % відбувається за 77,3 доби. Згідно класифікації речовин за їх стабільністю у

Таблиця 1

Токсикометричні параметри, порогові та недіючі концентрації препарату «Акумер» (полімеру акрилової кислоти) для водних об'єктів рибогосподарського призначення

Охоронна ланка	Тест-організм	Тест-функція, тест-параметр	Тривалість дослідження, години/доба	Порогова конц., параметри, мг/л	Недіюча концентрація, мг/л
Стабільність	Водне середовище	Зниження токсичності	30	$\tau_{95\%}=77,3$ діб, середньостабільен	
Органолептика	Водне середовище	Колір, осад, утворення піни	-	320,0 мг/л	160,0 мг/л
Санітарний режим	Водне середовище	Кисень	15	>160,0	80,0
		pH	30	>160,0	80,0
		N-NH ₄	15	80,0	40,0
		N-NO ₂	15	160,0	80,0
		N-NO ₃	30	160,0	80,0
		БСК ₅	5	>80,0	40,0
Сапрофіти	7	>80,0	40,0		
Найпростіші	Paramecium Caud.	Чисельність	5	80,0	40,0
Фітопланктон	Chlorella vulgaris Beyer	EK ₅₀	72 години	395,7	
		EK ₁₀ /EK ₀		170,0	50,0
		Чисельність	14	40,0	20,0
		pH	14	160,0	80,0
Зоопланктон	Daphia Magna St	LK ₅₀	48 годин	109,5	
		виживаність	30	40,0	20,0
		Маса	30	20,0	10,0
		Плодючість	30	20,0	10,0
		Біомаса	30	20,0	10,0
Риби: ранній онтогенез, даніо Brachydanio rerio (Hamilton-Buchanan)	ікра	LK ₅₀	45	158,2	
		Виживаність	45	80,0	40,0
	Передличинки	LK ₅₀	48 годин	96,8	
		Виживаність	48 годин	40,0	20,0
		Відставання викльову	48 годин	40,0	20,0
		Довжина	48 годин	40,0	20,0
Маса	48 годин	40,0	20,0		
Дорослі риби	Cyprinus carpio	LK ₅₀	96 годин	700,0	
		Виживаність	30	320,0	160,0
		Гематологія	30	160,0	80,0
		Біохімія	30	160,0	80,0
Органолептика	Бульон та м'ясо риб	Колір, запах, консистенція		>320,0	320,0

водному середовищі препарат «Акумер» відноситься до середньо стабільних. Проведена додаткова оцінки залишкової токсичності методом біотестування на тест-об'єкті одновікові дафнії дозволило встановити, що сумарна токсичність препарату та продуктів його перетворення (гідролізу) зменшується із часом.

Досліджений препарат в концентраціях 160,0 мг/л не змінював органолептичних показників води, а при концентрації 320,0 мг/л – сприяв виникненню піноутворення. Значно більш високі концентрації (< 640,0 мг/л) викликають слабку появу мутності, запаху та присмаку. Порогова концентрація за органолептичним показником для водного середовища склала 320,0 мг/л, а недіюча – 160,0 мг/л.

Із усіх досліджених гідрохімічних і санітарних показників водного середовища найбільшому впливу піддавалися біохімічне споживання кисню (БСК₋₅), сапрофітна мікрофлора, для яких пороговими є концентрація 80,0 мг/л а недіючою – 40,0 мг/л.

Для показників життєдіяльності найпростіших (*Paramecium Caud*) пороговою є концентрації препарату 80,0 мг/л а недіючою – 40,0 мг/л.

Експериментально встановлено, що концентрації препарату вище 40,0 мг/л є токсичними для одноклітинних водоростей за показниками чисельності. Недіюча концентрація для цієї трофічної ланки склала 20,0 мг/л.

При вивченні у хронічному експерименті показників життєдіяльності представника зоопланктону – *Daphia Magna St* – токсична концентрація, що негативно впливає на показники маси, плодючості і біомаси знаходилася на рівні 20,0 мг/л, а недіюча – 10,0 мг/л. *Daphia Magna St* виявилися лімітуючою трофічною ланкою при встановленні ГДК.

Аналіз результатів досліджень по вивченню впливу препарату «Акумер» на ембріональний та постембріональний розвиток даніо *Brachydanio rerio*

(*Hamilton-Buchanan*) дозволив встановити, що найбільш чутливими показниками для даного тест-об'єкту є виживаність. Для передличинок даніо *Brachydanio rerio* (*Hamilton-Buchanan*) чутливими були такі тест-функції, як виживаність, відставання викльову, довжина і маса на стадіях викльову. Для даних показників токсичними виявилися концентрації препарату на рівні 40,0 мг/л, а не діючими – 20,0 мг/л.

Дослідженнями з вивчення токсичного впливу на дорослу рибу (*Cyprinus carpio*), її фізіолого-біохімічні та органолептичні показники встановлено, що початок прояву клінічних ознак отруєння починається з концентрації 160,0 мг/л, недіючою для даного тест-організму є концентрація 80,0 мг/л.

У діапазоні досліджених концентрацій від 20,0 до 320,0 мг/л препарат «Акумер» не змінював органолептичних показників бульйону і м'яса риби. Максимальна досліджена концентрація 320,0 мг/л є недіючою за органолептичними показниками бульйону та м'яса риб.

З урахуванням вищевикладеного, при обґрунтуванні нормативу ГДК препарату «Акумер» вважали за доцільне додатково використати коефіцієнт запасу (Kc), що враховує стабільність дослідженої речовини у воді, який для $t_{95\%} = 77,3$ діб дорівнює 7,5.

Пропонується наступна розрахункова формула, яка враховує показники KLim та Kc: $ГДК = KLim / Kc = 10 / 7,5 = 1,3$ (мг/л)

Виходячи із розрахунків, рекомендується встановити для препарату «Акумер», хімічною основою якого є полімер акрилової кислоти, показник ГДК_{р.г.в.} на рівні 1,0 мг/л для води водних об'єктів рибогосподарського водокористування (4-й клас небезпеки, ЛПШ -токс.).

Висновки

1. Препарат «Акумер», який широко застосовується в різних галузях промисловості, при потрапленні в оточуюче середовище може негативно

- впливати на біосистеми водоймищ рибогосподарського призначення, що вимагає розробки відповідних екологічних стандартів (ГДК).
2. Проведені комплексні дослідження показали, що препарат «Акумер» відноситься до середньо стабільних, характеризується низьким ступенем біорозкладання; сумарна токсичність препарату та продуктів його перетворення (гідролізу) зменшується із часом. Встановлено, що лімітуючою ланкою у екологічній небезпечності препарату є тест-об'єкт — зоопланктон (дафнії), для якого $KL_{lim} = 10$ мг/л, коефіцієнт запасу (K_c), що враховує стабільність дослідженої речовини, дорівнює 7,5.
 3. На підставі проведених досліджень обґрунтована величина ГДК у воді водойм рибогосподарського призначення на рівні 1,0 мг/л, ЛПШ – токсикологічний.

Література

1. *Обзор мирового рынка акрилатов / Режим доступа к электронным ресурсам — http://www.newchemistry.ru/letter.php?n_id=6864&cat_id=10&page_id=2*
2. Лукьянчук В.Д. Акрилаты: токсикология, терапия и профилактика отравлений (обзор -литературы)/ Лукьянчук В.Д., Радионов В.Н// Ж. Сучасні проблеми токсикології, 2003.- № 2. Режим доступа к журналу — http://medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2003/03_2_4.htm.
3. Воронкова И.А. Гигиена, промышленная токсикология и профпатология в производствах полиакрилатов и сырья для них. —М., 1984. —С. 5-9.
4. Тарских М.М. Акрилаты – акрилонитрил и акриламид: от патологии клетки до болезней человека. / Красноярский гос. пед. университет им. В.П. Астафьева. – Красноярск, 2014. – 272 с.
5. Evaluation of chemical parameters and ecotoxicity of a soil developed on gossan following application of polyacrylates and growth of *Spergularia purpurea* / Santos E.S., Abreu M.M., de Varennes A. et al. // *Sci. Total. Environ.*, 2013. – Vol. 461. -462. – P. 360-370.
6. Evaluation of surface water quality using an ecotoxicological approach: a case study of the Alqueva Reservoir (Portugal) / Palma P., Alvarenga P., Palma V. et al. // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2010. – Vol. 17. – Iss. 3. – P.:703-716.
7. Waara S. An assessment of the potential toxicity of runoff from an urban roadscape during rain events / Waara S., Fdrn C. // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2008. – Vol.15. – No. 3. – P. 205-210.
8. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry / Ritter L., Solomon K., Sibley P. et al. // *J. Toxicol. Environ. Health, A*, 2002. – Vol. 65. – No. 1. – P. 1-142.
9. ГОСТ 17.1.1.01-77 Охрана природы. Гидросфера. Использование и охрана вод. Основные термины и определения.
10. ГОСТ 17.1.2.04-77 Охрана природы. Гидросфера. Показатели состояния и правила таксации рыбохозяйственных водных объектов.
11. ГОСТ 27065-86 (СТ СЭВ 5184-85) Качество вод. Термины и определения.
12. СанПиН №4630-88 «Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения».
13. Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного назначения (утверждены Приказом Росрыболовства от 04.08.2009 № 695).
14. Методические указания по разработке нормативов предельно допустимых сбросов вредных веществ в поверхностные водные объекты (уточненная редакция) (утверждены МПР России 23.09.1999).
15. Гагарин О.В. Оценка и нормирование качества природных вод: критерии, методы, существующие проблемы / Гагарин О.В. – Ижевск: Издательство «Удмуртский университет», 2012. – 200 с.
16. Акумер. Полимеры для водоподготовки. Путь доступа к электронному ресурсу — www.rhcis.com; www.amberlite.com.ua
17. «Обобщенный перечень предельно-допустимых концентраций (ПДК) и ориен-

тировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов» (№ 12-04-11 от 09.08.90 г.)

18. IARC (2006) Report of the Advisory Group to Review the Amended Preamble to the IARC Monographs (IARC Int. Rep. No 06/001).
19. Жолдакова З.И. Обоснование предельно допустимой концентрации полиакрилатного диспергатора с молекулярной массой 2200 в воде / Жолдакова З.И., Синицына О.О., Карамзин К.Б. и [и др.] // Токсикологический вестник. – 2006. — № 6. – С. 19-24.

References

1. Browse Peace akrylatov market / Access for Electronic resources — http://www.newchemistry.ru/letter.php?n_id=6864&cat_id=10&page_id=2
2. Lukyanchuk V.D. Akrylaty: toxicology, therapy and poisoning prevention / Lukyanchuk V.D., Radyonov V.N. // J. Contemporary problems Toxicology, 2003.- № 2. Access for magazine — http://medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2003/03_2_4.htm.
3. Voronkov I.A. Hygiene, industrial toxicology and profpatology polyakrylatov in production and raw materials for them. -M., 1984. -P. 5-9.
4. Tarskyh M.M. Akrylaty — acrylonitrile and akrylamyd: from pathology to human disease cells / Krasnoyarsk State. ped. University im. VP Astafijeva. — Krasnoyarsk, 2014. – 272 p.
5. Evaluation of chemical parameters and ecotoxicity of a soil developed on gossan following application of polyacrylates and growth of *Spergularia purpurea* / Santos E.S., Abreu M.M., de Varennes A. et al. // Sci. Total. Environ., 2013. – Vol. 461. -462. – P. 360-370.
6. Evaluation of surface water quality using an ecotoxicological approach: a case study of the Alqueva Reservoir (Portugal) / Palma P., Alvarenga P., Palma V. et al. // Environ. Sci. Pollut. Res. Int., 2010. – Vol. 17. – Iss. 3. – P.:703-716.
7. Waara S. An assessment of the potential toxicity of runoff from an urban roadscape during rain events / Waara S., Fdrn C. // Environ. Sci. Pollut. Res. Int., 2008. – Vol.15. – No. 3. – P. 205-210.
8. Sources, pathways, and relative risks of

contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry / Ritter L., Solomon K., Sibley P. et al. // J. Toxicol. Environ. Health, A, 2002. – Vol. 65. – No. 1. – P. 1-142.

9. GOST 17.1.1.01-77 Protection of nature. Hydrosfera. Using water and Protection. Main the terms and definitions.
10. GOST 17.1.2.04-77 Protection of nature. Hydrosfera. STATUS indicators and rules taksatsy fishery water bodies objects.
11. GOST 27065-86 (CT SEV 5184-85) Quality waters. The terms and definitions.
12. SanPiN №4630-88 «Sanitary rules and norms of superficial waters from pollution.»
13. Guidelines for the development of water quality standards fishery water bodies, including the maximum permissible concentrations of harmful substances in the water bodies of water fishery (approved by Order of the Federal Agency for Fishery of 04.08.2009 № 695).
14. Guidelines for the development of standards for maximum allowable discharges of pollutants into surface water bodies (refined version) (Russian Ministry of Natural Resources approved 23.09.1999).
15. Gagarin O.V. Assessment and valuation of natural water quality: criteria, methods, existing problems / O.V. Gagarin — Izhevsk: Publishing “Udmurt State University”, 2012. — 200 p.
16. Akumer. Polymers for water treatment. Way access to electronic resources — www.rhcis.com; www.amberlite.com.ua
17. “Generalized list of maximum permissible concentration (MPC) and the occupational exposure limits (OEL) of harmful substances for fishery water bodies» (№ 12-04-11 on 08/09/90).
18. IARC (2006) Report of the Advisory Group to Review the Amended Preamble to the IARC Monographs (IARC Int. Rep. No 06/001).
19. Zholdakova Z.I. Rationale for the maximum allowable concentration of polyacrylate dispersant with a molecular weight of 2200 water / Zholdakova Z.I., Sinitsyna O.O., Karamzin K.B. and [et al.] // Poison Gazette. — 2006. — № 6. — P. 19-24.

Резюме

ОБОСНОВАНИЕ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ (ПДК) ПРЕПАРАТА «АКУМЕР» (ПОЛИМЕРА АКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ) ДЛЯ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО ВОДОИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Третьякова Е.В.

Проведены комплексные химико-аналитические, токсикологические, гигиенические и экологические исследования промышленного синтетического препарата «Акумер» для оценки его потенциального влияния на эколого-гигиенические показатели воды водоемов рыбохозяйственного использования при поступлении с промышленными сточными водами. Дана оценка стабильности препарата в воде, влияние на органолептические, санитарные показатели водной среды, токсичность для простейших, фито- и зоопланктон, рыба на разных стадиях развития особей. По результатам комплексных экспериментальных исследований установлено лимитирующее звено – дафнии (зоопланктон), для которых максимальная недействующая концентрация стала определяющей при оценке токсического действия и установления эколого-гигиенического норматива. С учетом лимитирующего звена и коэффициента стабильности обоснована предельно допустимая концентрация препарата «Акумер» в воде водных объектов рыбохозяйственного назначения (ПДК_{вр}), которая составила 1,0 мг/л, 4-й класс опасности, лимитирующий показатель токсичности – токсикологический.

Ключевые слова: полиакрилат натрия, тест-объекты, токсичность, водоемы рыбо-хозяйственного назначения, эколого-гигиенический норматив.

Summary

MAXIMUM ALLOWED CONCENTRATION (MAC) OF THE SYNTHETIC INDUSTRIAL DETERGENT “AKUMER” (ACRYLIC ACID POLYMER) JUSTIFICATION FOR FISHERY WATER BODIES USE

Tretyakova E.V.

State Enterprise Ukrainian scientific and research institute of transport medicine, Ministry of public health of Ukraine

The complex of chemical and analytical, toxicological, hygienic and ecological researches of the industrial synthetic chemical “Akumer” (sodium polyacrylate) was performed to assess its potential impact on the ecological and hygienic markers of water ponds for fishery use, where contaminant arrives with industrial wastewater. The evaluation of the stability of chemical in water, the effect on the organoleptic, hygienic markers, aquatic toxicity for protozoa, phyto- and zooplankton, fish at different stages of development. According to the results of comprehensive experimental researches the limiting link — Daphnia (zooplankton) was established. For it the maximum ineffective concentrations was determined, which was decisive in the assessment of toxic action and the establishment of ecological and hygienic standards. Taking into account the limiting link and the chemicals coefficient of stability, maximum allowed concentration (MAC) of the industrial synthetic chemical “Akumer” for fishery water bodies use was proved. Its value is 1.0 mg / l, class of hazard — 4, limiting toxicity index – toxicological.

Keywords: sodium polyacrylate, toxicity, ecological and hygienic standards, maximum allowed concentration, fishery water bodies.

*Впервые поступила в редакцию 24.03.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 618.3+616.24-002.5 -06

КОМПЛЕКСНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ ОСНОВНИХ РЕГУЛЯТОРНИХ СИСТЕМ ТА ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСУ У ВАГІТНИХ З ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ЛЕГЕНЬ, ОБТЯЖЕНИМ ЗАЛІЗОДЕФІЦІТНОЮ АНЕМІЄЮ

Задорожний О.А.

Одеський національний медичний університет; 7024817@ukr.net

Проблема туберкульозу та залізодефіцитної анемії (ЗДА) є актуальною медичною та соціальною проблемою, оскільки призводить до погіршення якості життя вагітних, зниженню їх працездатності та викликає органічні й функціональні порушення основних регуляторних систем. Крім того, викликають порушення у фетоплацентарному комплексі (ФПК) — дисфункція плаценти, гіпоксія матері і плода, затримка розвитку плода та перинатальні втрати. У роботі проведено вивчення основних регуляторних систем та стану ФПК у 120 вагітних з туберкульозом легень, обтяженим ЗДА, та у 20 здорових пацієнток. Виявлені порушення еритроциту, функції печінки, мікробіоценозу піхви, гемодинамічні, ендокринологічні, циркуляторні, метаболічні розлади, що призводять до страждання плода.

Комплексна терапія покращила стан основних регуляторних систем, функцію фетоплацентарного комплексу, посилювала гемопоез, зменшувала гіпоксію, інтоксикацію, материнські та перинатальні ускладнення.

Ключові слова: туберкульоз, анемія, фетоплацентарний комплекс, терапія.

Вступ

Серед численних причин, що ускладнюють вагітність і пологи, збільшують показники перинатальної смертності, особливе місце належить туберкульозу та залізодефіцитній анемії (ЗДА) [2, 8].

В останні роки констатують зростання частоти захворюваності на туберкульоз, появу тяжких, хіміорезистентних форм туберкульозу, які завершуються часто летальним кінцем [3, 4]. Туберкульоз є чинником ризику ускладнень вагітності: дисфункції плаценти, дистрес-синдрому та затримки розвитку плода, невиношування, прееклампсії, передчасних пологів, дискоординації пологової діяльності, кровотечі [1, 7, 9].

Не менш загрозливою патологією під час гестаційного процесу є анемія вагітних, частота виникнення якої залишається високою (від 30,0 до 90,0 %) у різних регіонах України [5]. Доведено, що

ЗДА (як і туберкульоз) ускладнює перебіг вагітності, пологів, післяпологового періоду (кровотечі встановлені у кожній третій породіллі), а показники перинатальної смертності перевищують більше ніж у 2-5 рази здорових жінок [6].

При поєднанні туберкульозу та ЗДА виникає взаємообтяжуючий вплив на перебіг та завершення вагітності, стан плода та новонародженого, у зв'язку з чим необхідно приділити більшу увагу змінам основних регуляторних систем та порушенням функцій фетоплацентарного комплексу (ФПК), розвитком дисфункції плаценти, гіпоксії матері та плода.

Мета дослідження

Визначити стан основних регуляторних систем матері та функцію фетоплацентарного комплексу, провести корекцію виявлених порушень та оцінити її ефективність.

Матеріали та методи дослідження

Під нашим спостереженням знаходились 140 жінок у віці від 18 до 40 років в динаміці розвитку вагітності. Серед них 120 жінок основної групи (ОГ), а саме: 60 вагітних із ЗДА (I ОГ), 60 хворих на туберкульоз легень, обтяжений ЗДА, (II ОГ). Контрольну групу (КГ) склали 20 пацієнток із фізіологічним перебігом вагітності. Згідно способу лікування пацієнтки I ОГ та II ОГ були розподілені на 2 підгрупи: 64 жінки отримували комплексну терапію (КТ) та 56 вагітних, яким застосовували традиційну терапію (ТТ). За основними характеристиками групи вагітних були репрезентативними.

Діагноз туберкульоз легень встановлено в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері на підставі вивчення скарг хворих, проведення об'єктивного, бактеріологічного, бактеріоскопічного, рентгенологічного та інших методів дослідження. У обстежених жінок виявлені наступні форми туберкульозу легень: вогнищевий, інфільтративний, фіброзно-кавернозний та дисемінований. Всім пацієнткам проведено комплексне клініко-лабораторне обстеження, дана оцінка загального стану, еритроциту, показникам гепатобіліарної системи, мікробіоценозу піхви та функцій ФПК.

Для оцінки стану гемопоезу визначали показники загального аналізу крові, рівня гематокриту, сироваткового заліза, вмісту трансферину, феритину. Також визначали біохімічні показники: вміст білірубіну, тимолову пробу, загальний білок, активність амінотрансфераз АлТ, АсТ та лужної фосфатази, показники коагулограми, загальний аналіз сечі. Для вивчення інфектологічного статусу застосовували дані загальноклінічного, бактеріологічного, бактеріоскопічного вмісту піхви, цервікального каналу та уретри. При бактеріологічному дослідженні ідентифікували бактеріальні форми за методом Берджи.

Ультразвукове дослідження (УЗД) плода здійснювали на ультразвуковому

сканері "Toshiba NEMIO" (Японія) з використанням трансабдомінального та трансвагінального датчиків з частотою коливання 3,5 мГц, із визначенням загальноприйнятих фотометричних показників біофізичного профілю плода (БПП) за методом Vintzelios A.M. et al. (1993). Результати дослідження оцінювали за рекомендаціями Стрижакова А.Н. (2001) та Маркіна Л.Б. (2007). Оцінку характеру серцевої діяльності плода здійснювали за допомогою апарату Feta RPT BMT 9141 Neasa у режимі реального часу протягом 30 хвилин зі швидкістю руху стрічки 1 см/хв.

Гемодинамічні зміни в системі «мати-плацента-плід» визначали за результатами доплерометрії та візуалізації судин (маткових артерій, артерій пуповини, аорти та середньої мозкової артерії плода).

Досліджували стан ФПК – визначали рівень естріолу (E_3) та плацентарного лактогену (ПЛ) ІФА тест-системами фірми "Novo-Tec" (Німеччина); концентрацію прогестерону (ПР) та кортизолу (КР) – ІФА наборами фірми "Алькор-біо" (Росія); гормональну кольпоцитологію – за методом Шорра. Морфологічні, гістохімічні дослідження плаценти за методикою Милованова А.П. і Брусилівського А.І. (1986).

Паралельно проводили дослідження показників кислотнo-лужного стану (КЛС) крові матері: концентрацію водневих іонів (рН), парціальну напругу кисню (pO_2), парціальну напругу вуглекислого газу (pCO_2), надлишок або дефіцит підстав (ВЕ) іон-селективним методом на мікроаналізаторі «Кверти Мед» ЕЦ – 60 Е (Росія) з набором реактивів (Білорусь).

Стан немовлят оцінювали спільно з неонатологом за 10-ти бальною шкалою Аргар на 1-й та 5-й хвилині після народження.

Для статистичної обробки цифрового матеріалу використана спеціальна комп'ютерна програма Statistica 10.0 (Stat.Soft.Inc, США).

Пацієнткам основної групи застосовували «Тівортін» (Україна), який має антиоксидантну, антигіпоксантичну, цитопротекторну, мембраностабілізуючу, дезінтоксикаційну дію (по 100,0 мл внутрішньовенно краплинно, 5-7 днів, після – по 5,0 мл 3 рази на добу перорально, усього 12-14 днів). Також до лікувально-профілактичного комплексу входив «Актовегін» (Швейцарія) – активатор клітинного метаболізму, який застосовували з 6-8 дня після початку лікування (по 5,0 мл внутрішньовенно краплинно, 5-6 днів, після – по 1 драже 3 рази на добу з 11 по 20 день лікування) та антианемічний препарат – «Гіно-тардиферон» (Франція) (по 1 драже 3 рази на добу), вагінальні супозиторії «Таржинан» (Франція) (по 1 свічці 1 раз на добу, 10 днів).

У вагітних I ОГ та II ОГ звертали на себе увагу скарги хворих, серед яких найбільш частими були: загальна слабкість – у 99 (82,5 %), підвищена стомленість – у 98 (81,7 %), зниження апетиту – у 100 (83,3 %), порушення сну – у 84 (70,0 %), пітливість – у 71 (59,2 %).

При об'єктивному обстеженні встановлено, що майже у всіх вагітних з туберкульозом легень та ЗДА мала місце блідність шкірних покривів та слизових оболонок, особливо у жінок з II та III ступенем ЗДА. Частота дихання у обстежених II ОГ – $19,0 \pm 0,6$ за 1 хвилину.

Аускультативно у 39 (65,0 %) жінок II ОГ визначали жорстке дихання, у 31 (51,7 %) – сухі та вологі дрібнопухирчасті та середнепухирчасті хрипи, у 43 (71,7 %) хворих II ОГ – приглушеність серцевих тонів.

Стосовно 60 вагітних II ОГ необхідно відмітити, що ЗДА I ступеню виявили у 20 (33,3 %) хворих, II ступеню – у 22 (36,7 %) пацієнток, III ступеню тяжкості – у 18 (30,0 %) осіб ($p > 0,05$). У жінок КГ цієї патології не виявлено.

При первинному обстеженні та дослідженні лабораторних показників як у вагітних з анемією, так і у жінок з туберкульозом, обтяженим ЗДА, виявили низький рівень гемоглобіну, зменшення кількості еритроцитів, зниження кольоро-

вого показника.

Найбільш низькі гематологічні показники були у жінок II ОГ при супровідній ЗДА III ступеню, які дорівнювали: гемоглобін – $58,34 \pm 0,16$ г/л (I ОГ – $59,33 \pm 0,39$ г/л) ($p < 0,05$); еритроцити – $2,58 \pm 0,19 \times 10^{12}$ /л (I ОГ – $2,72 \pm 0,21 \times 10^{12}$ /л) ($p < 0,01$); кольоровий показник – $0,740 \pm 0,004$ (I ОГ – $0,750 \pm 0,006$) ($p < 0,01$), що статистично достовірно гірше, ніж у вагітних I ОГ при ЗДА третього ступеню.

Загальновідомо, що основним чинником залізодефіцитної анемії є дефіцит заліза. Рівень заліза сироватки крові був суттєво нижчим у вагітних II ОГ (у порівнянні з жінками I ОГ та КГ) і становив: при ЗДА I ст. – $8,90 \pm 0,32$ мкмоль/л, при ЗДА II ст. – $8,27 \pm 0,43$ мкмоль/л, при ЗДА III ст. – $7,92 \pm 0,47$ мкмоль/л, у той час як у пацієнток I ОГ – $9,84 \pm 0,08$ мкмоль/л, $9,31 \pm 0,21$ мкмоль/л та $8,01 \pm 0,38$ мкмоль/л, а в КГ – $15,32 \pm 0,14$ мкмоль/л ($p < 0,05$).

Тобто, при аналізі концентрації заліза в сироватці крові у жінок з туберкульозним процесом встановлено, що із зростанням тяжкості анемії його вміст зменшувався.

Розглянемо показники білої крові у обстежених вагітних. Лейкограми крові у жінок I ОГ та II ОГ характеризувались помірним лейкоцитозом, паличкоядерним зсувом лейкоцитарної формули вліво, прискоренням ШОЕ.

У 11,7 % вагітних з туберкульозом легень та ЗДА виявлена лімфопенія, у 15,0 % – лімфоцитоз, у 8,3 % хворих – еозінопенія і моноцитопенія. У обстежених жінок II ОГ до лікування лейкоцитарний індекс інтоксикації складав $2,50 \pm 0,08$ од.

Поряд з вищезазначеними показниками у обстежених вагітних проводили вивчення стану гепатобіліарної системи. Рівень загального білка у вагітних I ОГ – $64,20 \pm 2,22$ г/л був нижче, ніж в КГ – $71,10 \pm 2,52$ г/л, але зазначені показники знаходились в межах фізіологічної

норми. Рівень загального білка у жінок з туберкульозом легень та супровідній ЗДА ($57,50 \pm 2,42$ г/л) був нижче, ніж у вагітних КГ ($p < 0,05$) та у осіб I ОГ ($p < 0,05$), що також потребувало корекції. У більшості вагітних II ОГ встановлена гіпербілірубінемія до $17,54 \pm 1,42$ мкмоль/л, (в КГ – $12,25 \pm 1,40$ мкмоль/л) ($p < 0,05$); висока активність амінотрансфераз: АлТ – $0,61 \pm 0,27$ ммоль/год.л, (в КГ – $0,42 \pm 0,02$ ммоль/год.л) ($p < 0,05$) та концентрації АсТ – $0,55 \pm 0,22$ ммоль/год.л, (в КГ – $0,26 \pm 0,06$ ммоль/год.л) ($p < 0,05$). Показники тимолової проби також були підвищені і становили у хворих з туберкульозом легень та ЗДА $5,86 \pm 1,12$ од., (в КГ – $3,10 \pm 1,25$ од.) ($p < 0,05$).

Паралельно 80 обстеженим вагітним (I ОГ – 29, II ОГ – 31, КГ – 20 жінкам) до лікування проводили дослідження мікрофлори склепін піхви, цервікального каналу та уретри. В результаті проведеного мікробіологічного скринінгу встановили, що у більшості – 45 (75,0 %) вагітних (особливо при туберкульозі легень та ЗДА) мали місце різні дисбіотичні розлади, порушення нормального складу мікрофлори. Ці порушення біотопів урогенітальних органів були закономірними та найбільш часто зустрічались у вигляді асоціацій мікроорганізмів: стафілококи – стрептококи – кишкова паличка – вірус герпесу; стафілококи – гарднерели – хламідії; стафілококи – стрептококи – кишкова паличка – гарднерели – хламідії – цитомегаловірус. Щодо вірусної інфекції, то встановлено, що вірус простого герпесу виявили у 12 (20, %) хворих, цитомегаловірус – у 9 (15,0 %) обстежених жінок. Тобто, у вагітних, хворих на туберкульоз легень та ЗДА, крім екзогенної інтоксикації мікобактеріями туберкульозу є ще додаткові, ендогенні шляхи інфікування організму матері та плода (наявність урогенітальної та TORCH – інфекції, високий вміст умовно-патогенних бактерій та їх асоціацій).

В результаті дослідження стану ФПК встановлено, що у пацієнток I ОГ

мала місце фаза «напруження», тобто підвищення рівня естріолу та плацентарного лактогену і зниження концентрації прогестерону. А у вагітних II ОГ – фаза «виснаження» (зниження рівня вивчених показників – естріолу, прогестерону та плацентарного лактогену).

Слід також підкреслити, що при первинному обстеженні вагітних з анемією нормальний рівень концентрації гормонів констатували у 8 (13,3 %) хворих, у 52 (86,7 %) – виявили підвищення (у порівнянні з жінками КГ) вмісту E_3 , ПЛ з одночасним зниженням в крові рівня ПР, що розцінювали як стан «напруги» гормональної функції ФПК.

В результаті обстеження вагітних II ОГ до лікування тільки у 6,7 % пацієнток виявили нормальний рівень гормонів ФПК, тобто дисфункцію плаценти мали 56 (93,3 %) хворих. Зниження концентрації фетальних та плацентарних гормонів до 30 % визначили у 14 (25,0 %) жінок цієї групи; від 30 % до 50 % констатували також у 14 (25,0 %) осіб; більше ніж 50 % – у 28 (50,0 %) хворих. Тобто, більшість вагітних II ОГ – 56 (93,3 %) мали дисфункцію плаценти, при цьому, зниження рівня гормонів більше ніж на 30-50 % виявили у 42 (75,0 %) жінок.

У більшості обстежених вагітних – 76 (63,3 %) осіб характер кольпоцитограм змінювався в динаміці вагітності і не відповідав її терміну, часто виявляли патологічні типи мазків (естрогенний, атрофічний, регресивний), що свідчило про якісні та кількісні порушення у гормональному балансі вагітних.

Результати вивчення показників БПП у вагітних I ОГ ($7,44 \pm 0,15$ бали) свідчили, що вони були достовірно нижчі, ніж у жінок КГ ($9,06 \pm 0,32$ балів) ($p < 0,05$), а у пацієнток II ОГ ($7,08 \pm 0,18$ бали) була достовірно нижчою, ніж у вагітних I ОГ ($p < 0,05$).

Аналіз отриманих даних КТГ показав, що задовільний стан плоду (8-10 балів за оцінкою по Фішеру) спостерігали у 95,0 % вагітних КГ, у 63,3 % жінок I

ОГ та у 60,0 % пацієнток II ОГ ($p < 0,05$).

У вагітних I ОГ та II ОГ, які мали дисфункцію плаценти, при доплерометричному дослідженні виявили достовірне (у порівнянні з пацієнтками КГ) збільшення С/Д співвідношення у матковій артерії, в середній мозковій артерії плоду та в аорті плоду, яке більше виражено у жінок II ОГ ($p < 0,05$). На доплерограмах кровотоку в артерії пуповини у обстежених вагітних обох груп виявили характерне збільшення С/Д співвідношення в маточних артеріях з $2,12 \pm 0,03$ (в I ОГ) та до більш високих цифр – $2,48 \pm 0,03$ (в II ОГ) ($p < 0,05$), у той час як у пацієнток КГ цей показник дорівнював $1,75 \pm 0,16$ ($p < 0,05$).

За результатами плацентографії патологічні зміни в плаценті виявлені у вагітних I ОГ та II ОГ частіше, ніж у жінок КГ. Так, передчасне дозрівання плаценти, гіпер- та гіпоехогенні включення в плаценті, розширення синусів базальних вен плаценти у вагітних I ОГ та II ОГ зустрічали достовірно частіше, ніж у хворих КГ ($p < 0,05$). У вагітних II ОГ багатоводдя та маловоддя зустрічали достовірно частіше, ніж у пацієнток I ОГ та КГ ($p < 0,05$).

Патоморфологічні дослідження виявили патологічну незрілість плацент (в I ОГ – $16,67 \pm 4,39$ %, в II ОГ – $26,0 \pm 4,51$ %), гемоциркуляторні розлади та інволютивно-дистрофічні процеси (в I ОГ – $25,0 \pm 5,66$ %, в II ОГ – $36,0 \pm 6,01$ %), патологічну незрілість хоріону. Компенсаторно-приспосувальні реакції формувались за рахунок гіперплазії термінальних ворсин та судин в них із утворенням синцитіокапілярних мембран, які більш значні у пацієнток основної групи ($p < 0,05$).

Підтвердження прояв гіпоксії матері та плоду отримані при вивченні показників КЛС крові.

У вагітних з анемією вже з II триместру гестації до лікування наявність метаболічного ацидозу проявлялась незначним зниженням показників концентрації рН крові, збільшенням показників напруги рСО₂ та буферних систем крові.

При подальшому розвитку вагітності (III триместр) ці процеси погіршувались. У жінок II ОГ констатували більш виражені прояви метаболічного ацидозу, погіршення показників КЛС крові.

Так, в результаті обстеження вагітних до лікування встановлені наступні зміни показників КЛС крові: зниження концентрації рН (в I ОГ – $7,3320 \pm 0,0021$, в II ОГ – $7,3290 \pm 0,0029$); рО₂ (в I ОГ – $50,26 \pm 1,52$ мм рт.ст., в II ОГ – $48,22 \pm 2,17$ мм рт.ст.); підвищення вмісту рСО₂ (в I ОГ – $70,82 \pm 1,55$ мм рт.ст., в II ОГ – $72,97 \pm 1,24$ %) та ВЕ (в I ОГ до $-5,0 \pm 0,32$ ммоль/л, в II ОГ до $-6,0 \pm 0,28$ ммоль/л), що характерно для наявності метаболічного ацидозу. Найбільш значні зміни виявили у жінок з активною формою фіброзно-кавернозного та інфільтративного туберкульозу легень, які мали анемію тяжкого ступеня у III триместрі гестації.

У II триместрі вагітності після КТ поліпшення показників КЛС крові відзначене у 90,6 % вагітних II ОГ, а після ТТ – у 85,7 % пацієнток ($p < 0,05$). У III триместрі вагітності у хворих II ОГ покращення показників КЛС крові після КТ (збільшення рО₂, зниження рСО₂ та ВЕ) зустрічалось частіше – у 85,9 %, ніж після ТТ – у 78,6 % обстежених ($p < 0,05$).

Розглянемо перебіг пологів. У 120 жінок обстежених вагітних I ОГ та II ОГ своєчасні пологи відбулись у 102 (85,0 %), передчасні – у 18 (15,0 %) осіб. Своєчасні пологи спостерігали у 45 (44,1 %) пацієнток, що приймали курс ТТ і у 57 (55,9 %) хворих, що одержували КТ. Тобто, у більшості жінок, яким проведена КТ, пологи відбулись у строк. Відповідно народилось 102 доношених та 18 недоношених немовлят. Перинатальних втрат у досліджуваних групах не було.

При оцінці стану новонароджених встановлено, що задовільний стан (8-10 балів) за шкалою Апгар після КТ був в I ОГ 84,4 %, в II ОГ 81,5 %.

Показники рівнів еритроцитів, гемоглобіну у новонароджених, матерям яких застосовували КТ, були вірогідно

вищі, ніж у новонароджених, матерям яких проводили ТТ ($p < 0,05$), і вірогідно не відрізнялись від аналогічних показників у дітей, народжених від матерів з фізіологічним перебігом вагітності ($p > 0,05$).

У новонароджених від матерів I ОГ та II ОГ, які приймали курс КТ, відмічали менш ускладнений період адаптації, покращання антропометричних показників, зменшення частоти неврологічних розлад, нормалізацію темпів психосоматичного розвитку.

Висновки

1. У жінок, хворих на туберкульоз легень, обтяжений ЗДА, встановлена анемія різного ступеню важкості, лейкоцитоз із зсувом лейкоцитарної формули вліво, прискорення ШОЕ, гіпопротеїнемія, гіпербілірубінемія, активація ферментів АлТ, АсТ, тимолової проби, порушення мікробіоценозу піхви.
2. У вагітних II ОГ також мали місце зміни ФПК (зниження концентрації гормонів Е₃, ПР, ПЛ, показників БПП, КТГ, доплерометрії, зміни в плаценті), наявність метаболічного ацидозу (зниження рівня рН, рО₂ та підвищення вмісту рСО₂ та ВЕ крові). Виявлені зміни залежали від форми туберкульозного процесу, терміну гестації та ступеню анемії.
3. Комплексна терапія посилювала гемопоез, зменшувала прояви гіпоксії та метаболічного ацидозу, покращувала функцію ФПК, стан плода та новонародженого.

Література

1. Задорожний В.А. Профілактика та терапія ускладнень перебігу вагітності, пологів, стану плода та новонародженого у вагітних із туберкульозом легень/ Задорожний В.А, Голубенко М.Ю., Задорожний О.А.// Зб. наук. праць Асоц. акуш.-гінек. України.- Київ: Інтермед.- 2008. – С. 575-577.
2. Запорожан В.М., Польова С.П., Божора Ю.І. Репродуктивне здоров'я жінок в умовах епідемії туберкульозу // Журн. Акад. мед. наук України.- 2007. – Т. 13. — № 4. – С. 734-742.

3. Гошовська А.В., Польова С.П., Гошовський В.М. Прогноз виникнення розвитку плацентарної дисфункції та певних ускладнень під час вагітності та пологів у жінок, хворих на туберкульоз легень шляхом обрахунку довірчих інтервалів відсотку // Зб. наук. Праць Асоц. акуш.-гінек.України.- К.: Інтермед, 2011.- С. 198 — 200.
4. Мельник В.М., Новожилова І.О., Матусевич В.Г. Хіміорезистентний туберкульоз: стан проблеми в Україні // Укр.Мед.часопис.- 2013.- N 5 (97-IX/X). — С. – 43 — 45.
5. Овчинникова О.В. ЖДА у вагітних: Новые подходы и лечение/ О.В. Овчинникова, О.В. Мерцалова, М.И. Антонова// Международный медицинский журнал. – 2010. – Т. 16. — № 3 (63).- С. 56 — 63.
6. Садовнича О.О. Особливості ферокінетики при субклінічних формах анемії вагітних/ О.О. Садовнича// Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16. — № 2. – С. 94-97.
7. Фещенко Ю.І., Черенько С.О., Бялик Й.Б. Ефективність стаціонарного лікування хворих на хіміорезистентний туберкульоз на момент завершення інтенсивної фази хіміотерапії. // Укр. хіміотерапевтич. журн.- 2010.- № 2. – С. 33-37.
8. Global incidence of multidrug – resistant tuberculosis / M.Zignol, M.S. Hosseini, A.Wright // S. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 194 — P. 479-485.
9. WHO. Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing. – Geneva: WHO / HTM / TB. – 2006. – 362 p.

References

1. Zadorozhnyi V.A. Prophylaxis and therapy of pregnancy course complications, labours, fetus's and new-borns in pregnant with tuberculosis // Collection of scientific works of Ukrainian association of obstetricians and gynecologists.- Kiyev.- Intermed.- 2008. – P. 575-577.
2. Zaporozhan V.N., Poliova S. P., Bazhora Yu. I. Women's reproductive health at the epidemics of tuberculosis // Journal of Ukr. Academy of Med. Sciences.- 2007. – Vol. 13. — № 4. – P. 734-742.
3. Goshovska A.B., Poliova S.P., Goshovsky B.M. Prognosis of appearance of placenta dysfunction and certain complications at pregnancy and labours in women with tuberculosis // Collection of scientific works of Ukrainian association of obstetricians and gynecologists.- Kiyev.- Intermed.- 2008. – P. 198-200.

4. Melnick B. M., Novozhylova I.O., Matusevich V. G. Chemistry-resistant tuberculosis: state of the problem in Ukraine // Ukr. Med, Herald. -2013.- N 5 (97-IX/X).- P. 43 — 45.
5. Ovchinnikova O.B. Iron anemia in pregnant: New approaches and treatment // Int. Med J. – 2010. – Vol. 16. — № 3 (63).- P. 56-63.
6. Sadovnichia O.O. Peculiarities of iron kinetics at subclinical form of pregnant anemia // Tavria medical-and –biological herald. – 2013. – Vol. 16. — № 2. – P. 94-97.
7. Fetschenko Yu. I., Cherenko S. O., Bialyck I. B. Efficacy of in-patient unit treatment of patients with chemistry-resistant tuberculosis at the the final stage of intensive chemotherapy// Ukr. Chemiotherap. J.- 2010.- № 2. – P. 33 — 37.
8. Global incidence of miltidrung – resistant tuberculosis / M.Zignol, M.S. Hosseini, A.Wright // S. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 194 — P. 479-485.
9. WHO. Global tuberculosis control: Sirveillance, planning, financing. – Geneva: WHO / HTM / TB. – 2006. – 362 p.

Резюме

КОМПЛЕКСНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ОСНОВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ И ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА У БЕРЕМЕННЫХ С ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЕГКИХ, ОСЛОЖНЁННОЙ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИЕЙ

Задорожный О.А.

Проблема туберкулеза и железодефицитной анемии (ЖДА) является актуальной медицинской и социальной проблемой, поскольку приводит к ухудшению качества жизни беременных, снижению их работоспособности и вызывает органические и функциональные нарушения основных регуляторных систем. Кроме того, вызывают нарушения в фетоплацентарном комплексе (ФПК) — дисфункция плаценты, гипоксия матери и плода, задержка развития плода и перинатальные потери. В работе проведено изучение основных регуляторных систем и состояния ФПК у 120 беременных с туберкулезом легких, отягощенным ЖДА, и у 20 здоровых пациенток. Установлены нарушения эритронов, функции печени, микробиоценоза влагалища, гемодинамические, эн-

докринные, циркуляторные, метаболические расстройства, приводящие к страданию плода.

Комплексная терапия улучшила состояние основных регуляторных систем, функцию фетоплацентарного комплекса, усиливала гемопоз, уменьшала гипоксию, интоксикацию, материнские и перинатальные осложнения.

