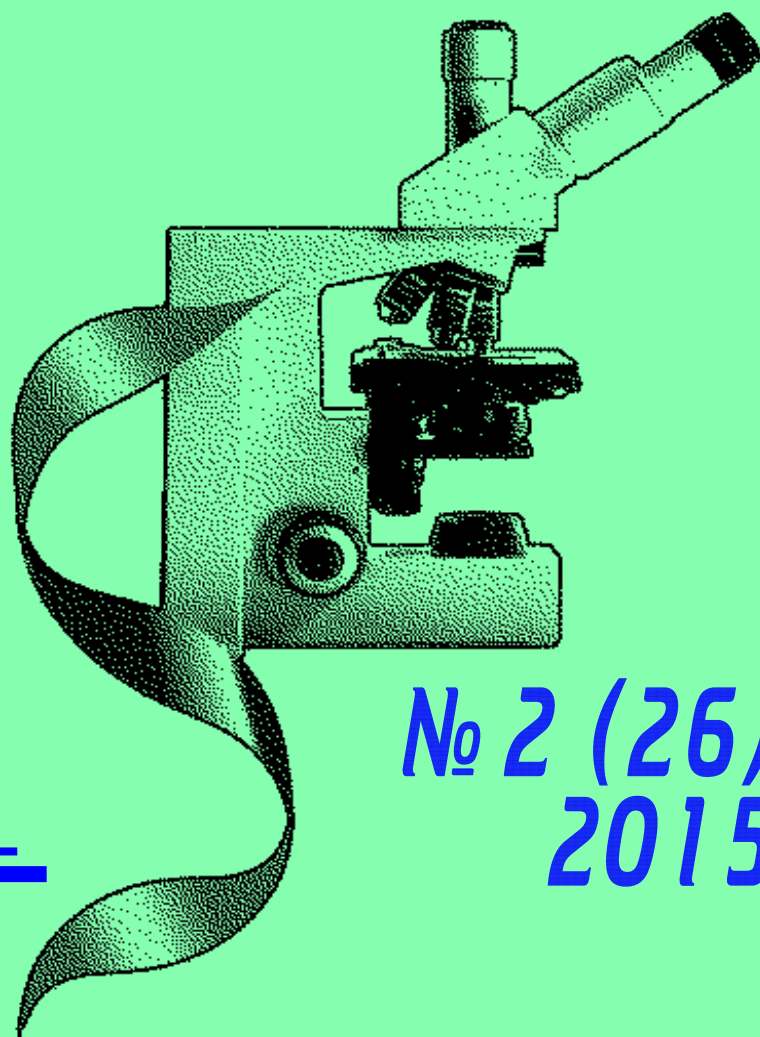


ДОСЯГНЕННЯ Д БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



№ 2 (26)
2015

ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

Засновники

Національна академія наук України
Національна академія медичних наук України
Одеський національний медичний університет

Головний редактор

В. М. Запорожан

Редакційна колегія

П. Б. Антоненко (*відповідальний секретар*), Ю. І. Бажора, Л. С. Годлевський (*заст. гол. редактора*), В. В. Годован, М. Я. Головенко, А. Г. Гулюк, В. Г. Дубініна, О. О. Зелінський, О. В. Зубаренко, М. А. Кашталъян, В. Й. Кресюн (*заст. гол. редактора*), А. П. Левицький, О. О. Мардашко, А. С. Сон, О. А. Шандра

Редакційна рада

С. А. Андронаті (Одеса), Г. М. Бутенко (Київ), Д. Д. Зербіно (Львів),
В. М. Казаков (Донецьк), Анелія Дімітрова Клісарова (Болгарія),
Г. В. Книшов (Київ), В. М. Коваленко (Київ), В. А. Кордюм (Київ),
Жозе Алехандро Мадрігал (Велика Британія), О. О. Мойбенко (Київ),
О. Г. Резніков (Київ), А. М. Романенко (Київ), М. Д. Тронько (Київ),
Чіттур Мохаммед Хабібурлла (Індія), Ральф Хусс (Німеччина),
В. Ф. Чехун (Київ)

№ 2 (26) 2015

Засновано 2001 року



ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

Науковий журнал

Адреса редакції:

65082, Україна, Одеса,
Валіховський пров., 2

Телефони:

(048) 728-54-58
(048) 723-29-63

Редактор випуску
В. М. Попов

Літературні редактори
і коректори

А. А. Гречанова
І. К. Каневський
Р. В. Мерешко
О. В. Сидоренко
О. В. Титова
К. М. Цвігун

Художній редактор
А. В. Попов

Комп'ютерний дизайн,
оригінал-макет

В. М. Попов
А. В. Попов

Поліграфічні роботи
М. Р. Мерешко
Л. В. Титова

Журнал зареєстровано
у Державному комітеті
інформаційної політики,
телебачення та радіомовлення
України.