Ключевые слова: туберкулез, анемия, фетоплацентарный комплекс, терапия.

Summary

THE COMPLEX DESCRIPTION OF THE BASIC REGULATORY SYSTEMS AND OF FETOPLACENTAL COMPLEX IN PREGNANT WOMEN WITH PULMONARY TUBERCULOSIS, BURDENED WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA

Zadorozhniy O.A.

The problem of tuberculosis and iron deficiency anemia (IDA) is an actual medical and social problem, since it leads to the decreasing of life quality of pregnant women, reduces their ability to work and causes organic and functional disorders of basic regulatory systems. Additionally, it causes disruption in fetoplacental complex (FPC) — dysfunction of the placenta, maternal and fetal hypoxia, fetal growth retardation and perinatal loss. In work we studied basic regulatory systems and condition of FPC in 120 pregnant women with pulmonary tuberculosis, burdened with IDA and 20 healthy patients. Were discovered violation of erythron, liver function, vaginal microbiocenosis, hemodynamic, endocrinological, circulatory, metabolic disorders, that lead to fetal suffering.

Complex therapy improved the condition of the main regulatory function of fetoplacental complex, reinforced hematopoiesis, decreased hypoxia, intoxication, maternal and perinatal complications.

Key words: tuberculosis, anemia, fetoplacental complex, therapy.

Впервые поступила в редакцию 19.02.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.12-005.8-036

ЕФЕКТИВНІСТЬ ГІПОГОМОЦИСТЕЇНЕМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ

*Приступа Л.Н., Атаман Ю.О., Грек А.В., Жаркова А.В., Сусол Ю.М.
Сумський державний університет, медичний інститут; e-mail: kubul@mail.ru*

Обстежено 60 хворих на ішемічну хворобу серця з проявами гострого коронарного синдрому (ГКС) та помірною гіпергомоцистеїнемією (ГГц). Залежно від обраного лікування обстежуваних було поділено на дві групи. I група отримувала стандартне лікування ГКС, у II групі з метою корекції ГГц додатково призначалися фолієва кислота в дозі 5 мг на добу, а також вітамінний препарат 1 ампула (3 мл) якого містить: тіаміну гідрохлориду (вітаміну В1) 100 мг, піридоксину гідрохлориду (вітаміну В6) 100 мг, ціанокобаламіну (вітаміну В12) 1 мг. Термін гіпогомоцистеїнемічної терапії обраними препаратами складав 28 днів.

Встановлено, що вміст гомоцистеїну (Гц) в плазмі крові хворих на ГКС знизився у I групі із 13,8 (12,1-19,9) мкмоль/л, до 10,5 (9,3-15,8) мкмоль/л, а у II групі із 13,6 (12,1-18,4) мкмоль/л, до 8,9 (5,2-12,3) мкмоль/л, що відповідає безпечному рівню (концентрація Гц < 10 мкмоль/л), $P < 0,05$.

Використання додаткової терапії фолієвою кислотою, вітамінами В1, В6, В12 призводить до більш швидкого зниження вмісту Гц в плазмі крові хворих на ГКС до безпечного рівня.

Ключові слова: гомоцистеїн, гострий коронарний синдром, фолієва кислота, вітаміни групи В.

Згідно сучасних поглядів на проблему гострого коронарного синдрому (ГКС), зокрема, та ішемічної хвороби серця (ІХС), взагалі, одним з важливих несприятливих чинників її перебігу, є підвищений вміст гомоцистеїну (Гц) крові – гіпергомоцистеїнемія (ГГц) [1]. Особливого значення цей фактор набуває у пацієнтів з гострими формами ІХС, оскільки цей контингент є найбільш уразливим з огляду на прогноз виживання та працездатності, ризик повторних серцево-судинних подій. Наразі вважається, що атерогенна дія Гц реалізується завдяки ушкодженню ендотелію, активації судинно-тромбоцитарного гемостазу, проліферації гладеньком'язових клітин, окисній модифікації ліпопротеїнів низької густини, ендотеліально-лейкоцитарним взаємодіям [2].

Несприятливий проатерогенний ефект ГГц встановлений у цілому ряді багатоцентрових рандомізованих досліджень. Так, ще у 1992 році в рамках

Physician's Health Study, в якому брали участь 14916 чоловіків без ознак атеросклерозу, що спостерігалися в рамках дослідження протягом 5 років, вперше було показано, що підвищення рівня Гц в плазмі крові є незалежним фактором ризику ГКС [3]. Важливим є також те, що ГГц може бути не тільки фактором серцево-судинного ризику, а і впливати на тяжкість протікання атеросклеротичної хвороби серця. Зокрема, встановлено, що рівень сироваткового Гц прямо корелює з тяжкістю перебігу ІХС [4]. Виявлено, що при ГГц частіше спостерігаються ускладнення інфаркту міокарду, зокрема тромбоемболія легеневої артерії [5], застійна серцева недостатність [6], фатальні аритмії [7]. Деякі автори зазначають, що підвищення ризику кардіоваскулярної смертності, перш за все, зумовлене зростанням частоти гострих та множинних тромбозів коронарних артерій, що призводить до розвитку ГКС та інфаркту міокарда [8]. Наслідки ГГц є

настільки серйозними, що слід розглянути можливість корекції вмісту Гц з самих ранніх годин розвитку гострих форм ІХС.

У численних дослідженнях показана ефективність вітамінів групи В та фолієвої кислоти для корекції високої концентрації Гц крові і, асоційованої із ним, серцево-судинної захворюваності та смертності [9, 10]. На підставі висновків мета-аналізу рандомізованих контрольованих досліджень Yu X. та співав. (2014) зробили висновок, що 5 мг фолієвої кислоти на день протягом чотирьох тижнів вірогідно покращують функцію ендотелію, розширювальну здатність коронарних артерій та знижують концентрацію Гц крові у пацієнтів з гострим ішемічним ушкодженням міокарда [11]. Комбіноване застосування вітаміну В6 та фолієвої кислоти значно покращує прогноз у пацієнтів з проведеною реваскуляризацією міокарда, причому, результати досліджень показали ефективність невисоких доз [12]. Крім того, поєднання базисної терапії з введенням нейробіону (вітаміни В₁, В₆, В₁₂) та фолієвої кислоти (5 мг/день) супроводжувалось зниженням вмісту Гц крові, покращенням перебігу ішемічного інсульту та біохімічних показників крові вцілому [13].

Разом з цим, дотепер даних про ефективність гомоцистеїнзнижувальної терапії у хворих, що перенесли ГКС недостатньо, тому це питання потребує

подальшого вивчення.

Метою нашого дослідження була оцінка ефективності гіпогомоцистеїнемічної терапії у хворих на ГКС.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 60 хворих на ІХС з проявами ГКС та помірною ГГц (вміст Гц > 12 мкмоль/л), які проходили лікування в Комунальному закладі Сумської обласної ради «Сумський обласний кардіологічний диспансер» із січня по липень 2012 року. У всіх хворих було діагностовано ГКС згідно вимог наказу № 436 МОЗ України (2006р.). Залежно від обраного лікування обстежуваних було поділено на дві групи. I група отримувала стандартне лікування ГКС, у II групі з метою корекції ГГц додатково призначалися фолієва кислота в дозі 5 мг на добу, а також вітамінний препарат 1 ампула (3 мл) якого містить: тіаміну гідрохлориду (вітаміну В1) 100 мг, піридоксину гідрохлориду (вітаміну В6) 100 мг, ціанокобаламіну (вітаміну В12) 1 мг. Термін гіпогомоцистеїнемічної терапії обраними препаратами складав 28 днів. Дослідження рівня Гц виконувалося в клініко-діагностичній лабораторії МЦ «Флоріс» з використанням реактивів «IMMULITE 1000 Homocysteine» відповідно до інструкції виробника. Контроль вмісту Гц крові здійснювали через 1 та 3 місяці від початку лікування.

Статистичний аналіз проводили з використанням програми SPSS – 17.

Таблиця 1

Вміст гомоцистеїну в групі хворих на гострий коронарний синдром з помірною гіпергомоцистеїнемією

Група	n	Вміст гомоцистеїну (мкмоль/л)		
		до лікування	через 1 міс	через 3 міс
I	31	13,8 (12,1-19,9)*	12 (10,5-17,3)*	10,5 (9,3-15,8)*
II	29	13,6 (12,1-18,4)*	10,9 (8,5-15,1)*	8,9 (5,2-12,3)*
P ₁		0,506	0,001	< 0,001

Примітки: P₁ – вірогідність відмінності показників між групами I і II;

* – вірогідність відмінності показників до лікування та через 1 місяць;

* – вірогідність відмінності показників до лікування та через 3 місяці;

* – вірогідність відмінності показників через 1 та 3 місяці.

Значення $P < 0,05$ вважали вірогідним.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз вмісту Гц плазми крові у динаміці лікування у хворих на ГКС залежно від їх схем представлено в табл. 1.

Отримані результати свідчать про статистично значиме зниження вмісту Гц крові як підчас, так і протягом двох місяців після припинення обраного лікування. Зокрема, у хворих із базовим лікуванням ГКС без додаткової корекції через один місяць спостереження відмічалось зниження концентрації Гц плазми крові порівняно із вихідним рівнем приблизно на 13 % ($P < 0,001$), а через три місяці – на 23,9 % ($P < 0,001$). В осіб із додатковим введенням комплексу вітамінів також спостерігався ефект зниження вмісту Гц крові. Так, через один місяць спостереження вміст цього метаболіту зменшився на 19,9 % ($P < 0,001$), а через 3 місяці зниження досягло 34,6 % від початкового рівня ($P < 0,001$).

На початку лікування обидві групи характеризувалися помірною ГГц, при цьому, статистично вірогідних відмінностей між концентрацією Гц у пацієнтів досліджуваних груп відмічено не було ($P = 0,506$). Через місяць концентрація цього метаболіту у II групі практично досягла нормального значення і становила 10,9 (8,5-15,1) мкмоль/л. У цей же час, середня концентрація Гц крові у I групі залишалася вищою, її середній рівень складав 12 (10,5-17,3) мкмоль/л. Варто вказати, що більший гіпогемістемічний ефект обраної терапії у II групі зберігався і надалі. Наприкінці тримісячного терміну спостереження нормалізації вмісту Гц крові вдалося досягнути лише у II групі. Концентрація Гц у даних хворих становила 8,9 (5,2-12,3) мкмоль/л, а в I групі лише наблизилася до межових значень – 10,5 (9,3-15,8) мкмоль/л. Слід зазначити, що протягом вітамінно-фолатного лікування не відмічалось

побічних реакцій, що потребували б відміни чи зменшення дози застосованих препаратів.

Отримані результати вказують на ефективність гіпогемістемічної терапії за допомогою фолієвої кислоти та комплексу вітамінів групи В у пацієнтів із ГКС. Її застосування дозволяє провести корекцію ГГц вже протягом трьох місяців від початку лікування, тоді як зменшення концентрації Гц у хворих, що отримують виключно традиційну терапію за цей же термін не досягає безпечного рівня. Проте, навіть, у I групі відмічається позитивна динаміка цього показника, що може бути зумовленим застосуванням статинів. Раніше, у ряді досліджень, був доведений позитивний ефект статинів щодо зниження Гц крові у хворих на серцево-судинну патологію [2]. Проте, як було показано і в нашій роботі, досягнути безпечних значень Гц, використовуючи виключно стандартну терапію, у ранньому постінфарктному періоді в цілому не вдається і ГГц потребує додаткової корекції. Призначення фолієвої кислоти та вітамінів у таких пацієнтів є патогенетично виправданим і, за даними переважної більшості літературних джерел, ефективним. Зокрема, отримані нами результати узгоджуються з даними Guo H. (2009), який довів ефективність даного лікування у хворих на нестабільну стенокардію [14]. Співзвучні дані отримані Qin X. (2014) у хворих у яких проводилась реваскуляризація міокарду [12]. Враховуючи вищезазначене, можна стверджувати, що призначення фолієвої кислоти 5 мг/день у комплексі з вітамінним препаратом, що містить тіаміну гідрохлориду, піридоксину гідрохлориду, ціанокобаламін, є доцільним у хворих на ГКС з помірною ГГц та може бути важливим компонентом вторинної профілактики ІХС у пацієнтів групи високого ризику.

Висновки

1. Встановлено, що вміст Гц в плазмі

крові хворих на ГКС із використанням базової терапії та додаванням вітамінних препаратів призводить до статистично вірогідного зменшення концентрації Гц до безпечного рівня.

2. Використання фолієвої кислоти в дозі 5 мг на добу у поєднанні із вітамінним препаратом, що містить тіаміну гідрохлориду, піридоксину гідрохлориду, ціанокобаламіну призводить до більш швидкого зниження вмісту Гц в плазмі крові хворих на ГКС до безпечного рівня.

Література (References)

1. Facila L., Nunez J.E., Sanchis J., Bodi V., Chorro F.J., Llacer A., Chorro F.J., 2005, Early determination of homocysteine levels in acute coronary syndromes, is it an independent prognostic factor?, *Int. J. Cardiol.*, 100(2), pp. 275-279.
2. Соболева Е.В., Лебедев П.А., 2007, Гомоцистеинемия в патогенезе ишемической болезни сердца. плеотропные эффекты статинов, *Вестник СамГУ — Естественнонаучная серия*, № 2(52), С. 242-255. — Soboleva E.V., Lebedev P.A., 2007 Homocysteinemia in the pathogenesis of coronary heart disease, pleiotropic effects of statins, *Vestnik of SSU - natural science series*, No2 (52), pp., 242-255.
3. Stampfer M.J., Malinow M.R., Willet W. et al., 1992, A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 268, pp., 877-881.
4. Shenoy V., Mehendale V., Prabhu K., Shetty R., Rao P., 2014, Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease. *Indian J. Clin. Biochem.*, 29(3), pp., 339-344.
5. Zhu H., Xue H., Wang G.Y., Xing Y.H., Li T.S., Qian Y.Y., Peng C.Y., Xie L.X., 2013, Association between serum homocysteine and in-hospital death in patients with acute pulmonary embolism, *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi.*, 41(9), pp., 756-760.
6. Washio T., Nomoto K., Watanabe I., Tani S., Nagao K., Hirayama A., 2011, Relationship between plasma homocysteine levels and congestive heart failure in patients with acute myocardial infarction. Homocysteine and congestive heart failure, *Int. Heart. J.*, 52(4), pp., 224-228.
7. Maldonado C., Soni C.V., Todnem N.D., Pushpakumar S., Rosenberger D., Givvimani S., Villafane J., Tyagi S.C., 2010, Hyperhomocysteinemia and sudden cardiac death: potential arrhythmogenic mechanisms, *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 8(1), pp., 64-74.
8. Di Minno M.N., Tremoli E., Coppola A., Lupoli R., Di Minno G., 2010, Homocysteine and arterial thrombosis: Challenge and opportunity, *Thromb. Haemost.*, 103(5), pp., 942-961.
9. Ciaccio M., Bellia C., 2010, Hyperhomocysteinemia and cardiovascular risk: effect of vitamin supplementation in risk reduction, *Curr. Clin. Pharmacol.*, 5(1), pp., 30-36.
10. Smulders Y., den Heijer M., Blom H.J., 2013, Homocysteine levels: measure or not?, *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 157(44), A6265.
11. Xin Y., Yanli Zh., Dingsheng J., Xiaoyan Li, Yi G., Xuejun J., 2014, Efficacy of folic acid supplementation on endothelial function and plasma homocysteine concentration in coronary artery disease: A meta-analysis of randomized controlled trials, *Exp. Ther. Med.*, 7(5), pp., 1100-1110.
12. Qin X., Fan F., Cui Y., Chen F., Chen Y., Cheng X., Li Y., Wang B., Xu X., Xu X., Huo Y., Wang X., 2014, Folic acid supplementation with and without vitamin B6 and revascularization risk: a meta-analysis of randomized controlled trials, *Clin. Nutr.*, 33(4), pp., 603-612.
13. Евтушенко С.К., Филимонов Д.А., 2013, Роль гомоцистеина в развитии ишемических инсультов у лиц молодого возраста (обзор литературы и личные наблюдения), *Международный неврологический журнал*, 7 (61). — Yevtushenko S.K., Filimonov D.A., 2013 The role of homocysteine in the development of ischemic stroke in young adults (review of the literature and personal observations), *the International Neurological Journal*, 7 (61).
14. Guo H., Chi J., Xing Y., Wang P., 2009, Influence of folic acid on plasma homocysteine levels & arterial endothelial function in patients with unstable angina, *Indian. J. Med. Res.*, 129(3), pp., 279-284.

Резюме

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ГИПОГОМОЦИСТЕИНЕМИЧЕСКОЙ
ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ
КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ**

*Приступа Л.Н., Атаман Ю.А.,
Грек А.В., Жаркова А.В., Сусол Ю.М.*

Обследовано 60 больных ишемической болезнью сердца с проявлениями острого коронарного синдрома (ОКС) и умеренной гипергомоцистеинемией (ГГц). В зависимости от проводимого лечения обследуемых были разделены на две группы. Первая группа получала стандартное лечение ОКС, во второй группе с целью коррекции ГГц дополнительно назначались фолиевая кислота в дозе 5 мг в сутки, а также витаминный препарат 1 ампула (3 мл) которого содержит: тиамин гидрохлорида (витамина В1) 100 мг, пиридоксин гидрохлорида (витамина В6) 100 мг, цианокобаламина (витамина В12) 1 мг. Срок гипогомоцистеинемической терапии избранными препаратами составлял 28 дней.

Установлено, что содержание гомотеина (Гц) в плазме крови больных ОКС снизился в I группе с 13,8 (12,1-19,9) мкмоль/л, до 10,5 (9,3-15,8) мкмоль/л, а во II группе с 13,6 (12,1-18,4) мкмоль/л, до 8,9 (5,2-12,3) мкмоль/л, что соответствует безопасному уровню (концентрация Гц < 10 мкмоль/л), $P < 0,05$.

Использование дополнительной терапии фолиевой кислотой и витаминами В1, В6, В12 приводит к более быстрому снижению содержания Гц в плазме крови больных ОКС до безопасного уровня.

Ключевые слова: гомотеин, острый коронарный синдром, фолиевая кислота, витамины группы В.

Summary

**EFFICIENCY OF
HYPOHOMOCYSTEINEMIC THERAPY IN
PATIENTS WITH ACUTE CORONARY
SYNDROME**

*Prystupa L.N., Ataman Yu.A., Grek A.V.,
Zharkova A.V., Susol Yu.M.*

The study involved 60 patients with coronary artery disease with manifestations of (acute coronary syndrome) ACS and moderate hyperhomocysteinemia (HHc). Depending on the treatment subjects were divided into two groups. The first group received standard treatment of ACS, in the second group to correct HHc additionally appointed folic acid 5 mg daily, vitamin preparation 1 vial (3 mL) which contains: Thiamine Hydrochloride (Vitamin B1) 100 mg, pyridoxine hydrochloride (Vitamin B6) 100 mg cyanocobalamin (vitamin B12) 1 mg. Hypohomocysteinemic elected term therapy drugs was 28 days.

It is established that the content homocysteine (Hc) in plasma of patients with ACS declined in the first group of 13,8 (12,1-19,9) mkmol/L to 10.5 (9,3-15,8) mkmol/l, and in the second group of 13,6 (12,1-18,4) mkmol/L to 8.9 (5,2-12,3) mkmol/l, which corresponds to a safe level (Hc concentration < 10 mkmol/l), $P < 0.05$.

The use of complementary therapy with folic acid, vitamin B1, B6, B12 leads to a more rapid decline Hc content in plasma of patients with ACS to safe levels.

Keywords: homocysteine, acute coronary syndrome, folic acid, B vitamins

*Впервые поступила в редакцию 12.03.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.831-005

ПІСЛЯРЕАНІМАЦІЙНА ХВОРОБА У ПАЦІЄНТІВ, КОТРИ ПЕРЕНЕСЛИ ГОСТРІ ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Тещук В.Й., Тещук В.В., Скочко С.П.

Військово-медичний клінічний центр Південного регіону (м. Одеса), Київська обласна клінічна лікарня (м. Київ).

В роботі представлено аналіз лікування 36 пацієнтів з гострими порушеннями мозкового кровообігу, котрі в результаті термінальних станів перенесли реанімаційні втручання, та перебували на стаціонарному лікуванні в клініці нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону з 2000 р. до березня 2014 р. Встановлено характерні особливості перебігу гострих порушень мозкового кровообігу, у пацієнтів з післяреанімаційною хворобою. Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні механізмів розвитку гострих порушень мозкового кровообігу, у зіставленні патоморфологічних особливостей з клінічними проявами інсульту та можливістю попередження вітальних порушень.

Ключові слова: *гостре порушення мозкового кровообігу, інсульт, смерть мозку, післяреанімаційна хвороба, післяреанімаційна енцефалопатія, вегетативний стан.*

Вступ

В повсякденній клінічній практиці реаніматологи та неврологи все частіше зустрічаються з пацієнтами, котрі перенесли ефективні реанімаційні заходи під час різноманітних термінальних станів, та залишилися живими. Комплекс тих патологічних станів, який залишається у пацієнта в післяреанімаційному періоді доволі таки індивідуальний, і володіє розмаїттям неврологічних, афективних, психопатологічних проявів, поліморфізмом симптоматики, що обумовлено нашаруванням на існуючу поліорганну (коморбідну) патологію. Таким чином, післяреанімаційна хвороба (ПРХ) — це процес, який виникає у пацієнта, котрий переніс стан клінічної смерті, оживленого завдяки комплексу реанімаційних заходів, та характеризується порушенням вітальних функцій. В даній роботі ми намагалися розглянути післяреанімаційні прояви у пацієнтів, котрі перенесли гострі порушення мозкового кровообігу. Щорічно гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК) розвиваються в 0,2 % всього населення земної кулі, та понад чим в 1 % осіб старше 65 років. Приблизно в 1/3 випадків інсульт призводить до летального закінчення. ГПМК займають третє місце в структурі смертності в розвину-

тих країнах після ішемічної хвороби серця (ІХС) та раку. Серед хворих, котрі вижили після інсульту, котрі складають 0,8 % всього населення, приблизно половина стійко втрачає працездатність, ось чому ГПМК є основною причиною довготривалої фізичної, когнітивної, емоційної, соціальної та трудової інвалідності [1]. «Вік» інсульту стрімко молодшає, і на сьогоднішній день біля 8 % випадків ГПМК виявлено у осіб до 40 років [2]. Існуючі рекомендації, що базуються на основах доказової медицини, не дозволяють відповісти на широке коло клінічних запитань [3]. Тому кожна країна, кожна клініка, кожне відділення повинні відпрацьовувати свої локальні стандарти та протоколи ведення пацієнтів, котрі базуються на положеннях рекомендацій, на особливостях організації системи охорони здоров'я (включаючи наявність та вид страхової медицини), на особливостях фінансування медичних закладів МОУ, на власному досвіді; виходять з оснащення відділення, клініки; особливостей госпіталізованих пацієнтів [4]. Показник смертності від судинних уражень мозку є провідним у структурі загальної смертності в усіх країнах, але в країнах східної Європи значно вищий, особливо в країнах СНД.

Стандартизований за віком і статтю показник смертності від судинних уражень мозку в Україні перевищує такий у Франції у 5,8 разів і в 7,7 — серед населення до 65 років. Основною причиною є високі показники смертності від інсульту та «інших цереброваскулярних хвороб». Летальність від інсульту коливається від 63,5 (чоловіки, Швейцарія) до 273,4 (жінки, Росія) на 100 тис. населення. В Україні показник значно вищий, ніж у європейських країнах: серед чоловіків в 1,5, а в жінок — у 2 рази. Показник 30-денної летальності становить біля 35 %, а протягом року помирає кожен другий хворий, при цьому з тих, хто вижив, 25-30 % залишаються інвалідами, до трудової діяльності повертаються не більше 10-12 %, а 50 %- потребують сторонньої допомоги [5]. Порівнювати ефективність стандартів, котрі використовуються в різноманітних клініках, по звітності лікувальних закладів є достатньо складним завданням. Ми вирішили провести аналіз діяльності з цього приводу за даними клініки нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону з 2000 року до березня 2014 року.

Загальноприйнятий критерій смерті — це зупинка серця. Однак останнім часом цей критерій переглядається, так як дихання і кровообіг можна штучно підтримувати навіть при незворотньому ушкодженні головного мозку [6,7], наприклад Аріель Шарон...

На протязі останніх 40 років в зв'язку з успіхами реаніматології отримала розповсюдження концепція, котра визначає смерть людини, як смерть його мозку [7]. Смерть мозку, як правило, настає внаслідок гострої аноксії (при зупинці серцево-судинної діяльності і дихання) або при тривалій артеріальній гіпотонії, котрі призводять до незворотного ушкодження мозку. Менш чутливі органи до гіпоксії за цього можуть зберегти життєздатність [8]. ГПМК, пухлини головного мозку, черепно-мозкові травми (ЧМТ) також викликають незворотне

ушкодження головного мозку, за якого можна штучно підтримувати функції інших органів. Патологоанатомічна картина смерті мозку характеризується масивним некрозом та набряком і набубнявінням головного мозку (ГМ) без запальної реакції. Нерідко спостерігається скронево-тенторіальне або мозочкові вклинення. Набряк і набубнявіння ГМ призводять до підвищення внутрішньочерепного тиску (ВЧТ) та припинення мозкового кровообігу [4, 9]. Розпізнавання смерті мозку набуває особливого значення в зв'язку з можливістю отримання донорських органів для трансплантації [7]. Окрім того, швидке виявлення смерті мозку необхідне в зв'язку з високою вартістю штучного підтримання життя.

Відповідно до юридичного словника Блека [10], смерть «визначається лікарями як повна зупинка кровообігу та припинення проявів життя: дихання, серцевих скорочень і т.д.». Американська асоціація адвокатів, Американська медична асоціація, Національна конференція по уніфікації законів штатів та президентська комісія по вивченню етнічних проблем медицини відпрацювали «Уніфіковане визначення смерті», відповідно до котрого смерть констатується, якщо має місце наступне:

- незворотня зупинка кровообігу та дихання;
- незворотне припинення функціонування всіх відділів головного мозку, включаючи стовбур ГМ.

Концепція смерті мозку визнана Римською католицькою церквою та Першою міжнародною нарадою по трансплантації органів. В Сіднейській декларації, прийнятій на 22-й міжнародній медичній асамблеї, сказано, що смерть мозку може служити критерієм смерті людини. Аналогічне рішення прийняла в 1972 році Американська неврологічна асоціація [11, 12]. Смерть мозку (СМ) — це суворо визначене поняття, котре відноситься далеко не до всіх важких ушкоджень головного мозку і не включає

в себе післяреанімаційну хворобу (ПРХ) та хронічний вегетативний стан (ХВС). Критерії СМ не слід застосовувати в наступних випадках:

- раніше, ніж прийняті всі можливі заходи по діагностиці та лікуванню основного захворювання;
- при підозрі на інтоксикацію засобами, котрі пригнічують ЦНС.

При передозуванні медикаментозних засобів вірогідність летального виходу не завжди залежить від їх концентрації в крові. Використання критеріїв СМ допустимо лише після того, як концентрацію засобів в крові вдалося знизити і вона на протязі достатнього часу не перевищує терапевтичний рівень. Якщо кома набула свого розвитку на фоні інтоксикації, то для того, щоб діагностувати смерть мозку, необхідне більш тривале спостереження.

В більшості випадків неускладненої інтоксикації засобами, що пригнічують ЦНС, прояви подібні до ознак смерті мозку зберігаються не більше 36 годин. детальне неврологічне обстеження виявляє поступове відновлення відрухів — спочатку зіничних реакцій, потім вестибуло-офтальмологічних (зокрема, з'являється позитивна проба «лялькових очей»), рогівкового та інших рефлексів. В умовах реанімаційних відділень Військово-медичного клінічного центру (ВМКЦ) Південного регіону (ПР) ЕЕГ ми не проводимо. Але за даними інших авторів [13, 14, 15] в деяких випадках медикаментозної інтоксикації на ЕЕГ може реєструватися ізоелектрична лінія, однак частіше виявляються швидкі хвилі на фоні генералізованої повільної активності.

Діагноз СМ недопустимий також у випадках ендогенної інтоксикації, обумовленої нирковою, або печінковою недостатністю або іншими порушеннями. При застосуванні міорелаксантів стовбурові рефлекси можуть бути відсутніми, але зберігається електрична активність мозку та мозковий кровоплин [13, 14,

15]. За гіпотермії також не можна ставити діагноз СМ, ми відмічали схильність до гіпотермії не тільки у коматозних пацієнтів, але й у пацієнтів після гострих порушень мозкового кровообігу, які знаходяться при свідомості (зниження температури тіла при вимірюванні в аксиллярних впадинах до 34,0- 35,0 гр. С), що очевидно було обумовлене своєрідним ураженням відповідних структур підгірної ділянки, що підтверджувалося при нейровізуалізації (за даними КТГМ та МРТГМ). Таким чином, при виникненні клінічної смерті у пацієнта з ГПМК, йому проводиться повний комплекс реанімаційних заходів на протязі 45 хв.: серцево-легенева реанімація (СЛР), згідно з рекомендаціями Європейської Ради з реанімації 2010 р. (ERC'2010) по системі С-А-В; симптоматична інтенсивна терапія термінальних станів, дефібриляція [16]. При невдалому проведенні реанімаційних заходів тіло пацієнта ще на протязі двох годин перебуває в умовах реанімаційних відділень ВМКЦ ПР, після того доставляється до патолого-анатомічного відділення. Критерії СМ розробляються з урахуванням місцевого або відомчого законодавства, і в різних медичних центрах вони дещо відрізняються один від одного. В той же час вони засновані на загальних принципах постановки діагнозу СМ. Діагноз СМ ми виставляли лише в тому випадку, коли ми колегіально оцінювали анамнестичні та об'єктивні докази незворотнього структурного ушкодження головного мозку. Основними критеріями слугували ознаки, котрі свідчили про припинення функціонування нервової системи вище стрижневого рівня: оцінка по шкалі Глазго — 3 бали (смерть мозку); апное; відсутність артеріального тиску та пульсу; розширення зіниць та відсутність фотореакцій; відсутність окуло-вестибулярного рефлексу; відсутність окуло-кардіального рефлексу; відсутність окуло-цефалічного рефлексу; тотальна атонія, арефлексія; відсутність реакції на больові подразники [17]. В перші часи штучного підтримання життя питання про СМ, як прави-

ло, ми не ставили. Відповідно до рекомендацій Гарвардського комітету, тривалість спостереження за пацієнтом, у котрого зберігаються ознаки смерті мозку, повинна складати 24 години [18, 19]. Однак аналіз вказує, що більше чим в половині пацієнтів з встановленою СМ незворотня зупинка кровообігу наступає значно раніше. Тому при безсумнівних ознаках СМ та при відсутності підозри на медикаментозну інтоксикацію діагноз СМ може бути поставлений набагато раніше. Якщо анамнестичні та об'єктивні дані однозначно вказують на СМ, заключення може бути дане після одноразового огляду, а відтак констатована біологічна смерть. Стан пацієнта після вдалого проведення реанімаційних заходів розцінювався нами, як післяреанімаційна хвороба (ПРХ).

Метою нашого дослідження була порівняльна оцінка результатів лікування пацієнтів з гострими порушеннями мозкового кровообігу, котрі в результаті термінальних станів перенесли реанімаційні втручання, та перебували на стаціонарному лікуванні в клініці нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону з 2000 р. до березня 2014 р.

Об'єкт і методи дослідження

Нами було проведено аналіз результатів лікування пацієнтів з гострими порушеннями мозкового кровообігу, котрі в результаті термінальних станів перенесли реанімаційні втручання, та перебували на стаціонарному лікуванні в клініці нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону з 2000 р. до березня 2014 р.

У дослідження було включено 36 пацієнтів з ПРХ, котрі перенесли гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК) та знаходились на стаціонарному лікуванні в неврологічному відділенні з 2000 року до 2007 року, та з 2007 року до березня 2014 року в ангіоневрологічному відділенні клініки нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного

центру (ВМКЦ) Південного регіону (ПР) у м. Одесі. Вік пацієнтів від 31 до 70 років, серед них було 28 (77,8 %) чоловіків та 8 (22,2 %) жінок. Число чоловіків дещо переважало число жінок за рахунок специфіки відомчого лікувального закладу. Всім 36-и пацієнтам проводився комплекс реанімаційних заходів, котрі були ефективними.

Результати дослідження та їх обговорення

Клінічне обстеження пацієнтів при реанімаційних заходах завжди надає основний фактичний матеріал про можливі структурні зміни при ГПМК та супутніх захворюваннях, за цього детально описуються знайдені зміни, та проводяться зіставлення з попередніми спостереженнями. В подальшому проводиться систематизація цих даних. З допомогою клінічного обстеження встановлюються причини погіршення стану пацієнтів, особливості перебігу ГПМК в кожному конкретному випадку, розробляється точна тактика та стратегія курації даного пацієнта, виявляється ефективність застосування тих чи інших нових медикаментозних засобів тощо. «Золота година реанімації» дозволяє швидко та правильно визначити пріоритети курації пацієнта з невідкладною неврологічною та поліорганною патологією, коректність та необхідний час для різних ургентних обстежень, котрі потребує клінічний перебіг ГПМК та стан пацієнта. В термінальному стані в першу чергу стан пацієнта оцінюється по шкалі Глазго (оцінюються тільки найкращі дані по кожному з трьох параметрів; шкала Глазго цінна тим, що наявність вогнищового неврологічного дефіциту не впливає на оцінку важкості ураження ГМ); звертається увага на рефлекторну сферу пацієнта, котрому проводяться реанімаційні заходи. Післяреанімаційна енцефалопатія (ПРЕ) є найбільш розповсюдженим варіантом перебігу післяреанімаційної хвороби (ПРХ) та проявляється тим чи іншим чином у всіх пацієнтів, котрі перенесли клінічну смерть (КС) [20, 21, 22]. Розпов-

судженість ПРЕ обумовлена, очевидно, складністю морфологічної структури головного мозку, виконуваних ним функцій, а також малою толерантністю до ішемії та гіпоксії. мала толерантність нейронів є відносною та обумовлена рядом чинників, серед котрих провідним є тривалість ішемії головного мозку до зупинки кровообігу, за цього початок ішемії ГМ не завжди можна чітко визначити. Причинами формування ПРЕ є: активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та вільнорадикального окислення, викликані ішемією, гіпоксією та реоксигінацією; порушенням метаболізму білків; активацією процесів протеолізу; порушенням проникності клітинних мембран; блокадою активності цитоплазматичних ферментів; активацією ферментних систем; поєднаними з реакціями синаптичної передачі в тканини мозку [23, 24, 25]. Централізація кровообігу, котра розвивається при термінальних станах, з часом призводить до значних метаболічних порушень в ішемізованих органах. Ці порушення багато в чому визначають виразність різноманітних ускладнень післяасистолічного періоду. На час початку надання реанімаційних заходів для наших пацієнтів оцінка рівня свідомості пацієнтів по шкалі Глазго була наступною: 3 бали по шкалі Глазго було відмічено нами у 7 (19,4 %) пацієнтів; 4 бали — у 11 (30,6 %) пацієнтів; 5 балів — у 12 (33,3 %) пацієнтів; 6 балів — у 6 (16,7 %) пацієнтів. В критичному стані у 35 (97,2 %) пацієнтів відкривання очей ми не відмічали; один (2,8 %) пацієнт відкривав очі у відповідь на больові подразники. Зіниці були розширені двобічно у 12 (33,3 %) пацієнтів; зіниці середньої величини двобічно відмічені нами у 17 (47,2 %) пацієнтів; у 7 (19,4 %) хворих відмічено анізокорію: серед них більша за розмірами ліва зіниця була відмічена нами у 5 (13,9 %) обстежуваних, а права — у 2 (5,5 %). Відсутність фотореакцій була відмічена нами у 3 (8,3 %) пацієнтів; різке ослаблення фотореакцій відмічено було нами у 28 хворих (77,8 %); у 5 (13,9 %) фотореакції були збережені. Відсутній

рогівковий рефлекс був зафіксований нами у 4 (11,1 %) пацієнтів, зниження рогівкового рефлексу з обох боків відмічено нами у 21 (58,3 %) обстежуваного; у 6 (16,7 %) хворих рогівковий рефлекс був збережений, у 5 (13,9 %) досліджуваних рогівковий рефлекс зліва був відсутній. Окуло-вестибулярний рефлекс був відсутній (негативна проба «лялькових очей») у 8 (22,2 %) пацієнтів; у 28 (77,8 %) хворих окуло-вестибулярний, окуло-кардіальний та окуло-цефалічний рефлекси збережені. Глотковий рефлекс, кашльовий та дихальні рефлекси були відсутні у 6 (16,7 %) пацієнтів, у 30 (83,3 %) вони були значно пригнічені. У 12 (33,3 %) пацієнтів була відмічена арефлексія, значне зниження сухожилкових та періостальних рефлексів відмічено нами у 24 (66,7 %) хворих: з них анізорефлексія відмічена нами у 7 (19,4 %) хворих. Рефлекси спінального автоматизму відмічені нами у 9 (25 %) пацієнтів; децеребраційна ригідність відмічена нами у 6 (16,7 %) хворих, а у 4 (11,1 %) відмічено декортикаційну ригідність. Рефлекторні патологічні реакції ми виявили у 14 (38,9 %) пацієнтів; гіпертонус в усіх кінцівках відмічений був в 9 (25 %) хворих у 8 (22,2 %) відмічений гіпертонус в правих кінцівках; у 5 (13,9 %) обстежуваних — тонус м'язів підвищений в лівих кінцівках; у 14 (38,9 %) відмічено субтотальну та тотальну м'язову дистонію. Хоботковий рефлекс відмічений нами у 5 (13,9 %); нижньощелепний — у 4 (11,1 %); червні відрухи — у 3 (8,3 %) обстежуваних; підшвові — у 7 (19,4 %); симптом Бабінського двобічно у 6 (16,7 %) хворих; у 8 пацієнтів (22,2 %) — симптом Бабінського справа; у 5 (13,9 %) — симптом Бабінського зліва. Всі 36 пацієнтів були заінтубовані, всім проводилась апаратна штучна вентиляція легень. Ішемія, гіпоксія та виснаження резервів глікози викликають активацію глікогенолізу та прискорюють виснаження окислених форм нуклеїнових кислот, що за умов відсутності кисню призводить до зупинки продукції аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) циклом Креб-

са. Подальша продукція енергії відбувається за рахунок анаеробного гліколізу, котрий супроводжується, з одного боку, різким зниженням кількості похідних макроергічних з'єднань, а з другого — накопиченням в тканинах молочної кислоти [26, 27]. З метою патогенетично обумовленого лікування та захисту головного мозку і серцево-судинної системи, до комплексного лікування даної категорії пацієнтів ми включали такий препарат, як неотон [28], котрий зупиняв або сповільнював, на нашу думку, ішемічні та гіпоксичні патофізіологічні ураження паренхіматозних органів пацієнтів під час ГПМК та ПРХ, зупиняючи зниження продукції макроергічних з'єднань, а відтак зупиняв порушення функціонування всіх енергозалежних процесів, перш за все — трансмембранного переносу та синтезу нейромедіаторів, що в свою чергу призводило до порушення синаптичної передачі [28, 29]. Другим важливим енергозалежним процесом, котрий порушується в період ішемії, є підтримка цілісності мембран клітин та їх органел. За цього розрушення ліпідів мембран супроводжується накопиченням арахідонової кислоти, виходом в цитоплазму протеолітичних ферментів, котрі прискорюють розрушення клітин [30]. З метою нормалізації стану пацієнтів в даному випадку ми використовували інгібітори протеолітичних ферментів (контрикал, трасилол, гордокс). На протязі першої доби після проведених ефективних реанімаційних заходів померло 3 (8,3 %) пацієнтів; на протязі другої доби померло 4 (11, 1 %) хворих; на протязі третьої доби — 1 (2,8 %) хворий; на протязі четвертої доби ніхто з пацієнтів не помер. Таким чином, при СМ зіниці, як правило (за нашими спостереженнями), були розширені, але можуть бути і середньої величини. Важливими ознаками СМ є відсутність фотореакцій, рогівкового рефлексу та вестибуло-окулярних рефлексів. Неблагоприємними ознаками у пацієнтів з ПРХ були також відсутність глоткового, кашльового та дихального рефлексу. Арефлексію та гіпотонію також

слід віднести до небажаних прогностичних ознак ПРХ. Наявність рефлекторних реакцій та тону м'язів (за виключенням лицевих) не протирічить СМ. Спонтанні рухи інколи виникають і після смерті мозку, однак вони не бувають цілеспрямованими або достатньо складними — частіше всього спостерігаються прості хаотичні посмикування кінцівок. Наявність хоботкового, нижньощелепного, черевних, підшовових рефлексів та патологічних ступневих відрухів не служить доказом життєздатності головного мозку. З відновленням кровообігу процес ушкодження клітин не закінчується. Поступлення в тканини кисню, поряд з відновленням аеробного метаболізму, викликає окислення накопиченої арахідонової кислоти (по ліпо- і циклооксигеназному шляху) з утворенням біологічно активних речовин, котрі знижують мозкову мікроциркуляцію та частково володіють властивостями вільних радикалів [31]. Відновлення кровообігу супроводжується інтенсивним поступленням в системний кровообіг продуктів анаеробного метаболізму та токсинів, за цього їх концентрація в органах, котрі виключились з кровообігу останніми, не знижується, а зростає. Це, в свою чергу, викликає нову хвилю деструкції мембран органел та ушкодження клітин [32]. Таким чином, тривало збережену в післяреанімаційний період ішемію, гіпоксію та пов'язані з ними реперфузійні порушення слід вважати основними чинниками патогенезу, як термінальних станів загалом, так і ПРХ зокрема [33]. На думку [34] ступінь важкості ПРЕ залежить від виразності процесів ліпідної пероксидації, концентрації в крові серотоніну та гістаміну, ступеня змін проникності клітинних та судинних мембран. В той же час неврологічний статус та динаміка його змін визначається станом мозкової мікроциркуляції [35]. В післяішемічному періоді П. Сафар [36] описує чотири стадії порушення мозкового кровообігу:

- багатоговищеве «невідновлення кровообігу»;

- глобальна гіперперфузія;
- відстрочена та тривала гіперперфузія;
- стадія нормалізації або погіршення.

Важкість ПРЕ та ПРХ визначається також характером основного захворювання, тривалістю періоду агонії та не ефективності кровообігу, швидкістю відновлення ефективної мозкової перфузії [37]. Під час розтину ми отримуємо уявлення про найбільш цікаві для лікаря початкові морфологічні прояви ГПМК, час їх виникнення, також ми маємо можливість при розтині звертати увагу на зміни в інших органах та системах, котрі здаються не враженими патологічним процесом, які прижиттєво не завжди можна розпізнати [4, 9]. Найчастіше при розтинах ми визначали інфаркт. **Інфаркт** (від лат. *Infarcire* — нафарширувати, набивати) – вогнище некрозу, котре виникає в результаті припинення кровопостачання, тобто ішемії. Тому інфаркт називають також судинним або ішемічним інсультом (некрозом). По суті інфаркт мозку — це наслідок та крайній вияв ішемії. Інфаркт мозку (ІМ), як правило мав неправильну форму, тому що в мозку має місце не магістральний, а розсипний або змішаний тип розміщення артерій. Ішемічний інсульт (ІІ) може захоплював всю або більшу частину півкулі головного мозку [4, 9]. В головному мозку частіше нами був зафіксований ішемічний інсульт (інфаркт), котрий швидко розм'якшується («осередок білого розм'якшення головного мозку»). Якщо ішемічний інсульт утворювався на фоні значних розладів кровообігу, венозного застою, то осередок ішемічного омертвіння головного мозку пропотіває кров'ю та стає червоним («осередок червоного розм'якшення головного мозку»). Локалізувалися, як правило, в підкіркових вузлах, та розрушували провідні шляхи мозку, що за життя проявлялося плегіями. Інфаркт головного мозку частіше всього зустрічався на фоні церебрального атеросклерозу та гіпертонічної хвороби [4, 9]. Аналіз отриманих результатів засвідчив, що госпітальна летальність у

пацієнтів з ГПМК, котрі знаходились на стаціонарному лікуванні в клініці нейрохірургії та неврології ВМКЦ ПР, була відмічена нами самою високою на протязі першої та другої доби [9] після поступлення. Вона обумовлена тим, що пацієнти долали значні відстані добираючись до ангіоневрологічного відділення ВМКЦ ПР (від 150 км до 600 км) в основному на приватному або на необладнаному медичному транспорті [9]. Таким чином, в патогенезі ПРХ та ПРЕ слід виділити наступні основні ланцюжки (за порядком їх розвитку — від початку термінального стану до найближчого післяреанімаційного періоду):

- централізація кровообігу, котра спочатку ГПМК та ПРХ є адаптаційним, а в послідуєчому — патогенетичним процесом;
- порушення мозкового кровообігу з розвитком гіпоксії тканин;
- переключення метаболізму на анаеробний шлях з накопиченням кислих продуктів;
- порушення функціонування іонних насосів, накопичення кальцію в цитоплазмі клітин [34, 35, 36, 37].
- Активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та пригнічення антиоксидантної системи;
- порушення реологічних та кисневотранспортних властивостей еритроцитів, активація процесів гіперкоагуляції;
- збереження та посилення активності процесів ПОЛ та вільнорадикального ушкодження клітин в найближчий післяреанімаційний період;
- порушення проникності та цілісності клітинних та судинних мембран;
- поступлення з тканин в кров кислих продуктів метаболізму та цитоплазматичних ферментів при відновленні кровотоку та збільшенні їх концентрації в ГМ [31, 32, 33].

Вищевказані патофізіологічні процеси призводять до розвитку вторинних

порушень мікроциркуляції, пов'язаних з продукцією біологічно активних речовин в результаті окислення арахідонової кислоти, а відтак до масивного прогресуючого некрозу нейронів, внаслідок тривалої гіпоксії та ішемії; в послідовному до набряку та набубнявіння ГМ і біологічної смерті [9, 31, 32, 33, 36, 37].

В пацієнтів, котрі загинули на протязі першої — третьої доби 8 (22,2 %) стаціонарного лікування визначалися виразні ознаки набряку та набубнявіння головного мозку (ННГМ), частіше зустрічалися крововиливи в головний мозок, як дрібні діapedезні, так і обширні гематоми, рідше були зафіксовані ішемічні інфаркти (ішемічний інсульт). Виникненню обширних крововиливів передували спазм артеріол, плазматичне пропитування їх стінок, зміни тонуусу капілярів, поява дрібних периваскулярних геморагій. Ці розлади кровообігу, як правило, виникали після гіпертонічного кризу, котрий передував виникненню ГПМК. Інколи цей процес припинявся, залишаючи лише сліди у вигляді периваскулярних відкладень гемосидерину. За ішемічних виразних ГПМК ми відмічали масивні півкулеві та масивні ураження кори, продовгуватого мозку (соматичних та вегетативних ядер): у вигляді виразних дистрофій та некрозів паренхіматозних нервових клітин з проліферацією в осередках спустошення нервових клітин, гліальних елементів [9].

Після чого різке підвищення госпітальної летальності (ГЛ) відмічено на 5-у та 6-у доби стаціонарного лікування: 2 (5,55 %) та 3 (8,33 %), відповідно. На нашу думку, якраз в цей період наступає трансформація ішемічного інсульту в геморагічний, що підтверджено патоморфологічними дослідженнями. За патологоанатомічного дослідження тіл пацієнтів, котрі померли на протязі 5-6 доби стаціонарного лікування ми відмічали попередні зміни; та трансформацію обширних ішемічних інсультів в геморагічні. А також звертало на себе увагу збільшення розмірів крововиливів, роз-

міри їх були різноманітними: інколи вони захоплювали всю масу підкіркових вузлів, відмічався прорив крові в бокові шлуночки, третій та четвертий шлуночки; інколи відмічалась гемотампонада четвертого шлуночка, відмічалось просочування крові в субарахноїдальний простір та в ділянку основи мозку. Інсульти з проривом крові в шлуночки головного мозку ще зовсім недавно закінчувалися майже 100 % летально. На протязі останніх 12 років в нашому лікувальному закладі ми знизили летальність при внутрішньошлуночкових крововиливах до 33-50 % [9].

Відсутність летальності спостерігалася на протязі 7-ї 9-ї доби стаціонарного лікування. Швидкість та об'єм відновлення функцій ЦНС сильно відрізнялися в пацієнтів з ПРЕ після перенесених ГПМК, що пов'язано, очевидно, з великим розмаїттям функцій, які вона виконує та схильністю її морфологічної організації, в результаті чого враження одного нейрону викликає виключення функції великого гурту синаптично з ним сполучених нейронів. Все розмаїття варіантів відновлення функцій нервової системи умовно ми розділяли на п'ять основних типів за Гурвич А.М. [38]:

- повне відновлення:
- швидке (на протязі доби) у 1 пацієнта (2,8 %);
- сповільнене (на протязі 2-3 діб з повною нормалізацією через декілька діб) у 3 (8,33 %) хворих;
- Перерване у 2 пацієнтів (5,55 %);
- Відновлення з наявністю дефекта, котрий не потребує повсякденного догляду та обслуговування у 4-х (11,1 %) пацієнтів;
- Часткове відновлення з наявністю дефекта, котрий виключає самостійне обслуговування у 6 хворих (16,7 %);
- Часткове покращення без виходу з коми у 6 (16,7 %) пацієнтів.

Один пацієнт помер на десяту добу (2,8 %) після проводимих реанімаційних

заходів, в цей період перебіг ГПМК ускладнювався виникненням інфаркту міокарда. В подальшому летальних випадків не спостерігалось. Виділяють наступні періоди і стадії відновлення нервової системи при виході з коми по Алексеевой Г.В. [39]. В гострому періоді превають діенцефало-мезенцефальні розлади: стадія небезпечної для життя коми – у 8-х (22,2 %) пацієнтів; стадія стабілізації вегетативних функцій відмічалась нами у 15 (41,7 %) хворих. В підгострому періоді, окрім синдромів подразнення з'являються та починають превалювати симптоми випадіння: апалічний у 7 (19,44 %) пацієнтів; акінетичний мутизм у 8 (22,2 %) хворих; стадія грубих психічних розладів у 11 (30,55 %) пацієнтів; стадія вербального контакту у 17 (47,2 %) пацієнтів; стадія відновлення пацієнта, як особистості у 12 (33,33 %) хворих. Ми виділили п'ять клінічних показників, за котрими на третю добу після зупинки кровообігу є можливість прогнозувати вірогідність летального виходу на протязі раннього відновного періоду:

- Ненормальна відповідь стовбура головного мозку;
- Відсутність вербальної відповіді;
- Відсутність посмикування руки у відповідь на больове подразнення;
- Підвищення рівня креатиніну до 130,0 ммоль /л і вище;
- Вік понад 70 років.

За наявності 4-5 ознак вірогідність летального закінчення на протязі найближчих 2-х місяців складала 97 %. За наявності 1-ї та 3-ї ознак вірогідність летального виходу на протязі найближчих 2-х місяців складала 96 %. Похилий вік, хоч і являється чинником збільшення смертності в післяреанімаційному періоді, однак не є самостійним фактором, котрий прогнозує незадовільний неврологічний дефіцит.

Враховуючи патофізіологічні механізми формування ПРХ та ПРЕ на фоні ГПМК ми проводили патогенетично обумовлену терапію (ПОТ), котра включала

блоки інтрацеребрального та екстрацеребрального впливу. До **інтрацеребрального лікувального впливу (ІЦЛВ)** ми відносили наступні заходи:

- Створення обмежувального гальмування мозку, зниження енергетичної потреби мозку та захист від вторинної гіпоксії.
- Відновлення функції клітинних та судинних мембран:
 - зменшення проникності клітинних та судинних мембран;
 - зниження активності каллікреїн-кінінової системи і трипсинемії;
 - зменшення ферментемії;
 - зниження інтенсивності ПОЛ.
- Відновлення мозкового кровообігу:
 - відновлення мікроциркуляції в судинах головного мозку;
 - покращення венозного відтоку з порожнини черепа;
 - боротьба з набряком ГМ;
 - відновлення об'ємної швидкості мозкового кровообігу.
- Боротьба з амоніємією.
- Відновлення метаболізму нервових клітин.
- Гіпербарична оксигенація (ГБО) — не раніше ніж через три тижні після заступлення клінічної смерті (КС).

До **екстрацеребрального лікувального впливу (ЕЦЛВ)** ми відносили наступні заходи:

- Корекція порушень центральної гемодинаміки та гіповолемії.
- Нормалізація функцій дихання. Лікування респіраторного дистресс-синдрому.
- Корекція порушень водно-електролітного балансу (ВЕБ) та кислотно-лужної рівноваги (КЛР).
- Дезінтоксикаційна терапія (ДТ).
- Профілактика та лікування печінкової та ниркової недостатності.
- Корекція порушень системи гемокоагуляції.

- Корекція порушень імунної реактивності.
- Профілактика та лікування гнійно-септичних ускладнень (ГСУ).
- Ентеральне та парентеральне харчування.

Також ми застосовували комплекс лікувально-профілактичних заходів (КЛПЗ), спрямований на відновлення та подальше підтримання діяльності ЦНС, котрий включав застосування: засобів, що знижували енергетичну потребу ГМ; антиоксидантів; прямих антигіпоксантів; антиагрегантів; ноотропних засобів; засобів нейромедіаторного та нейрорецепторного впливу; вітамінів; магніто-лазерної терапії (МЛТ), ГБО. Цей КЛПЗ включав також обмежувальний та обмежувально-тренувальний режим (ОТР), санаторно-курортне лікування (СКЛ) та систематичний неврологічний контроль (СНК). Повністю логічною є та гіпотеза, що терапія ПРХ та ПРЕ на фоні ГПМК всіх п'яти типів на перших етапах повинна бути загальною, а вже потім, по мірі уточнення типу, або по мірі відновлення функцій НС, повинна орієнтуватися на перебіг захворювання по конкретному типу. З метою реалізації цього положення ми виділили три гурти пацієнтів:

- I-й гурт — пацієнти з неускладненим відновленням функцій нервової системи та порушенням свідомості на протязі 3-4 годин (7 пацієнтів – 19,4 %);
- II-й гурт – хворі з ускладненим відновленням функцій НС та порушенням свідомості на протязі 3-4 годин, але за цього загально-мозкова симптоматика (ЗМС) супроводжувалася верхньо-стовбуровою транзиторного характеру (13 пацієнтів — 36,1 %);
- III-й гурт – пацієнти із затриманим відновленням функцій нервової системи, в котрих свідомість відновлювалася через 24 години і більше (16 пацієнтів – 44,5 %).

Відповідно до вищевказаного, па-

тогенетично обумовлена терапія (ПОТ) була нами розділена на блоки, у відповідності до виділених гуртів пацієнтів та до періоду відновлення.

ПОТ на протязі перших трьох годин після реанімаційного періоду (ПРП) була наступною:

- Антиоксиданти (токоферол);
- Засоби, що знижують енергетичну потребу головного мозку (ЕПГМ);
- Антиагреганти (еуфілін + нікотинова кислота на ізотонічному розчині натрію хлориду в дозі 300 мл внутрішньовенно крапельно, компламін, кавінтон, вінпоцетін, трентал, пентоксифілін);
- Мембраностабілізатори (кортикостероїди).

ПОТ пацієнтів віднесених нами до I-го гурту (неускладнений перебіг):

- Засоби, що знижують ЕПГМ (натрію оксидутират);
- Антиоксиданти (токоферол);
- Прямі антигіпоксанти (цитохром С, цитофлавін, актовегін);
- Антиагреганти (еуфілін, нікотинова кислота, компламін, кавінтон, вінпоцетін, трентал, пентоксифілін);
- Засоби, що покращують метаболізм (неотон, аміналон, глютамінова кислота, пірацетам);
- Вітаміни групи В, аскорбінова кислота.
- ГБО — курс 10-14 сеансів; не раніше чим через три тижні після наступлення термінального стану (у пацієнтів з астеничною формою).
- Магніто-лазерна терапія (МЛТ) — курс 10 сеансів; не раніше чим через тиждень після наступлення термінального стану.
- Санаторно – курортне лікування (СКЛ) не раніше чим через два місяці після наступлення термінального стану в санаторіях місцевих кліматичних зон, за умови схильності пацієнта до повного самообслуговування.

ПОТ пацієнтів віднесених нами до II-го гурту (ускладнений перебіг):

- Засоби, що знижують ЕПГМ (ми призначали в середньому на протязі 5-и діб);
- Антиоксиданти (токоферол; доза в 3-и рази вища, ніж при лікуванні пацієнтів першого гурту);
- Прямі антигіпоксанти (цитохром С, цитофлавін, актовегін);
- Антиагреганти (еуфілін, нікотинова кислота, компламін, кавінтон, вінпоцетін, трентал, пентоксифілін);
- Засоби, що покращують метаболізм (неотон, аміналон, глютамінова кислота, пірацетам);
- Вітаміни групи В, аскорбінова кислота.
- ГБО — курс 10-14 сеансів; не раніше чим через три тижні після наступлення термінального стану (у пацієнтів з астеничною формою).
- Магніто-лазерна терапія (МЛТ) — курс 10 сеансів; не раніше чим через тиждень після наступлення термінального стану.
- Дофамінові засоби (наком); за різної астенії з 3-ї доби на протязі 7-и діб.

ПОТ пацієнтів віднесених нами до III-го гурту (ускладнений перебіг, із затримкою відновлення свідомості) в гострий період:

- Засоби, що знижують ЕПГМ (в поєднанні з опіоїдами, енкефалінами, пропופолом);
- Антиоксиданти (токоферол; доза в 4-и рази вища, ніж при лікуванні пацієнтів першого гурту);
- Прямі антигіпоксанти (цитохром С, цитофлавін, актовегін);
- Антиагреганти (еуфілін, нікотинова кислота, компламін, кавінтон, вінпоцетін, трентал, пентоксифілін);
- Метилпреднізолон;
- Блокатори кальцієвих каналів;
- Бета — блокатори (індерал);

- Альфа – блокатори (серміон);
- Засоби, що покращують метаболізм (неотон, аміналон, глютамінова кислота, пірацетам);
- Вітаміни групи В, аскорбінова кислота.

ПОТ пацієнтів віднесених нами до III-го гурту (ускладнений перебіг, із затримкою відновлення свідомості) в період стабілізації вегетативних функцій (не раніше ніж через 3-и доби):

- Зменшення введення засобів, котрі зменшують метаболізм ГМ;
- Засоби метаболічної дії (в першій половині доби):
 - антигіпоксанти (цитохром С, цитофлавін, актовегін);
 - засоби ноотропної дії (цитіколін, церебролізин, пірацетам).
- Антигіпоксанти, дезагреганти;
- Мембраностабілізатори та бета-блокатори за показами.

ПОТ пацієнтів віднесених нами до III-го гурту (ускладнений перебіг, із затримкою відновлення свідомості) в підгострий період:

- За відсутності симптомів подразнення припиняють введення засобів, котрі знижують ЕПГМ;
- Засоби, які посилюють метаболізм:
 - цитіколін, церебролізин, пірацетам, курсова терапія;
 - креатинфосфат (під контролем електроенцефалограми);
 - інстенон (за відсутності протипоказів);
 - ПК-мерц, дофамінові засоби (у пацієнтів, котрі тривалий час перебувають в коматозному стані, з гіпокінезією та низьким тонусом м'язів).
- Антигіпоксанти, дезагреганти;
- Мембраностабілізатори та бета-блокатори за показами.
- Протисклеротична терапія (ліпос-табіл).
- Вітамінотерапія.

- Магніто-лазерна терапія (МЛТ) за багаторівневою методикою.
- Ерго- та кінетикотерапія.

ПОТ пацієнтів віднесених нами до III-го гурту (ускладнений перебіг, із затримкою відновлення свідомості) в період віддалених наслідків:

- Симптоматична терапія (СТ).
- Загальноукріплююча терапія (вітаміни, розсмоктуюча терапія, креатинфосфат, АТФ).
- Антигіпоксанти, дезагреганти.
- Протисклеротична терапія (токоферолу ацетат, ліпостабіл, місклерон).
- Ноотропні засоби (ноотропіл, церебролізін, енцефабол, редергін).
- Магніто-лазерна терапія (МЛТ) — курс 10 сеансів; за багаторівневою методикою.
- Ерго- та кінетикотерапія, ЛФК, масаж.
- Повторний ГБО — курс 10-14 сеансів; не раніше чим через три тижні.
- Санаторно-курортне лікування.

Таким чином, ми провели аналіз лікування 36 пацієнтів з гострими порушеннями мозкового кровообігу, котрі в результаті термінальних станів перенесли реанімаційні втручання, та перебували на стаціонарному лікуванні в клініці нейрохірургії та неврології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону з 2000 р. до березня 2014 р. Сумарна госпітальна летальність серед цієї категорії пацієнтів складала — 14 (38,9 %) випадків. 22 (61,1 %) пацієнти виписалися після проведеного стаціонарного лікування в умовах ВМКЦ ПР у відносно задовільному стані, з тим чи іншим рівнем неврологічного дефіциту. Встановлено характерні особливості перебігу гострих порушень мозкового кровообігу, у пацієнтів з післяреанімаційною хворобою, при застосуванні патогенетично обґрунтованої терапії. Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні механізмів розвитку гострих порушень мозкового кровообігу, у зістав-

ленні патоморфологічних особливостей з клінічними проявами інсульту та можливістю попередження вітальних порушень.

Висновки

Таким чином, надання спеціалізованої ангіоневрологічної допомоги хворим на інсульти має проводитися в ангіоневрологічних відділеннях, пацієнти мають доставлятися туди як найшвидше, бажано в межах “ терапевтичного вікна “. Для оптимізації надання допомоги хворим з ГПМК в Україні необхідно створити достатню мережу спеціалізованих інсультних відділень, оснащених апаратами КТ або МРТ, що працюють в цілодобовому режимі. Зокрема необхідно організувати чергову службу у відділенні комп’ютерної томографії ВМКЦ ПР, щоб забезпечити проведення КТГМ всім пацієнтам з ГПМК, котрі поступили на стаціонарне лікування у ВМКЦ ПР на протязі двох годин. Необхідно організувати цілодобові чергування мультидисциплінарної бригади з обов’язковою участю невролога, нейрохірурга, кардіолога, реабілітолога. Дозвіл на транспортування пацієнта з ГПМК має надавати кваліфікований ангіоневролог, який потім буде займатися лікуванням даного пацієнта, а не лікар-організатор. або представник адміністрації. Реалізація вказаних заходів призведе до зростання госпіталізації хворих на інсульти до спеціалізованого відділення, зниження лікарняної летальності, зменшення кількості хворих з глибокими неврологічними порушеннями, збільшення числа пацієнтів з мінімальними наслідками ГПМК, скорочення термінів перебування хворих в стаціонарі.

Література

1. Грэм Дж. Хэнки. Инсульт (ответы на Ваши вопросы). - Будапешт.- 2005.- 381 с.
2. Матеріали www.ukrstat.gov.ua
3. Скворцова В.И. Снижение заболеваемости, смертности и инвалидности от инсультов в Российской Федерации. М.: Литерра.- 2008.- 192 с.
4. Тещук В.Й., Мурзін В.М., Медвідь Н.А., Тещук Н.В. Гістологічна картина ура-

- жень головного мозку при гострих порушеннях мозкового кровообігу за ішемічним типом //Актуальні проблеми транспортної медицини.- 2011.- №3 (25).- С. 101-104.
5. Динаміка стану здоров'я народу України та регіональні особливості (Аналітико-статистичний посібник).- К.: 2012.- С. 146-151.
 6. Korein, J.,and Maccario,M. On the diagnosis of cerebral death: A prospective study on 55 patients to define irreversible coma. Clin.Electroencephalogr. 2: 178, 1971.
 7. Korein, J. (ed.). Brain death: Interrelated medical and social issues. Ann.N.Y. Acad. Sci. 315:1, 1978.
 8. Mohandas,A., and Chou, S.N. Brain death: A clinical and pathological study.J.Neurosurg.35:211,1971.
 9. Тещук В.Й., Тещук Н.В.. Патологоанатомічні особливості перебігу гострих порушень мозкового кровообігу // Актуальні проблеми транспортної медицини.- 2013.-№2(32).-С.144-148.
 10. Юридичний словник Блека
 11. Report of committee on irreversible coma and brain death. Trans. Am. Neurol. Assoc.102:192,1977.
 12. Report of the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. Deciding to Forego Life-Sustaining Treatment. Washington,D.C.: U.S. Government Printing Office,March 1983.
 13. Ad Hoc Committee of The American Encephalographic Society. Cerebral death and electroencephalogram: Report of the hoc committee of EEG criteria for determination of cerebral death J.A. M.A. 209: 1505, 1969.
 14. Black,P.M. Brain death. N. Engl.J. Med.299: 388, 1978.
 15. Bates, D., et al. A prospective study of nontraumatic coma: Methods and results in 310 patients. Ann. Neurol.2: 211,1977.
 16. Галушко О.А. Серцево-легенева реанімація — 2012//Внутрішня медицина.- №1.- 2012.- С.53-56
 17. Полищук Н.Е., Рассказов С.Ю. Принципы ведения больного в неотложной неврологии и нейрохирургии.- Киев, ИВЦ " Деловой контакт " и Независимое агенство научной медицинской информации, 1998.- С.6.
 18. Van Till, H. A. H. Diagnosis of death in comatose patients under resuscitation treatment: A critical review of the Harvard report Am. J. Law Med.2: 1, 1976.
 19. Starr, A. Auditory brainstem responses in brain death. Brain 99: 543, 1976.
 20. Пермяков Н.К. Патология реанимации и интенсивной терапии.- Медицина, Москва.- 1985.- 287с..
 21. Takeshita H., Tateishi A. A reliev brain resuscitation pathophysiology and possible therapies.// Intensive care world,2(6): 1989.- P.68-71.
 22. Струков А.И., Серов В.В., Саркисов Д.С.(ред.) // Общая патология человека: Руководство для врачей.- Медицина, Москва.- 1990.- Т.1, 2-е изд.-448с.
 23. Лиходий С.С. Мембранные фосфолипидные механизмы постреанимационных состояний // В кн.: Нарушения гомеостаза при экстремальных и терминальных состояниях.- Новосибирск.- 1981.- С. 5-12.
 24. Пылова С.И., АльбрехтЯ. Состояние мембранных систем ткани мозга в постреанимационном периоде // В кн.: Центральная нервная и постреанимационная патология организма (Тр. междунар. симпоз. ЦМТ).- Москва.- 1989.-С. 139-143.
 25. Черний В.И., Городник Г.А. Постреанимационная патология мозга.// В кн.: Актуальные проблемы острой церебральной недостаточности.- Дон.МИ.- Донецк.- 1995.- С.55-64.
 26. Неговский В.А. Неврологические аспекты реаниматологии. // В кн.: Центральная нервная и постреанимационная патология организма (Тр. междунар. симпоз. ЦМТ). - Москва.- 1989.-С. 11-18.
 27. Коттрел Дж. Е. Защита мозга. Анест.и реаним., — 1996.- №2.- С. 81-85.
 28. Тещук В.Й., Тещук В.В. Комплексне лікування ішемічних інсультів у поєднанні з серцево-судинною патологією // Вісник морської медицини.- 2013.- № 4 (61).- С. 53-58.
 29. Франсуа Ж., Кара М., Делёз Р., Пуавер М. Неотложная терапия, анестазия и реанимация. Краткий курс (пер. с фр.). Вища школа. К.: 1984.- 344с. \
 30. Черний В.И., Городник Г.А. Отёк — набухание головного мозга.// В кн.: Актуальные проблемы острой церебральной

- ной недостаточности.- Дон.МИ.- Донецк.- 1995.- С.9-18.
31. Siesjo B.K., Agardh C.D., Bengtsson F. Free radicals and brain damage. *Cerebrovascular and metabolism reviews.*, 1989.- №1: P. 165-211.
 32. Неговский В.А., Гурвич А.М. Постреанимационная болезнь — новая нозологическая единица. Реальность и значение. // В кн.: Экспериментальные, клинические и организационные проблемы общей реаниматологии (Сб. тр. К 60-летию Ин-та НИИОР РАМН).- Москва.- 1996.- С. 3-10.
 33. Золотокрылина Е.С. Вопросы патогенеза и лечения полиорганной недостаточности у больных с тяжёлой сочетанной травмой, массивной кровопотерей в раннем постреанимационном периоде // *Анест. и реаним.*- 1996.- №1.- С.9-13.
 34. Черний В.И., Ахламова Ю.И. Постреанимационная болезнь.// В кн.: Актуальные проблемы острой церебральной недостаточности.- Дон.МИ.- Донецк.- 1995.- С.37- 54.
 35. Классен Н.Н., Степанов С.С., Семченко В.В. Морфо-функциональные изменения коры большого мозга при асфиксии и в раннем восстановительном периоде // В кн.: Актуальные вопросы терминальных состояний (Сб. науч. тр.).- Омск.- 1985.- С. 23-26.
 36. Сафар П., Тишерман С.А., Лэчоу Р., Александер Г., Хеит С., Джонсон Д., Леонов Ю., Окью К., Стерз Ф., Стезоски С.В., Тарр Р., Вульхфсон С. Многоочаговая гиперперфузия мозга после остановки сердца и методы реанимации. // В кн.: Центральная нервная система и постреанимационная патология организма (Тр. междунар. симпоз. ЦМТ.- Москва.- 1989.- С. 79-91.
 37. Сых М. Реанимация. Смерть мозга. // В кн.: Курс лекций для последипломного обучения анестезиологов — реаниматологов. (Пер. с англ.).- Архангельск.- 1991.- С. 93-98.
 38. Гурвич А.М. О неврологическом обеспечении отделений реанимации общего профиля, отделений интенсивной терапии и кардиореанимации, НИИ ОР РАМН.- Москва.- 1996.- 19с.
 39. Алексеева Г. В. Клиника, профилактика и терапия постгипоксических энцефалопатий (рекомендации) //НИИ ОР РАМН.- Москва.- 1996.- 39 с..

References

1. J. Graham. Hankey. Stroke (answers to your questions). - Budapesht.- 2005.- 381 p.
2. Materials from www.ukrstat.gov.ua
3. Skvortsova V.I. Reduced morbidity, mortality and disability from stroke in the Russian Federation. M.: Literra.- 2008.- 192 p.
4. Teschuk V.I., Murzin V.N., Medvid' N.A., Teschuk N.V. Histological pattern of brain damage in severe violations of cerebral blood flow by ischemic type // *Actual Problems of Transport Medicine.* - 2011. - № 3 (25). - P. 101-104.
5. Dynamics of the health status of the people of Ukraine and regional features (Analytical and statistical manual). - K.: 2012. - P. 146-151.
6. Korein, J., and Maccario, M. On the diagnosis of cerebral death: A prospective study on 55 patients to define irreversible coma. *Clin. Electroencephalogr.* 2: 178, 1971.
7. Korein, J. (ed.). Brain death: Interrelated medical and social issues. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 315:1, 1978.
8. Mohandas, A., and Chou, S.N. Brain death: A clinical and pathological study. *J. Neurosurg.* 35:211, 1971.
9. Teshchuk V.I., Teshchuk N.V. Pathoanatomical of feature of stream of sharp violations of cerebral blood // *Actual Problems of Transport Medicine.* - 2013. - № 2 (32). - P. 144-148.
10. Black's Law Dictionary
11. Report of committee on irreversible coma and brain death. *Trans. Am. Neurol. Assoc.* 102:192, 1977.
12. Report of the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. Deciding to Forego Life-Sustaining Treatment. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, March 1983.
13. Ad Hoc Committee of The American Encephalographic Society. Cerebral death and electroencephalogram: Report of the hoc committee of EEG criteria for determination of cerebral death J.A. M.A. 209: 1505, 1969.
14. Black, P.M. Brain death. *N. Engl. J. Med.* 299: 388, 1978.

15. Bates, D., et al. A prospective study of nontraumatic coma: Methods and results in 310 patients. *Ann. Neurol.* 2: 211, 1977.
16. Galushko O.A. Cardiopulmonary resuscitation - 2012 // *Internal Medicine*. - № 1. - 2012. - P. 53-56
17. Polyschuk N.E., Rasskazov S.Y. Principles Doing a patient neotlozhnoy nevrolohiy and neyrohyrurhiy. - Kiev, YVTS "Delovoy contact" and Independent Agency nauchnoy medytsynskoy of information, 1998. - P. 6.
18. Van Till, H. A. H. Diagnosis of death in comatose patients under resuscitation treatment: A critical review of the Harvard report *Am. J. Law Med.* 2: 1, 1976.
19. Starr, A. Auditory brainstem responses in brain death. *Brain* 99: 543, 1976.
20. Permyakov N.K. Pathology of the intensive care unit. - *Medicine, Moscow*. - 1985 - 287 p.
21. Takeshita H., Tateishi A. A reliev brain resuscitation pathophysiology and possible therapies. // *Intensive care world*, 2(6): 1989.- P.68-71.
22. Strukov A.I., Serov V.V., Sarkisov D.S. (eds.) // *General human pathology: A Guide for Physicians*. - *Medicine, Moscow*. - 1990. - Volume 1, 2nd ed. - 448.
23. Likhodey S.S. Membrane phospholipid mechanisms postresuscitation states // In: *Violations of homeostasis under extreme and terminal-states*. - *Novosibirsk*. - 1981. - P. 5-12.
24. Pylova S.I., Albrecht Ya. Status of membrane systems in the brain tissue in streanimatsionnom period // In: *The central nervous and postresuscitation pathology organism (Proc. Intern. Symposium. ITC)*. - *Moscow*. - 1989. - P. 139-143.
25. Cherniy V.I., Gorodnik G.A. Postresuscitation brain pathology // In: *Actual problems of acute cerebral insufficiency*. - *Don. MI. - Donetsk*. - 1995. - P. 55-64.
26. Negovsky VA Neurological aspects of resuscitation. // In: *The central nervous system and organism postresuscitation pathology (Proc. Intern. Symposium. ITC)*. - *Moscow*. - 1989. - P. 11-18.
27. Cottrell J.E. The Brain Protecting. *Anesti. and Rean.*, - 1996. - № 2. - P. 81-85.
28. Teschuk V.I., Teschuk V.V. Integrated treatment of ischemic strokes combined with cardiovascular pathology // *Bulletin of Marine Medicine*. - 2013. - № 4 (61). - P. 53-58.
29. Jean Francois, Kara M. Deleuze, R., M. Puaver Emergency treatment, anesthesia and resuscitation. Short course (trans. From French.). *Vishcha shkola. K.*: 1984. - 344 p.
30. Cherniy V.I., Gorodnik G.A. Edema - swelling of the brain // In: *Actual problems of acute cerebral insufficiency*. - *Don. MI. - Donetsk*. - 1995. - P. 9-18.
31. Siesjo B.K., Agardh C.D., Bengtsson F. Free radicals and brain damage. *Cerebrovascular and metabolism reviews.*, 1989.- № 1: P. 165-211.
32. Negovsky VA Gurvich AM Postresuscitative disease - a new disease entities. The reality and meaning. // In: *Experimental, clinical and organizational problems of the general resuscitation (Proc. Proc. Of the 60th anniversary of the Institute of Medical Sciences PWRI)*. - *Moscow*. - 1996. - P. 3-10.
33. Zolotokrylina E.S. Pathogenesis and treatment of multiple organ failure in patients with severe combined trauma, massive blood loss in early postresuscitative // *Anesti. and Rean.* - 1996. - № 1. - pp. 9-13.
34. Cherniy V.I., Akhlamova Y.I. Postresuscitative disease. // In: *Actual problems of acute cerebral insufficiency*. - *Don. MI. - Donetsk*. - 1995. - pp. 37-54.
35. Klassen N.N., Stepanov S.S., Semchenko V.V. Morphological and functional changes in the cerebral cortex during asphyxia and early recovery period // In: *Topical issues of terminal states - Omsk*. - 1985. - pp. 23-26.
36. Safar P., Tisherman S.A., Lechou R., Alexander G., Kheii S., Johnson D., Leonov Yu., Okyu K., Sterz F., Stezoski S.V., Tarr R., Vullhfson P. Multifocal cerebral hyperperfusion after cardiac arrest and resuscitation techniques // In: *The central nervous system and organism postresuscitation pathology (Works of Intern. Symposium. ITC)*. - *Moscow*. - 1989. - pp. 79-91.
37. Sykh M. Resuscitation. Brain death // In: *Lectures for postgraduate training Anaesthetist. (Trans. from English.)*. - *Arkhangelsk*. - 1991. - pp. 93-98.

38. Gurvich A.M. The neurological intensive care units providing general care, ICU and CCU, OR RAMS Research Institute. - Moscow. - 1996. - 19 p.
39. Alekseeva G.V. The clinic, prevention and therapy posthypoxic encephalopathies (recommendations) // OR RAMS Research Institute. - Moscow. - 1996. - 39 p.

Резюме

ПОСТРЕАНИМАЦИОННАЯ БОЛЕЗНЬ У ПАЦИЕНТОВ, КОТОРЫЕ ПЕРЕНЕСЛИ ОСТРЫЕ НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Тещук В.И., Тещук В.В., Скочко С.П.

Военно-медицинский клинический центр Южного региона (г. Одесса), Киевская областная клиническая больница (г. Киев)

В работе представлен анализ лечения 36 пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения, которые в результате терминальных состояний перенесли реанимационное вмешательство и находились на стационарном лечении в клинике нейрохирургии и неврологии Военно-медицинского клинического центра Южного региона с 2000 г. до марта 2014 г. Установлено характерные особенности течения острых нарушений мозгового кровообращения, у пациентов с постреанимационной болезнью. Перспективы дальнейших исследований заключаются в изучении механизмов развития острых нарушений мозгового кровообращения, в сопоставлении патоморфологических особенностей с клиническими проявлениями инсульта и возможностью предупреждения витальных нарушений.

Ключевые слова: острое нарушения мозгового кровообращения, инсульт, смерть мозга, постреанимационная болезнь, вегетативное состояние.

Summary

POSTRESUSCITATIVE DISEASE IN PATIENTS WHO HAVE SUFFERED ACUTE-ON VIOLATIONS OF CEREBRAL CIRCULATION

Teschuk V.I., Teschuk V.V., Skochko S.P.

Military Medical Clinical Center of Southern region (Odessa), the Kiev Regional Clinical Hospital (Kiev)

The paper presents an analysis of treatment of 36 patients with acute ischemic stroke, which result in terminal states moved resuscitation and were hospitalized in the Clinic of Neurosurgery and Neurology of the Military Medical Clinical Center of the Southern region from 2000 to March 2014 established the characteristic features the flow of stroke in patients with postresuscitatorial disease. Prospects for future research is to study the mechanisms of the development of stroke, compared with the pathologic features of clinical manifestations of stroke and prevent the possibility of vital violations.

Keywords: acute cerebrovascular accident, stroke, brain death, postresuscitation disease, vegetative state.

*Впервые поступила в редакцию 08.07.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 578.832

MOLECULAR AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LOW-PATHOGENIC H9N2 INFLUENZA VIRUSES ISOLATED IN ISRAEL

Tendler Ye.^{1*}, Golender N.², Shkoda I.², Drabkin M.², Lapin K.², Panshin A.²

¹ Rambam Medical Center, P.O.B. 9602, Haifa 31096, Israel

² Division of Avian and Aquatic Diseases, Kimron Veterinary Institute, P.O. Box 12, Beit Dagan, 50250 Israel

*Corresponding author (ebormusova@gmail.com)

All Israeli H9N2-strain viruses used in the present study were subdivided among three groups: groups A and B viruses contained – in all eight segments – 90658/00-like and 1304/03-like sequences, respectively; Group C comprised viruses isolated in 2006-2010, which contained four 1304/03-like segments and four 1525/06-like segments. Molecular analysis revealed that most of the isolates had an RSSR motif at the cleavage site of haemagglutinin. Most of the viruses had an haemagglutinin with L216 typical of humans, and internal proteins associated with the avian host specificity. The studied viruses infected the majority of the directly inoculated birds.

Exposure to the virus with full-length PB1-F2 protein for 24 h caused destruction of mitochondria and cell death in cultures of human macrophages, and this effect was not associated with activation of protein p53. A virus with truncated PB1-F2 protein exhibited no destructive effect on mitochondria, but induced enhanced production of pro-apoptotic P53 protein.

Keywords: H9N2 virus; phylogenetic analysis; viral genes; virus replication; PB1-F2 protein; apoptosis

Introduction

Avian influenza A viruses of subtype H9N2 were first isolated and studied in the United States in 1966 [1]. Since then, H9N2 viruses have been isolated from wild birds and poultry in various countries of the Old and New Worlds [2-5]. Outbreaks of H9N2-virus-associated disease have been reported in many European, Asian, African, and American countries [5], but these viruses were found to be endemic in only two regions: China and the Middle East [6-13]. At least two main lineages – A/Duck/Hong Kong/Y280/97-like and A/Quail/Hong Kong/G1/97 – were established amongst H9N2 viruses isolated from domestic poultry birds in Asia [14].

Similarly to the two highly pathogenic viruses, subtypes H5N1 and H7, low-pathogenic viruses can cross the interspecies barrier and be directly

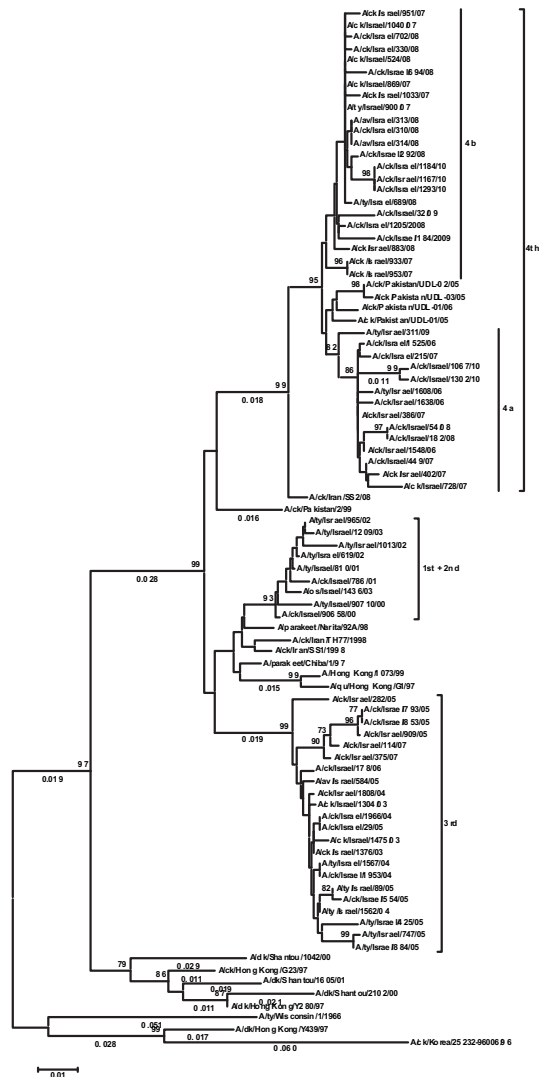
transmitted from birds to mammalian species, including pigs and humans [15-16]. In Israel, H9N2 virus was initially isolated in May 2000 and subsequently, after a 1.5-yr break, from December 2001 to mid-2003, this virus became the predominant avian influenza virus in the country [17]. In a previous study ([18] Golender *et al.*, 2008) we characterized the virus that circulated in Israel until 2006; the main objective of the present study was to conduct phylogenetic and biological characterization of H9N2 avian influenza viruses isolated in Israel during 2000-2010.

Materials and methods

Viruses

The isolation and identification methods used were based on classical laboratory methodology ([18] Golender *et al.*, 2008). Generally, samples were collected from suspect birds by taking

A (HA)



B (NA)

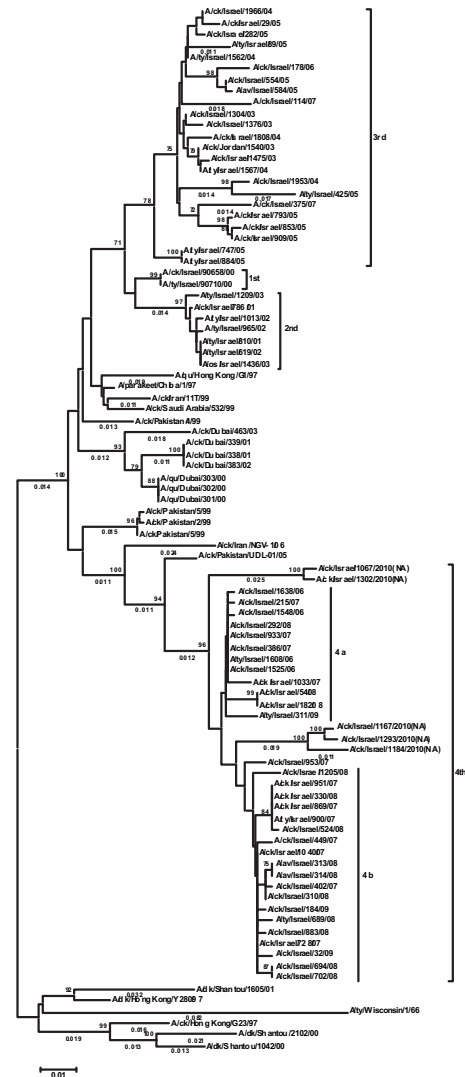


Fig. 1. Phylogenetic relationships of HA (A) and NA (B) genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and from those from other countries. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths.

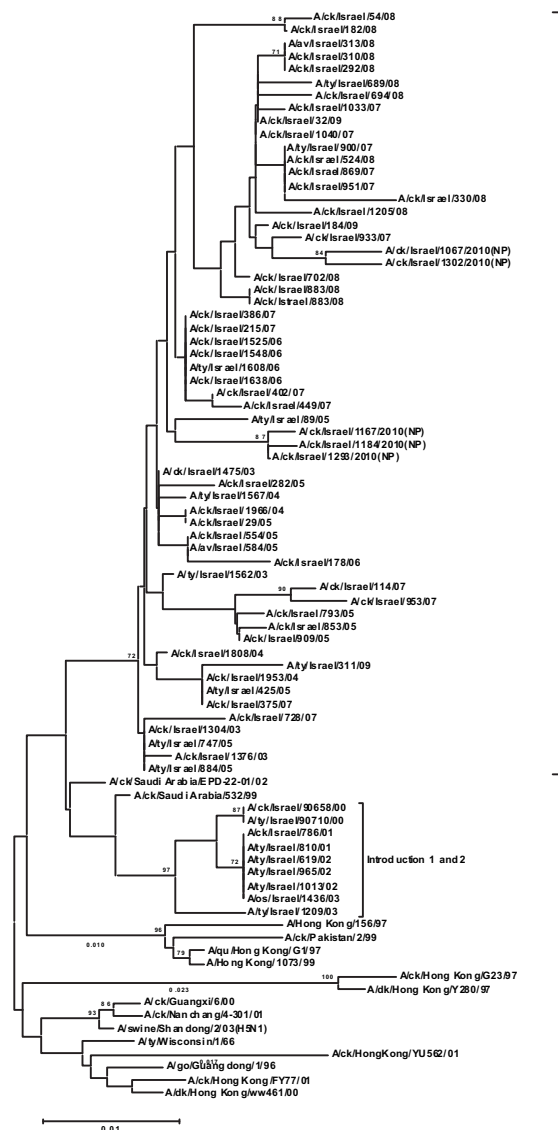
smears from the trachea. The isolates were propagated in specific-pathogen-free embryonated chicken eggs for 10 to 11 days by the allantoic route. A haemagglutination inhibition test with monospecific polyclonal antisera obtained from Dr. Capua of the Office International des Epizooties [OIE] (Food and Agriculture Organization of the United Nations), and the National Reference Laboratory for Newcastle Disease and Avian Influenza, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Italy, was used for serological identification of the avian influenza virus (AIV) isolates. Identification

was confirmed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT PCR) with two sets of primers for HA and NA subtypes, respectively [18]. The studies used sixty-eight H9N2 viruses selected from the Kimron Veterinary Institute's collection.