Свідоцтво про реєстрацію
КВ № 5610

Передплатний індекс 08205

Підписано до друку 24.12.2015.
Формат 60x84/8. Папір офсетний.
Обл.-вид. арк. 13,0.
Тираж 150 пр. Зам. 1823.

Видано і надруковано
Одеським національним
медичним університетом.
65082, Одеса, Валіховський пров., 2.
Свідоцтво ДК № 668 від 13.11.2001

ЗМІСТ

Фундаментальні проблеми медицини та біології

- ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ
НОВОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КАПСАИЦИНОМ
Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко,
А. А. Шандра, М. Аят 4
- РІВЕНЬ ОКИСНЕНОГО ГЛУТАТІОНУ
ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ
М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ
О. В. Кулібаба, С. А. Петров 8
- ВПЛИВ ІМУНІЗАЦІЇ БИЧАЧИМ СИРОВАТКОВИМ
АЛЬБУМІНОМ НА ООЦИТИ, КЛІТИНИ
ЇХ ФОЛІКУЛЯРНОГО ОТОЧЕННЯ, КЛІТИНИ
ТИМУСА І ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У МИШЕЙ
А. П. Литвиненко, В. О. Срібна,
Н. Г. Грушка, Т. Ю. Вознесенська, Т. В. Блашків 10
- АНАЛИЗ НАПРЯЖЕННО-ДЕФОРМИРОВАННОГО
СОСТОЯНИЯ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ ПРИ НАГРУЗКЕ
НА АНКЕРНЫЙ ФИКСАТОР, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ
ДЛЯ ПОДВЕШИВАНИЯ ПЛЕЧА К АКРОМИОНУ
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРИВЫЧНОГО ВЫВИХА ПЛЕЧА
Ю. В. Сухин, В. А. Логай,
П. В. Данилов, Д. В. Лазарева 14
- ВИВЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНОЇ
ТА ШКІРНО-РЕЗОРБТИВНОЇ ДІЇ
АЗОТОВМІСНИХ ДЕТЕРГЕНТІВ
В УМОВАХ ПІДГОСТРОГО ДОСЛІДУ
В. В. Бабієнко, І. В. Сахарова, Л. І. Данильченко 18



Одеса
Одеський медуніверситет
2015

ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ
ДОСТИЖЕНИЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ
ACHIEVEMENTS OF BIOLOGY AND MEDICINE

МОЖЛИВІ ШЛЯХИ ПЕРЕРИВАННЯ NO-ЗАЛЕЖНИХ ШЛЯХІВ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗИ РІЗНОЇ СЕЛЕКТИВНОСТІ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ С. В. Горбачова, І. Ф. Беленічев	21
---	----

Оригінальні дослідження

ЗВ'ЯЗОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ З МАРКЕРАМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ П. Б. Антоненко	26
ІНФОРМАТИВНІСТЬ ТРАНСВАГІНАЛЬНОЇ ГІДРОЛАПАРОСКОПІЇ ПРИ ОБСТЕЖЕННІ ПАЦІЄНТОК З БЕЗПЛІДНІСТЮ О. Я. Назаренко, І. З. Гладчук, А. Г. Волянська	29
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ЗУБНЫХ ЩЕТОК СЛОЖНОЙ ФОРМЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СОСТОЯНИЕ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА И ТКАНИ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ Ю. Н. Коваль, Л. Б. Цевух	34
ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ОЛІГОСАХАРИДІВ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО БІОХІМІЧНОГО СКРИНІНГУ ЛІЗОСОМНИХ ХВОРОБ НАКОПИЧЕННЯ Н. Й. Мицик, Н. В. Ольхович, Н. Г. Горовенко	41
ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЕЗАСПОКІЙЛИВОЇ АКТИВНОСТІ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур	45
ДІАГНОСТИЧНЕ І ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ КРОВІ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ О. Б. Пікас	48
ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЕНАЛАПРИЛУ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ M235T АНГІОТЕНЗИНОГЕНУ У ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ Т. Ю. Понятовська	52
АНАЛІЗ МЕТИЛІРОВАНИЯ ГЕНА <i>WIFI</i> У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ПРОЦЕССАМИ И РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ В. Н. Запорожан, В. Г. Дубинина, В. В. Бубнов, В. Г. Маричереда, Н. Н. Рожковская, Н. А. Быкова	55

Нові медико-біологічні технології

СИМУЛЯЦИОННОЕ ОБУЧЕНИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ В МЕДИЦИНЕ В. В. Артеменко, В. М. Носенко, Р. С. Вастьянов, Л. И. Берлинская, Д. А. Новиков, С. С. Семченко, О. С. Егоренко	58
ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ НАНООКВАХЕЛАТІВ МЕТАЛІВ О. І. Брич, Е. О. Синетар, В. Г. Каплуненко	64