Genetic and sequence analysis

The viral RNA was extracted directly from the allantoic fluid with the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA). Purified genomic RNA was used to generate cDNA clones by RT-PCR, according to the standard procedure. The

A (NP)



B (M)



Fig. 2. Phylogenetic relationships between NP (A) and M (B) genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and from those from other countries. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths.

sets of primers that were used for the RT-PCR reaction and for the subsequent sequence analysis are available from the Avian Diseases Division of the Kimron Veterinary Institute. The PCR products were subjected to electrophoresis in agarose gel, and specific DNA was excised, purified with the MEGAquick-spin PCR and Agarose Gel Extraction System (iNtRON Biotechnology, Gyeonggi-do, Korea), and then sequenced at the Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel, by means of capillary electrophoresis with a Model 3700

DNA Analyzer (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA).

Phylogenetic analysis

All sequence data were compiled and edited by using the SeqManII from the DNASTAR System that used the Illumina, ABI SOLiD, and Helicos Data subsystems (454 Life Sciences, Banford, CT, USA). Nucleotide and deduced amino acid sequences were aligned by using the BioEdit Package, version 7 [19] with ClustalW [20]. Phylogenetic trees were

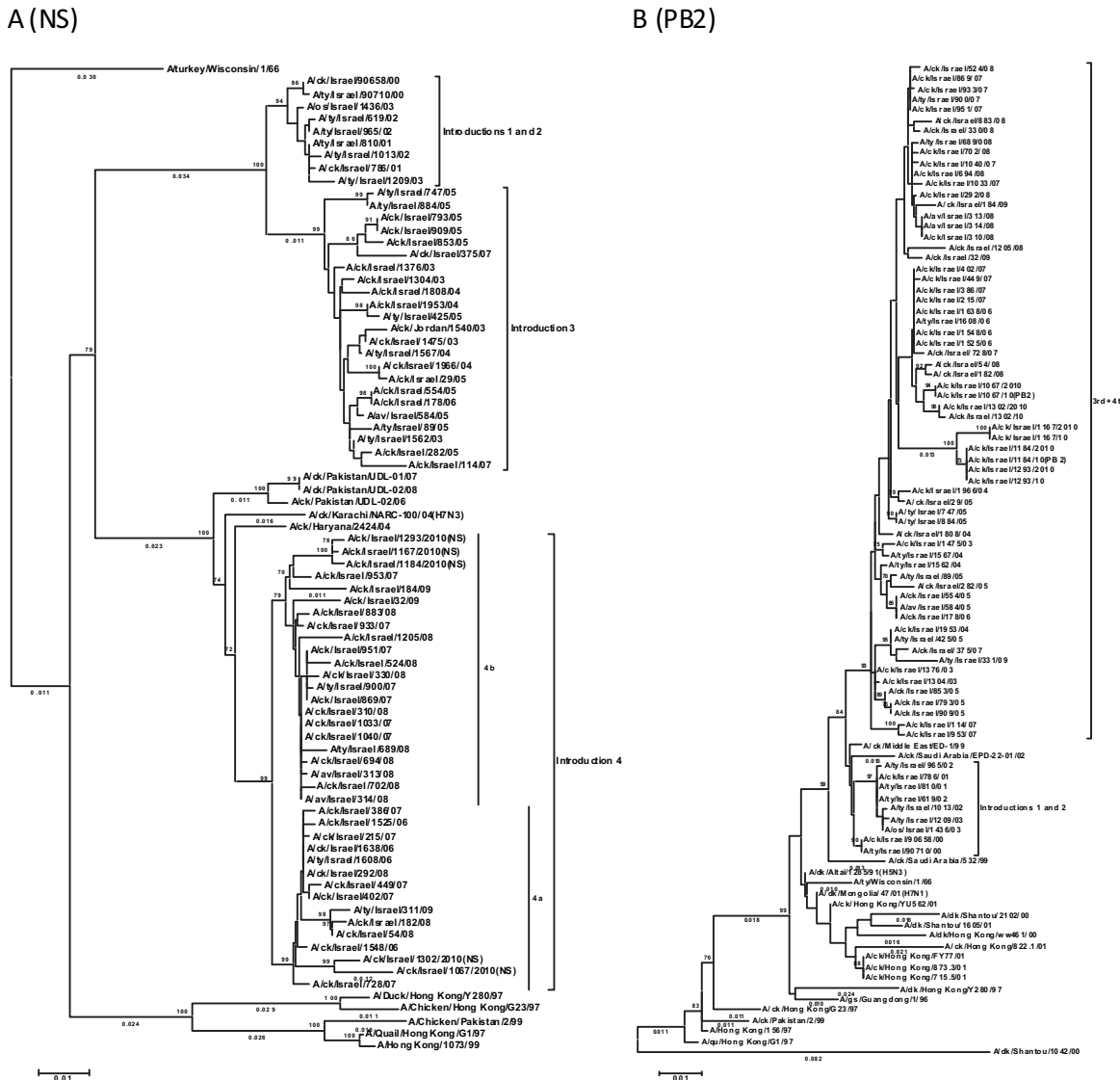


Fig. 3. Phylogenetic relationships between NS (A) and PB2 (B) genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and from those from other countries. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths.

generated by using the MEGA Software, version 5 [21]. The nucleotide regions used in phylogenetic analysis were of the following lengths: for the PB2 gene, 2277 nucleotides; for the PB1 gene, 2274 nucleotides; for the PA gene, 2151 nucleotides; for the HA gene, 1680 nucleotides; for the NP gene, 1494 nucleotides; for the NA gene, 1406 nucleotides; for the M gene, 977 nucleotides; and for the NS gene, 834 nucleotides. The nucleotide sequences used in this study are available from GenBank under accession numbers AY738451-AY738456, DQ683025-

DQ683047, EF492221-EF492428, FJ464596-FJ464730, GQ120534-GQ140290, GQ148820-GQ148875, EF501983, JQ254936-JQ254991, JQ973661, and EU574919

Human macrophage culture

We studied THP-1 macrophages generated from the THP-1 human monocytic leukaemia cell line. To induce differentiation THP-1 was cultured for 48 h in the presence of phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) at 100 ng/ml.

A (PB1)

B (PB2)

116



Fig. 4. Phylogenetic relationships between PB1 (A) and PA (B) genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and from those from other countries. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths.

Human macrophage culture virus infection

The 24-h cultures of human THP-1 macrophage cells were infected with 10^4 EID₅₀ (50 % egg-infecting dose) of selected H9N2 isolates and, 24 h post-infection, the cells were examined by fluorescent staining

of the macrophage culture and apoptosis determination.

Fluorescent staining of macrophages culture

Forty-eight hours after plating, the cells in the culture medium were incubated for 40 min with MitoTracker Red 580

(Molecular Probes, Eugene, OR, USA) at 200 nmol/L, for mitochondrion staining. The dye was then removed. After rinsing with cold PBS (pH 7.4) the cells were fixed in absolute methanol for 10 min. After rinsing with cold PBS the cells were permeabilized with 0.5 % Triton X-100 for 10 min at room temperature. After blocking, Mab-421 (a kind gift from Prof. V. Rotter, of the Weizman Institute of Science, Rehovot, Israel), which recognizes a C-terminal epitope of the p53 protein [22] was added without dilution, and the mixture was incubated at room temperature for 2 h, and then with anti-mouse IgG-FITC (Sigma, St. Louis, MO, USA) at 1:128 dilution for 1 h. After removal of antibodies, the cells were rinsed with PBS and mounted with an aqueous mounting medium. Fluorescence was immediately observed by means of an Axioskop 2 (Karl Zeiss, Germany) or a Leica laser scanning confocal microscope (Leitz, Bensheim, Germany).

All control sections were processed in the absence of primary antibody. The slides were washed, mounted with an aqueous mounting medium, and photographed within a few hours under a digital microscope camera with image processing by the Image Pro Plus version 6 software. Light intensity and contrast were standardized for each culture with an appropriate control.

Apoptosis determination

The apoptotic index (AI) was determined by using the ApopTag Marker (Oncor, Inc., Gaithersburg, MD) and was calculated as the percentage of terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) -

positive cells per 1,000 cells, according to Gavrieli *et al.* [23].

Animal tests

Eight Israeli H9N2 viruses belonging to the 1st (one isolate), 2nd (one isolate), 3rd (three isolates), and 4th (three isolates) introductions were selected for the animal tests. One millilitre of allantoic fluid containing 10⁶ Ч EOD₅₀ of one isolate was inoculated into each of six 3-week-old White Leghorn chickens. The dose was divided between the intranasal (0.3 ml), intraocular (0.1 ml), and intratracheal (0.6 ml) routes. Four contact birds were introduced into the inoculated birds' cage 4 h post-inoculation (p.i.) to check transmission properties of the viruses. All the birds were observed daily for signs of disease or mortality. Tracheal and cloacal swabs were collected on days 3, 5, 7, and 10 p.i., and virus was titrated in 10-day-old embryonated chicken eggs.

Results

All the viruses examined in this study were isolated in Israel during 2000-2010. In the light of epidemiological and genetic analyses, the viruses isolated prior to mid-2006 were divided among three introductions. In brief: the first two H9N2 viruses were isolated in May 2000 and the appearance of these viruses in Israel was designated as the 1st introduction. Then, after devastation of affected flocks, no H9N2 viruses were found for 1.5 years. The 2nd introduction was recognized in December 2001, when the virus reappeared in Israel and affected both chicken and turkey flocks. Viruses belonging to the 3rd introduction were first isolated in March 2003 and until April 2006 this virus was totally predominant in Israel

Table 1.

General phylogenetic characterization of H9N2 viruses isolated in Israel in 2000-2010

Introduction of H9N2	Virus genes							
	HA	NA	NP	NS	M	PA	PB1	PB2
1st and 2nd introductions	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like	90658/00-like
3d introduction	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like
4th introduction	1525/06-like	1525/06-like	1304/03-like	1525/06-like	1525/06-like	1304/03-like	1304/03-like	1304/03-like

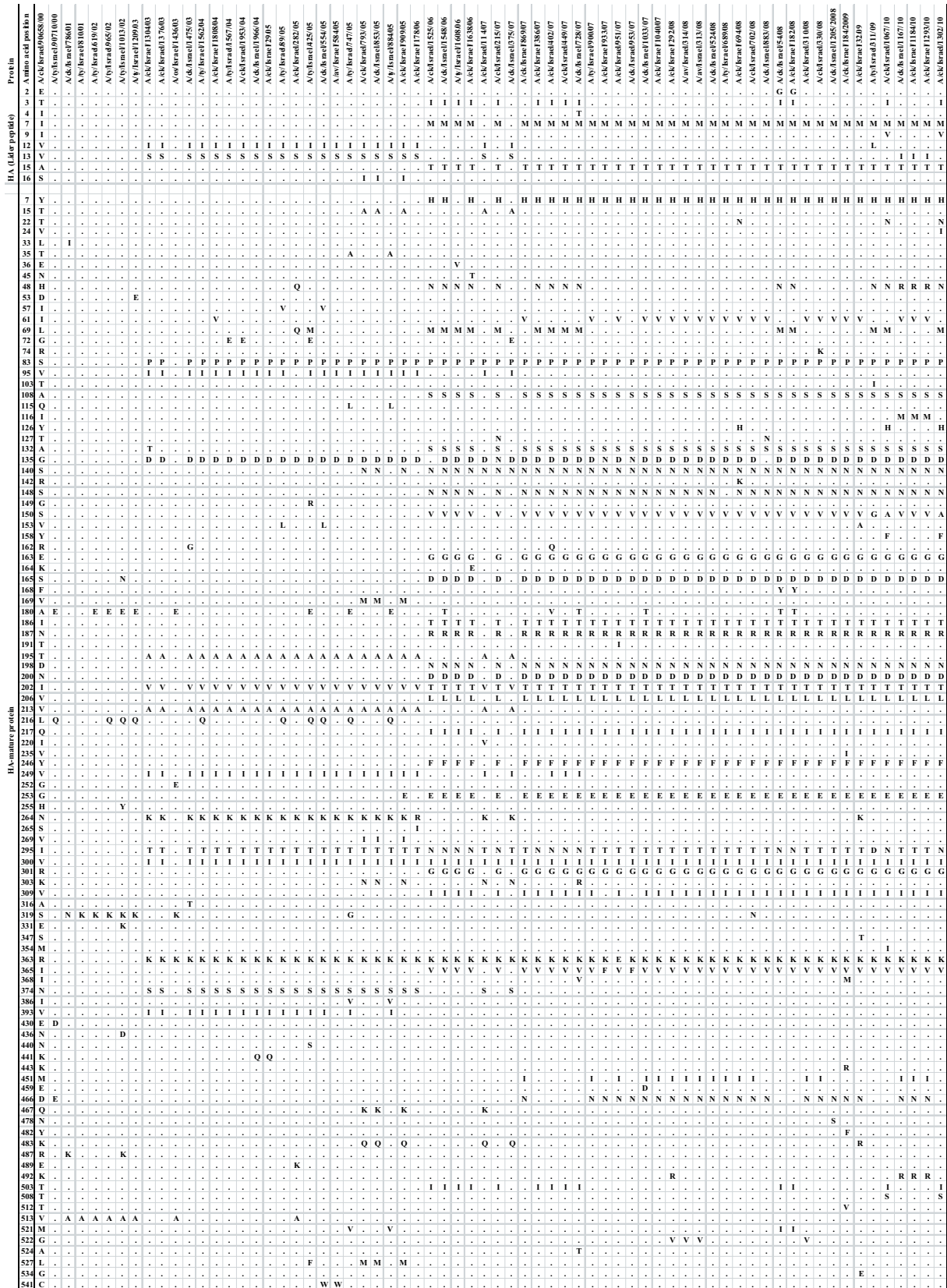


Fig. S1. Amino acid substitutions in HA proteins of H9N2 viruses isolated in Israel during 2000-2010.

Golender *et al.* [18]. The existence of a 4th introduction was suspected in November 2006, when the first virus that differed

significantly from the previously isolated strains was found. Despite molecular differences, all the Israeli H9N2 viruses

caused mild respiratory disease accompanied by a drop in egg production.

Phylogenetic analysis of the envelope glycoprotein genes of H9N2 viruses

According to the phylogenetic analysis of the HA gene, all the Israeli H9N2 isolates fell into a single G1-like lineage (Fig. 1 A). Inside this lineage, the Israeli AIVs fell into two groups: the first contained

AIVs belonging to the 1st, 2nd and 3rd introductions; the second group comprised strains isolated after the end of 2006, which were designated as the 4th introduction. The Israeli viruses belonging to the first group clustered with AIVs isolated in Asian and Middle-Eastern countries during 1997-1999; local isolates belonging to the second group clustered together with H9N2

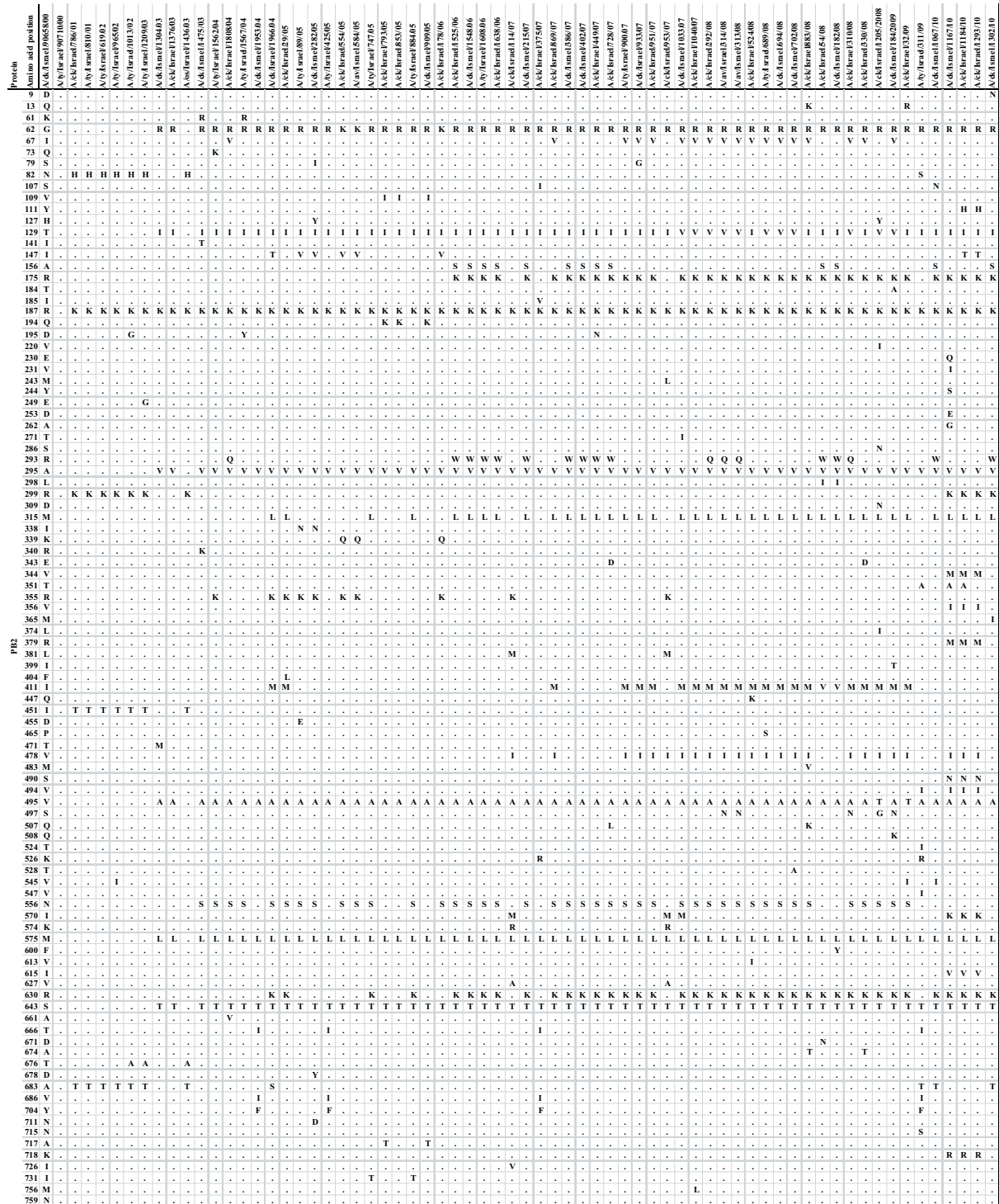


Fig. S3. Amino acid substitutions in PB2 proteins of H9N2 viruses isolated in Israel during 2000-2010.

Table 2.

Tracheal and cloacal shedding of virus after inoculation with three H9N2 viruses

Introduction	virus	infected birds, post infection day			contacted birds, post infection day		
		3	5	7	3	5	7
Tracheal shedding of virus, number shedding/total (mean tracheal virus titers*)							
1 st introduction	A/ty/Israel/90710/00	5/6 (1.5)	4/6 (2.8)	0/6	0/4	0/4	0/4
2 nd introduction	A/ck/Israel/786/01	6/6 (2.4)	1/6 (1)	0/6	0/4	0/4	0/4
3 rd introduction	A/ck/Israel/1376/03	6/6 (3)	6/6 (2.2)	2/6(1.5)	4/4 (1.5)	4/4 (2.8)	4/4(2)
	A/ty/Israel/1567/04	1/6 (3)	1/6(4)	1/6 (1)	0/3	0/3	0/3
	A/ck/Israel/114/07	6/6 (2)	3/6 (1.2)	0/6	3/4 (1.4)	4/4 (2.2)	4/4 (2.2)
4 th introduction	A/ck/Israel/1525/06	6/6 (4.6)	5/6 (1.6)	1/6 (2)	3/3 (3)	3/3 (3)	3/3 (1)
	A/ck/Israel/386/07	6/6 (4.2)	5/6 (1.6)	0/6	4/4 (4)	4/4 (2.3)	0/4
	A/ck/Israel/449/07	6/6 (3.2)	1/6 (1)	1/6 (1)	1/4 (1)	4/4 (3.2)	4/4 (3.2)
Cloacal shedding of virus, number shedding/total (mean cloacal virus titers*)							
1 st introduction	A/ty/Israel/90710/00	3/6 (1)	2/6 (3)	2/6(1.8)	0/4	0/4	0/4
2 nd introduction	A/ck/Israel/786/01	3/6 (2.2)	0/6	0/6	0/4	0/4	0/4
3 rd introduction	A/ck/Israel/1376/03	6/6 (1.5)	1/6 (2)	1/6(1)	0/4	1/4 (1)	0/4
	A/ty/Israel/1567/04	1/6 (1)	0/6	1/6 (2)	0/3	0/3	0/3
	A/ck/Israel/114/07	5/6 (2)	0/6	1/6 (1)	0/4	0/4	0/4
4 th introduction	A/ck/Israel/1525/06	3/6 (2.4)	1/6 (3)	0/6	0/3	0/3	0/3
	A/ck/Israel/386/07	5/6 (2)	1/6 (1)	0/6	0/4	0/4	0/4
	A/ck/Israel/449/07	6/6 (1.5)	0/6	0/6	0/4	0/4	0/4

*In brackets presented titer of the virus expressed as LgEID₅₀/ml

associated with the mammalian adaptation, most H9N2 isolates had the avian-virus-specific 627V, and only two had 627A, which had not been observed previously; no D701N or A199S substitutions – also associated with host specificity – were revealed (Fig. S3).

In the PB1-F2 protein, 76A and 82S, which is typical of mammalian hosts, were found in 11 and 65 isolates, respectively (Fig. S4). Three H9N2 isolates – A/ck/ Israel/793/05, A/ck/Israel/853/05 and A/ck/Israel/909/05 – contained the PB1-F2 protein truncated to 25 amino acid residues. The last three viruses and three isolates – A/ck/Israel/114/07, A/ck/Israel/375/07 and A/ck/Israel/953/07 – had a V27A

Table 3. Amino acid substitutions typical for mammalian and human AIVs in genes of Israeli H9N2 isolates

Protein	aa position	Predicted aa		Introduction			
		Avian	Mammalian/ Human	1 st	2 nd	3 rd	4 th
PB2	44	A	S	A	A	A	A
	64	M	T	M	M	M	M
	199	A	S	A	A	A	A
	588	A	I	A	A	A	A
	627	V	K	V	V	V/A ¹³	V/A ¹⁴
	701	D	N	D	D	D	D
	674	A	T	A	A	A	A/T ¹
PB1-F2	76	V	A	V	V	V/A ⁷	V/A ⁸
	82	L	S	S	S	S	S/L ⁹
	87	E	G	E	E	E	E
PA	57	R	Q	R	R	R	R
	356	K	R	K	K	K	K
	404	A	S	A	A	A	A/S ²
	409	S	N	S	S	S	S
NP	109	I	V	I	I	I	I/S ³
	214	R	K	R	R	R	R
	357	Q	K	Q	Q	Q	Q/K ⁴
	372	E	D	E	E	E	E
	11	T	I	T	T	T	T
M2	20	S	N	S	S	S/N ¹⁰	S/N ¹¹
	57	Y	H	Y	Y	Y	Y/H ¹²
	86	V	A	V	V	V	V
	215	P	T	P	P/L ⁵	P/L ⁵	P/L ⁵
NS1	227	E	R/K	E	E	E	K ⁶
	70	S	G	S	S	S	S

- 1- A/ck/Israel/883/08, A/ck/Israel/330/08
- 2- A/ck/Israel/953/07
- 3- A/ck/Israel/330/08
- 4- A/ck/Israel/114/07, A/ck/Israel/953/07
- 5- P – 29 viruses, L – 39 viruses
- 6- All viruses belonging to 4th introduction
- 7- V – 10, A – 9
- 8- A-2 [A/ck/Israel/953/07, A/ck/Israel/184/09]
- 9- L - A/ck/Israel/1167/2010, A/ck/Israel/1184/2010, A/ck/Israel/1293/2010
- 10- A/ck/Israel/793/05, A/ck/Israel/853/05, A/ck/Israel/909/05, A/ck/Israel/114/07, A/ck/Israel/375/07
- 11- A/ck/Israel/953/07
- 12- A/ty/Israel/689/08, A/ck/Israel/1040/07
- 13- A/ck/Israel/114/07
- 14- A/ck/Israel/953/07

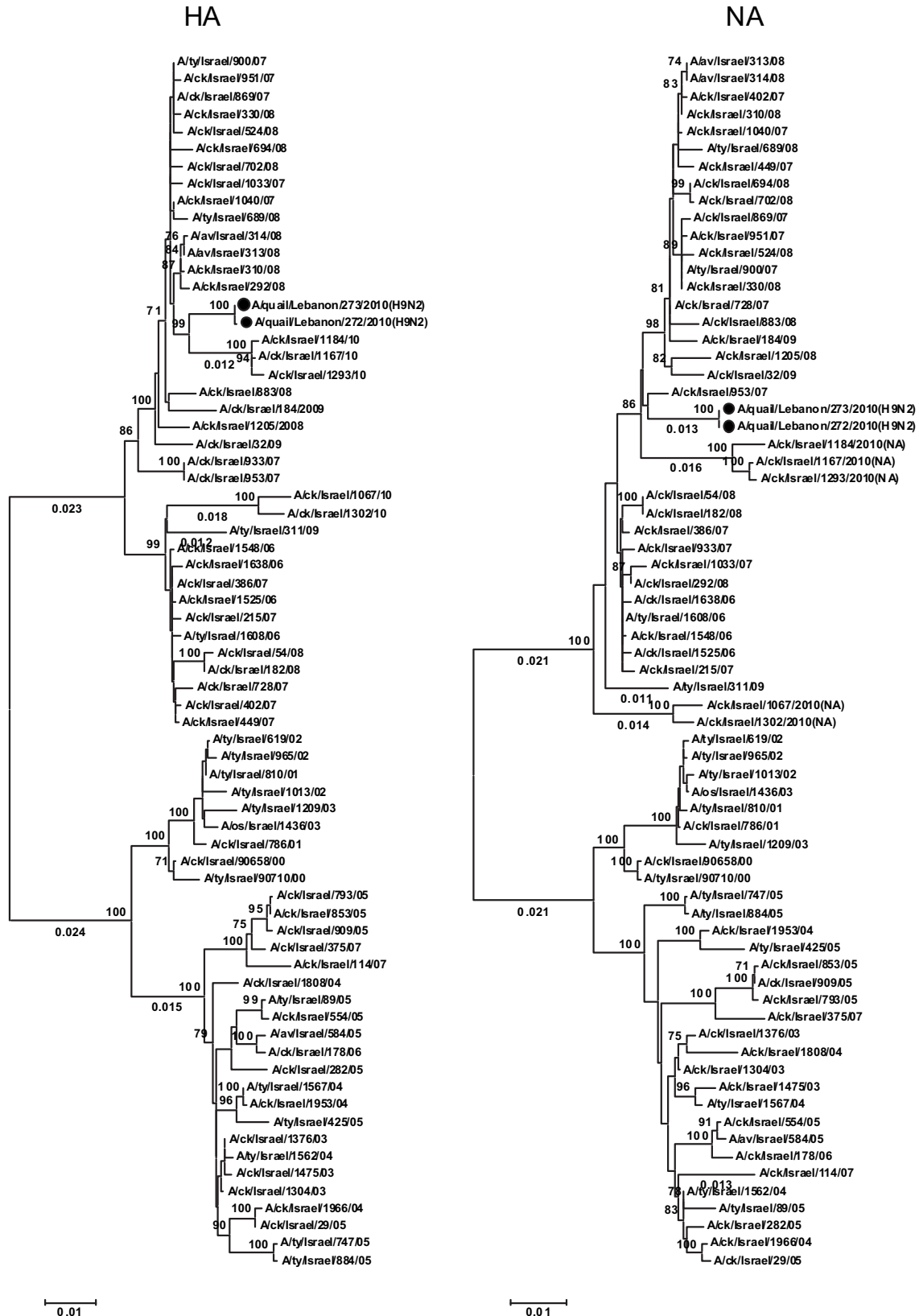


Fig. S10. Phylogenetic relationships of HA and NA genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and Lebanon. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths. Viruses isolated in Lebanon are marked with black circles.

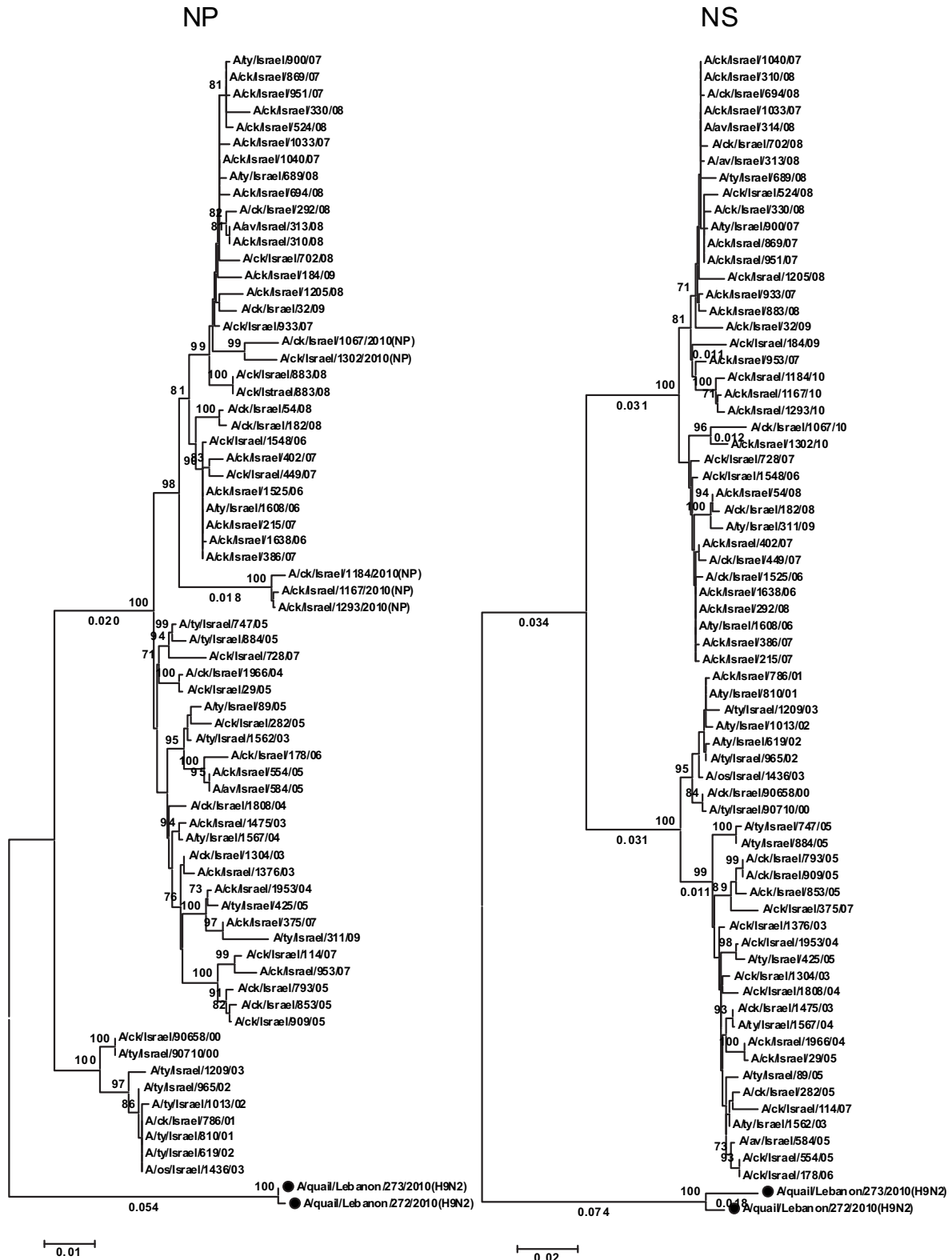


Fig. S11. Phylogenetic relationships of NP and NS genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and Lebanon. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths. Viruses isolated in Lebanon are marked with black circles.

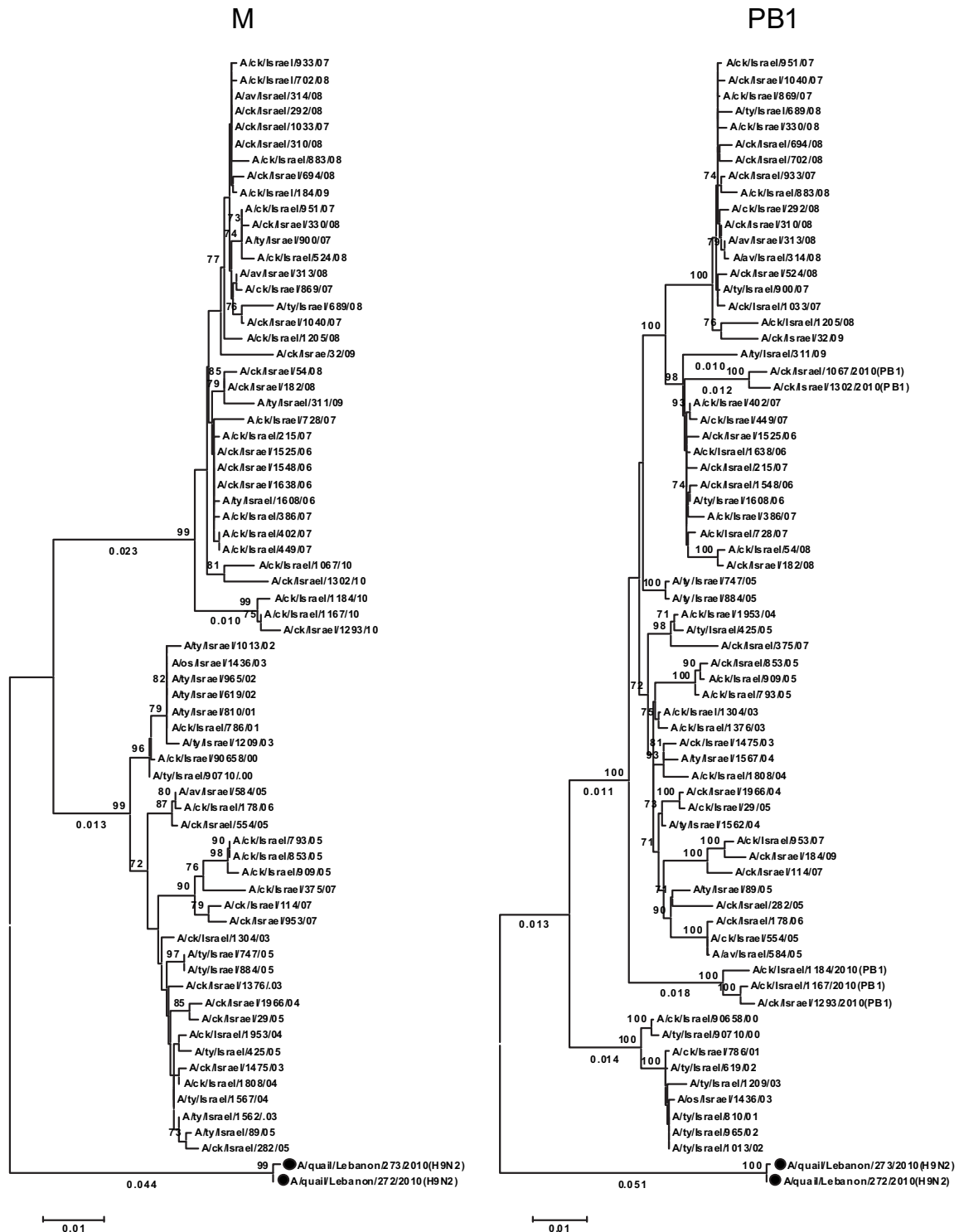


Fig. S12. Phylogenetic relationships of M and PB1 genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and Lebanon. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths. Viruses isolated in Lebanon are marked with black circles.

substitution at the M2 protein, which is associated with amantadine resistance. Also in this protein, some viruses had 20N and 57H amino acids, which are associated with the specificity of the mammalian host

(Fig. S5). The PA protein in only one virus – A/ck/Israel/953/07 – had the mammalian-typical 404S (Fig S6). The NP protein of two viruses – A/ck/Israel/953/07 and A/ck/Israel/114/07 – had the

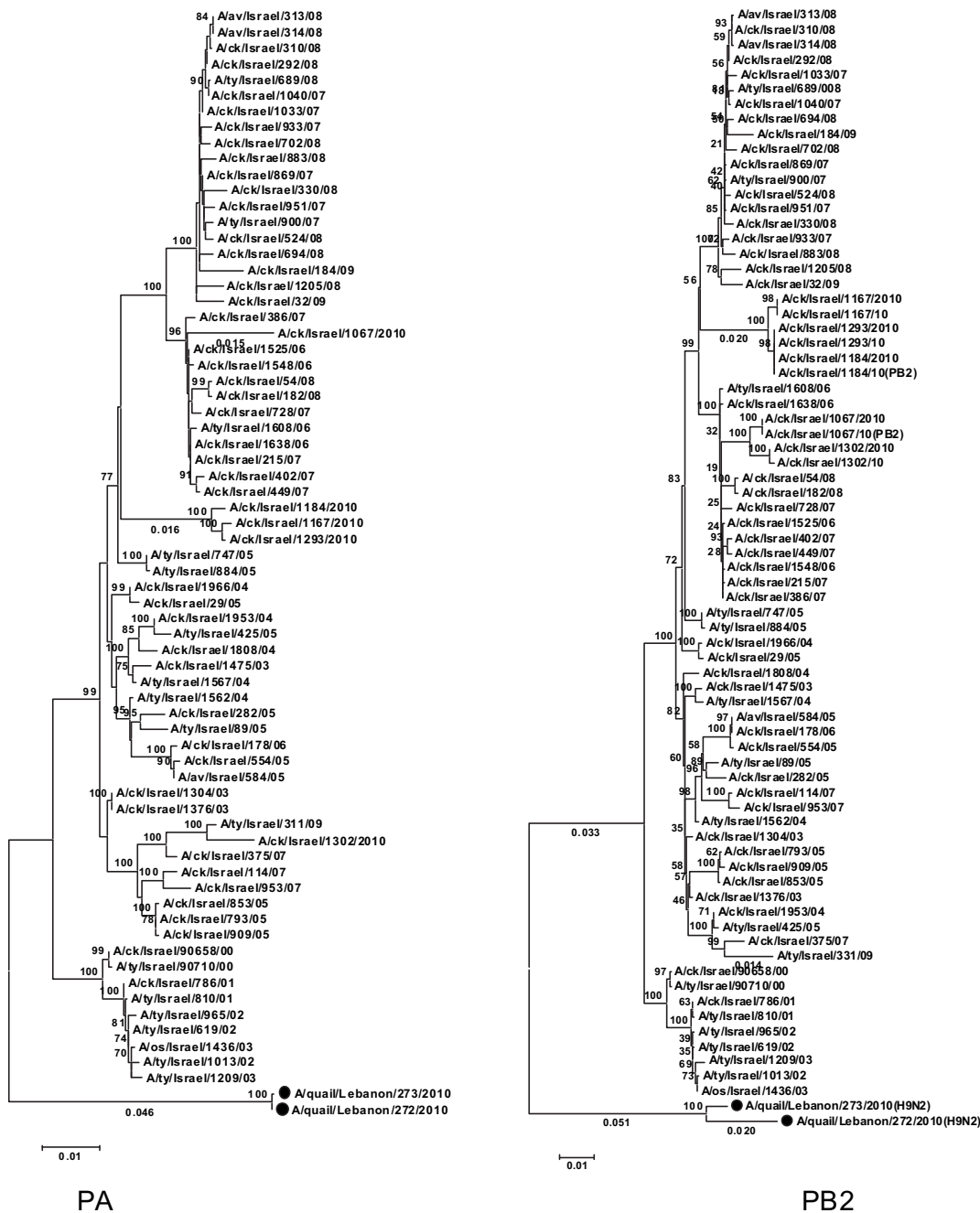


Fig. S13. Phylogenetic relationships of PA and PB2 genes from H9N2 influenza viruses isolated in Israel and Lebanon. The phylogenetic trees based on nucleotide sequences were generated by neighbour-joining analysis with the Maximum Composite Likelihood model, using MEGA 5.0 software. Numbers below branches indicate neighbour-joining bootstrap values; numbers above branches indicate branch lengths. Viruses isolated in Lebanon are marked with black circles.

mammalian-specificity-associated 375K (Fig. S7).

The NS1 protein of all viruses belonging to the 4th introduction had the mammalian-specific 227K. The NS1 of the analyzed H9N2 possessed the EPEV, KSEV

and KSEI PDZ ligand motif (Fig. S8). The F103L and M106I NS1 mutations were adaptive genetic determinants of growth and virulence in both human and avian NS1 genes in the mouse model. All Israeli viruses had 103F, viruses belonging to the

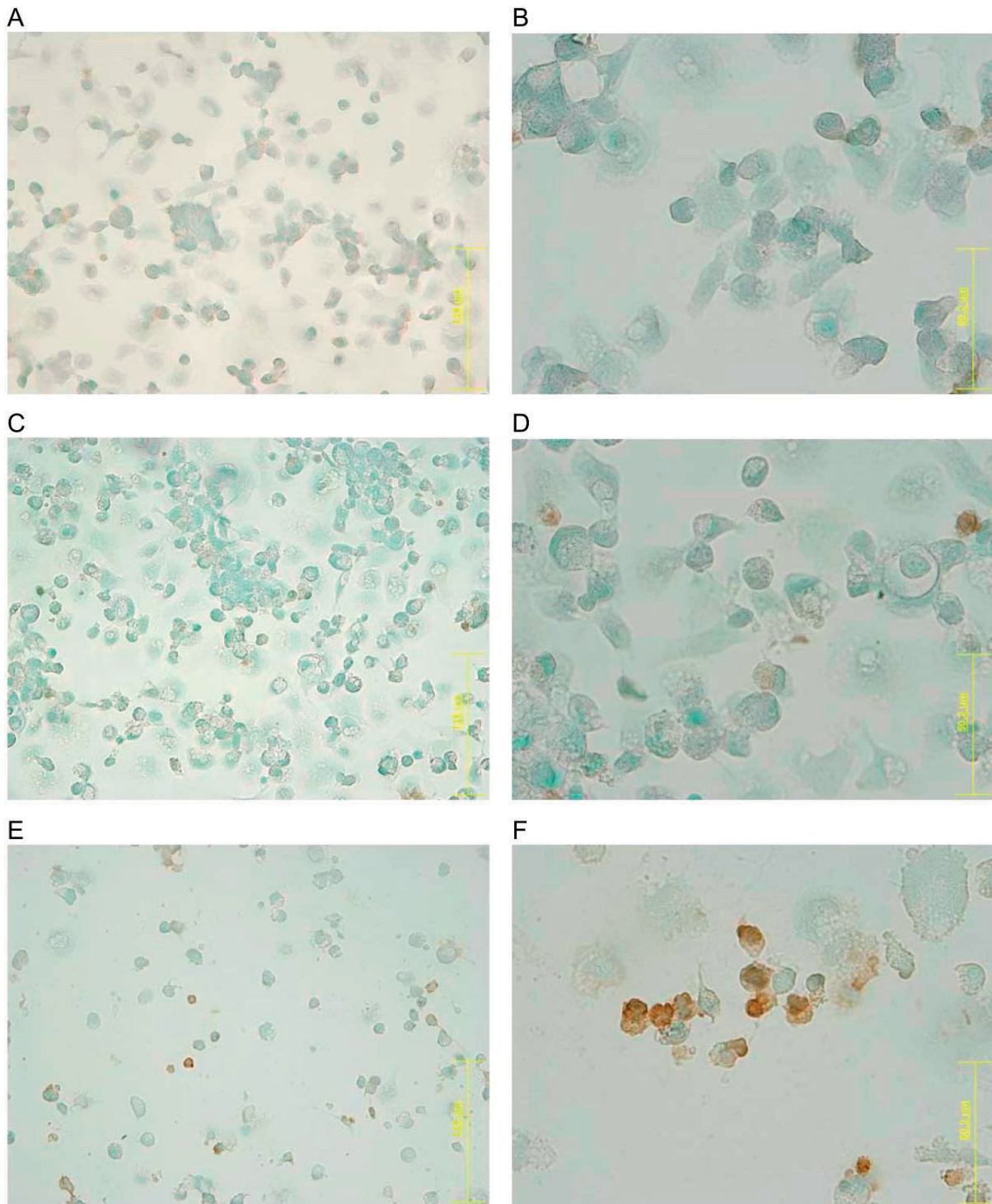


Fig S14. Apoptosis by TUNNEL in the cells line THP-1(Human macrophages) induced by A/ck/Israel/853/2005 and A/ty/Israel/884/2005 H9N2 viruses.
 A – control, Ч 400 ; B – control, Ч 1000; C – 24 h after infection with virus A/ck/Israel/853/2005, Ч 400;
 D – 24 h after infection with virus A/ck/Israel/853/2005, Ч 1000. This virus stimulated apoptosis only slightly; it induced minimal difference from the virally uninfected macrophage control culture.
 E – 24 h after infection with virus A/ty/Israel/884/2005, Ч 400.
 F – 24 h after infection with virus A/ty/Israel/884/2005, Ч 1000. This virus strongly induced pronounced apoptosis (brown-stained nucleus)

1st, 2nd and 3rd introductions had 103I, whereas, viruses belonging to the 4th introduction had 103M. No amino acid

substitutions associated with mamalian specificity were found in the PB1 protein (Fig. S9)

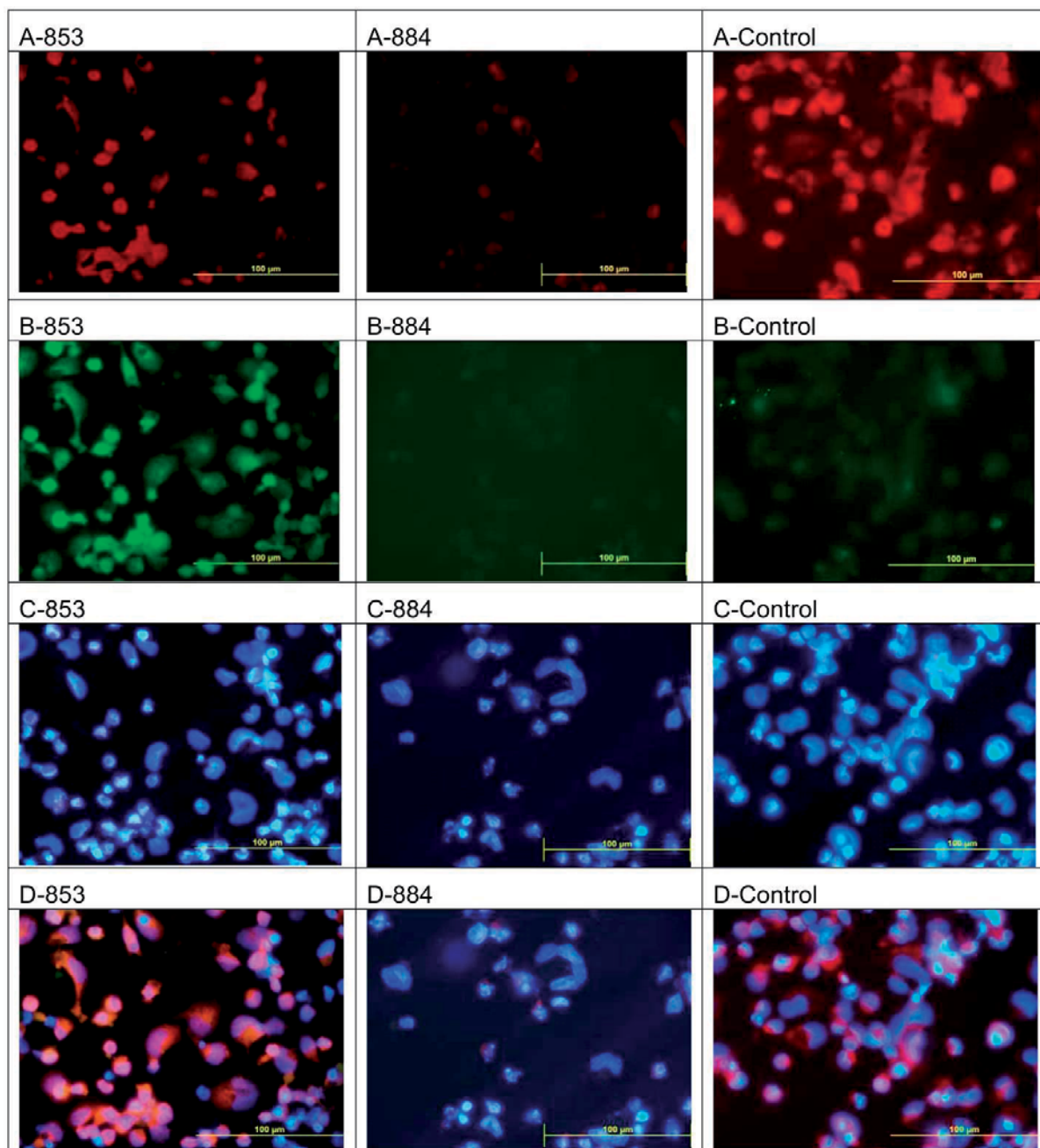


Fig. S15. Influence of viruses *A/ck/Israel/853/2005* and *A/ty/Israel/884/2005* on mitochondrion and p53 staining. 853 – *A/ck/Israel/853/2005* (truncated PB1-F2, length of 25 aa); 884 – *A/ty/Israel/884/2005* (PB1-F2, length of 90 aa). A-853, A-884 and A-control. Mitochondrion staining of infected macrophages with MitoTracker Red 580. 24 h post-infection. A-853: virus *A/ck/Israel/853/2005*-infected macrophages had intense staining of mitochondrion with MitoTracker. A-884 : virus *A/ty/Israel/884/2005*-infected macrophages completely free of mitochondrion staining. A-control: MitoTracker Red 580 mitochondrion staining of uninfected macrophages. B-853, B-884 and B-control. Pab 421 staining against p53 protein. B-853: Intense staining was found in the cytoplasm and nucleus of the infected macrophages. B-884 and B-control: No P53 staining of the cytoplasm or nucleus was found. C-853, C-884 and C-control. DAPY nucleus staining. D-853, D-884 and D-control. Merged images

Replication and transmission of H9N2 viruses in chickens

The animal test data are presented in Table 2. It was shown that viruses

belonging to the 1st and 2nd introductions replicated to a limited extent in the tracheas and cloacae of directly infected birds, but were not transmitted to contact chickens

introduced into the same cage. Two out of three studied isolates belonging to the 3rd introduction – A/ck/Israel/1376/03 and A/ck/Israel/114/07 – replicated in the tracheas and cloacae of inoculated chickens and were transmitted and replicated in tracheas of contact chickens (Table 2), whereas A/ty/Israel/1567/04 directly infected only one bird; though this virus replicated successfully, it was not transmitted into contact birds. All viruses belonging to the 4th introduction replicated into tracheas and cloacae of inoculated birds and transmitted to contacted chickens. None of the inoculated or contacted birds showed visible signs of disease, and all groups continued to gain weight.

Influence of H9N2 viruses with complete and truncated PB1-F2 proteins on human macrophages *in vitro*

To study the influence of the PB1-F2 gene on human macrophages in culture we selected two H9N2 viruses belonging to the same introduction but having considerable differences in their PB1-F2 gene sequences: A/ty/Israel/884/2005, with PB1-F2 protein, 90 aa in length; and A/ck/Israel/853/2005, with truncated PB1-F2 protein, 25 aa in length. At 24 h post-infection, virus A/ty/Israel/884/2005 strongly induced pronounced apoptosis of the human macrophage cells and complete loss of the mitochondrion MitoTracker staining, but no P53 staining of the cytoplasm or nucleus was found. In contrast, virus A/ck/Israel/853/2005 stimulated apoptosis only slightly, and elicited only minimal differences as compared with control uninfected macrophage culture. Similarly to the control macrophage culture, macrophages infected with A/ck/Israel/853/2005 exhibited intense MitoTracker staining of the mitochondrion. In this case, the cytoplasm and nucleus of the infected macrophages exhibited intense staining with antibody Pab 421 against p53 protein (Fig. S14-S15).

Discussion

During 2000-2010 the Israeli poultry industry was exposed to four introductions of LPAI–H9N2 Panshin *et al.* [24]. As noted above, on the basis of phylogenetic characteristics of complete AIV genomes, all Israeli H9N2 strains examined in the present study fell into three groups. Viruses belonging to group A – the 1st and 2nd introductions – contained 90658/00-like sequences that were closely related to those in Asian H9N2 strains. Local AIVs from Group B – 3rd introduction – contained 1304/03-like sequences that differed significantly from 90658/00-like sequences, in all segments. Group C comprised viruses belonging to the 4th introduction; these viruses contained four 1304/03-like segments and four 1525/06-like segments (HA, NA, NS, and M) which differed significantly from 90658/00-like and 1304/03-like sequences (Table 1). Thus, these viruses occurred as a result of reassortment between the new variant of H9N2 and the viruses circulating previously in the local region. Unfortunately, the Gene Bank contains only a limited set of viruses isolated in countries that share borders with Israel during 2000-2010. Among them were found four viruses, namely: A/chicken/Jordan/1540/2003(H9N2) – closely related to the Israeli H9N2 of the 3rd introduction; A/avian/Egypt/920431/2006(H9N2) – significantly different from all the Israeli isolates; and two Lebanese viruses – A/quail/Lebanon/272/2010(H9N2) and A/quail/Lebanon/273/2010(H9N2) – which had envelope genes closely related to those of Israeli isolates of group C, and internal genes significantly different from those of all the Israeli strains (Figs S10-S13). Thus, the H9N2 strains circulating in this region have internal genes from several different sources: in the case of the Israeli isolates – from local H9N2 AIVs circulating in Israel; in the case of the Lebanese viruses – from the Eurasian viruses belonging to various subtypes other than H9N2. Experimental studies of H9N2 viruses in infected and contacted chickens showed no differences among local H9N2

isolates belonging to different introductions.

Some molecular changes in the envelope and internal proteins have been associated with the host specificity of Israeli H9N2 viruses for mammals, including humans. In general, differences in host specificity and pathogenicity correspond to changes in the envelope glycoproteins, in addition these properties may be associated with substitutions in internal genes Fusaro *et al.* [25]. Chen *et al.* [7] validated 50 amino acid signatures that distinguish AIV from human influenza viruses. In most positions of all internal proteins our local isolates contained amino acids typical of avian viruses; amino acids typical of human influenza viruses were found in only a few cases (see Table 3).

The results of experiments *in vivo* imply that all the studied viruses infected the majority of the directly inoculated birds, and the viruses belonging to the 3rd and 4th introductions were able to infect contacted birds (Table 2). Although it seems that viruses related to the more recent introductions multiply efficiently in the trachea, no significant differences were found among the studied viruses, in their virulence and invasiveness.

Protein PB1-F2 was encoded in an alternative reading frame of the PB1 gene. This protein was found in most PB1-coding sequences of influenza viruses isolated from birds [26]; it increases virulence and the risk of secondary infections [27-28] by inducing apoptosis in macrophages [29]. This protein is functionally active if it has a length of 79 or more amino acids. Our present data show that the complete PB1-F2 gene must be present for induction of mitochondrion death and apoptosis. Most local AIV isolates had the full-length PB1-F2 protein, except for three H9N2 isolates that were truncated. It is not clear why the percentage of truncated PB1-F2 protein is much smaller in avian influenza A viruses than in swine and human influenza A isolates. The above findings show that exposure to the virus with full-length protein

for 24 h caused destruction of mitochondria and cell death in cultures of human macrophages (Figs. S14 and S15), and this effect was not associated with activation of protein p53 (Fig. S15). In contrast, a virus with truncated PB1-F2 protein did not have a destructive effect on mitochondria, but induced enhanced production of pro-apoptotic P53 proteins (Figs. S14 and S15).

It can be assumed that the virus with an inactive PB1-F2, in contrast to viruses with the full-length protein, can multiply in macrophages to some extent, and, consequently, reassortment of genes between avian and human AIVs with truncated PB1-F2 can occur directly in human macrophages.

Our present study demonstrated that low-pathogenic H9N2 influenza viruses have been circulating continuously in the Middle-East region, including Israel, during the last decade. Periodical introductions of highly pathogenic H5N1 and pandemic H1N1viruses have aggravated the epidemiological situation in this region. Although we have found only a few substitutions in AIV internal protein genes that might be associated with a high risk of interspecies transmission, including avian-to-human and human-to-human, the possibility of the occurrence of such mutations remains sufficiently high to cause concern.

Acknowledgment

We thank Mrs. Rivi Ascarelli-Goell, MSc and Mrs. Magda David, and Mrs. Faina Golender for excellent technical assistance. This study was supported by the Kameya Grant of the Israel Ministry of Absorption; by Research Grant No. IS-3679-05 from BARD, The United States-Israel Binational Agricultural Research and Development Fund; by Grant No. 847-0319 from the Poultry Association of the Israel Ministry of Agriculture and Rural Development; and by Grants IS-4100-08C and US-4379-11 from the USA-Israel Agricultural Research and Development Fund (BARD).

References

1. P.J. Hommeand B.C. Easterday. Avian Dis. 14, 66-74 (1970).
2. M.W. Jackwoodand D.E. Stallknecht. Avian Dis. 51 (1 Suppl), 448-450 (2007).
3. D.A. Senne. Avian Dis. 51(1 Suppl), 167-73(2007).
4. U.B. Aamir, U. Wernery, N. Ilyushina, R.G. Webster. Virology. 361, 45-55 (2007).
5. D.J. Alexander. Avian Dis. 51(1 Suppl): 161-166 (2007).
6. F.F. Ge, J.P. Zhou, J. Liu, J. Wang, W.Y. Zhang, L.P. Sheng, F. Xu, H.B. Ju, Q.Y. Sun, P.H. Liu. J Clin Microbiol. 47, 3294-3300 (2009).
7. F. Chen, Z.Q. Yan, J. Liu, J. Ji, S. Chang, D. Liu, J.P. Qin, J.Y. Ma, Y.Z. Bi, Q.M. Xie. Virus Genes. 45, 69-75 (2012).
8. Y.N. Lee, D.H. Lee, J.K. Park, T.H. Lim, H.N. Youn, S.S. Yuk, Y.J. Lee, I.P. Mo, H.W. Sung, J.B. Lee, S.Y. Park, I.S. Choi, C.S. Song. Avian Dis.; 55, 724-727 (2011).
9. K. Hotta, H. Takakuwa, Q.M. Le, S.L. Phuong, T. Murase, E. Ono, T. Ito, K. Otsuki, T. Yamashiro. Virus Res. 163, 448-453 (2012).
10. W. Tombari, J. Nsiri, I. Larbi, J.L. Guerin, A. Ghram. Virol J.; 8, 467 (2011).
11. A Baumer, J Feldmann, S Renzullo, M Мyller, В Тhуr, MA Hofmann. Avian Dis. 54, 875-884 (2010).
12. C. Banet-Noach, S. Perk, L. Simanov, N. Grebenyuk, E. Rozenblut, S. Pokamunski, M. Pirak, Y. Tendler, A. Panshin. Avian Dis. 51(1 Suppl): 290-296 (2007).
13. S. Perk, A. Panshin, E. Shihmanter, I. Gissin, S. Pokamunski, M. Pirak, M. Lipkind. Dev Biol (Basel). 124, 201-209 (2006).
14. K.M. Xu, G.J. Smith, J. Bahl, L. Duan, H. Tai, D. Vijaykrishna, J. Wang, J.X. Zhang, K.S. Li, X.H. Fan, R.G. Webster, H. Chen, J.S. Peiris, Y. Guan. J Virol. 81, 10389-10401 (2007).
15. K.M. Butt, G.J. Smith, H. Chen, L.J. Zhang, Y.H. Leung, K.M. Xu, W. Lim, R.G. Webster, K.Y. Yuen, J.S. Peiris, Y. Guan. J Clin Microbiol.; 43, 5760-5767 (2005).
16. C. Xu, W. Fan, R. Wei, H. Zhao. Microbes Infect. 6, 919-925 (2004).
17. S. Perk, N. Golender, C. Banet-Noach, E. Shihmanter, S. Pokamunsky, M. Pirak, Y. Tendler, M. Lipkind, A. Panshin. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 32, 221-238 (2009).
18. N. Golender, A. Panshin, C. Banet-Noach, S. Nagar, S. Pokamunski, M. Pirak, Y. Tendler, I. Davidson, M. Garsna, S. Perk. Virus Genes.; 37, 289-297 (2008).
19. T.A. Hall., Nucl Acids Symp.; 41, 95-98 (1999).
20. R. Chenna, H. Sugawara, T. Koike, R. Lopez, T.J. Gibson, D.G. Higgins, J.D. Thompson. Nucleic Acids Res.; 31, 3497-3500 (2003).
21. K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar. Mol Biol Evol. 28, 2731-2739 (2011).
22. J.W. Yewdell, J.V. Gannon, D.P. Lane. J Virol. 59, 444-452 (1986).
23. Y. Gavrieli, Y. Sherman, S.A. Ben-Sasson. J Cell Biol. 119, 493-501 (1992).
24. A. Panshin, N. Golender, I. Davidson, S. Nagar, M. Garsia, M.W. Jackwood, E. Mundt, A. Alturi, S. Perk. Virus Genes. 41, 396-405 (2010).
25. A. Fusaro, I. Monne, A. Salviato, V. Valastro, A. Schivo, N.M. Amarin, C. Gonzalez, M.M. Ismail, A.R. Al-Ankari, M.H. Al-Blowi, O.A. Khan, A.S. Maken Ali, A. Hedayati, J. Garcia, G.M. Ziay, Shoushtari A, K.N. Al Qahtani, I. Capua, E.C. Holmes, G. Cattoli. J Virol.; 85, 8413-8421 (2011).
26. D.S. DeLuca, D.B. Keskin, G.L. Zhang, E.L. Reinherz, V. Brusica. BMC Bioinformatics. 12 (Suppl 13), S6 (2011).
27. W. Chen, P.A. Calvo, D. Malide, J. Gibbs, U. Schubert, I. Bacik, S. Basta, R. O'Neill, J. Schickli, P. Palese, P. Henklein, J.R. Bennink, J.W. Yewdell. Nat Med. 7, 1306-1312 (2001).
28. H. Yamada, R. Chounan, Y. Higashi, N. Kurihara, H. Kido. FEBS Lett.; 578, 331-336 (2004).
29. J.R. Coleman. Virol J. 4, 9 (2007).

Резюме

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗКОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ ГРИППА H9N2, ВЫДЕЛЕННЫХ В ИЗРАИЛЕ

Тендлер Е., Голендер Н., Шкода И., Дабкин М., Лапин К., Паншин А.

Все израильские вирусы штамма H9N2, используемые в настоящем исследовании, были разделены на группы: вирусы групп А и В содержали соответственно - во всех восьми сегментах -

90658/00-подобные и 1304/03-подобные последовательности; группа С состояла из вирусов, выделенных в 2006-2010 годах, которые содержали четыре 1304/03-подобных сегмента и четыре 1525/06-подобных сегмента. Молекулярный анализ показал, что большинство штаммов имели RSSR-мотив в сайте расщепления гемагглютинина. Большинство вирусов содержали гемагглютинин с типичным для людей L216, и, кроме того, внутренние белки, характерные для птиц. Изученные вирусы заразили большинство привитых птиц непосредственно.

Воздействие вируса с полноразмерной PB1-F2 белка в течение 24 ч вызвал разрушение митохондрий и гибель клеток в культурах человеческих макрофагов, и этот эффект не был связан с активацией белка p53. Вирус с усеченной цепью белка PB1-F2 не оказывал разрушительного воздействия на митохондрии, но индуцировал повышенное производство проапоптотического белка P53.

Ключевые слова: вирус H9N2, филогенетический анализ, вирусные гены, репликация вируса, PB1-F2 белок, апоптоз.

*Впервые поступила в редакцию 10.06.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

Резюме

МОЛЕКУЛЯРНА І БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗЬКОПАТОГЕННИХ ВІРУСІВ ГРИПУ H9N2, ВИДІЛЕНИХ В ІЗРАЇЛІ

*Тендлер Є., Голендер Н., Шкода І.,
Драбкін М., Лапін К., Паншин О.*

Всі ізраїльські віруси штаму H9N2, що використовуються в цьому дослідженні, були розділені на групи: віруси груп А і В містили відповідно - у всіх восьми сегментах - 90658/00-подібні і 1304/03-подібні послідовності; група С складалася з вірусів, виділених у 2006-2010 роках, які містили чотири 1304/03-подібних сегмента і чотири 1525/06-подібних сегмента. Молекулярний аналіз показав, що більшість штамів мали RSSR-мотив в сайті розщеплення гемагглютиніну. Більшість вірусів містили гемагглютинін з типовим для людей L216, і, крім того, внутрішні білки, характерні для птахів. Вивчені віруси заразили більшість щеплених птахів безпосередньо.

Вплив вірусу з повнорозмірною PB1-F2 білка протягом 24 год викликав руйнування митохондрий і загибель клітин в культурах людських макрофагів, і цей ефект не був пов'язаний з активацією білка p53. Вірус з усеченою ланцюгом білка PB1-F2 не чинив руйнівного впливу на митохондрії, але індукував підвищений синтез проапоптотического білка P53.

Ключові слова: вірус H9N2, філогенетичний аналіз, вірусні гени, реплікація вірусу, PB1-F2 білок, апоптоз.

УДК:615.015.4

ФАРМАКОКІНЕТИКА ¹⁴C-ЕТИЛОВОГО ЕСТЕРУ ІБУПРОФЕНУ ЗА УМОВ ЙОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ

^{1,2}Кравченко І.А., ¹Александрова О.І., ¹Кірева М.В.

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, 65026, Одеса, e-mail: kisimishca@yahoo.com

²Фізико-хімічний інститут імені О.В. Богатського НАН України, 65080, Одеса

Синтезовано ¹⁴C-етиловий естер ібупрофену (8,98·10⁸ Бк/моль) і вивчено вміст ¹⁴C-матеріалу в органах та тканинах мишей після перорального введення. Відмічено, що вміст ¹⁴C-матеріалу у крові, мозку, нирках та жировій тканині досягає свого максимального значення через 1 годину, та у печінці – через 3 години з моменту введення. Швидка фаза зниження триває до 12 години з моменту введення. Показники середнього часу утримання свідчать про повільний процес елімінації дослідженої речовини з організму експериментальних тварин, тому, навіть, через 48 годин спостерігається наявність естеру ібупрофену в органах і тканинах.

Ключові слова: ¹⁴C-етиловий естер ібупрофену, фармакокінетичні параметри, пероральне введення

Вступ

Важливою задачею сучасної медицини являється підвищення ефективності і безпеки лікарської терапії. Ця задача може бути вирішена шляхом створення нових лікарських речовин, яким притаманна пролонгована дія, що забезпечує тривалу дію лікарського засобу з одночасним зниженням його добової дози [1]. Широке застосування в медичній практиці мають нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) завдяки наявності унікального спектру фармакологічної дії: знеболюючої, протизапальної та жарознижувальної [2], але не вирішеним є короткий час дії цих препаратів, що призводить до їх частого застосування, що відповідно призводить до посилення прояву побічної дії [3]. Тому актуальним є створення та дослідження нових естерів ібупрофену, які можуть забезпечити збільшення часу утримання активної молекули в організмі як за рахунок збільшення ліпофільності, так і за рахунок повільного гідролізу, який призводить до більш пролонгованої дії.

Фармакокінетичне дослідження є важливим критерієм доклінічної оцінки нових лікарських субстанцій. На підставі вивчення процесів розподілу у організмі

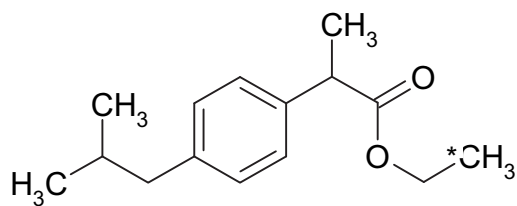
експериментальних тварин та накопичення отриманої сполуки у органах та тканинах можна обчислити фармакокінетичні параметри, які характеризують отриману сполуку, та надають змогу оптимізувати частоту та дозу прийому, оптимізувати його терапевтичну дію, зводячи до мінімуму ризик виникнення побічних ефектів.

Мета роботи полягала у вивченні особливостей процесів розподілу та накопичення етилового естеру ібупрофену в організмі експериментальних тварин при пероральному введенні.

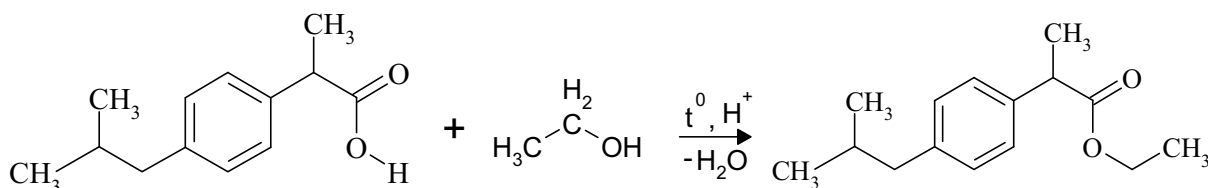
Матеріали і методи дослідження

У дослідженні були використані білі безпородні миші, вагою 20-25 г, отримані з віварію Одеського медичного університету. До початку експерименту тварини поміщалися в умови вільного доступу до їжі та води при температурі від 18 до 25 °С.

Для вивчення фармакокінетики етилового естеру ібупрофену найбільш чутливим є метод сцинтиляційної фотометрії, з використанням ¹⁴C-препарату. З цією метою було використано ¹⁴C-етиловий естер ібупрофену:



^{14}C -етиловий естер ібупрофену отримали при взаємодії ібупрофену та етилового спирту за схемою [4]:



Питома активність естеру $8,98 \cdot 10^8$ Бк/моль, радіохроматографічна чистота зразка — $97,9 \pm 2,3$ %.

Для визначення фармакокінетичних показників етилового естеру ібупрофену було вивчено розподіл по органам і тканинам загальної радіоактивності при пероральному введенні ^{14}C -етилового естеру ібупрофену дослідним групам мишей (5 тварин у групі) в дозі 250 мг/кг у твіновій емульсії.

Вміст загальної радіоактивності в органах і тканинах експериментальних тварин при пероральному введенні етилового естеру ібупрофену визначали через визначені проміжки часу протягом 48 годин з моменту введення препарату на рідинному сцинтиляційному фотометрі TRI-CARB 2700 (Canberra PACKARD, США).

Отримані експериментальні дані статистично оброблялися загальноприйнятими методами з використанням значень середньої

арифметичної величини (M) та середнього відхилення середньої арифметичної величини (m).

Результати дослідження та їх обговорення

Як видно з наведених даних, вміст ^{14}C -матеріалу у крові досягає свого максимального значення через 1 годину з моменту введення, надалі відбувається зниження загальної радіоактивності за

експоненціальною залежністю (рис. 1).

Швидка фаза зниження спостерігається в інтервалі від 1 до 12 години з моменту введення, повільна фаза – з 12 години і до кінця експерименту. Треба зазначити, що через 48 годин загальна радіоактивність у крові зменшилась у 4 рази, порівняно з максимальною концентрацією. З літературних даних відомо, що максимальна концентрація ібупрофену у плазмі крові досягається через 1-2 години [5] з моменту введення, після чого відбувається його швидке вивільнення з крові. На відміну від ібупрофену, його естер залишається у крові довше за рахунок збільшення ліпофільності молекули та повільного вивільнення активної

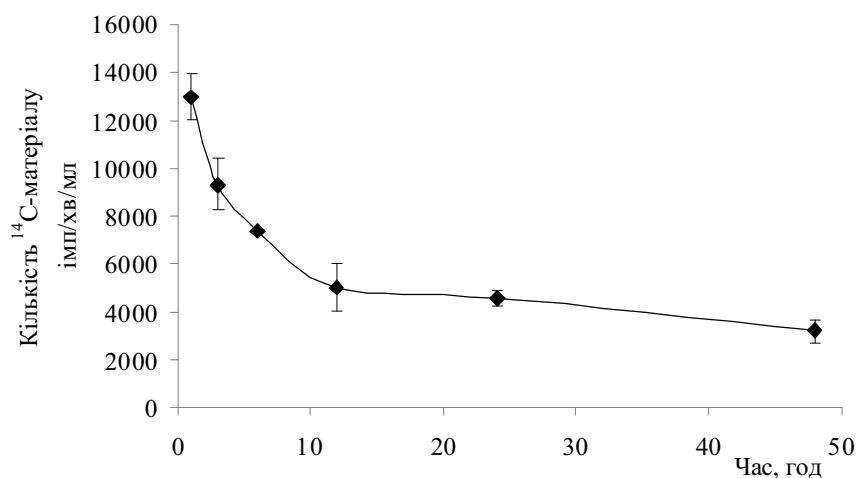


Рис. 1. Вміст радіоактивних продуктів у крові експериментальних тварин при пероральному введенні ^{14}C -етилового естеру ібупрофену в дозі 250 мг/кг ($M \pm m$, $n = 5$).

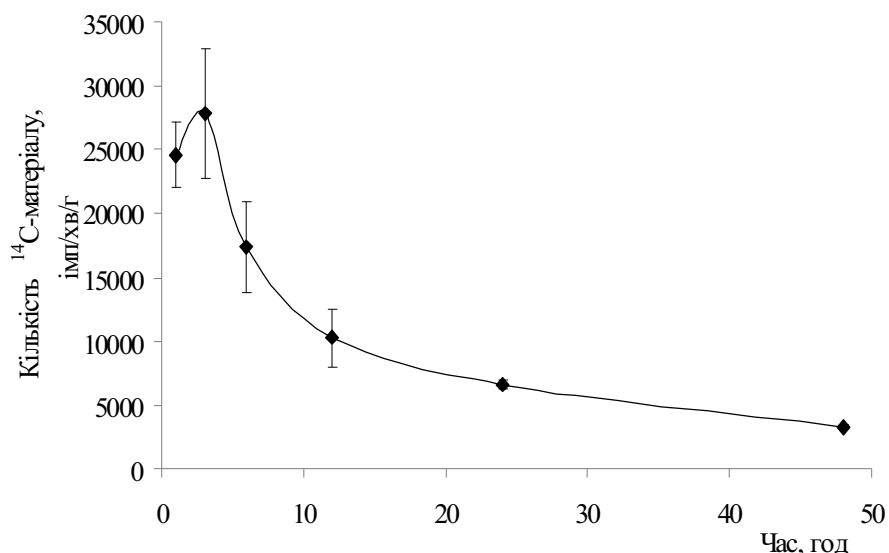


Рис. 2. Вміст радіоактивних продуктів у печінці експериментальних тварин при пероральному введенні ¹⁴C-етилового естеру ібупрофену в дозі 250 мг/кг ($M \pm m$, $n = 5$)

Наступним етапом було дослідження вмісту загальної радіоактивності у печінці, як у органі в якому відбуваються основні процеси метаболізму ксенобіотиків. Вміст ¹⁴C-етилового естеру ібупрофену у печінці сягає максимуму через 3 години з моменту введення, надалі відбувається відносно різке його зниження протягом 9 годин (рис. 2), що обумовлено високою швидкістю ферментативного гідролізу естеру.

Таблиця 1

Вміст загальної радіоактивності в органах експериментальних тварин при пероральному введенні ¹⁴C-етилового естеру ібупрофену в дозі 250 мг/кг ($M \pm m$, $n = 5$)

Час, год	Мозок, імп/хв/г	Нирки, імп/хв/г	Жирова тканина, імп/хв/г
1	5987 ± 781	24650 ± 1795	7752 ± 894
3	4362 ± 389	15062 ± 972	5059 ± 591
6	3294 ± 394	11123 ± 750	4773 ± 604
12	2304 ± 155	5055 ± 184	2446 ± 802
24	2920 ± 198	6098 ± 574	2061 ± 116
48	2086 ± 291	3827 ± 551	1930 ± 506

Таблиця 2

Фармакокінетичні параметри вмісту етилового естеру ібупрофену в органах експериментальних тварин при пероральному введенні в дозі 250 мг/кг ($M \pm m$, $n = 5$)

Фармакокінетичні параметри	Пероральний спосіб введення				
	Кров	Мозок	Печінка	Нирки	Жирова тканина
Загальна площа під фармакокінетичною кривою, $AUC_{0-?}$, нг·год/см ³	1747 ± 241	1111 ± 110	2264 ± 350	2304 ± 236	979 ± 224
Загальна площа під першим моментом фармакокінетичної кривої, $AUMC_{0-?}$, нг·год ² /см ³	88247 ± 6869	68993 ± 7629	55925 ± 4384	115383 ± 13449	56424 ± 1403
Середній час утримання, MRT, год	50 ± 12	62 ± 9	25 ± 4	50 ± 8	58 ± 19
Максимальна концентрація, C_{max} , нг	56 ± 3	26 ± 3	121 ± 22	107 ± 21	34 ± 6
Час досягнення максимальної концентрації, T_{max} , год	1	1	3	1	1
Константа швидкості термінальної елімінації, β	0,020 ± 0,001	0,017 ± 0,002	0,038 ± 0,04	0,019 ± 0,01	0,018 ± 0,001

молекули, внаслідок чого збільшується тривалість фармакологічної активності [6].

Через 48 годин кількість радіоактивного матеріалу знизилась у 8 разів, порівняно з максимальною концентрацією.

Дослідження вмісту естеру ібупрофену у інших органах та тканинах показало, що високий вміст радіоактивного матеріалу спостерігається у нирках, порівняно з головним мозком та жировою тканиною (табл. 1). Так максимальна концентрація ¹⁴C-матеріалу у нирках реєструється через 1 годину після введення, відносно швидке зниження спостерігається в інтервалі з 1 до 12 години. Така кількість радіоактивного матеріалу у нир-

ках імовірно пов'язана з функцією даного органу, та тим, що майже 90 % ібупрофену у вигляді метаболітів екскретується нирками. Наявність біоматеріалу у мозку та жировій тканині обумовлена досить високою ліпофільністю отриманої сполуки, яка виявляє тропність до такого типу тканин.

Динаміка зміни концентрації ^{14}C -продуктів у мозку також відбувається за експоненціальною залежністю: швидка фаза зниження спостерігається з 1 до 12 години, надалі впродовж 48 годин зниження відбувається досить повільно. У жировій тканині максимум біоматеріалу реєструється через 1 годину після введення, через 12 годин з моменту введення концентрація ^{14}C -продуктів знижується у три рази і надалі, впродовж 48 годин експерименту, залишається майже на одному рівні.

На основі даних розподілу загальної радіоактивності у відповідних органах та тканинах експериментальних тварин були визначені параметри фармакокінетики ^{14}C -етилового естеру ібупрофену (табл. 2).

Час досягнення максимальної концентрації ^{14}C -матеріалу становить 1 годину після введення для всього біоматеріалу (за виключенням печінки), що свідчить про досить швидкий процес всмоктування речовини з ШКТ після перорального введення.

Показники площ під відповідними фармакокінетичними кривими майже однакові для мозку та жирової тканини, що обумовлено спорідненістю речовини до цих тканин. Найвищий показник площі нульового моменту реєструється для нирок – органу, який відповідає за елімінацію речовини з організму. Показники середнього часу утримання MRT для всіх біооб'єктів за виключенням печінки достовірно не відрізняються та характеризують досить повільний процес виведення ^{14}C -матеріалу з організму експериментальних тварин. Параметри β -фази для зазначених органів також свідчать про

повільну елімінацію з них дослідженої речовини, що пов'язано, можливо, з перебіганням метаболічних процесів. Найвищий показник β -фази реєструється для печінки, що пов'язано з функцією даного органу. Це обумовлено, не зважаючи на достатньо високий показник площі нульового моменту, досить різким зниженням ^{14}C -матеріалів після 3 години експерименту.

Порівняно з молекулою самого ібупрофену період напівелімінації якого становить 1,8-2 години, етиловий естер ібупрофену більш повільно елінується з організму. На відміну від батьківської молекули, повне виведення якої складає 28 годин, естер ібупрофену можна спостерігати у всіх органах та тканинах і через 48 годин [7].

Висновки

Таким чином, в ході дослідження фармакокінетики ^{14}C -етилового естеру ібупрофену, було встановлено, що динаміка зміни концентрації ^{14}C матеріалу у досліджених тест об'єктах відбувається за експоненціальною залежністю з реєстрацією швидкої фази до 12 години з моменту введення. Максимальна концентрація ^{14}C -продуктів для крові, мозку, нирок та жирової тканини реєструється через 1 годину з моменту введення, що свідчить про високу швидкість всмоктування речовини з шлунково-кишкового тракту. Збільшення ліпофільності молекули етилового естеру ібупрофену та перебіг метаболічних процесів призводить до збільшення показників середнього часу утримання дослідженої речовини та β -фази, що свідчить про досить повільний процес елімінації цієї речовини з організму експериментальних тварин.

Усе це свідчить про збільшення часу знаходження молекули естеру в організмі, що неодмінно призведе до пролонгованої дії препаратів на її основі.

Література

1. Rainsford K.D. Nimesulid: overview of properties and application *Drugs of Today* 2001;37(Suppl.B)'3-7.

2. C. J. Morris. *Methods Mol. Biol.* – 2003. – P. 115 – 121.
3. M. S. Y. Khan. Synthesis, pharmacological activity and hydrolytic behavior of glyceride prodrugs of ibuprofen / M.S.Y. Khan, M. Akhter // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2005. – V. 40 (4). – P. 371–376.
4. Кирева М.В. Синтез и противовоспалительная активность сложных эфиров ибупрофена / И.А. Кравченко, М.В. Кирева, Е.А. Алексеева // *Химико-фармацевтический журнал.* – 2014. – Том. 48, №5. – С. 14-17.
5. Brown R.D. Single-dose pharmacokinetics of ibuprofen and acetaminophen in febrile children. / R.D. Brown, J.T. Wilson, G.L. Kearns // *J. Clin. Pharmacol.* – 1992. – V. 32(3). – P. 231-241.
6. Bennet A. Nimesulid: an NSAID that preferentially inhibits COX-2, and has various unique pharmacological activities. / A. Bennet, G. Villa // *Exp. Opin. Pharmacotherapy.* – 2000. – №1 – P. 277-286.
7. Walsh. M. *Physicians' desk reference* / M. Walsh. – Montvale – Thompson PDR. – 2003. – 57th Ed. – 3550 p.

References

1. Rainsford K.D. Nimesulid: overview of properties and application *Drugs of Today* 2001;37(Suppl.B)'3-7.
2. C. J. Morris. *Methods Mol. Biol.* – 2003. – P. 115 – 121.
3. M. S. Y. Khan. Synthesis, pharmacological activity and hydrolytic behavior of glyceride prodrugs of ibuprofen / M.S.Y. Khan, M. Akhter // *European Journal of Medicinal Chemistry.* – 2005. – V. 40 (4). – P. 371–376.
4. Kirieva M.V. Synthesis and anti-inflammatory activity of esters of ibuprofen / I.A. Kravchenko, M.V. Kirieva, EA Alekseev // *Chemical farmvtsevtichesky magazine.* – 2014 – Vol. 48, №5. – P. 14-17.
5. Brown R.D. Single-dose pharmacokinetics of ibuprofen and acetaminophen in febrile children. / R.D. Brown, J.T. Wilson, G.L. Kearns // *J. Clin. Pharmacol.* – 1992 – V. 32(3). – P. 231-241.
6. Bennet A. Nimesulid: an NSAID that preferentially inhibits COX-2, and has various unique pharmacological activities. / A. Bennet, G. Villa // *Exp. Opin. Pharmacotherapy.* – 2000. – №1 – P. 277-

286.

7. Walsh. M. *Physicians' desk reference* / M. Walsh. – Montvale – Thompson PDR. – 2003. – 57th Ed. – 3550 p.

Резюме

ФАРМАКОКИНЕТИКА ¹⁴C-ЭТИЛОВОГО ЭФИРА ИБУПРОФЕНА ПРИ ЕГО ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

^{1,2}Кравченко И.А., ¹Александрова А.И.,
¹Кирева М.В.

¹Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, 65026, Одесса, Украина, e-mail: kisimishca@yahoo.com

²Физико-химический институт имени А.В. Богатского НАН Украины, 65080, Одесса

Синтезирован ¹⁴C-этиловый эфир ибупрофена (8,98·10⁸ Бк/моль) и изучено содержание ¹⁴C-материала в органах и тканях мышей после перорального введения меченого препарата. Отмечено, что содержание ¹⁴C-материала в крови, мозге, почках и жировой ткани достигает своего максимального значения через 1 час, и в печени – через 3 часа с момента введения. Быстрая фаза снижения продолжается до 12 часов с момента введения. Показатели среднего времени удержания свидетельствуют о медленном процессе элиминации исследованного вещества из организма экспериментальных животных, поэтому даже через 48 часов наблюдается наличие эфира ибупрофена в органах и тканях.

Ключевые слова: ¹⁴C-этиловый эфир ибупрофена, фармакокинетические параметры, пероральное введение

Summary

PHARMACOKINETICS OF ORALLY ADMINISTERED ¹⁴C-IBUPROFEN ETHYL ESTER

^{1,2}Kravchenko I.A., ¹Aleksandrova A.I.,
¹Kirjeva M.V.

¹I.I. Mechnikov Odessa National University, 65026, Odessa, e-mail: kisimishca@yahoo.com

²A.V. Bogatsky Physiko-Chemical Institute, National Academy of Sciences of Ukraine, 65080, Odessa

Was synthesized ^{14}C -ibuprofen ethyl ester ($8,98 \cdot 10^8$ Bq/mol) and studied content of ^{14}C -material in the mice organs and tissues after oral administration. The content of ^{14}C -material reaches its maximum after 1 hr in the blood, brain, kidneys and adipose tissue, and after 3 hr in the liver by oral administration. The rapid phase reduction we observed during 12 hr after oral administration. The average retention time indicate about slow process of elimination of the investigated

substances from the body of experimental animals, so after 48 hours we can observe the presence of the ibuprofen ester in the organs and tissues.

Keywords: ^{14}C -ethyl ester of ibuprofen, the pharmacokinetic parameters, oral administration

*Впервые поступила в редакцию 16.02.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616-092 ± 616.361 ± 576.8+615.24

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОЖИРОВЫЕ РАЦИОНЫ

Васюк В.Л.¹, Гоженко А.И.², Левицкий А.П.³

¹Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы

²Украинский НИИ медицины транспорта МЗУ Украины», г. Одесса

³ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», г. Одесса

e-mail: flavan@mail.ru

Кормление крыс высокожировыми рационами (ВЖР), содержащими подсолнечное, оливковое, пальмовое или сливочное масло в количестве 15 % к массе комбикорма, вызывает увеличение живой массы (более выраженное для пальмового масла), повышение в печени уровня маркеров воспаления и снижение активности лизоцима, более выраженные для пальмового и сливочного масел. В сыворотке крови увеличивается содержание глюкозы и холестерина, а также активность эластазы (для пальмового масла). По-видимому, более патогенное действие ВЖР, содержащих пальмовое или сливочное масло, зависит от высокого уровня в них пальмитиновой кислоты.

Ключевые слова: жировое питание, жирные кислоты, печень, воспаление.

Введение

В процессе онтогенеза человека высокожировое питание (более 30 % калорий за счет триглицеридов) осуществляется в грудном возрасте. Ряд исследователей считает, что высокожировой характер питания целесообразно сохранить и во взрослом состоянии [1, 2]. Пищевые жиры влияют на пролиферацию лимфоцитов, синтез цитокинов, активацию клеток натуральных киллеров, фагоцитоз [3]. Их использование позволяет снижать воспалительные нарушения, такие как аутоиммунные заболевания. Высокожировые рационы (ВЖР) повышают выживаемость животных при их заражении патогенными

бактериями [4]. Высокожировая диета способствует поддержанию высокого уровня АТФ в гепатоцитах [5].

С другой стороны, имеется значительное количество данных, свидетельствующих о патогенном действии ВЖР [6, 7]. Показано, что ВЖР вызывает развитие ожирения [8] и происходит это с помощью эндогенных микробов [9-11]. Наиболее часто ожирение связывают с последующим развитием атеросклероза [12, 13], метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа [14, 15]. Имеются данные о связи ожирения с системным воспалением [16].