ЯКІСТЬ ПИТНОЇ ВОДИ — ФАКТОР, ЩО ДЕТЕРМІНУЄ СТАН ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ
(НА ПРИКЛАДІ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ)

В. Л. Михайленко 67

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ЖУРНАЛУ

«ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ ТА МЕДИЦИНИ» 71

ДО ВІДОМА АВТОРІВ

Публікація матеріалів у «Одеському медичному журналі» і журналі «Досягнення біології та медицини», які видаються Одеським національним медичним університетом, платна. Оплата здійснюється після рецензування статей і схвалення їх до друку, про що авторів повідомляють додатково.

З питань сплати за публікацію статей та довідок про їх надходження й опрацювання просимо звертатися до Віри Григорівни Ліхачової за тел. +38 (048) 728-54-58 (р.), +38 (097) 977-23-31 (м.), e-mail: vera@odmu.edu.ua.

Копію квитанції про сплату слід надсилати поштою на адресу: Одеський національний медичний університет, редакція журналу (назва журналу), Валіховський пров., 2, м. Одеса, 65082 — або передавати на факс +38 (048) 723-22-15 для В. Г. Ліхачової.

*Рекомендовано до друку Вченою радою Одеського національного медичного університету
Протокол № 2 від 19.10.2015 р.*

До відома авторів!

Постановою Президії ВАК України від 27 травня 2009 р. № 1–05/2 журнал «Досягнення біології та медицини» включено до переліку видань, у яких можуть публікуватися основні результати дисертаційних робіт із медицини та біології.

Передплатний індекс 08205

УДК 615.262.1:544.252.24+547.94

Ю. А. Бойко¹, канд. биол. наук,
И. А. Кравченко, д-р биол. наук,
А. А. Шандра¹, д-р мед. наук,
М. Аят

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КАПСАИЦИНОМ

¹ Одесский национальный медицинский университет,
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

Введение

В настоящее время основные средства, используемые в противовоспалительной терапии, принято делить на две большие группы — стероидные и нестероидные противовоспалительные препараты [1]. Группа стероидных противовоспалительных препаратов (СПВП), хотя и является сравнительно однородной по химическому строению, способна оказывать действие на самые различные звенья воспалительного процесса. В отличие от СПВП, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) гораздо более разнородны по своему химическому строению, но для большинства из них механизм противовоспалительного действия основан на уменьшении синтеза перекисных производных арахидоновой кислоты путем ингибирования ферментной группы циклооксигеназ [2]. Подобный узкий спектр действия серьезно ограничивает возможности применения НПВП и делает актуальной задачу поиска таких препаратов с принципиально новыми механизмами действия.

К НПВП с принципиально отличным механизмом действия, не затрагивающим циклооксигеназную активность, относятся препараты на основе *Cap-sicum annuum L.* (перца однолетнего). Использование перца од-

нолетнего в качестве лекарственного средства имеет длительную историю, было начато в Европе в XIX ст. и продолжается по сей день [3]. В качестве противовоспалительных средств препараты перца применяются при остеоартритах [4; 5], кожных и нейропатических болях [6; 7]. Основной группой соединений, оказывающих терапевтическое действие, служат капсаициноиды — алкалоидоподобные амиды, обуславливающие острый вкус и местное раздражающее действие препаратов перца [8; 9]. Наиболее распространенным представителем среди капсаициноидов является капсаицин, в связи с чем он был выбран в качестве действующего вещества для новой лекарственной формы с местным противовоспалительным эффектом. Небольшой молекулярный вес, а также липофильные свойства капсаицина позволяют предположить высокую чрескожную проницаемость этого соединения при правильном подборе соответствующей трансдермальной терапевтической системы.

Цель данной работы — изучение противовоспалительных свойств новых лекарственных форм с капсаицином.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на белых беспородных крысах-

самцах, массой 180–220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария, со свободным доступом к пище и воде. Все исследования соответствовали правилам «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» [10] (Страсбург, 1986) и принципам Национального конгресса Украины по биоэтике (Киев, 2003) [11].

Жидкокристаллические (ЖК) лекарственные формы готовили путем смешения 5 частей холестерилпеларгоната, 2,5 частей холестерилвалерата и 2,5 частей холестериладипината. Полученную смесь расплавляли, тщательно перемешивая. К расплаву добавляли действующее вещество, получаемая концентрация составляла 0,1 % по массе. В качестве действующего вещества использовали капсаицин — ванилиламид 8-метил-6-ноненовой кислоты (Wako Pure Chemical Ind., Китай). Эфиры холестерина для ЖК матриц были получены в отделе молекулярной структуры Физико-химического института им. А. В. Богатского НАН Украины.