Недавно нами было показано разви-

тие дисбактериоза в тканях крыс, получавших ВЖР, причем в наибольшей степени это проявилось у жиров, содержащих повышенные количества пальмитиновой кислоты (пальмовое и сливочное масло) [17].

Как известно, в обмене жиров центральное место занимает печень, в клетках которой происходит синтез жиров из углеводов и белков, взаимопревращение жирных кислот и образование липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), являющихся энергетическим субстратом для скелетных мышц, сердца и соединительной ткани [12, 18]. При алиментарных и энергетических нарушениях нередко жиры откладываются и в самой печени (стеатоз печени), приводящий затем к развитию стеатогепатита, фиброза и, в конечном итоге, цирроза [19].

Одной из важнейших физиологических функций печени, кроме метаболических, является антимикробная функция, состоящая в создании барьеров на пути следования микробов и их токсинов из кишечника, а также в регуляции иммунных систем организма [20].

Однако связь жировой функции печени с ее антимикробной функцией практически не исследована. Поэтому целью настоящего исследования стало изучение состояния печени при кормлении животных ВЖР с использованием разных по жирнокислотному составу пищевых жиров.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы подсолнечное, оливковое, пальмовое и сливочное масло, характеристика которых представлена в нашей предыдущей работе [17]. В подсолнечном масле главной жирной кислотой была линолевая ($C_{18:2}$), содержание которой составило 58,2 %, в оливковом масле главной жирной кислотой была олеиновая ($C_{18:1}$), которая составляла 72,4 % всех жирных кислот, в пальмовом масле 46,3 % составила насыщенная жирная кислота пальмитиновая ($C_{16:0}$), а в сливочном масле пальмитиновая кислота составила 29,2 %.

В эксперименте было использовано

30 белых крыс линии Вистар (самцы, 8 месяцев, исходная живая масса 235 ± 11 г), распределенных в 5 равных групп: 1-ая (контроль), получавшая полнорационный комбикорм (содержание жира 7,6 %, главные жирные кислоты линолевая – 46,5 % и олеиновая – 29,7 %); 2-ая – дополнительно к комбикорму получала 15 % подсолнечного масла; 3-я – 15 % оливкового; 4-ая – 15 % пальмового и 5-ая – 15 % сливочного масла. Кормление крыс ВЖР продолжалось 41 день.

Эвтаназию животных осуществляли на 42-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Получали сыворотку, извлекали печень, которые хранили до исследования при -30°C . В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05 М трис-НСI буфера, рН 7,5) определяли уровень маркеров воспаления [21]: содержание малонового диальдегида (МДА) по ТБК-реакции [22] и активность эластазы по скорости гидролиза синтетического субстрата [23], показатель холестаза – активность щелочной фосфатазы (ЩФ) по гидролизу р-нитрофенилфосфата при рН 10,5 [21], активность антиоксидантного фермента каталазы молибдатным методом [24], показатель неспецифического иммунодефицита – активность лизоцима бактериолитическим методом [25]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [21].

В сыворотке крови определяли концентрацию глюкозы [26], холестерина [22], активность эластазы [23], аланин-трансаминазы (АЛТ) [26] и активность щелочной фосфатазы [21].

Результаты и их обсуждение

У всех животных, получавших ВЖР, абсолютный прирост живой массы за 41 день опыта составил 70,0-84,3 г, тогда как в контроле он был 63,9 г. Относительный прирост живой массы оказался самым высоким у крыс, которые получали пальмовое масло ($+37,2 \pm 2,4$ %, в контроле $+27,4 \pm 1,9$ %, $p < 0,05$).

Результаты определения органного

индекса печени (в г/кг живой массы) представлены в табл. 1, из которой следует, что все ВЖР снижают относительную массу печени, причем в большей степени растительные масла, независимо от особенностей их жирнокислотного состава.

В табл. 2 представлены результаты определения биохимических маркеров воспаления в печени крыс, получавших ВЖР. Как видно из этих данных, у крыс, получавших ВЖР, наблюдается тенденция к увеличению уровня маркеров воспаления и лишь у крыс, которым давали пальмовое или сливочное масло, достоверно возрастает активность эластазы, что может свидетельствовать о начале воспалительного процесса. Возможно, это связано с большим содержанием пальмитиновой кислоты в этих жирах.

Активность ЩФ и лизоцима в печени крыс, получавших ВЖР, показана в табл. 3, из которой следует, что активность ЩФ в печени мало зависит от количества и качества жиров, поступающих с ВЖР. Напротив, активность лизоцима достоверно снижается у всех крыс, получавших ВЖР, но особенно сильно у тех, которые получали масла с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (т. е. пальмовое и сливочное). Снижение активности лизоцима может свидетельствовать об ослаблении неспецифического иммунитета [25], что и предопределяет, в значительной степени, развитие дисбиоза в этом органе [17].

В табл. 4 представлены результаты определения в печени крыс, получавших

Таблица 1
Влияние ВЖР на органный индекс (ОИ) печени (г/кг живой массы)

№№ п/п	Потребляемое масло	ОИ, г/кг	p
1	Контроль	34,3 ± 1,0	–
2	Подсолнечное	29,5 ± 1,1	<0,05
3	Оливковое	29,0 ± 0,8	<0,05
4	Пальмовое	29,5 ± 0,8	<0,05
5	Сливочное	33,6 ± 0,7	> 0,3

Таблица 2
Влияние ВЖР на уровень маркеров воспаления в печени крыс (M ± m, n = 8)

№№ п/п	Потребляемое масло	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк-кат/кг
1	Контроль	76,8 ± 4,5	0,35 ± 0,01
2	Подсолнечное	79,7 ± 3,1 p > 0,3	0,37 ± 0,02 p > 0,3
3	Оливковое	82,3 ± 3,5 p > 0,3	0,35 ± 0,03 p = 1
4	Пальмовое	83,0 ± 3,4 p > 0,3	0,42 ± 0,03 p < 0,05
5	Сливочное	83,6 ± 6,3 p > 0,3	0,42 ± 0,01 p < 0,05

ВЖР, активности каталазы и индекса АПИ. Хотя некоторая тенденция к снижению обоих показателей у крыс, получавших ВЖР, имеется, однако достоверным оказалось лишь снижение активности каталазы у крыс, получавших подсолнечное масло.

Содержание в сыворотке крови глюкозы и холестерина показано в табл. 5, из которой следует, что во всех группах, получавших ВЖР, наблюдается достоверное повышение в сыворотке уровня и глюкозы, и холестерина.

В табл. 6 показано влияние ВЖР на активность ряда ферментов в сыворотке крови крыс. Как видно из этих данных, активность эластазы, являющейся показателем системного воспаления [28], увеличивается у всех животных, получавших ВЖР, особенно у тех, которые получали подсолнечное и пальмовое масло. В наименьшей степени повысился уровень эластазы у крыс, получавших оливковое масло. Что же касается активности АЛТ, то ее уровень практически не изменился у крыс, получавших ВЖР, и не зависел от каче-

Таблица 3
Влияние ВЖР на активность ЩФ и лизоцима в печени крыс
($M \pm m, n = 8$)

№№ п/п	Потребляемое масло	ЩФ, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Контроль	6,66 ± 0,31	85 ± 8
2	Подсолнечное	6,13 ± 0,35 $p > 0,2$	56 ± 9 $p < 0,05$
3	Оливковое	6,43 ± 0,27 $p > 0,4$	53 ± 8 $p < 0,05$
4	Пальмовое	6,31 ± 0,27 $p > 0,3$	35 ± 9 $p < 0,01$
5	Сливочное	7,31 ± 0,24 $p > 0,1$	25 ± 5 $p < 0,01$

Таблица 4
Влияние ВЖР на активность каталазы и антиоксидантно-прооксидантного индекса АПИ в печени крыс ($M \pm m, n = 8$)

№№ п/п	Потребляемое масло	Каталаза, мкат/кг	АПИ, ед.
1	Контроль	7,18 ± 0,04	0,93 ± 0,11
2	Подсолнечное	6,94 ± 0,03 $p < 0,05$	0,87 ± 0,09 $p > 0,5$
3	Оливковое	7,04 ± 0,07 $p > 0,05$	0,96 ± 0,09 $p > 0,5$
4	Пальмовое	7,04 ± 0,05 $p > 0,05$	0,85 ± 0,10 $p > 0,3$
5	Сливочное	7,09 ± 0,06 $p > 0,05$	0,85 ± 0,10 $p > 0,3$

Таблица 5
Содержание глюкозы и холестерина в сыворотке крови крыс, получавших ВЖР ($M \pm m, n = 8$)

№№ п/п	Потребляемое масло	Глюкоза, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
1	Контроль	5,85 ± 0,21	1,62 ± 0,24
2	Подсолнечное	6,94 ± 0,24 $p < 0,05$	2,56 ± 0,17 $p < 0,05$
3	Оливковое	6,59 ± 0,18 $p < 0,05$	2,79 ± 0,19 $p < 0,05$
4	Пальмовое	6,54 ± 0,18 $p < 0,05$	2,85 ± 0,21 $p < 0,05$
5	Сливочное	7,29 ± 0,31 $p < 0,01$	2,44 ± 0,18 $p < 0,05$

Таблица 6
Влияние ВЖР на активность ферментов в сыворотке крови крыс
($M \pm m, n = 8$)

№№ п/п	Потребляемое масло	Эластаза, нкат/л	АЛТ, мк-кат/л	ЩФ, мк-кат/л
1	Контроль	236,3 ± 15,9	0,47 ± 0,03	2,90 ± 0,28
2	Подсолнечное	284,6 ± 14,7 $p < 0,05$	0,42 ± 0,02 $p > 0,05$	3,08 ± 0,42 $p > 0,3$
3	Оливковое	268,0 ± 23,4 $p > 0,1$	0,46 ± 0,04 $p > 0,5$	3,08 ± 0,27 $p > 0,3$
4	Пальмовое	309,2 ± 20,5 $p < 0,05$	0,44 ± 0,04 $p > 0,3$	3,30 ± 0,18 $p > 0,05$
5	Сливочное	281,5 ± 21,4 $p > 0,05$	0,46 ± 0,04 $p > 0,5$	3,24 ± 0,33 $p > 0,3$

ственного состава жира.

Активность ЩФ проявляла тенденцию к повышению у крыс, получавших ВЖР, причем более выражено у тех, которые получали жиры с высоким содержанием пальмитиновой кислоты (пальмовое и сливочное).

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что ВЖР, независимо от вида пищевого жира, повышают прирост живой массы, правда, в большей степени у получавших пальмовое масло. На этом фоне наблюдается относительное снижение массы печени, о чем свидетельствует достоверное снижение органного индекса печени. Исключение составило сливочное масло, употребление которого снижало орган- ный индекс печени в малой степени.

Из патологических проявлений ВЖР следует отметить повышение уровня в печени мар- керов воспаления, особенно у получавших высокопальми- тиновые жиры (паль- мовое и сливочное масло) и достовер- ное снижение актив-

ности лизоцима, также более выраженное у получавших высокопальмитиновые жиры.

Избыточное поступление в организм пищевых жиров вызывает изменения не только в печени, но и в сыворотке крови по типу легкого системного воспаления, о чем свидетельствует повышение активности эластазы и увеличение уровня глюкозы и холестерина.

Оценивая роль жирнокислотного состава пищевых жиров, следует отметить отрицательное влияние на печень высокопальмитиновых жиров, таких как широко внедряемое в Украине пальмовое, а также сливочное масло. Более благоприятное влияние на печень и организм в целом оказывают низкопальмитиновые жиры, особенно, оливковое масло, содержащее более 70 % олеиновой кислоты, наиболее легко усвояемой жирной кислоты [18].

Литература

1. Левицкий А. П. Идеальная формула жирового питания / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2002. – 64 с.
2. Kwańniewski J. ywienie optymalne / J. Kwańniewski. – 1999. – 175 p.
3. De Pablo M. A. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions / De Pablo M. A., Alvarez de C. G. // Immunol. and Cell Biol. – 2000. – 78, № 1. – P. 31-39.
4. The effect of dietary fish oil on survival after infection with *Klebsiella pneumoniae* or *Streptococcus pneumoniae* / V. S. Thors, A. Pyrisdyrtit, H. Erlendsdyttir [et al.] // Scand. J. Infect. Diseases. – 2004. – 36, № 2. – P. 102-105.
5. High-fat diet prevents eating response and attenuates liver ATP decline in rats given 2,5-anhydro-D-mannitol / M. I. Friedman, J. E. Koch, G. Graczyk-Milbrandt [et al.] // Amer. J. Physiol. – 2002. – 282, № 3, p. 2. – P. R710-R714.
6. Body fat and circulating leukocytes in children / F. Zaldivar, R. G. McMurray, D. Nemet [et al.] // Int. J. Obesity. – 2006. – v. 30, № 6. – P. 906-911.
7. Ивашкин В. Т. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2010. – т. 20, № 1. – С. 4-13.
8. Боріков О. Ю. Вплив кверцетину на розвиток вісцерального ожиріння та інсуліно-резистентності у самців щурів за умов високожирової дієти / О. Ю. Боріков, Н. І. Горбенко // Фізіол. журн. – 2010. – т. 56, № 2. – С. 128.
9. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage / F. Vdckhed, H. Ding, T. Wang [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2004. – v. 101 (44). – P. 15718-15723.
10. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest / P. J. Turnbaugh, R. E. Ley, M. A. Mahowald [et al.] // Nature. – 2006. – v. 444, № 21/28. – P. 1027-1031.
11. Mechanism underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice / F. Vdckhed, J. K. Manchester, C. F. Semenkovich [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. – 104(3). – P. 979-984.
12. Титов В. Н. Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище – основная причина повышения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интим артерий / В. Н. Титов // Клин. лабор. диагностика. – 2013. – № 2. – С. 3-10.
13. Амбросова Т. Н. Терапевтическая коррекция атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме / Т. Н. Амбросова // Междун. мед. журн. – 2013. – № 3. – С. 50-55.
14. Кравчун П. Смертельный квартет. Метаболический синдром: этиология, патогенез, клинические проявления / П. Кравчун, О. Шушлепин, С. С. Мажар // Ліки України. – 2005. – № 6. – С. 52-55.
15. Бондаренко В. М. Кишечная микрофлора, ожирение и диабет 2 типа / В. М. Бондаренко, В. В. Малеев, В. Г. Лиходед // ЖМЭИ. – 2014. – № 3. – С. 42-49.
16. Наявність і характер взаємозв'язку порушень метаболізму ліпідів крові та системного запалення / В. В. Амброскіна, Т. А. Крячок, О. П. Ларіонов [та ін.] // Фізіол. журн. – 2008. – т. 54, № 3. – С. 36-46.
17. Величко В. И. Развитие дисбиоза в тканях крыс, получавших высокожировую рацион / В. И. Величко, В. В. Ткачук, А. П. Левицкий // J. Health Sciences. – 2014. – v. 4, № 12. – P. 84-82.
18. Левицкий А. П. Оливка. Уникальное подсолнечное масло, аналог оливкового / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2013. – 28 с.
19. Browning J. D. Molecular mediators of

- hepatic steatoses and liver injury / J. D. Browning, J. D. Horton / J. Clin. Invest. – 2004. – v. 114, № 1. – P. 147-152.
20. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2011 – 141 с.
 21. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
 22. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
 23. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
 24. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45-46.
 25. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
 26. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
- References**
1. Levitsky A. P. Idealnaya formula zhyrovogo pitaniya [The ideal formula of fatty food]. Odessa, KP OGT, 2002: 64.
 2. Kwańniewski J. ywienie optymalne. 1999: 175.
 3. De Pablo M. A., Alvarez de C. G. Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. Immunol. and Cell Biol. 2000; 78(1): 31-39.
 4. Thors V. S., Pyrisdyrtit A., Erlendsdyttir H. [et al.]. The effect of dietary fish oil on survival after infection with Klebsiella pneumoniae or Streptococcus pneumoniae. Scand. J. Infec. Diseases. 2004; 36(2): 102-105.
 5. Friedman M. I., Koch J. E., Graczyk-Milbrandt G. [et al.]. High-fat diet prevents eating response and attenuates liver ATP decline in rats given 2,5-anhydro-D-mannitol. Amer. J. Physiol. 2002; 282(3), p. 2: R710-R714.
 6. Zaldivar F., McMurray R. G., Nemet D. [et al.]. Body fat and circulating leukocytes in children. Int. J. Obesity. 2006; 30(6): 906-911.
 7. Ivashkin V. T., Maevskaya M. V. Lipotoxicity and metabolic disorders in obesity. Ross. zhurn. gastroenterol., gepatol., kopoproktol. 2010; 20(1): 4-13.
 8. Borikov O. Yu., Gorbenko N. I. Вплив кверцетину на розвиток віщерального ожиріння та інсулінорезистентності у самців щурів за умов високожирової дієти. Fiziol. zhurn. 2010; 56(2): 128.
 9. Vdckhed F., Ding H., Wang T. [et al.]. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004; 101(44): 15718-15723.
 10. Turnbanch P. J., Ley R. E., Mahowald M. A. [et al.]. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature. 2006; 444(21/28): 1027-1031.
 11. Vdckhed F., Manchester J. K., Semenkovich C. F. [et al.]. Mechanismus underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2007; 104(3): 979-984.
 12. Titov V. N. *Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище – основная причина повышения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интим артерий.* Klin. labor. diagnostika. 2013; 2: 3-10.
 13. Ambrosova T. N. *Терапевтическая коррекция атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме.* Mezhdun. med. zhurn. 2013; 3: 50-55.
 14. Kravchun P., Shushlepin O., Mazhar S. S. *Метаболический синдром: этиология, патогенез, клинические проявления.* Liky Ukrainy. 2005; 2: 52-55.
 15. Bondarenko V. M., Maleev V. V., Likhoded V. G. Intestinal microflora, obesity and type 2 diabetes. JMEI. 2014; 3: 42-49.
 16. Ambroskina V. V., Kryachok T. A., Larionov O. P. [et al.]. The presence and the characteristics of interrelation of disorders in metabolism of blood lipids and system inflammation. Fiziol. zhurnal. 2008; 54 (3): 36-46.
 17. Velichko V. I., Tkachuk V. V., Levitsky A. P. Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food. J. Health sciences. 2014; 4(12): 84-82.
 18. Levitsky A. P. Olivka: unikalnoye podsolnechnoye maslo, analog olivkovogo

[Olivka: the unique sunflower oil, the analogue to olive oil]. Odessa, KP OGT, 2013: 28.

19. Browning J. D., Horton J. D. Molecular mediators of hepatic steatoses and liver injury. *J. Clin. Invest.* 2004; 114(1): 147-152.
20. Levitsky A. P., Demyanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V. Antimikrobnaya funktsiya pecheni [The antimicrobial function of liver]. Odessa, KP OGT, 2011:141.
21. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.
22. Stalnaya I. D., Garishvili T. G. Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloty [The method of revelation of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid]. Moskva, Meditsina, 1977: 66-68.
23. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002: 15.
24. Girin S. V. The modification of the method of the determination of catalase activity in biological substrates. *Laboratornaya diagnostika.* 1999; 4: 45-46.
25. Levitsky A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.
26. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005: 616.

Резюме

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ ВИСОКОЖИРОВІ РАЦІОНИ

Васюк В.Л., Гоженко А.І., Левицький А.П.

Годівля щурів високожировими раціонами (ВЖР) з вмістом соняшникової, оливкової, пальмової олії або вершкового масла в кількості 15 % від маси комбікорму викликає підвищення живої маси (більш виражене для пальмової олії), зростання в печінці рівня маркерів запалення та зниження активності лізоцима, в більшій мірі для пальмової олії та вершкового масла.

В сироватці крові підвищується вміст глюкози і холестерину, а також активність еластази (для пальмової олії). Вирогідно, що патогенна дія ВЖР з вмістом пальмової олії і вершкового масла залежить від високого рівня в них пальмітинової кислоти.

Ключові слова: *жирове харчування, жирні кислоти, печінка, запалення.*

Summary

BIOCHEMICAL INDICATORS OF THE LIVER STATE OF RATS RECEIVED A HIGH-FAT DIET

Vasyuk V.L., Gozhenko A.I., Levitsky A.P.

Aim: To determine the liver condition of rats fed with fats of different fatty acid compositions

Materials and methods: We used the following dietary fats: refined sunflower oil, refined olive oil, palm oil, milk fat (butter). Feeding of rats was carried out for 41 days using 15 % of the studied oils in the food. The liver condition was evaluated by biochemical markers of liver (elastase, MDA, alkaline phosphatase (ALP), lysozyme, catalase) and blood serum markers (glucose, cholesterol, elastase, ALT, ALP).

Results: The increase in the weight gain was more pronounced when feeding with palm oil; the increase of inflammatory markers levels (MDA and elastase) was greater when feeding with palm oil and butter. Conversely, the lysozyme activity in the liver was significantly reduced at fat feeding, particularly for palm oil and butter. In the serum of all animals fed with fat there was the significant increase of glucose and cholesterol levels, as well as the increase of the elastase activity (after palm oil).

Conclusion: A high-fat diet causes the development of an initial phase of inflammatory and degenerative processes in liver, which is more pronounced for fats high in palmitinic acid (palm oil and butter).

Keywords: *fatty food fatty acids, liver, inflammation.*

Впервые поступила в редакцию 06.01.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 615.916'175+577.16

ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КОМПЛЕКСА БИОАНТИОКСИДАНТОВ ПРИ ФЛЮОРОЗЕ

Цебржинский О.И.

Полтавский национальный педагогический университет имени
В.Г.Короленко; tsebrzhinsky@mail.ru

В условиях коррекции гиперфтороза (25 мг NaF/ кг массы тела в сутки, 100 дней) у морских свинок комплексом антиоксидантов (витамины Е, С, Р) обнаружилось следующее. Снижение активности цитохромоксидазы можно оценивать как развитие тканевой гипоксии. Введение повышенных доз антиоксидантов в комплексе способствуют снижению антиоксидантного потенциала в крови и мозгу, при его повышении в печени и почках. Избыток антиоксидантов частично запасается в печени и почках, аскорбиновая кислота окисляется в дегидроаскорбиновую. Эти факты частично показывают некоторые отрицательные эффекты гиперантиоксидантной коррекции. Токоферольная обеспеченность способствует определённой нормализации экскреции с мочой креатина и креатинина. Концентрация фторида в сыворотке крови почках свидетельствует о тенденции к нормализации за счёт резкого увеличения экскреции фтора с мочой, что указывает на позитивный эффект антиоксидантов. Но 60 % выживаемость животных снимает эти позитивные эффекты.

Ключевые слова: фтористая интоксикация, комплекс витаминов Е, С, Р.

Введение

Фтористая интоксикация характеризуется вспышкой свободно-радикального перекисного окисления (СРПО) в крови и ослаблением в крови и органах антиоксидантной защиты (АОЗ) [3]. Известно, что антиоксиданты (АО) оптимально действуют в комплексе, поскольку образуют цепь передачи восстановительных эквивалентов, например, НАДФН → глутатион → аскорбиновая кислота → токоферол, причём в этой цепи аскорбиновая кислота и токоферол являются эссенциальными нутриентами [2]. В условиях быстрого использования антиоксидантов их экзогенное поступление может быть повышено. Поэтому, целью нашей работы явилось исследование протекторного действия комплекса антиоксидантов при хронической фтористой интоксикации.

Объекты и методы исследования

Опыты проведены на 50 морских свинок-самцах средней массой 250-350 г. Морские свинки выбраны как животные, организм которых (как и человека) не синтезирует аскорбиновую кислоту.

Морским свинкам опытной группы ($n = 12$) в течение 100 дней вводили *per os* в ежедневной дозе на кг массы тела 25 мг фторида натрия в виде водного раствора и комплекс биоантиоксидантов (1 раз в 5 дней), включающий: α -токоферола ацетат – 50 мг/кг, аскорбиновую кислоту – 100 мг/кг, кверцетин – 25 мг/кг. В литературе есть сведения о позитивной роли больших доз антиоксидантов при фтористой интоксикации [5]. Контрольную группу ($n = 20$) составили животные, получавшие в указанные сроки и дозы фторид натрия. Интактную группу (условная норма) образовали 20 морских свинок. В крови и органах определяли величины показателей, которые наиболее реагируют на воздействие фторид-иона: СРПО, антиоксидантной защиты (АОЗ), окислительного, липидного обменов [1, 4]. Отметим, что концентрация вторичного продукта СРПО МДА-0 указывает на уровень пероксидации, а уровень Δ МДА – на уровень АОЗ в обратном пропорциональной зависимости, снижение активности цитохромоксидазы определяет тканевую гипоксию, креати-

нурия может быть маркером токоферольной недостаточности [2].

Результаты и их обсуждение

Выживаемость животных к концу эксперимента при флюорозе составила 75 %, при коррекции комплексом биоантиоксидантов – 60 %. Результаты исследования приведены в таблице.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов способствовало нормализации: в крови – концентраций МДА-3 (но при этом возрос уровень Δ МДА, что указывает на снижение антиоксидантного потенциала) и глюкозы; в печени – концентраций МДА-0, МДА-3, НАД, активности глутатионпероксидазы; в сердце – концентраций аскорбиновой кислоты и НАД; в мозгу – концентрации дегидроаскорбиновой кислоты; в почках – МДА-3; в моче – экскреции креатина (что указывает на запасание токоферола), креатинина, фторида.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов способствовало промежуточному между нормой и интоксикацией положению величин, что означает тенденцию к нормализации: в сыворотке крови – концентрации фторида и холестерина (что позитивно); в печени – концентрация МДА-0, уровень Δ МДА; в мозгу – уровня Δ МДА; в почках – концентрация фторида.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов не способствовало изменениям величин показателей по сравнению с контролем на интоксикацию и нормой: в крови – концентрация НАД, активности общей пероксидазы и глутатионпероксидазы; в печени – концентрации МДА-3 и аскорбиновой кислоты; в сердце – активность цитохромоксидазы; в мозгу – концентрации МДА-0, МДА-3, НАД, аскорбиновой кислоты; в почках – концентрации МДА-0 и НАД.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов не способствовало изменениям величин

показателей по сравнению с контролем на интоксикацию: в крови – уровень спонтанного гемолиза эритроцитов перекисной природы.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов способствовало ухудшению состояния величин ряда показателей: в сыворотке крови – активность церулоплазмينا (реактант острой фазы воспаления, производимый печенью в ответ на усиление пероксидации); в крови – активность супероксиддисмутазы, уровень Δ МДА; в печени – концентрация НАД, активность цитохромоксидазы; в сердце – концентрации аскорбиновой и дегидроаскорбиновой кислот, НАД, активность цитохромоксидазы; в мозгу – активность цитохромоксидазы.

Введение на фоне фтористой интоксикации комплекса антиоксидантов способствовало улучшению состояния величин по сравнению в нормой и контролем следующих показателей: в почках – уровень Δ МДА. Особенно обращают внимание следующие изменения. Увеличение уровня Δ МДА в крови и мозгу отражают снижение антиоксидантного потенциала, а его уменьшения в печени и почках указывают на усиление антиоксидантной защиты. В печени и почках запасаются эссенциальные антиоксиданты, а в крови дыхательный взрыв нейтрофилов не полностью гасится антиоксидантной защитой хотя концентрация МДА-0 снижается. Определённую роль может играть избыток аскорбиновой кислоты и токоферола, который способствует их прооксидантному эффекту. Избыток аскорбиновой кислоты частично окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту, о чём свидетельствует увеличение концентрации дегидроаскорбиновой кислоты в печени, почках, сердце, мозгу.

Под влиянием комплекса антиоксидантов снижение экскреции креатина с мочой указывает на токоферольную обеспеченность мышц и почек, а также относительно нормальное функционирование этих органов, судя по concentra-

Таблица

Влияние комплекса антиоксидантов при фтористой интоксикации

Показатель	Норма	Флюороз	Коррекция АО
<i>СЫВОРОТКА КРОВИ</i>			
Фторид, мкмоль/л	36,0 ± 3,9	83,8 ± 8,4, p1 < 0,001	55,7 ± 2,0, p1,2 < 0,002
Церулоплазмин, ЕД	30,8 ± 1,7	24,4 ± 2,2, p1 < 0,02	19,8 ± 1,6, p1 < 0,001, p2 < 0,1
Холестерин, ммоль/л	1,39 ± 0,1	2,45 ± 0,14, p1 < 0,001	1,88 ± 0,12, p1,2 < 0,001
<i>КРОВЬ</i>			
СГЭ, %	20,1 ± 1,7	30,6 ± 2,7, p1 < 0,01	34,9 ± 1,2, p1 < 0,01
МДА-0, мкмоль/л	4,0 ± 0,4	7,5 ± 1,1, p1 < 0,01	2,4 ± 0,2, p1 < 0,1, p2 < 0,001
МДА-3, мкмоль/л	4,8 ± 0,3	9,5 ± 0,9, p1 < 0,001	4,8 ± 0,4, p2 < 0,02
ΔМДА, мкмоль/л, %	0,8 ± 0,1, 20	2,0 ± 0,4, p1 < 0,01, 150	2,4 ± 0,1, p1 < 0,001, 100
СОД, ЕД	1,05 ± 0,09	1,72 ± 0,12, p1 < 0,05	0,72 ± 0,10, p1,2 < 0,02
Пероксидаза, ЕД	24,4 ± 5,3	25,0 ± 7,1	36,6 ± 10,2
Каталаза, ЕД	2,08 ± 0,48	0,96 ± 0,10 p < 0,05	1,34 ± 0,14
ГSH-пероксидаза, ЕД	58,0 ± 12,1	108,0 ± 16,7, p1 < 0,05	106,7 ± 10,6
Глюкоза, моль/л	3,44 ± 0,34	7,67 ± 0,85, p1 < 0,001	3,70 ± 0,32, p2 < 0,001
НАД, мкмоль/л	409 ± 67	474 ± 24	519 ± 64
<i>ПЕЧЕНЬ</i>			
МДА-0, мкмоль/кг	63,0 ± 4,7	72,2 ± 6,3	57,7 ± 2,9, p2 < 0,05
МДА-3, мкмоль/кг	79,8 ± 4,6	106,0 ± 9,2, p1 < 0,002	64,9 ± 19,2, p1 < 0,1,
ΔМДА, %	27	47	13
АК, ммоль/кг	1,55 ± 0,24	1,32 ± 0,15	1,14 ± 0,46
ДАК, ммоль/кг	0,87 ± 0,14	0,76 ± 0,11	4,11 ± 0,46, p1,2 < 0,001
ГSH-пероксидаза, ЕД	49,0 ± 12,0	24,3 ± 5,9, p1 < 0,1	58,3 ± 11,2, p2 < 0,05
НАД, мкмоль/кг	1108 ± 196	1144 ± 70	831 ± 131, p2 < 0,05
Цитохромоксидаза, ЕД	0,82 ± 0,05	0,49 ± 0,07, p1 < 0,001	0,31 ± 0,03, p1 < 0,001, p2 < 0,01
Фторид, мкмоль/кг	11,7 ± 1,4	57,0 ± 21,6, p1 < 0,05	20,0 ± 1,5, p1 < 0,001, p2 < 0,1
<i>СЕРДЦЕ</i>			
АК, ммоль/кг	0,63 ± 0,09	1,16 ± 0,16, p1 < 0,01	0,49 ± 0,17 p2 < 0,02
ДАК, ммоль/кг	0,62 ± 0,14	0,43 ± 0,14	2,26 ± 0,23 p1,2 < 0,001
НАД, мкмоль/кг	868 ± 67	1041 ± 12	683 ± 34 p2 < 0,001
Цитохромоксидаза, ЕД	1,36 ± 0,13	1,21 ± 0,09	0,91 ± 0,08, p1 < 0,01, p2 < 0,02
<i>МОЗГ</i>			
МДА-0, мкмоль/кг	64,9 ± 5,55	56,8 ± 7,7	55,3 ± 2,4
МДА-3, мкмоль/кг	127,4 ± 14,5	148,1 ± 13,2	127,4 ± 9,9
ΔМДА, %	89	161	130
АК, ммоль/кг	1,31 ± 0,37	1,14 ± 0,19	0,78 ± 0,40
ДАК, ммоль/кг	0,63 ± 0,11	0,95 ± 0,18	2,66 ± 0,36, p2 < 0,002
НАД, мкмоль/кг	864 ± 98	1039 ± 33	755 ± 31
Цитохромоксидаза, ЕД	1,09 ± 0,05	0,92 ± 0,05 p1 < 0,05	0,66 ± 0,05, p1 < 0,001, p2 < 0,01
<i>ПОЧКИ</i>			
МДА-0, мкмоль/кг	55,3 ± 7,2	52,9 ± 5,3	43,3 ± 1,5
МДА-3, мкмоль/кг	110,6 ± 12,1	113,0 ± 13,2	60,1 ± 2,4, p1,2 < 0,001
ΔМДА, %	100	114	39
АК, ммоль/кг	1,45 ± 0,34	1,72 ± 0,22	0,62 ± 0,31, p1 < 0,05, p2 < 0,02
ДАК, ммоль/кг	0,36 ± 0,11	0,66 ± 0,15	2,83 ± 0,30, p1,2 < 0,001
НАД, мкмоль/кг	914 ± 166	1054 ± 75	913 ± 138
Цитохромоксидаза, ЕД	1,06 ± 0,04	0,88 ± 0,09, p1 < 0,001	0,72 ± 0,04, p1 < 0,001, p2 < 0,1
Фторид, мкмоль/кг	20,7 ± 2,3	87,3 ± 9,5, p1 < 0,001	55,9 ± 9,5, p1 < 0,001, p2 < 0,01
<i>МОЧА</i>			
Креатин, ммоль/л	0,39 ± 0,06	2,49 ± 0,46, p1 < 0,001	0,28 ± 0,08, p2 < 0,001
Креатинин, ммоль/л	6,66 ± 1,45	12,65 ± 0,46, p1 < 0,01	9,88 ± 1,30, p2 < 0,05
Фторид, мкмоль/л	33,3 ± 1,7	550 ± 60, p1 < 0,001	936,8 ± 109,5, p1 < 0,001, p2 < 0,002

Примечание: p₁ – сравнение с величинами нормы, p₂ – с величинами контроля; p > 0,1 не указано. Сокращения: СГЭ – спонтанный гемолиз эритроцитов, СОД – супероксиддисмутаза, ГSH – глутатион, АК – аскорбиновая кислота, ДАК – дегидроаскорбиновая кислота, МДА-3 – малоновый диальдегид, образовавшийся после трёхчасовой инкубации гомогената органа в железо-аскорбинатном прооксидантном буферном растворе, МДА-0 –ТБК-реагирующие продукты до инкубации пробы, ΔМДА – прирост за время инкубации.

ции креатинина.

Снижение в крови активности супероксиддисмутазы (фермента, синтез которого на генном уровне активируется субстратом – супероксиданионрадикалом) указывает на уменьшение генерации супероксида.

Снижение активности цитохромоксидазы в печени, почках, мозгу, сердце может быть указателем на развитие тканевой гипоксии.

Концентрация фторидов в сыворотке крови почках свидетельствует о тенденции к нормализации, а резкое увеличение (в 1,7 раза по сравнению с интоксикацией) экскреции фторидов с мочой указывает на благотворный эффект антиоксидантов.

Выводы

1. В условиях коррекции гиперфтороза комплексом антиоксидантов (витамины Е, С, Р) обнаружилось следующее. Снижение активности цитохромоксидазы, что можно оценивать как развитие тканевой гипоксии.
2. Введение повышенных доз антиоксидантов в комплексе способствуют снижению антиоксидантного потенциала в крови и мозгу, при его повышении в печени и почках.
3. Избыток антиоксидантов частично запасается в печени и почках, аскорбиновая кислота окисляется в дегидроаскорбиновую. Эти факты частично показывают некоторые отрицательные эффекты гиперантиоксидантной коррекции. Токоферольная обеспеченность способствует определённой нормализации экскреции с мочой креатина и креатинина.
4. Концентрация фторидов в сыворотке крови почках свидетельствует о тенденции к нормализации за счёт резкого увеличения экскреции фтора с мочой указывает на благотворный эффект антиоксидантов.
5. Но в целом, учитывая % выживаемости, комплекс с повышенным содержанием биоантиоксидантов не ока-

зал ожидаемого эффекта.

Литература

1. Беркало Л.В., Бобович О.В., Гейко О.О., Катрушов О.В., Кайдашев И.П., Кислий О.М., Куценко Л.О., Соколенко В.М., Сисюк В.А., Фадеева А.С., Цебржинский О.И. Посібник з експериментально-клінічних досліджень в біології та медицині. Полтава, 1997. –271 с.
2. Цебржинский О.И. Некоторые аспекты антиоксидантного статуса // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза. –Полтава, 1992. –С. 120-155.
3. Цебржинский О.И. Воздействие фторид-иона на антиоксидантный статус животных // Фтор, проблемы экологии, биологии, медицины, гигиены: Материалы научно-практической конференции. –Полтава, 1993. –С. 99-101.
4. Цебржинский О.И. Определение концентрации фторид-иона в тканях // Тези доповідей науково-практичної конференції «Організація токсикологічної допомоги в Україні». –Київ, 2002. –С. 65.
5. Varskeviciene L.L., Cerniauskiene R.C., Drybauskas P.S. Effect of tokopherol on the production of malondialdehyde in rat tissue homogenates after hypobaric exposure // Len. Physiol. and Biophys. — 1984. — 3, N 1. — P. 47-53.

References

1. Bercalo L.V., Bobovich O.V., Heyko O.O., Katrushov O.V., Kaydashev I.P., Kisliy O.M., Kutsenko L.O., Sokolenko V.M., Susuk V.A., Fadeeva A.C., Tsebrzhinsky O.I. Posibnik z experimentalno-klinishnich doslidgene v biologiyi ta medbtsini. Poltava, 1997. -271 s. (in Ukrainian)
2. Tsebrzhinsky O.I. Nekotorie aspekti antioxydantnogo statusa // Phisiolohia I patolohiya perekicnogo okisleniya lipidov, hemostaza I immunoheneza. –Poltava, 1992. –С. 99-101. (in Russian)
3. Tsebrzhinsky O.I. Vozdeystvie ftoride-iona na ahtioxydantniy status jivotnich // Ftor, problem ecologii, biologii, meditsini, gigieni: materialy naucovo-practishnoy konferentsiy. –Poltava, 1993. –S.99-101. (in Russian)
4. Tsebrzhinsky O.I. Opredelenie kontsentratsii ftoride-iona v tkanyach // Tezi dopovidey naukovo-practishnoy konferentsiy «Organizatsiya toxicologichnoi dopomogi v Ukraini». –Kiyv, 2002. –S.65. (in Russian)
5. Varskeviciene L.L., Cerniauskiene R.C.,

Drybauskas P.S. Effect of tokopherol on the production of malondialdehyde in rat tissue homogenates after hypobaric exposure // Len. Physiol. and Biophys. — 1984. — 3, N 1. — P. 47-53.

Резюме

ПРОТЕКТОРНИЙ ЭФФЕКТ КОМПЛЕКСУ БИОАНТИОКСИДАНТІВ ПРИ ФЛЮОРОЗИ

Цебржинський О.І.

В умовах корекції гіперфторозу (25 мг NaF/ кг маси тіла на добу, 100 днів) у морських свинок комплексом біоантиоксидантів (вітаміни E, C, P) виявилось наступне. Зниження активності цитохромоксидази можливо оцінювати як розвиток тканинної гіпоксії. Введення підвищених доз біоантиоксидантів в комплексі сприяють зниженню антиоксидантного потенціалу в крові і мозку, при його підвищенні в печінці та нирках. Надлишок антиоксидантів частково запасється в печінці та нирках, аскорбінова кислота окислюється в дегідроаскорбінову. Ці факти частково показують деякі негативні ефекти гіперантиоксидантної корекції. Токоферольна забезпеченість сприяє певній нормалізації екскреції з сечею креатину та креатиніну. Концентрація фториду в сироватці крові, нирках свідчить про тенденцію до нормалізації за рахунок різкого збільшення екскреції фтору з сечею, що вказує на позитивний ефект антиоксидантів. Але 60 % виживаність тварин знімає ці позитивні ефекти.

Ключові слова: фториста інтоксикація, комплекс вітамінів E, C, P.

Summary

THE PROTECTIVE EFFECT OF COMPLEX BIOANTIOXIDANTS WITH FLUOROSIS

Tsebrzhinsky O.I.

In the context of the correction hiperftoroz (25 mg NaF/kg body weight per day, 100 days) guinea pigs complex of antioxidants (vitamins E and C, P) revealed the following. Decrease in the activity of cytochrome oxidase can be viewed as the development of tissue hypoxia. The introduction of high doses of antioxidants in combination help reduce the antioxidant capacity in the blood and brain, with its increase in the liver and kidneys. Excess antioxidants partially stored in the liver and kidneys, ascorbic acid is oxidized to dehydroascorbic. These facts partially show some negative effects hiperantioksidants correction. Tocopherol security contributes to a certain normalization of urinary excretion of creatine and creatinine. The concentration of fluoride in the blood serum of kidney indicate a trend towards normalization due to the sharp increase in the excretion of fluoride in urine, indicating that the positive effects of antioxidants. But 60 % survival of the animals takes these positive effects.

Keywords: *fluorine intoxication, a complex of vitamins E, C, P.*

*Впервые поступила в редакцию 23.01.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 582.284.5; 615.281; 578.832

РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ГРИППЕ

Дивоча В.А.

Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса; divocha09@ukr.net

В работе описан метод получения ингибитора трипсиноподобных протеиназ из промышленных отходов получения гамма-глобулина донорской крови человека. Используя ионообменную хроматографию, было выделено 5 изоформ ингибитора трипсиноподобных протеиназ. Пятая изоформа обладала самой высокой ингибиторной активностью и низкой активностью трипсиноподобных протеиназ, которую использовали для изучения терапевтических свойств при экспериментальном гриппе. Наши исследования показали, что 5-ая изоформа ингибитора протеиназ на 80 % защитила животных, зараженных смертельной дозой вируса гриппа.

Ключевые слова: грипп, ингибиторы, протеазы, очистка фермента.

Введение

Грипп до настоящего времени остается одним из наиболее массовых заболеваний, которое приводит к госпитализации тысяч заболевших и высокой смертности.

Ежегодно в Украине заболевает от 10 до 14 млн. человек, что составляет 25-30 % общей заболеваемости населения. Заболеваемость остается высокой и причиняет большой ущерб. В настоящее время смертность от этих заболеваний и его осложнений не снижается, а, наоборот, отмечается стабилизация и увеличение этого показателя [1]. В 2010 г. от гриппа в Украине умерло 1127 человек, из которых 100 беременных женщин во 2-ом и 3-ем триместрах.

Актуальными остаются вопросы поиска препаратов для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ, особенно на ранних стадиях заболевания, учитывая ограниченные возможности врачей-практиков в дифференциальной диагностике этих заболеваний на предгоспитальном этапе. Для получения противогриппозного препарата нами была использована «протеолитическая» гипотеза развития вируса гриппа в организме человека [2]. Особенную роль протеолиз играет в процессе воспале-

ния, который инициирует универсальный неспецифический каскадный механизм активации протеолитических ферментов на локальном и системном уровнях. Эволюция создала механизм регуляции протеолиза в виде ингибиторов протеолиза, который имеется даже у микроорганизмов [3].

По нашим данным отходы сывороточного производства являются перспективным исходным биоматериалом для получения ингибитора трипсиноподобных протеиназ, обладающего противовирусными свойствами и наименьшей аллергенностью.

Цель работы – выделение ингибитора трипсиноподобных протеиназ из отходов 1-ой стадии промышленного способа получения гамма-глобулина донорской крови человека и изучение его защитных свойств при гриппе в эксперименте.

Материалы и методы

Вирус гриппа А/PR/8/34, белые мыши весом 16-18 г, промышленные отходы фракций (II+III) получения гамма-глобулина и альбумина донорской крови человека. Вирусы гриппа штаммы А/PR/8/34 (H1N1), адаптированный к белым мышам. Проведено IV пассажа. В работу брали белых беспородных мышей массой 16-18 грамм. Инфици-

рование животных вирусами гриппа А проводили под легким эфирным наркозом интраназально в объеме 0,05 мл, в разведении 10^{-1} (для штамма А, что соответствовало инфекционной дозе вируса $2,5 \cdot 10^2$ ЛД₅₀). Такие дозы обеспечивали 100 % гибель животных на 6-е сутки после заражения. У животных забирали легкие и кровь. Удаленные легкие белых мышей промывали дважды в холодном 0,01 М фосфатном буфере рН 7,5, растирали в холодной ступке, суспендировали в фосфатном буфере (1 мл на 1 легкое), гомогенизировали ультразвуком в режиме 7 на приборе High Intensity Ultrasonic Procession, Chicago Cole Parmel (USA), центрифугировали при 10^4 об/мин на центрифуге RS-5 фирмы Sorvall Instrumens, Rotor SS-34, в течение 1 ч, при температуре +4 °С.

Колоночную хроматографию белков проводили используя методы гель-хроматографии, ионообменной и аффинной хроматографии. Хроматографическое разделение белковых смесей проводили, используя шкаф низких температур (Combicoldrac 11), перистальтический насос (Microperplex) и коллектор фракций FCC-60 (Чехословакия). Обработку сефадексов и ионообменных смол осуществляли по стандартным методикам [4].

Ионообменную хроматографию проводили на ДЭАЭ-целлюлозе-32 целлюлозе (фирма Watman, США). Высота колонки составляла 19,0 см, диаметр – 2,5 см, объем фракций 10,0 мл, скорость 40,0 мл в час. Элюирование проводили 0,1 М фосфатным буфером рН 7,5 и ступенчатым градиентом NaCl 0,01 – 0,1 и 0,1 – 1,0. Было нанесено 9,3 мг белка.

Оценку активности трипсиноподобной протеиназы проводили по ме-

тоду К.Н. Веремеенко [5], модифицированным С.В. Вовчук [6].

Инфекционный титр вируса в крови инфицированных мышей и аллантоисной жидкости определяли путем заражения 9-10-дневных куриных эмбрионов и выражали в Ig ЭИД 50/0,2 мл. Реакцию гемагглютинации ставили по общепринятой методике. Определение белка проводили по методу W.J. Lowry [7]. Определение ингибиторов протеиназ в гомогенате легких, сыворотке крови и аллантоисной жидкости проводили казеиновым методом, предложенным А.П. Левицким [8, 9].

Результаты

На 1-ой стадии промышленного гамма-глобулина (по методу Кона), центрифугат утилизируют. Однако, по нашим данным, в этом центрифугате содержится 481,11 г ингибитора трипсиноподобных протеиназ на 1,0 кг исходного сырья (табл. 1).

Таблица 1

Содержание ингибитора трипсиноподобных протеиназ в отходах I-ой стадии (фракции II+III) промышленного получения гамма-глобулина из свежеполученного биоматериала (n = 5)

№	Образец	Белок, мг/мл	Ингибитор, г/кг
1.	Супернатант	19,36 ± 1,64	0,481 ± 0,046
2.	Осадок	11,07 ± 1,01	0,058 ± 0,004

Содержание ингибитора в супернатанте превышало в 8,0 раз его содержания в осадке. В связи с этим супернатант мы использовали для выделения и очистки ингибитора трипсиноподобных протеиназ методом ионообменной хроматографии. Разработка способа получения ингибитора в очищенном виде включала этапы: экстракцию фермента, ультразвуковую дезинтеграцию, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе 52, диализ, лиофильную сушку (патент Украины № 89778) [10]. Ионообменную хроматографию проводили в 0,1 М фосфатном буфере рН 7,5. Линейный градиент создавали в интервале 0,0 - 1,0 М NaCl на этом же буфере. Данный способ

позволил получить 5 изоформ, обладающих ингибиторной активностью (рис. 1). Первые две изоформы, в которых содержался ингибитор трипсиноподобных протеиназ, элюировали с ионообменной колонки 0,1 М фосфатным буфером pH 7,5. Следующие 3 изоформы, содержащие ингибитор трипсиноподобных протеиназ, элюировали ступенчатым градиентом NaCl разной молярности: 3-я изоформа – 0,1 М NaCl, 4-я изоформа – 0,2 М NaCl, 5-я изоформа – 0,5 М NaCl. Объемы элюатов изоформ были соответственно: 35 мл, 195 мл, 340 мл, 440 мл, 605 мл. Наибольшее содержание ингибитора трипсиноподобных протеиназ было зарегистрировано во фракции 5-й изоформы, которая последней элюировалась с колонки 0,5 М NaCl, а наименьшее – в 4-й и 3-й изоформах, которые элюировались с колонки 0,2 и 0,1 М NaCl соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в промышленных отходах I-ой стадии получения гамма-глобулина, содержалось 5 фракций ингибитора трипсиноподобных протеиназ, которые отличались между собой как по заряду, так и по солерастворимости.

Эти отличия могут быть обусловлены различиями в аминокислотном составе множественных форм данного

ингибитора.

Пятую изоформу, обладающую высокой ингибиторной активностью (132 у.е.) и низкой активностью трипсиноподобных протеиназ (0,0027 мкмоль/мин в пробе) использовали для изучения терапевтических свойств при экспериментальном гриппе у белых мышей.

Мыши были разделены на 7 групп, 4 опытные по 15 шт. и в контрольных группах по 10 шт. (табл. 2). Животные 1-ой группы получали смертельную дозу вируса (контроль вируса). Вирус вводили интраназально в объеме 0,05 мл под рауш-наркозом. 2-ая группа мышей получала аналогичную дозу вируса, но одновременно подвергались воздействию кристаллическим трипсином (контроль лечебных свойств кристаллического трипсина) в тех же дозах и сроках, что и животные 3-ей группы.

Третья группа животных была заражена той же дозой вируса и подвергалась лечению ингибитором трипсиноподобных протеиназ, полученным из отходов производства гамма-глобулина. 4-ая группа животных получала только ингибитор трипсиноподобных протеиназ из отходов (контроль ингибитора на токсичность). 5-ой группе животных вводили только трипсин кристаллический (контроль действия трипсина), шестой – фосфатный буфер, на котором разводили вирус, ингибитор и трипсин (контроль реактивов). 7-ая группа – контроль интактных животных (не получали никаких препаратов).

Ингибитор и трипсин вводили каждой мышке инт-

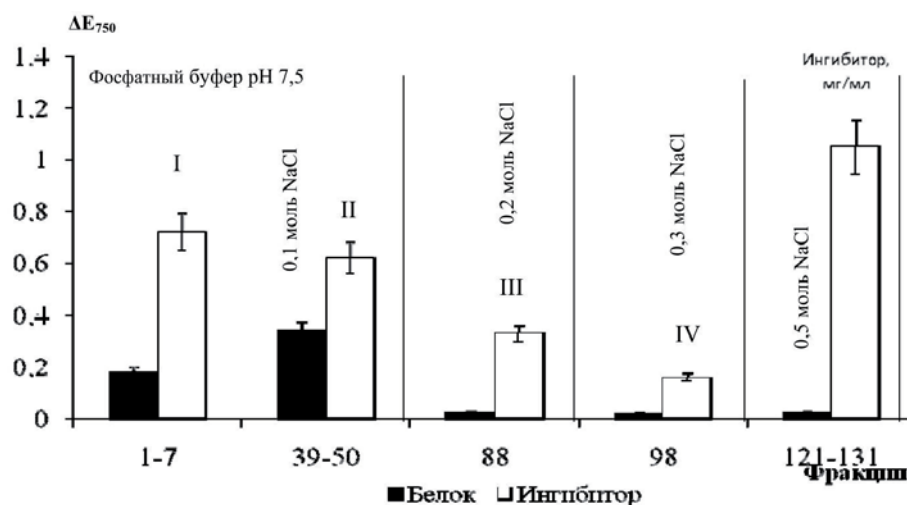


Рис. 1. Выделение и очистка ингибитора трипсиноподобных протеиназ из отходов I-ой стадии (II+III) промышленного способа получения гамма-глобулина

раназально под легким эфирным наркозом на протяжении семи суток. Каждая мышь получила в целом по 140 мкг ингибитора за курс лечения.

Как показали результаты исследований, животные 1-ой и 2-ой групп погибли на 3-8 сутки после заражения. Отмечается существенная разница в сроках гибели и клинической картине у мышей этих групп – мыши 2-ой группы начали гибнуть значительно раньше (на 3-и сутки после заражения). Можно делать вывод, что дополнительное введение трипсина ускорило течение гриппа после введения смертельной дозы вируса, так как гибель мышей наступила несколько раньше. В 3-ей группе выжило 12 белых мышей (80 %), они оставались живы и на 14-е сутки после заражения (общий срок наблюдения). Следовательно, ингибитор, блокируя трипсиноподобную протеиназу, в значительной степени подавлял инфекционный процесс, который индуцирует вирус гриппа.

Животные 4-ой, 5-ой, 6-ой и 7-ой групп оставались живы на протяжении всего срока наблюдения. Кроме того, вновь полученный ингибитор трипсиноподобных протеиназ, не вызывал токсичности, так как белые мыши 4-й группы оставались живы и на 14-й день после введения ингибитора.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что полученный из отходов I-ой стадии получения гамма-глобулина препарат ингибитора трипсиноподобных протеиназ, обладал отчетливым противовирусным свойством. Полученные результаты являются убедительным экспериментальным обоснованием ис-

Таблица 2
 Действие 5-ой изоформы ингибитора трипсиноподобных протеиназа на выживаемость мышей, зараженных смертельной дозой ($2,5^2$ ЛД₅₀) вируса гриппа A/PR/8/34

Название группы	Количество животных в группе	Доза вируса	Доза ингибитора на мышь мкг белка	Кол-во животных		% выживших животных
				пало	выжило	
Вирус гриппа А	15	10^{-1}	-	15	-	0
Вирус гриппа А + трипсин крист.	15	10^{-1}	20 мкг	15	-	0
Вирус гриппа А + ингибитор из отходов	15	10^{-1}	20 мкг	3	12	80
Ингибитор из отходов (токсичность)	15	-	20 мкг	-	15	100
Трипсин крист. (контроль)	10	-	20 мкг	-	10	100
Фосфатный буфер (контроль)	10	-	0,2 мл	-	10	100
Контроль животных	10	-	-	-	10	100

пользования выделенного ингибитора трипсиноподобных протеиназ для лечения вирусного гриппа. Ингибитор может быть использован не только при вирусном гриппе, но и при других вирусных инфекциях, при которых расщепление белка-предшественника вирусов производится клеточными трипсиноподобными протеиназами. К последним относится достаточно большая группа заболеваний от вирусного гепатита до СПИДа.

Обсуждение

Проблемы терапии по-прежнему актуальны, поскольку методы специфической профилактики и иммунотерапии гриппа недостаточно эффективны из-за выраженной вариабельности вирусов гриппа [11]. В силу вышесказанного, профилактическое значение вакцин хотя и весьма велико, но они не обеспечивают полной защиты популяции от заболеваний вирусным гриппом, даже в случае своевременного применения высокоспецифичных вакцин.

Гриппозные вакцины не исключают возможности аллергических реакций на белки сыворотки или белки куриных эмбрионов, что существенно ограничивает возможности их применения. Это особенно реально при изготовлении живой гриппозной вакцины, которая практически не проходит специальной очистки от белков куриных эмбрионов [12].

Поиск материала, из которого можно получить препарат, обладающий высокой противовирусной активностью (ингибитор трипсиноподобных протеиназ), и одновременно, обладающий наименьшей аллергенностью для человека, обратил наше внимание и заставил нас провести исследования крови человека, а также отходов сыровоточного производства на наличие в них сериновых протеиназ и их ингибиторов.

В литературе установлено, что сыrovотка крови является важным источником различных ингибиторов протеиназ. К изученным в настоящее время ингибиторам относятся: альфа₂-антиплазмин, альфа₂-макроглобулин, альфа₁-антитрипсин, антитромбин III, C₁-активатор, альфа₁-антихимотрипсин, интер-альфа-ингибитор трипсина и др. [3]. Хотя, вполне можно постулировать, что этим перечнем не исчерпывается количество и разнообразие ингибиторов протеиназ плазмы крови человека. Из поврежденных клеток различных органов в кровь могут поступать компоненты протеиназно/ингибиторных систем внутриклеточного происхождения.

Учитывая, что получение ингибитора из ткани легких мышей не может иметь промышленного значения, мы его видоизменили и разработали свой новый способ получения ингибитора трипсиноподобных протеиназ из промышленных отходов сыровоточного производства донорской крови человека для апробации его в качестве лечебного препарата [13].

Согласно предложенной методике, для выделения ингибитора трипсиноподобных протеиназ использовали отходы I-й стадии (II+III) промышленного получения гамма-глобулина из донорской крови человека, которые содержали значительное количество данного ингибитора [14, 15]. Данный способ позволил получить 5 изоформ, обладающих ингибиторной активностью.

Все полученные ингибиторы были исследованы по их активности. Наибольшая ингибиторная активность трипсиноподобных протеиназ была зарегистрирована во фракции V-й изоформы. Мы усовершенствовали методику выделения ингибитора трипсиноподобных протеиназ и получили патент Украины № 21599 от 15.03.2007 г. [13].

Мы изучили защитное действие V-й изоформы ингибитора трипсиноподобных протеиназ, выделенной из промышленных отходов I-й стадии. Как показали наши исследования, V-я изоформа ингибитора трипсиноподобных протеиназ на 80 % защищала животных, зараженных смертельной дозой вируса гриппа.

Введение V-й изоформы ингибитора трипсиноподобных протеиназ, свое защитное действие могло проявлять не только путем их блокады и угнетения инфекционного процесса, но и благодаря параллельному угнетению тканевых протеиназ, участвующих в реакциях иммунного воспаления, которое усугубляет вирусное повреждение легких.

Получение противовирусных препаратов из отходов донорской крови человека позволит полнее использовать белки крови, повысить экономическую целесообразность фракционирования, увеличить номенклатуру препаратов крови, что ведет к снижению себестоимости их производства.

В целом, ингибиторную терапию вирусного гриппа следует считать новым перспективным направлением в лечении этого заболевания и его осложнений. В связи с тем, что это направление лечения основано на общем для многих вирусов механизме депро-теинизации, следует предположить, что лечение многих вирусных заболеваний, можно также основывать на модуляции системы трипсиноподобная сериновая протеиназа/ингибитор: вирусные гепатиты, СПИД и многие дру-

гие. Наряду с главным способом угнетения протеиназ путем введения ингибиторов, перспективными могут быть стимуляция синтеза ингибиторов протеиназ, а также их активация. Данный патогенетический способ терапии вирусных заболеваний должен быть всесторонне проанализирован, как одно из перспективных общебиологических направлений, регулирующих взаимоотношение вирусов и организма человека.

Литература

1. Mitamura K., Sugaya N. Diagnosis and Treatment of influenza-clinical investigation on viral shedding in children with influenza // *Uirusu*. — 2006. — V. 56, N 1. — P. 109-116.
2. Веремеенко К.Н. Протеолитические ферменты и их ингибиторы, новые области применения в клинике // *Врачебное дело*. — 1994. — N 1. — С. 8-13.
3. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии — Киев: Здоровье, 1988. — 200 с.
4. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. — М.: Высшая школа, 1971. — 352 с.
5. Веремеенко К.Н. Ферменты в отоларингологии. — К.: Здоровье, 1980. — 147 с.
6. Вовчук С.В. Определение активности протеолитических ферментов в зерне злаковых культур // *Биохимические методы исследования селекционного материала: сб. науч. работ.* — Одесса, 1979. — Вып. XV — С. 69-74.
7. Lowry W.J., Baker F. Protein measurment with the Folin reagent // *J. Biol Chem.* — 1951. — V. 193. — P. 265-275.
8. Левицкий А.П. Пищеварительные ферменты слюнных желез: автореф. дис. на соискание уч. степени доктора мед. наук. — Одесса, 1974. — 54 с.
9. Левицкий А.П. Методы определения ингибиторов трипсина // *Биохимические методы исследования селекционного материала : сб. науч. работ.* — Одесса, 1979. — Вып. XV — С. 68-73.
10. Патент Україна № 89778. Спосіб виділення інгібітору трипсиноподібних протеаз із відходів одержання гамаглобу-

ліну та альбуміну донорської крові людини / заявник та патентодержатель Дівоча В.А.; опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5.

11. Гендон Ю. И. Проблемы профилактики гриппа у беременных женщин и новорожденных детей // *Вопр. вирусол.* — 2009. — № 4. — С. 4-10.
12. Гендон Ю.З., Маркушин С.Г., Анопова И.И. [и др.] Дальнейшая разработка культуральной (МДСК) живой холодоадаптированной гриппозной вакцины: культивирование вакцины штаммов в производственных ферментах // *Вопр. вирусологии.* — 2005. — № 2. — С. 4-9.
13. Патент № 21599 Україна, МПК (2006), А 61 К 36/00. Спосіб виділення інгібітора трипсиноподібних протеаз із відходів одержання гамаглобуліну та альбуміну донорської крові людини / Дівоча В. П., Михальчук В. М., Гоженко А. І — № u 2006 11233; заявл. 25.10.2006; опубл. 15.03.2007, Бюл. № 3.
14. Дівоча В.П., Михальчук В.Н., Гоженко А.І. Наявність трипсиноподібної протеази та її інгібіторів у відходах отримання гамаглобуліну // *Медична хімія.* — 2006. — Т. 8, № 1. — С. 60-63.
15. Дивоча В.А., Микелашвили М.Т. Наличие ингибитора трипсиноподобных протеаз в донорской крови человека и в отходах сыровоточного производства // *Естествознание на рубеже столетий: междунар. конф., Сочи, 8-10 октября 2001г.: тезисы докл.* — Москва, 2001. — Т. 3.- С. 63.

References

1. Mitamura K., Sugaya N. Diagnosis and Treatment of influenza-clinical investigation on viral shedding in children with influenza // *Viruses*. — 2006. — V. 56, N 1. — P. 109-116.
2. Veremeyenko K.N. Proteolytic enzymes and their inhibitors, new applications in the clinic // *Vrachebnoye Delo*. — 1994. — N 1. — P. 8-13.
3. Veremeyenko K.N., Goloborodko O.P., Kizim A.I. Proteolysis in normal and pathological conditions — Kiev: Health, 1988. — 200 p.
4. Kochetov G.A. A Practical guide to enzymology. — M.: Higher School, 1971. — 352 p.
5. Veremeyenko K.N. Enzymes in

- otolaryngology. — K.: Health, 1980. — 147 с.
6. Vovchuk S.V. Determination of the activity of proteolytic enzymes in the grain cereals // Biochemical research methods of breeding material: Sat. scientific. works. — Odessa, 1979. — V. 15 — С. 69-74.
 7. Lowry W.J., Baker F. Protein measurment with the Folin reagent // J. Biol Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265-275.
 8. Levitsky A.P. Digestive enzymes of the salivary glands: author. dis. on competition uch. degree of doctor of honey. Sciences. — Odessa, 1974. — 54 p.
 9. Levitsky A.P. Methods for determination of trypsin inhibitors // Biochemical research methods of breeding material: Sat. scientific. works. — Odessa, 1979. — V. 15. — С. 68-73.
 10. Patent Ukraine № 89778. Method trypsin protease inhibitor allocation of waste reception gamma globulin albumin and blood person / applicant and patentee Divocha V.A.; publ. 10.03.2010, Bull. N 5.
 11. Hendon Y.I. Problems prevention influenza in pregnant women and newborn children // Vopr. virusol. — 2009. — N 4. — P. 4-10.
 12. Hendon Y.Z., Markushin S.G., Anopova I.I. [et al.] Further development of the culture (MDCK) live cold-adapted influenza vaccine: the vaccine strains in the cultivation of industrial enzymes // Problems virology. — 2005. — N 2. — P. 4-9.
 13. Patent number 21599 Ukraine, IPC (2006), A 61 K 36/00. The method of selection of protease inhibitor trypsin of waste reception gamma globulin and albumin human blood / Divocha V.P., Mykhalchuk V.M., Gozhenko A.I. — № u 2006 11233; appl. 25.10.2006; publ. 15.03.2007, Bull. N 3.
 14. Divocha V.P., Mykhalchuk V.N., Gozhenko A.I. Availability trypsin protease and its inhibitor in the waste receiving gamma globulin // Medical Chemistry. — 2006 — V. 8, № 1. — P. 60-63.
 15. Divocha V.A. Mikelashvyly M.T. The presence of protease inhibitors trypsin donorskoy blood in humans and in waste handling sera production of natural science at the turn stolety: Internat. Conf., Sochi, 8-10 October 2001. Abstracts. — Moscow,

2001. — V. 3. — P. 63.

Резюме

РОЗРОБКА НОВОГО ПРОТИВІРУСНОГО ПРЕПАРАТУ ПРИ ГРИПІ

Дівоча В.П.

У роботі описаний метод отримання інгібітору трипсиноподібних протеїназ з промислових відходів отримання гамма-глобуліну донорської крові людини. За допомогою іонообмінної хроматографії було виділено 5 ізоформ інгібітору трипсиноподібних протеїназ. П'ята ізоформа володіла найвищою інгібуючою активністю та низькою активністю трипсиноподібних протеїназ, яку використовували для вивчення терапевтичних властивостей при експериментальному грипі. Як показали наші дослідження 5-та ізоформа інгібітору протеїназ на 80 % захистила тварин, заражених смертельною дозою вірусу грипу А.

Ключові слова: грип, інгібітори, протеази, очищення ферменту.

Summary

DEVELOPMENT OF A NEW ANTIVIRAL MEDICATION FOR THE GRIPPE

Divocha V.A.

The paper presents a method for obtaining an inhibitor of trypsin-like proteases from industrial waste producing gamma globulin donated human blood. Using ion exchange chromatography was allocated 5 isoforms of trypsin proteinase inhibitor. The fifth isoform had the highest inhibitory activity and low protease activity of trypsin which was used to study the therapeutic properties in experimental influenza. Our investigations have shown 5 isoform proteinase inhibitor by 80 % protection of animals infected with a fatal dose of influenza virus.

Keywords: influenza, inhibitors, protease enzyme purification.

Впервые поступила в редакцию 02.03.2015 г.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК616.43;616-008.9

A CORRELATION BETWEEN THE RENAL FUNCTIONAL RESERVE AND GLOMERULAR FILTRATION RATE IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

***Kuznetsova E.S., Kuznetsov S.G., Bobryk L.M.,
Shukhtin V.V., Gozhenko A.I.***

*Ukrainian Research Institute of Transport Medicine, Odessa;
ekateryna.endocrin@mail.ru*

Research aim: to study correlation between the renal functional reserve and glomerular filtration rate in patients with a diabetes mellitus 2 types.

Patients and methods. 40 patients, 14 men (35 %) and the 26th women (65 %) took part in research, aged from 39-76 years whom were estimated the level of HBA_{1c}, renal excretion of albumin and albumin-to-creatinine ratio, fixed abnormal changes in a urinary sediment and serum concentration of creatinine, glomerular filtration rate using the formula of GFR – EPI, and glomerular filtration rate after water-salt load of 0.5 % NaCl determined by clearance of creatinine followed by using them to determine a renal functional reserve.

Discussion results. Depending on the level of GFR, which ranged from 32 to 97 ml/min, all patients were divided into 3 groups — 3 patients (7.5 %) with GFR > 90 ml/min, 22 patients (55 %) with GFR 60-89 ml/min and 15 patients (37.5 %) with GFR 30-59 ml/min.

In all 15 patients (37.5 %) the declines in glomerular filtration rate from 30 to 59 ml/min were combined with the value of renal functional reserve varied from 16 to 500 %, averaged to 325 ± 17 %, concurrently, the hypercreatinemia ranged from 98 to 137 mmol/l in 12 patients (80 %) and albuminuria varied from 0.03 to 0.08 g/l and from 3.6 to 43.8 mg/mmol creatinine in 6 patients (40 %). At the same time, in 2 patients with estimated GFR > 90 ml/min, the total normal glomerular filtration rate was maintained by the nephrons hyperfiltration near its maximum functional operating limit in spite of the complete absence of kidney damage and good glycemic control. So during the water-salt load, these hidden abnormalities were manifested as a high urinary albumin excretion reached 26.7 mg/mmol creatinine and negative value of renal functional reserve varied from -6 to -8 %.

Conclusion. Direct correlation between glomerular filtration rate and functioning parenchyma mass was not found.

Keywords: *renal functional reserve (RFR), chronic kidney disease (CKD), glomerular filtration rate (GFR), albuminuria, albumin-to-creatinine ratio, glycated hemoglobin HbA_{1c}, diabetes mellitus 2 types*

Introduction

Kidney disease and its complications meets almost in all patient with type 2 diabetes and quite often the carbohydrate metabolism disorders are combined with comorbidities, such as cardiovascular disease. Since 2002, the Work Group of US experts has defined «chronic kidney disease» to include conditions that affect the kidney, irrespective of their origin. Many works has been published since the

introduction of the concept of chronic kidney disease (CKD) in clinical practice and the «gold standard» in the primary diagnosis of CKD recognized simultaneous estimation of two major indicators — the glomerular filtration rate (GFR) and albuminuria / proteinuria [1]. The level of glomerular filtration rate (GFR) is widely accepted as the best overall measure of kidney function [2]. The CKD-EPI equation was proposed as a more acceptable

indirect method for estimating GFR in clinical practice [1, 3, 4]. So, CKD-EPI has been used among diabetics [5]. Thus, judging by the GFR and albuminuria dynamics they determine the prognosis, the process control and the rate of the chronic kidney disease progression on the background of ongoing nephroprotective therapy. However, GFR depends on the number of functioning nephrons and on the filter conditions [6]. Therefore, in patients with type 2 diabetes can be either an active nephrons reduction with a compensatory hyperfiltration in the remaining nephrons so normal daily glomerular filtration rate can be declined long enough, or adaptive filtrate reduction occurs if the ability for reabsorption is decreased due to tubules damage [7]. And for the evaluation of this fundamental difference the renal functional reserve method was proposed by J. Bosh in 1983 [8]. However, this method is not commonly used in practice, despite the relevance and ongoing studies [9]. The obvious disadvantage of this method was the high labor cost until A.I. Gozhenko et al. developed a more successful and readily applied method to study the renal functional reserve using water-salt load, which do not require additional expenses or equipment and, thereby creates a unique opportunity to differentiate the nephrons death or their reversible damage in clinical practice [10, 11, 12].

Therefore, the purpose of the work is to assess the renal functional reserve state in patients with type 2 diabetes and to interrelate GFR with it.

Patients and methods

The study involved 40 patients with type 2 diabetes, with a grave course with severe underwent hospital treatment in Odessa Regional Clinical Medical Center during 2014 – 2015. There were 14 men (35 %) and 26 women (65 %), aged 39 – 76 years. The average age of the patients was 56 years.

Glycemic control of diabetes mellitus was estimated according to the level of glycosylated hemoglobin HbA_{1c}, as well as the glycemia and glycosuria dynamics.

The state of the cardiovascular system was evaluated by the blood pressure and Electrocardiogram.

The evaluation of the kidneys damage was established by the range of GFR, renal excretion of albumin and albumin-to-creatinine ratio (ACR), fixed abnormal changes in a urinary sediment and serum concentration of creatinine. Albuminuria was determined using test strips URISCAN.

To determine the glomerular filtration rate, the following GFR – EPI formula was used:

$$GFR = 141 \cdot \min(SCr/k,l)^a \cdot \max(SCr/k,l)^{-1.200} \cdot 0.993^{age} \cdot [1.018 \text{ in female}],$$

where SCr – serum creatinine (mg/dl), k – 0.7 in female and 0.9 – in male.

Also the glomerular filtration rate after the water-salt load of 0.5 % NaCl (GFR₆₀) was measured by clearance of creatinine followed by using it to determine a renal functional reserve.

The study of functional renal reserve

held in the morning hours on an empty stomach after urinary bladder emptying and drinking water with 0,5 % NaCl in a volume of 0.5 ml / kg body weight, calculated as:

$$FRR = (GFR_{60} - GFR) / GFR * 100 \%$$

Background data of the tested patients

Factor	n	%
1. Males \ females	14 \ 26	35 \ 65
2. Body mass index > 29	24	60
3. Hypertension (HT) Stage 2, chronic heart failure (CHF) at I \ II A stage	37 \ 6	92.5 \ 16
4. Diabetic retinopathy	38	95
5. GFR ≥ 90 ml/min	3	7.5
GFR 60 – 89 ml/min	22	55
GFR 30 – 59 ml/min	15	37.5
6. Serum creatinine, mcmol \ l > 115 in men and > 97 in women	12	30
7. Renal excretion of albumin > 0.02 г/л	16	40
8. HbA _{1c} < 7.5 % \ HbA _{1c} > 7.5 %	6 \ 34	15 \ 85

Table 1

Results and discussion

According to the GFR level, which ranged from 32 to 97 ml/min, all patients were divided into 3 groups — 3 patients (7.5 %) with estimated GFR > 90 ml/min, 22 patients (55 %) with estimated GFR 60-89 ml/min and 15 patients (37.5 %) with estimated GFR 30-59 ml/min.

Studying renal changes after water-salt load with 0,5 % NaCl, we found leukocyturia > 2000 in field of vision in 18 patients (45 %), erythrocyturia > 1000 in field of vision in 4 patients (10 %), albuminuria > 2.5 mg/mmol creatinine in males and > 3.5 mg/mmol creatinine in females in 20 patients (50 %).

Thus, of the participants with estimated GFR > 90 ml/min, in 1 patient an normal albuminuria of 2.6 mg/mmol creatinine was observed and in 2 patients severely increased albuminuria, reaching 26.7 mg/mmol creatinine was found.

Of the 22 patients with estimated GFR 60-89 ml/min, 10 people (45 %) had normal to mildly increased albuminuria, and 12 people (55 %) had moderately increased albuminuria, max. reaching 13 mg / mmol creatinine.

Of the 15 patients with estimated GFR from 30 to 59 ml/min, 9 people (60 %) had no violations, 5 patients (33 %) had albuminuria within 3.6-9.7 mg/mmol creatinine and 1 person had severely increased albuminuria reaching 43.8 mg/ mmol creatinine.

Correlation between HBA1c and albuminuria level is demonstrated in the in the figure 1 bellow:

Thus, of the 11 patients (27.5 %) with HbA1c level < 7.5 %, 7 patients had optimal urinary excretion of albumin, 2 patients had moderately increased albuminuria and 2 others patients had severely increased albuminuria.

Of the 29 patients (72.5 %) with the HbA1c level > 7.9 %, the optimal albuminuria was observed in 7 patients, moderately increased albuminuria was found out in 15 patients and severely

increased albuminuria was determined in 1 patient.

Of the 29 patients (72.5 %) with the level of HbA1c > 7.9 %, 7 had normal to mildly increased albuminuria, 15 had moderately increased albuminuria and 1 person had severely increased albuminuria.

We found that of 39 patients, 92.5 % had positive renal functional reserve ranged from 16 to 500 %, averaged 246 ± 13.2 %, despite considerable kidneys damage.

Studing a group of 15 patients (37.5 %) with decreased range of GFR (30-60 ml/min), hypercreatinemia with values from 98 to 137 mmol/l was recorded in 12 of them (80 %) and albuminuria from 0.03 to 0.08 g/l and from 3.6 to 43.8 mg/mmol creatinine was found in 6 patients (40 %). Besides, the leucocyturia, ranged from 2000 to 22 250 in field of vision and erythrocyturia, from 1000 to 1 750 in field of vision, was observed in 8 patients (53 %). So, all the patients from this group had obvious kidneys damage, but the renal reserve value was in the range from 16 to 500 %, with an average 325 ± 17 %. It was not found a direct correlation between decreased level of kidney function and its damage in this patient group and loss of functioning parenchyma mass, so, apparently, there was no functional nephrons death.

Only 3 patients had absent renal functional reserve, ranging from -6 to -28

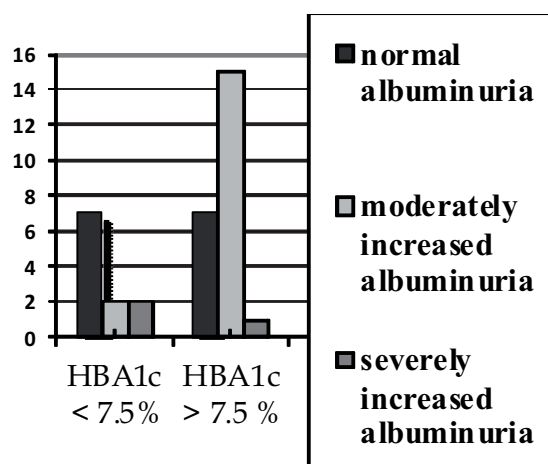


Fig. 1 Correlation between HBA1c and albuminuria level

% (Table 2).

Table 2

Descriptive characteristic in patients with the absent renal functional reserve

№	Sex	Age	BMI	HT St.2	HbA _{1c} %	Renal excretion of albumin, g/l	Serum creatinine, μmol/l	GFR, ml/min	GFR ₆₀ , ml/min	RFR, %	ACR after water-salt load mg/mmol creatinine
1	m	58	30	CHF II A	7.0	0.02	74	97	91	-6	26.7
2	m	51	28	CHF I	6.0	0.02	82	95	88	-8	26
3	f	59	40	CHF II A	11.8	0.15	76	74	53	-28	12.2

Table 3

Descriptive characteristic in patients after the water-salt load of 600 ml

№	sex	Age	BMI	The volume of fluid intake, ml	Urine output in 60 min., ml	% of urine output to fluid intake	Rate of urine flow, ml/min
1	m	58	30	410	270	65.8	4.5
2	m	51	28	415	290	69.8	4.8
3	f	59	40	600	20	3.3	0.33

In the 3rd case the existence of negative RFR of — 28 % is logic : metabolic disorders such as severe obesity, poor glycemic control with HbA_{1c} level of 11.8 % and mildly increased albuminuria were combined with hemodynamic disturbances — hypertension stage 2, chronic heart failure at II A stage. Besides, after the water-salt load of 600 ml, the ratio of urine output to fluid intake was 3,3 % and rate of urine flow was 0.33 ml/min (Table 3).

The feature that, the other two patients initially had normal renal excretion of albumin of 0.02 g/l, average GFR level of 96 ml/min, moreover, the optimal control of HbA_{1c} level 6.5 %, but during the water-salt load the negative RFR was recorded, reaching from -6 to -8 %. And it was not associated with a decreased rate of urine flow, which averaged 4.7 ml/min (Table 3). Thus, in spite of, any initially registered kidneys violations and good glicemic control, apparently, the total normal glomerular filtration rate was maintained by the nephrons hyperfiltration near its maximum functional operating limit. And during the water-salt load, this irreversible damage manifested as severely increased albuminuria of 26.7 mg/mmol creatinine and negative RFR, ranging from -6 to -8 %.

Conclusions

Of the 40 patients with type 2 diabetes mellitus, 20 had albuminuria with values from 0.03 to 0.15 g/l, on the average of 0.04 g/l, and after the water-salt load the renal excretion of albumin increased, being in the range from 3.6 to 43.8 mg/mmol creatinine.

The most of the patients (92.5 %) with type 2 diabetes with the GFR level from 30 to 97 ml/min, had the values of renal functional reserve in the range from 16 to 500 %, with an average 246 + 13.2 %, despite the presence of the albuminuria (50 %), hypercreatininemia (30 %), and decreased level of kidney function (37.5 %).

Negative RFR, ranging from -6 to -28 %, was detected only in some patients, on the initial stage of GFR. Thus, in these patients, despite of any registered kidneys damage and good glycemic control at first sight, given antihypertensive and so, nephroprotective therapy, the normal GFR was maintained by the total hyperfiltrating of remaining nephrons.

At the same time, all 15 patients (37.5 %) with decreased GFR level from 30 to 59 ml/min had the renal functional reserve in the range of 16 to 500 %, with an average of 325 ± 17 %, despite the hypercreatinemia with values ranging from 98 to 137 μmol/l in 12 patients (80 %) and moderately to severe increased albuminuria, varying from 3.6 to 43.8 mg/mmol creatinine in 6 patients (40 %).

Thus, the RFR study at the early stages of chronic kidney disease gives the opportunity to differentiate when normal GFR is provided by hyperfiltration of the

remaining nephrons, and, conversely, whether decreased level of kidney function is related with the nephrons death, or is a functional one.

References

1. Smirnov A.V. Chronic kidney disease / A.V. Smirnov, E.M. Shilov, I.N. Bobkov // National recommendation. - SPb.: Lefty, 2013. - P. 51
2. Levey A. S.MD K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification / A. S. Levey, J. Coresh, J. Hopkins // National Kidney Foundation, Inc. - 2002. - Am J Kidney Dis 39:S1-S266 (suppl 1).
3. Ivanov D.D. Chronic kidney disease / D.D. Ivanov, A.M. Korzh // Nephrology practice in family doctor. - 2014 - P. 58-85.
4. Levey A.S.. A new equation to estimate glomerular filtration rate / A.S. Levey et al. // Ann. Intern. Med. 2009. — V.150. — P. 604-612.
5. Camargo E.G. The Chronic Kidney Disease. Epidemiology. Collaboration (CKD-EPI) equation is less accurate in patients with Type 2 diabetes when compared with healthy individuals / E.G. Camargo, A.A. Soares, A.B. Detanico et al. // Diabet Med. - 2011;28(1):90-5.
6. James A. The pathophysiology of the kidney / A. James, Sheiman et al. // M.-1997. - P. 47
7. Gozhenko A.I. The pathogenesis of toxic nephropathy / A.I. Gozhenko // Actual problems of transport medicine. - 2006. - № 2 (4)
8. Bosch J. P. Renal functional reserve in humans / J. P. Bosch, A. Saccaggi, A. Lauer // Amer. J. Med. 1983. — Vol. 75. — P. 943-950.
9. Salikhov I.G. Renal functional reserve and tubular renal function in patients with diabetes mellitus 2 types / I.G. Salikhov, A.N. Maksudova, D.M. Hakimova // Diabetes mellitus. - 2011. - № 2.- P. 82-85.
10. Gozhenko A.I., Kuksanov N.I. Gozhenko E A. Method of determination of renal functional reserve in humans/ A.I. Gozhenko, N.I. Kuksanov, E. A. Gozhenko // Nephrology. 2001; 5 (4): 70-73.
11. Method for determination of renal functional reserve (guidelines)/ A.I. Gozhenko, V.M. Sirman, O.A. Gozhenko and others. - Kyiv. - 2012. - p. 26.
12. Gozhenko A.I. Renal functional reserve: mechanisms and methods to determine the diagnostic value/ A.I. Gozhenko, A.V. Haminich, E.A. Gozhenko // Nephrology. - 2009 - V. 13, № 3. - p. 149

Резюме

ВЗАИМОСВЯЗЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПОЧЕЧНОГО РЕЗЕРВА И СКОРОСТИ КЛУБОЧКОВОЙ ФИЛЬТРАЦИИ У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Кузнецова Е.С., Кузнецов С.Г., Шухтин В.В., Бобрик Л.М., Гоженко А.И.

Цель исследования: изучить взаимосвязь функционального почечного резерва и скорости клубочковой фильтрации у больных с сахарным диабетом 2 типа

Пациенты и методы. В исследовании принимали участие 40 больных, 14 мужчин (35 %) и 26 женщины (65 %), в возрасте от 39 — 76 лет, которым оценивали уровень HbA1c, мочевую экскрецию альбумина, стойкие изменения в осадке мочи и сывороточной концентрации креатинина, скорость клубочковой фильтрации, вычисляемую по формуле GFR – EPI, а также скорость клубочковой фильтрации после водно-солевой нагрузки с 0,5 % NaCl, определяемую по клиренсу креатинина, с последующим исследованием функционального почечного резерва.

Результаты и их обсуждение. В зависимости от уровня СКФ, который находился в пределах от 32 до 97 мл/мин, все пациенты были разделены на 3 группы — 3 пациента (7,5 %) со СКФ > 90 мл/мин, 22 пациента (55 %) со СКФ 60-89 мл/мин и 15 пациентов (37,5 %) со СКФ 30-59 мл/мин.

У всех 15 пациентов (37,5 %) со сниженной СКФ от 30 до 59 мл/мин значения функционального почечного резерва находились в промежутке от 16 до 500 %, в среднем 325 + 17 %, при этом была зарегистрирована у 12 пациентов (80 %) гиперкреатинемия со значениями от 98 до 137 ммоль/л, у 6 человек (40 %) — альбуминурия от 0,03 до 0,08 г/л и от

3,6 до 43,8 мг/ммоль креатинина. В то же время, у 2 пациентов со СКФ > 90 мл/мин, несмотря на, первый взгляд, отсутствие повреждений почек и хороший контроль гликемии, нормальная СКФ поддерживалась суммарной гиперфльтрацией оставшихся нефронов, работающих на своём функциональном пределе. И во время проведения пробы, при дополнительной водно-солевой нагрузке, эти необратимые нарушения проявились в виде высокой мочевой экскреции альбумина до 26,7 мг/ммоль и отрицательном ФПР от -6 до -8 %.

Вывод. Прямой взаимосвязи между скоростью клубочковой фильтрации и массой функционирующей паренхимы не найдено.

Ключевые слова: функциональный почечный резерв (ФПР), хроническая болезнь почек (ХБП), скорость клубочковой фильтрации (СКФ), альбуминурия, альбумин-креатининовое соотношение, гликозилированный гемоглобин HbA_{1c}, сахарный диабет 2 типа

Резюме

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ФУНКЦІОНАЛЬНОГО НИРКОВОГО РЕЗЕРВУ І ШВИДКОСТІ КЛУБОЧКОВОЇ ФІЛЬТРАЦІЇ У ХВОРИХ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

Кузнецова К.С., Кузнецов С.Г., Шухтін В.В., Бобрик Л.М., Гоженко А.І.

Мета дослідження: вивчити взаємозв'язок функціонального ниркового резерву і швидкості клубочкової фільтрації у хворих з цукровим діабетом 2 типу

Пацієнти та методи. У дослідженні приймали участь 40 хворих, 14 чоловіків (35 %) і 26 жінки (65 %), віком від 39 — 76 років, яким оцінювали рівень HbA_{1c}, сечову екскрецію альбуміну, стійкі зміни в осаді сечі і сироваткової концентрації креатиніну, швидкість клубочкової фільтрації, яка обчислюється за формулою GFR — EPI, а також швидкість клубочкової фільтрації після водно-солевого навантаження з 0,5 % NaCl, яка визначалася кліренсом креатиніну, з подаль-

шим дослідженням функціонального ниркового резерву.

Результати та їх обговорення. Залежно від рівня СКФ, який знаходився в межах від 32 до 97 мл/хв, всі пацієнти були розділені на 3 групи — 3 пацієнта (7,5 %) зі СКФ > 90 мл/хв, 22 пацієнта (55 %) зі СКФ 60- 89 мл/хв і 15 пацієнтів (37,5 %) зі СКФ 30-59 мл/хв.

У всіх 15 пацієнтів (37,5 %) зі зниженою СКФ від 30 до 59 мл/хв значення функціонального ниркового резерву перебували в проміжку від 16 до 500 %, в середньому 325 + 17 %, при цьому була зареєстрована у 12 пацієнтів (80 %) гіперкреатинемія зі значеннями від 98 до 137 ммоль/л, у 6 осіб (40 %) — альбумінурія від 0,03 до 0,08 г/л і від 3,6 до 43,8 мг/ммоль креатиніну. В той же час, у 2 пацієнтів зі СКФ > 90 мл/хв, незважаючи на, перший погляд, відсутність пошкоджень нирок і добрий контроль глікемії, нормальна СКФ підтримувалася сумарною гіперфільтрацією нефронів, працюючих на своїй функціональній межі. І під час проведення проби, при додатковому водно-солевому навантаженні, ці незворотні порушення проявилися у вигляді високої сечовий екскреції альбуміну до 26,7 мг/ммоль і негативному ФПР від -6 до -8 %.

Висновок. Прямого взаємозв'язку між швидкістю клубочкової фільтрації і масою функціонуючої паренхіми не знайдено.

Ключові слова: функціональний нирковий резерв (ФПР), хронічна хвороба нирок (ХХН), швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), альбумінурія, альбумін-креатинінове співвідношення, глікозилований гемоглобін HbA_{1c}, цукровий діабет 2 типу.

Впервые поступила в редакцию 14.02.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 615.27:577.125]:615.916'1:546.57

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АЛЬФА-ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ ЗА УМОВ ПІДГОСТРОГО ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ДЕКАЕДРИЧНОЇ ФОРМИ

Андрійчук Н. Й.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці; nadin_ua@mail.ru

В роботі досліджено можливі протекторні властивості альфа-ліпоєвої кислоти (АЛК) в дозах 12,5 та 25 мг/кг на лабораторних щурах за умов введення розчину декаедричних наночастинок срібла (НЧС) розміром 45 нм у дозі 5 мг/кг. АЛК та розчин НЧС вводили 1 раз на добу протягом 14 днів внутрішньоочеревинно. Протекторну дію ліпоєвої кислоти виявлено за допомогою морфометричного аналізу патоморфологічних змін внутрішніх органів експериментальних щурів. Профілактичне застосування АЛК за внутрішньоочеревинного введення у дозах 12,5 та 25 мг/кг призводить до зменшення інтенсивності пошкодження печінки, нирок, серця, легень та головного мозку НЧС декаедричної форми в 2-2,5 рази. Проведена оцінка протекторного впливу АЛК вказує на можливість застосування даного препарату за дози 12,5 мг/кг з метою профілактики шкідливого впливу НЧС декаедричної форми.

Ключові слова: наночастинок срібла, альфа-ліпоєва кислота, профілактика, морфометричний аналіз, дозозалежність.

Вступ

Срібло є одним із найпоширеніших досліджуваних металів у нанорозмірному діапазоні. В науковій літературі описані дослідження гострої, підгострої та субхронічної токсичності наносрібла сферичної форми різних розмірів, введеного щурам внутрішньошлунково, внутрішньоочеревинно, трансдермально та інгаляційно [1]. Так, за допомогою гістопатологічних досліджень виявлено зміни у внутрішніх органах щурів, а саме у тканині печінки, нирок, легень, сім'яників та міокарду під впливом наночастинок срібла (НЧС) сферичної форми [12, 14]. Ці зміни пов'язують із залежною від розміру, дози, та статі кумуляції наносрібла в тканинах внутрішніх органів [9, 13, 15, 16, 17]. Але в даних дослідженнях відсутня інформація, щодо кількісної оцінки патоморфологічних змін, які виникають у внутрішніх органах, як результат шкідливої дії наносрібла. Морфометричний аналіз, як один з різновидів кількісної стандартизованої морфології, займає особливе місце в тосико-гігієнічних дослідженнях і дозволяє усунути цей недолік [8]. Морфометрія знаходить широке застосування в моделюванні процесів роз-

витку передпатологічних станів і патології за умов дії конкретних токсичних факторів, оцінці специфічності їх дії, що дозволяє кількісно оцінити біоефекти, прогнозувати віддалені наслідки для конкретних досліджуваних біосистем і всього організму в цілому [7].

Попередньо проведені нами патоморфологічні дослідження свідчать про розвиток дозозалежного оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок, гепатоцитів, ядер кардіоміоцитів, альтерації епітелію бронхів різного калібру, повнокров'я кровоносних судин у стінках респіраторних відділів легень, каріопікнозу в нейронах кіркової речовини мозку щурів, які зазнали підгострої дії срібних нанодекаєдрів [2]. Морфометричний аналіз дозволив виявити інтенсивність цих змін, яка зростає в ряду: легені, нирки, печінка, серце, головний мозок.

Серед стандартних засобів профілактики та лікування металотоксикозів особливе місце займають комплексопи, які сприяють виведенню металів з організму та запобігають їхньому накопиченню. Оскільки важкі метали є тіоловими отрутами, то при інтоксикаціях ними високі

детоксикуючі ефекти відмічені для препаратів, які містять активні сульфгідрильні групи. Також, важкі метали володіють про-оксидантними властивостями й хронічна їх дія призводить до постійного зростання рівня вільних радикалів та виснаження антиоксидантної системи, різкого зменшення вітамінів-антиоксидантів, тому з метою профілактики отруєнь важкими металами успішно застосовуються антиоксиданти [6].

Відомо, що альфа-ліпоева кислота (АЛК) проявляє антиоксидантну активність, володіє детоксикаційною дією, являється комплексом, сприяючи виведенню з організму солей важких металів — таких, як свинець, ртуть, миш'як, мідь та ін. [10, 11].

З літературних джерел відомі позитивні результати застосування АЛК при отруєннях важкими металами [5], проте протекторні властивості препарату за умов їх впливу при отруєннях наносріблом не досліджувались.

Метою дослідження було вивчення можливих протекторних властивостей даного засобу за умов під гострого впливу НЧС декаедричної форми.

Матеріал і методи дослідження

У роботі використовували зразки розчинів НЧС декаедричної форми, синтезовані методом фотостимульованого відновлення. Досліджувані об'єкти виготовлені співробітниками кафедри неорганічної хімії Чернівецького національного університету імені Ю. Федьковича. Наносрібло отримували шляхом хімічного відновлення іонів Ag⁺ натрій боргідридодом у присутності натрію цитрату та полівінілпіролідону, далі здійснювали фотохімічний вплив матрицею світлодіодів з довжиною хвилі 470 нм. Дослідження просвічувальної електронної мікроскопії показали, що отримані наноматеріали мають структуру пласких декаедрів з поперечним діаметром близько 45 нм та висотою 30-40 нм. В якості стабілізатора використовували полівінілпіролідон [4].

Досліди проводили на 5 групах (по 8

тварин в кожній) лабораторних щурів самців віком 3 міс з дотриманням вимог біоетики, відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2011), які узгоджені з положенням Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з дослідницькими та іншими цілями (Страсбург, 1986). Перша група – біологічний контроль. Другій групі вводили розчин НЧС декаедричної форми розміром 45 нм у дозі 5 мг/кг. На третій та четвертій групах тварин з'ясовували вплив двох різних доз 12,5 та 25 мг/кг альфа-ліпоевої кислоти за умов введення розчину декаедричних НЧС у дозі 5 мг/кг. Альфа-ліпоеву кислоту та розчин НЧС вводили протягом 14 днів внутрішньоочеревинно. Евтаназія тварин здійснювалася згідно з діючими рекомендаціями та етичними стандартами у стані глибокого наркозу згідно до закону України № 3447-1 від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Дозу обирали відповідно до описаних в літературі досліджень. Так, для профілактики отруєння свинцем застосовували АЛК у дозі 25 мг/кг шляхом внутрішньоочеревинного введення та інтоксикації ртуттю у дозі 10 мг/кг [10]. Крім цього, берлітрон, у дозі 10-30 мг/кг входить до складу антидотної та інтенсивної терапії при гострих отруєннях важкими металами [3].

Для світлооптичного дослідження при гістологічному дослідженні біоптати тканин серця, нирки, печінки, легень, головного мозку фіксували у 10 % нейтральному формаліні. Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином.

Результати дослідження та їх обговорення

Патоморфологічне дослідження дозволило виявити дистрофічні зміни у кірковій речовині нирок тварин за введення НЧС. Негативний вплив НЧС на ниркову тканину характеризувався оборотнім набуханням епітелію звивистих каналців (рис. 1). При дослідженні препаратів нирки щурів, яким вводили АЛК, за умов підгострого впливу НЧС декаедричної

Таблиця 1

Кількісна патоморфологічна оцінка змін у внутрішніх органах щурів за умов підгострого впливу НЧС декаедричної форми та АЛК, %

Доза НЧС та АЛК, мг/кг	Нирки ¹	Печінка ²	Серце ³	Легені ⁴	Легені ⁵	Головний мозок ⁶
5	90,0 ± 1,3	63,0 ± 2,6	16,0 ± 1,1	96,0 ± 0,9	80,0 ± 3,6	17,0 ± 1,8
АЛК 12,5 + НЧС	54,0 ± 0,9	28,0 ± 1,4	6,0 ± 0,2	41,0 ± 0,8	32,0 ± 3,7	5,0 ± 0,9
АЛК 25 + НЧС	45 ± 0,7	27,0 ± 1,4	6,0 ± 0,8	41,0 ± 0,8	30,0 ± 2,8	4,0 ± 0,7

Примітки:

1. Поширеність оборотного набухання епітелію звивистих каналців нирок, %
2. Поширеність оборотного набухання гепатоцитів, %
3. Поширеність набухання ядер кардіоміоцитів, %
4. Поширеність альтерації епітелію бронхів різного калібру, %
5. Поширеність повнокров'я кровоносних судин у стінках респіраторних відділів легень, %
6. Поширеність каріопікнозу в нейронах кіркової речовини, %

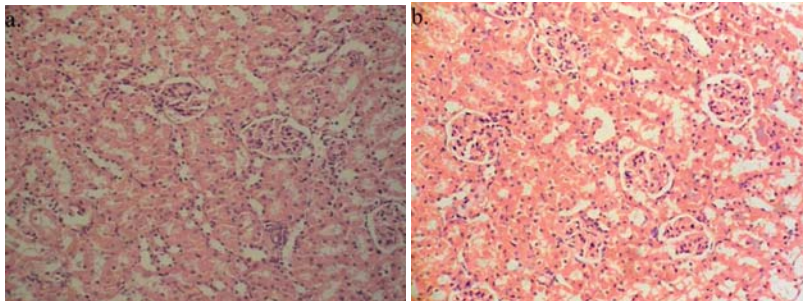


Рис. 1. Нирка щура за введення НЧС (а.) та АЛК (б.). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

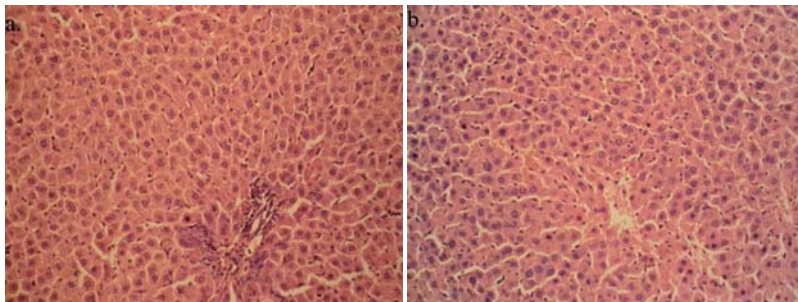


Рис. 2. Печінка щура за введення НЧС (а.) та АЛК (б.). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

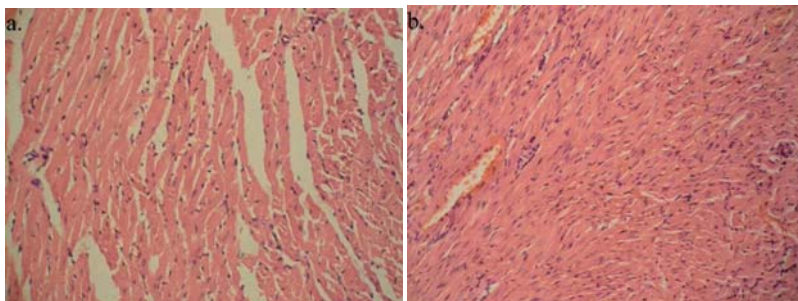


Рис. 3. Серце щура за введення НЧС (а.) та АЛК (б.). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

форми спостерігали зменшення поширеності оборотного набухання епітелію звивистих каналців на 40-50 % (табл. 1).

Дослідження тканини печінки щурів

уражених НЧС також вказує на пошкодження органу. Так, було виявлено оборотне набухання гепатоцитів, в основному у вигляді гідропічного набухання, інтенсивне злушення ендотелію з денудацією поверхні кровоносних судин у портальних трактах та центральних венах. У 5 ± 0,9 % гепатоцитів відмічалися явища каріопікнозу, як прояву некротичних змін цих клітин. У результаті введення АЛК на фоні впливу НЧС поширеність оборотного набухання гепатоцитів зменшилася на 54 %. При дослідженні препаратів печінки піддослідних тварин було виявлено значне зменшення інтенсивності злушення ендотелію та денудації поверхні кровоносних судин в портальних трактах та центральних венах (рис. 2).

Негативний вплив розчину НЧС декаедричної форми на міокард було виявлено при патогістологічному дослідженні серця. Зміни проявлялися у набуханні ядер кардіоміоцитів та інтенсивному злущенню ендотелію з денудацією поверхні кровоносних судин міокарда. Патогістологічне дослідження зразків органу щурів, яким вводили АЛК та НЧС декаедричної форми вказувало на зменшення набухання ядер кардіоміоцитів в міокарді на 63 % та виражене зменшення інтенсивності злушення ендотелію і денудацію поверхні кровоносних судин міокарда (рис. 3).

При забарвленні гематоксиліном і еозином зразків легень піддослідних тварин відмічена альтерація епітелію бронхів різно-

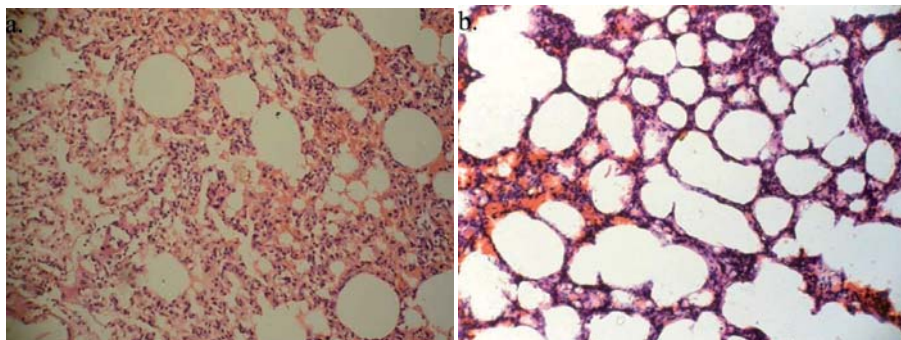


Рис. 4. Легені щура за введення НЧС (а.) та АЛК (б). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

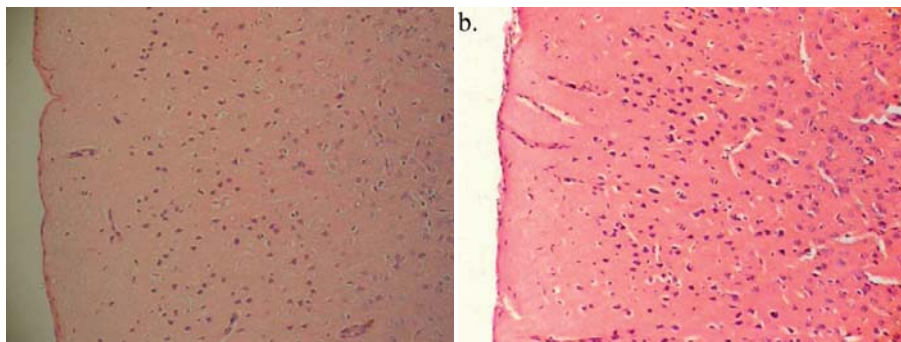


Рис. 5. Головний мозок щура за введення НЧС (а.) та АЛК (б). Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об.20^x. Ок.10^x.

го калібру у вигляді дистрофії або некрозу, в стінках респіраторних відділів легень відмічалось виражене повнокров'я кровосних судин у результаті підгострого впливу НЧС. За умов введення АЛК та НЧС при дослідженні препаратів легень щурів виявлено зменшення поширеності альтерації епітелію бронхів різного калібру та поширеності повнокров'я кровосних судин на 57 та 64 % відповідно (рис. 4).

Токсична дія НЧС була виявлена і при патогістологічному дослідженні головного мозку тварин. Так, у щурів спостерігався виражений спазм артеріол з розвитком періартеріолярного набряку. Крім цього, у нейронах кіркової речовини відмічали каріопікноз. Застосування АЛК призвело до зменшення поширення каріопікнозу в нейронах кіркової речовини на 69 % та зменшення значного періартеріолярного набряку у тканинах головного мозку піддослідних тварин (рис. 1.5).

Висновки

1. Протекторну дію ліпоєвої кислоти виявлено за допомогою морфометричного аналізу патоморфологічних змін внутрішніх органів експерименталь-

них щурів, які зазнали підгострого впливу НЧС.

2. Профілактичне застосування АЛК за внутрішньоочеревинного введення у дозах 12,5 та 25 мг/кг призводить до зменшення інтенсивності пошкодження печінки, нирок, серця, легень та головного мозку, за умов підгострого впливу НЧС декаедричної форми в 2-2,5 рази.

3. Проведена оцінка протекторного впливу АЛК вказує на можливість за-

стосування даного препарату за дози 12,5 мг/кг з метою профілактики шкідливого впливу НЧС декаедричної форми.

Література

1. Бойчук Т.М. До проблеми оцінки токсичності наночастинок срібла / Т. М. Бойчук, Н. Й. Андрійчук, Л. І. Власик // Клін. та експерим. патол. – 2012. – Т.ХІ, №4(42). – С. 151-158.
2. Власик Л.І. Особливості патоморфологічних змін у внутрішніх органах щурів унаслідок підгострого впливу срібних нанодекатрирів / Л.І. Власик, Н.Й. Андрійчук, І.С. Давиденко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2014. – Т.ХІІІ, №3(49). – С. 33-36.
3. Гострі отруєння важкими металами: антидоти та інтенсивна терапія./ Коновчук В. М., Власик, Л. І., Акентьев, С. О. [та ін.]// Медицина неотложных состояний. – 2014. – № 2. – С. 79-82.
4. Іліка А.І. Фотостимульоване відновлення йонів Аргентуму з утворенням декаедричних наночастинок / А. І. Іліка, І. А.Чікірка, Ю. Б.Халавка // Науковий вісник Чернівецького університету. — 2011. – Вип. 555.: Хімія. – С. 40-43.
5. Калінін І. В. Антиоксидантна система щурів за умов інтоксикації важкими ме-

- талами та при застосуванні а-ліпоєвої і фолієвої кислот / І. В. Калінін, Н. М. Данченко, Б. О. Цудзевич // Проблеми харчування. – 2013. — №1. — С. 55-58.
6. Сучасні підходи щодо профілактики інтоксикацій важкими металами/ Трахтенберг, І. М., Дмитруха, Н. М., Козлов, К. П. [та ін.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – № 1 (57). – С. 253-257.
 7. Прогнозирование токсичности и опасности химических соединений / Г.А. Степансий, А.И. Корбакова и т.д. // Сборник научных трудов. – Москва, 1987. – 120 с.
 8. Трахтенберг И. М. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей / И. М. Трахтенберг, Л. А. Тимофеевская, И. Я. Квятковская //Рига: Зинатне. – 1987. – 181с.
 9. In vivo Genotoxicity of Silver Nanoparticles after 90-day Silver Nanoparticle Inhalation Exposure / J. S. Kim, J. H. Sung, J. H. Ji / Safety and Health at Work. – 2011. – Vol. 2. – P. 34-38.
 10. Lyn P. Mercury Toxicity and Antioxidants: Part I: Role of Glutathione and alpha-Lipoic Acid in the Treatment of Mercury Toxicity / P. Lyn // Alternative Medicine Review. — 2002. – Vol.7 (13). – P. 456-471.
 11. Moini H. Antioxidant and prooxidant activities of б-lipoic acid and dihydrolipoic acid / H. Moini, L. Packer, N. E. L. Saris // Toxicology and applied pharmacology. – 2002. – Vol. 182, №. 1. – P. 84-90.
 12. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / J. H. Jung, J. H. Ji, J. D. Park [et al.] // Toxicological Science. – 2009. – Vol. 108 (2). – P. 452-461.
 13. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles / Y. S. Kim, M. Y. Song, J. D. Park [et al.] // Particle and Fibre Toxicology. – 2010. – Vol. 7 (20). – P. 1-12.
 14. The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes / D. P. K. Lankveld, A. G. Oomen, P. Krystek [et al.] // Biomaterials. – 2010. — No 31. – P. 8350-8361.
 15. Twenty-Eight-Day Inhalation Toxicity Study of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Jun Ho Ji, Jae Hee Jung, Sang Soo Kim [et al.] // Inhalation Toxicology. – 2007. — No. 19. – P. 857–871.
 16. Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Y. S. Kim, J. S. Kim, H. S. Cho [et al.] // Inhalation Toxicology. – 2008. – Vol. 20. – P. 575–583.
- ### References
1. Boichuk T.M., Andriichuk N.J., Vlasyk L.I. 2012, “To an Evaluation of Toxicity of Silver Nanoparticles”, Clinical and Experimental Pathology Vol. XI, №4(42), pp. 151-158. (in Ukrainian)
 2. Vlasyk L. I., Andriychuk N. J., Davydenko I. S. 2014 “Peculiarities of pathomorphological changes in internal organs of rats as a result of subacute effect of silver nanodecahedrons”, Clinical and Experimental Pathology. Vol. X11I, №3(49). pp. 33-36. (in Ukrainian).
 3. Konovchuk V.M., Vlasik L.I.1., Akentyev S.O., Akentyeva M.S. 2014. “Acute heavy metal poisoning antidotes and intensive care”. Medicine of urgent conditions. № 2.pp. 79-82. (in Ukrainian).
 4. Ilika A.I., Chikirika I.A., Khalavka Y.B. 2011. “Photochemical Reduction of Silver Ions Leads to the Formation of Decahedral Nanoparticles”, Chernivtsi University Scientific Herald. Vol. 555.: Chemistry. pp. 40-43. (in Ukrainian)
 5. Kalinin I., Danchenko N., Tsudzevich B 2013. “Antioxidant system in rats under intoxication heavy metals and applying a-lipoic and folic acids”. Problems of nutrition. №1. pp. 55-58. (in Ukrainian)
 6. Trakhtenberg I.M., Dmytrukha N.M., Kozlov K.P.et al. 2012. “New approaches to prevention of heavy metal intoxication”. Tavricheskiy medico-biologicheskiiy vestnik. № 1 (57). pp. 253-257(in Ukrainian).
 7. Stepanskij G.A., Korbakova A.I. al. 1987. “Prediction of toxicity and danger of chemical compounds”. Moscow. – 120 pp. (in Russian).
 8. Trakhtenberg I.M., Timofeevskaya L.A., Kvyatkovskaya I.Ya. 1987. “Methods of study of chronic effect of chemical and biological pollutants”. Riga. -- 181pp. (in Russian).
 9. In vivo Genotoxicity of Silver Nanoparticles after 90-day Silver Nanoparticle Inhalation Exposure / J. S. Kim, J. H. Sung, J. H. Ji / Safety and Health at Work. – 2011. – Vol. 2. – P. 34-38.
 10. Lyn P. Mercury Toxicity and Antioxidants: Part I: Role of Glutathione and alpha-Lipoic Acid in the Treatment of Mercury Toxicity / P. Lyn // Alternative Medicine Review. —

2002. – Vol.7 (13). – P. 456-471.
11. Moini H. Antioxidant and prooxidant activities of β -lipoic acid and dihydrolipoic acid / H. Moini, L. Packer, N. E. L. Saris // *Toxicology and applied pharmacology*. – 2002. – Vol. 182, №. 1. – P. 84-90.
 12. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles / J. H. Jung, J. H. Ji, J. D. Park [et al.] // *Toxicological Science*. – 2009. – Vol. 108 (2). – P. 452-461.
 13. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles / Y. S. Kim, M. Y. Song, J. D. Park [et al.] // *Particle and Fibre Toxicology*. – 2010. – Vol. 7 (20). – P. 1-12.
 14. The kinetics of the tissue distribution of silver nanoparticles of different sizes / D. P. K. Lankveld, A. G. Oomen, P. Krystek [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. — No 31. – P. 8350-8361.
 15. Twenty-Eight-Day Inhalation Toxicity Study of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Jun Ho Ji, Jae Hee Jung, Sang Soo Kim [et al.] // *Inhalation Toxicology*. – 2007. — No. 19. – P. 857–871.
 16. Twenty-Eight-Day Oral Toxicity, Genotoxicity, and Gender-Related Tissue Distribution of Silver Nanoparticles in Sprague-Dawley Rats / Y. S. Kim, J. S. Kim, H. S. Cho [et al.] // *Inhalation Toxicology*. – 2008. – Vol. 20. – P. 575–583.

Резюме

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ
ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ АЛЬФА-
ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ
ПОДОСТРОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ
СЕРЕБРА ДЕКАЭДРИЧЕСКОЙ ФОРМЫ

Андрийчук Н.И.

Буковинский государственный медицинский университет, г. Черновцы

В работе исследовано возможности протекторных свойств альфа-липоевой кислоты (АЛК) в дозах 12,5 и 25 мг/кг на лабораторных крысах в условиях подострого влияния раствора декаэдрических наночастиц серебра (НЧС) размером 45 нм в дозе 5 мг/кг. АЛК и раствор НЧС вводили 1 раз в сутки на протяжении 14 дней внутрибрюшинно. Протекторное действие липоевой кислоты выявлено с помощью морфометрического анализа патоморфологических изменений внутренних органов экспериментальных крыс. Профилактическое использование АЛК при

внутрибрюшинном введении в дозах 12,5 и 25 мг/кг приводит к уменьшению интенсивности повреждения печени, почек, сердца, легких и головного мозга НЧС декаэдрической формы в 2-2,5 раза. Проведенная оценка протекторного действия АЛК указывает на возможность использования данного препарата в дозе 12,5 мг/кг с целью профилактики вредного влияния НЧС декаэдрической формы.

Ключевые слова: наночастицы серебра, альфа-липоевая кислота, профилактика, морфометрический анализ.

Summary

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF
PROTECTIVE EFFECT OF ALPHA LIPOIC
ACID UNDER CONDITIONS OF
SUBACUTE EFFECT OF DECAHEDRON
SILVER NANOPARTICLES

Andriyчук N.I.

Bukovinian State Medical University

In the research there were learned the possible protective properties of alpha lipoic acid (ALA) in dosages 12,5 and 25 mg/kg on laboratory rats in conditions of subacute effect of solution of 45 nm sized decahedron-shaped silver nanoparticles (SNP) in dosage 5 mg/kg. ALA and solution of SNP were injected intraperitoneally once a day during 14 days. Protective effect of ALA was identified with the help of morphometric analysis of pathomorphological changes in the internal organs of experimental rats. Prophylactic usage of intraperitoneal injections of ALA in dosages 12,5 and 25 mg/kg led to 2-2,5 reduction of intensities of decahedron-shaped NSP's injury of heart, liver, lungs, kidneys and brain. Carried assessment of protective usage of ALA shows a possibility of its usage in dose 12,5 mg/kg for prophylaxis of harmful effects of decahedron-shaped SNP.

Keywords: silver nanoparticles, alpha-lipoic acid, prophylaxis, morphometric analysis.

*Впервые поступила в редакцию 23.12.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

ПАТОЛОГИЯ КЛЕТКИ КАК ОСНОВА ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА: СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД

(рецензия на монографию М.М.Тарских «Акрилаты-акрилонитрилы акриламид: от патологии клетки до патологии человека»)

Шафран Л.М., д.м.н., проф., Засл. деятель науки и техники Украины
Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса

Вышедшая в 2014 г. в Красноярске вторая монография известного токсиколога, Михаила Михайловича Тарских («Акрилаты-акрилонитрилы акриламид: от патологии клетки до патологии человека. Исследование молекулярно-клеточных механизмов токсичности наиболее распространенных в промышленности акрилатов и ее клинических проявлений: монография». – Красноярск, 2014. – 272 с.), является неординарным событием в профилактической медицине и экспериментальной биологии.

Современная гигиена полимерных материалов сложилась в 70-е -90-е годы XX столетия. Она в течение многих лет шла в ногу с развитием химии полимеров, технологиями синтеза, производства материалов и изделий, расширением потребительских свойств и областей применения соответствующих видов продукции. Широкое использование акриловых полимеров и сополимеров ознаменовало новый этап в полимерном материаловедении. От фенолформальдегидных, эпоксидных смол к поливинилхлоридам и полиолефинам, а затем – к металлопластам, композиционным материалам, полиэфирам и акриловым сополимерам, – на всем этом сложном пути токсиколого-гигиенические исследования обеспечивали безопасность применения, сохранение здоровья работающих и всего населения от, к сожалению, многих негативных для здоровья человека эффектов полимерных и синтетических материалов, ставших практически обязательными компонентами всех сфер жиз-

недеятельности человека на нашей планете. К числу наиболее перспективных и распространенных полимеров безусловно относятся акриловая и метакриловая кислоты, их амиды, нитрилы сложные эфиры, получаемые при их полимеризации, сополимеризации с бутадиеном, полистиролом, поливинилхлоридом смолы, полимеры, волокна, каучуки и эмульсии. Введение в лакокрасочные материалы (ЛКМ) водорастворимых акриловых мономеров ознаменовало приход новой эры в технологию ЛКМ, организацию производства и малярных работ. Помимо многих технологических и эксплуатационных преимуществ, именно с ними ассоциируется возможность отказа от органических растворителей и многих других опасных химических компонентов полимеров. Они существенно изменили традиционные представления и подходы к обеспечению безопасного применения широкого ассортимента синтетических материалов и полимерной продукции.

В новых условиях закономерно появились не только новые ценные продукты, но и приоритетные загрязнители производственной среды и зон обитания человека (а данном случае – акрилонитрил и акриламид), но и пути их биотрансформации, механизмы токсикогенеза и патологии химической этиологии. Их изучению практически на всех уровнях биологической организации (от молекулы, клетки до организма в целом) и посвящена рецензируемая монография.

Работа построена по классической для токсиколого-гигиенических исследо-

ваний схеме и состоит из трех взаимосвязанных глав: обзора литературы, характеристики объектов и методов исследования и анализа полученных результатов. Безусловно положительным элементом является клинико-экспериментальный характер исследования, сочетание в эксперименте опытов *in vivo* и *in vitro*, а также сравнительный анализ механизмов действия нитрила и амида акриловой кислоты. Хотя весь представленный автором материал читается с интересом и легкостью, следует остановиться на трех, по нашему мнению, наиболее новых и оригинальных позициях, которые касаются микросомального комплекса в контексте прооксидантно-антиоксидантных (дискордантных по своей направленности и соотношению) повреждающих и защитных векторов клеточного метаболизма; сопоставления экспериментально и клинически определяемых паттернов функционального состояния организма в условиях химической нагрузки с выделением нейротоксической и онкогенной составляющих, в том числе с использованием наиболее современных методов доклинической диагностики и оценки риска развития онкологических заболеваний (радиоиммунологический анализ). Число таких позитивных находок и решений существенно больше. Поэтому читатели монографии найдут в ней не только ответы на интересующие их вопросы оценки химической опасности акрилатов и полимеров на их основе, но и, что наиболее важно, пример рационального построения такого рода научных исследований. Это просто необходимо в эпоху

«забвения токсикологии», когда имеют место отсутствие специализированных курсов и программ в системе высшего медико-биологического образования, дефицит кадров и трудности материального характера в проведении полномасштабных работ такого плана. Монография представляет особую значимость для молодых ученых и специалистов-практиков, готовых использовать методологию и методы экспериментальной, клинической и профилактической токсикологии в своей повседневной работе.

Естественно, что не все аспекты проблемы получили достаточное освещение в монографии. Это, в частности, касается различий в механизмах острой и хронической токсичности акрилатов, иммуно-биохимических параллелей, генетической составляющей, интерпретации феномена «повышения стойкости и утолщения» эритроцитарной мембраны и некоторые другие позиции. Но при этом следует помнить, что даже самая глубокая и детальная исследовательская работа не может охватить такую огромную проблему в целом (да автор и не ставил такой «глобальной» задачи). Поэтому в заключение хотелось бы поздравить автора с прекрасной, важной, интересной и глубокой книгой, пожелать ему новых творческих успехов и порекомендовать монографию для прочтения и изучения широкому кругу токсикологов, гигиенистов, профпатологов, онкологов и другим специалистам медико-биологического профиля для использования информации в своей профессиональной деятельности.

Наши поздравления!

Our Congratulations!

К 75-ЛЕТИЮ ВРАЧА, МОРЯКА, УЧЁНОГО



Белобров Евгений Петрович, доктор медицинских наук, профессор академик Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности (МАНЭБ), заведующий Центром гигиены и токсикологии опасных, фумигированных грузов и аварийных ситуаций, руководитель «Группы экстренного медико-санитарного реагирования спасения при авариях с опасными грузами на судах и в портах» (ГЭМР-СПАС) ГП «Украинский НИИ медицины транспорта» Минздрава Украины,

Родился в г. Новороссийске 06 марта 1940 года. После окончания в

1957 году десятилетней школы № 7 поступил в Военно-морскую школу Краснознаменного Черноморского флота в г. Новороссийске. Свою трудовую жизнь начал с августа 1958 года на судах в Управлении вспомогательного флота КЧФ матросом-такелажником на плавкране «ПК- 84100» по разборке линкора «Новороссийск», затем рулевым, матросом-сигнальщиком и котельным машинистом на т/х «Сейма» (г. Севастополь, 1958-1960 г.г.). В 1960 г. поступил, а в 1966 г. окончил лечебный факультет Крымского медицинского института в г. Симферополе. В течение 20 с лишним лет работал судовым врачом на судах заграничного плавания пассажирского (т/х «Иван Франко», «Аджария») и торгового (т/х «Суджа», «Иван Коробцов», «Ялта», «Чусовой», «Алексей Данченко», и др.) Черноморского морского пароходства. С 1968 по 1971 г.г. служил корабельным врачом на крейсерах «Михаил Кутузов», «Грозный», начальником медицинской службы на эсминце «Находчивый» в «150-ой дивизии кораблей ПЛО и ПВО» Краснознаменного Черноморского флота города Севастополь. Участник боевых действий при проведении военно-морских операций в Средиземном море.

После окончания срочной службы с 1971 по 1982 г.г., работал врачом-токсикологом в Бассейновой токсикологической лаборатории Черноморско-Азовского вод здравотдела, где начал систематически заниматься научными исследованиями по различным проблемам гигиены и физиологии труда моряков в рейсах, а также осуществлял большой объём экспериментальных НИР по изучению системы иммунологической резистентности организма не только в лаборатории на берегу, но и непосредственно на судах дальнего плавания. В 1971-1972 г.г. принимал личное участие в ликвидации аварии и подъеме затонувшего в Одесском заливе т/х «Моздок» с грузом ядохимикатов (ДДТ) на борту.

С 1982 года он работает во Всесоюзном НИИ гигиены водного транспорта на должности старшего научного сотрудника, заведующего лабораторией

гигиены и токсикологии опасных грузов. При его непосредственном участии были разработаны большинство ныне действующих нормативных документов в которых отражена специфика работы тружеников моря и порта, морских фумигационных отрядов, учитываются физико-химические, токсические, аллергические свойства перегружаемых в портах и перевозимых на судах опасных грузов, а также применяемых на флоте фумигационных ядохимикатов.

В 1988 году Е.П. Белобров создал и возглавил «Группу экстренного медико-санитарного реагирования спасения при авариях с опасными грузами на судах и в портах» (ГЭМР-СПАС), целью которой было «спасение спасателей», обеспечение безопасности проведения аварийных и пост аварийных восстановительных работ., поиск и спасение людей на море в всеукраинской системе «SAR-Украина», сохранение жизни и моряков, докеров и членов фумигационных отрядов. Возглавляя ГЭМР-СПАС, он принимал личное участие в ликвидации аварий, спасении людей и оказании медицинской помощи на судах и в портах: пожар рыбной муки на т/х «Пролив» и «Генерал Морозов», горение табака в трюмах т/х «Севан», «Капитан Кушнаренок» и «Назым Хекмет», взрыв паров нефти на ОБО т/х «Маршал Гречко», пожар на лайнере «Максим Горький», т/х «Волна», утечка ядовитого газа фосфина из трюмов т/х «Одиск», «Роксолана», «Мунир Коч», «Св.Стефан» и др. Постоянный участник командно-штабных учений Минтрансвязи и Военно-Морского флота Украины по поиску и спасению на море (КШУ 1994, 2000-2010 годов). В 1985 году успешно защитил кандидатскую диссертацию, в 2007 – докторскую, а в 2009 году получил звание – профессор.

Постоянно оказывает экстренную радио-медицинскую помощь морякам в рейсе в системе Государственного морского спасательно-координационного центра (ГМСКЦ г. Одесса). За 20-летнюю работу провел более 300 успешных радио-медицинских консультаций морякам в дальнем плавании.

Основные научные интересы и направления исследований:

- гигиена, токсикология опасных и фумигированных грузов:
- производственная санитария труда докеров и моряков, работников транспорта и морских фумигационных отрядов, эколого-гигиеническая безопасность;
- морская медицина, экстренная медико-санитарная помощь морякам в условиях морского и океанического плавания, в том числе при авариях с опасными и фумигированными грузами на транспорте.

По материалам исследований опубликовано около 300 научных работ, в том числе монографии, справочные издания, руководящие документы, правила, инструкции домедицинской помощи при отравлении ядохимикатами и другие издания (в соавт.), среди которых такие, как «Морская фумигация: Словарь-справочник по обеззараживанию карантинных грузов на судах и в портах» (Одесса-2012, 343 с.), Медицинское приложение 18 «Меры первой медицинской помощи при несчастных случаях, связанных с транспортированием опасных грузов» в 3-х томном издании Правил морской перевозки опасных

грузов. (Правил МОПОГ, М.–1990. с.566-616), в издании «Общие и специальные правила перевозки наливных грузов, М.-1985 г.», раздел «Средства индивидуальной защиты и оказание первой медицинской помощи» в монографии «Организация управления охраной труда на морском транспорте» (Киев, 2004). Ведет большую изобретательскую деятельность — соавтор и обладатель 11 авторских свидетельств и Патентов Украины и более 50 рационализаторских предложений. Им разработаны ряд инструкции по охране труда моряков и работников морских фумигационных отрядов при обеззараживании грузов на судах в портах и на рейдах, по оказанию домедицинской помощи при отравлении фосфином на судах, в портах, железнодорожном и автомобильном транспорте, большое число нормативных, методических документов союзного, национального в рамках Украины и международного уровня.

На протяжении более 30 лет успешно сочетает научную работу с преподавательской деятельностью, является профессором кафедр «Технического менеджмента и безопасности на морском транспорте». В 2010 году создал и руководит специальными курсами «Морская фумигация» Одесского института последипломного образования специалистов морского и речного транспорта Украины, читает лекции на кафедре «Безопасность на море» в Одесской национальной морской академии. Он ведет обширную научно-общественную работу, являясь Директором проблемного совета эколога-гигиенической, токсикологической и медицинской безопасности Всеукраинской ГО «Фумигационная Ассоциация», эксперт Общественного Совета Экспертов «Государственной инспекции безопасности судоходства морского и речного транспорта Украины, является членом MNI Морского института Великобритании (Украинский морской институт), входит в редакционные коллегии и советы ряда научных журналов в Украине, а также ряда авторитетных научных обществ и организаций, Международная академия безопасности жизнедеятельности (МАНЭБ), Украинской ассоциации по защите моря от загрязнения (UKRMEPA)

Научная, производственная, общественная деятельность Белоброва Е.П. и работа по спасению моряков при авариях с опасными грузами отмечена медалями «За воинскую доблесть», «За трудовую доблесть. Ветеран труда», Золотой и 2-мя Бронзовыми медалями ВДНХ СССР, «Медалью Гиппократ», орденами «За мужество», «Звезда Почета», а также дипломами и грамотами Министерства здравоохранения, Министерства агрополитики Украины, Министерства транспорта и связи Украины, ГМСКЦ, награжден знаками Краснознаменного Черноморского флота «За дальний поход». «Отличник здравоохранения», «Почетный работник морского и речного транспорта Украины».

Редакционная коллегия журнала поздравляет юбиляра д.мед.наук, проф. Белоброва Евгения Петровича с знаменательной датой 75-летие со дня рождения и 40-летием научной и преподавательской деятельностью и желает крепкого здоровья и дальнейшей плодотворной работы.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. К публикации принимаются статьи на русском, украинском и английском языках научного характера в соответствии с тематикой журнала.
2. Необходимым условием для публикации статьи является соответствие её требованиям и положениям Этической декларации, принятой издательством *Elsevier* (с Этической декларацией можно ознакомиться на сайте нашего журнала <http://aptm.org.ua>).
3. Оформление статьи: код УДК, название, фамилия и инициалы авторов (инициалы располагаются после фамилии), организация, в которой была выполнена работа (необходимо указать адрес электронной почты или адрес для переписки), ключевые слова (на 3 языках). Реферат на английском, русском и украинском языках после текста статьи в объёме, достаточном для понимания ключевых положений статьи, — **обязательно!**
4. Структура статьи: введение; объекты, контингенты, методы исследования; результаты и их обсуждение; выводы; список цитируемой литературы (в порядке упоминания). Заголовки структурных частей выносятся на отдельную строку, к левому краю, полужирным шрифтом.
5. Список цитируемой литературы должен быть оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ 7.1-84. "БИБЛИОГРАФИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ДОКУМЕНТА. ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ И ПРАВИЛА СОСТАВЛЕНИЯ.", все сокращения должны отвечать требованиям ДСТУ 3582-97 "Скорочення слів в українській мові у бібліографічному описі. Загальні вимоги та правила". Кроме того, следует также прилагать список литературы, набранный латинским алфавитом на английском языке с подзаголовком "References".
При этом после ссылок на статьи на русском или украинском языке следует указывать "(in Russian)" либо "(in Ukrainian)". Пример оформления ссылок в этом случае:
Author A.A., Author B.B., Author C.C. 2013, "Title of article", Title of Journal, Vol. 10, No 2, pp. 49-53.
Подробную инструкцию по оформлению списка литературы на латинице можно прочесть на сайте нашего журнала aptm.org.ua.
6. Если статья, присланная для публикации, содержит материалы диссертационной работы, к ней должна прилагаться рецензия профильного специалиста. В случае отсутствия рецензии статья будет рецензирована членами научного редакционного совета.
7. Рукописи принимаются на рассмотрение редколлегии в электронном виде в формате документов Microsoft Word (*.doc, *.rtf) (на носителях либо по электронной почте — journal-medtrans@rambler.ru). Рисунки, фотографии, схемы, графики могут быть встроены в текст статьи либо прилагаться в виде отдельных файлов растровой или векторной графики. Убедительная просьба не формировать рисунки из отдельных фреймов и текстовых блоков. Графические объекты в растровом формате должны иметь разрешение, достаточное для передачи всех значимых деталей изображения. Иллюстрации должны иметь сквозную нумерацию и подписи. Таблицы и диаграммы желательно сохранять в формате Microsoft Excel.
8. Правила оформления текста общекультурного характера:
 - После знака препинания (но ни в коем случае не перед) ставится пробел. Это касается точки, запятой, двоеточия, многоточия, точки с запятой, вопросительного и восклицательного знака. Исключение — десятичная запятая в числе; она не отделяется пробелом.
 - Пробел ставится слева от открывающих кавычек и скобок и справа от закрывающих, но никак не наоборот.
 - Целая часть в десятичных дробях отделяется от дробной запятой, а не точкой.
 - Абзацный отступ (красная строка) выставляется средствами форматирования абзаца текстового редактора (например, в программе Microsoft Word «Формат >> Абзац >> Первая строка» либо путём перемещения бегунка на верхней линейке). Не допускается выставлять абзацный отступ пробелами или при помощи знака табуляции.
 - Форматирование текста многократным повторением пробелов или табуляторов не допускается.
 - Следует различать дефис и тире. Тире длиннее дефиса и обрамляется с обеих сторон пробелами; дефис не имеет пробела ни справа, ни слева.
 - Знаки «±», «=», «<», «>» должны с двух сторон отделяться от текста пробелами.
 - Ссылки на литературные источники следует давать в квадратных скобках (не в круглых и не в косых).
 - Буквенные константы и переменные, латинские термины и названия организмов следует давать курсивом, например: $t = 2,3$ (но не $t=2.3$); «Исследования *in vitro* показали...»; «из аэробного компонента факультативной нормальной кишечной флоры наибольшее значение имеют *Escherichia coli* и *Enterococcus faecium*».
 - Наконец, необходимо соблюдать правила грамматики и пунктуации.
9. Данные в таблицах, тексте и иллюстрациях не должны дублировать друг друга (а тем более друг другу противоречить).
10. Редакция оставляет за собой право отклонить статью, если её содержание или оформление не соответствуют требованиям для авторов или тематике журнала.