Для модели воспаления были сформированы две группы животных — контрольная и опытная, по 10 крыс в каждой. Неспецифическое асептическое воспаление воспроизводили при помощи введения полного

адьюванта Фрейнда в область плюсневого сустава правой конечности в объеме 0,1 мл [12]. Лечение осуществляли с помощью нанесения на область воспаления конечности мягкой лекарственной формы один раз в сутки, начиная со следующего дня после введения флогогена и до полного выздоровления. Для контрольной группы животных терапевтический препарат заменяли дистиллированной водой.

Эффективность лечения оценивали по изменению морфологических признаков воспаления — ширины и объема конечности в области поражения. Ширину конечности измеряли электронным штангенциркулем УТ-7201 (УАТО, Польша). Под шириной понимали линейное расстояние от дорсальной до плантарной поверхности ступни в воспаленном участке. Изменение объема конечности определяли с помощью цифрового плетизмометра 37140 (UgoBasile, Китай).

Биохимические показатели крови — активность сывороточной холинэстеразы и общее количество серомукоидов в плазме крови — измеряли с помощью коммерческих тест-систем для экспресс-анализа производства ООО НПП «Филисит-Диагностика» (Украина).

Статистическую достоверность рассчитывали с использованием критерия Стьюдента в программном пакете MS Office.

Результаты исследования и их обсуждение

Введение адьюванта Фрейнда в область плюсневого сустава вызывало развитие острого неспецифического воспаления, которое при отсутствии лечения может переходить в хроническую форму, а в некоторых случаях вызывать ревматоидноподобное воспаление аналогичного сустава противоположной конечности. Подобная модель хорошо подходит для изучения лечебного эффекта капсаицина, терапевтический механизм действия которого основан на воздействии на специфические ванилоидчувствитель-

Ширина отека, мм

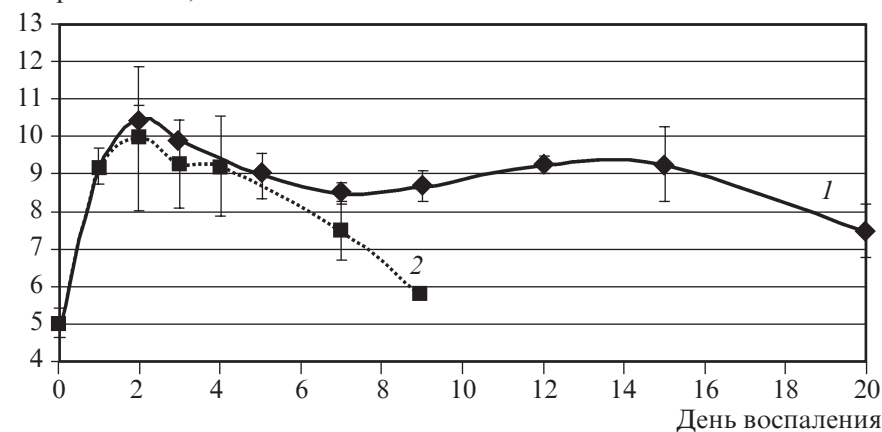


Рис. 1. Влияние жидкокристаллической системы с капсаицином на показатели ширины конечности в области адьювант-индуцированного воспаления у крыс. На рис. 1, 2: 1 — контроль; 2 — капсаицин + ЖК

ные рецепторы, уменьшении продуцирования субстанции Р в области воспаления, а также усилении микроциркуляции, что ведет к уменьшению отечных проявлений и улучшает местный гомеостаз [13; 14]. Данные изменения морфологических показателей воспалительного процесса (ширины и объема воспаленного участка), полученные для опытной и контрольной групп животных, приведены на рис. 1 и 2.

Уменьшение отека и, как следствие, уменьшение объема конечности в области воспаления фиксировалось уже на второй день лечения. Достоверные отличия в ширине воспаленного участка между опытной и контрольной группой животных наблюдались после 7-го дня

лечения, ширина отека в контрольной группе в 1,5 раза превосходила ширину отека в опытной группе. К 10-му дню лечения происходил возврат линейных показателей конечности в пораженной зоне к значениям, зарегистрированным до индуцирования воспалительного процесса (~ 5,5 мм ширина и ~ 0,9 мл объем). При этом наблюдалось не только исчезновение морфологических признаков воспаления — отека, покраснения, но и восстановление функциональной активности. Начиная с 10-го дня лечения, крысы свободно опирались на поврежденную конечность, при пальпации не обнаруживалась болезненность, полностью восстанавливалась подвижность в области плюсневого сустава.

Объем отека, мл

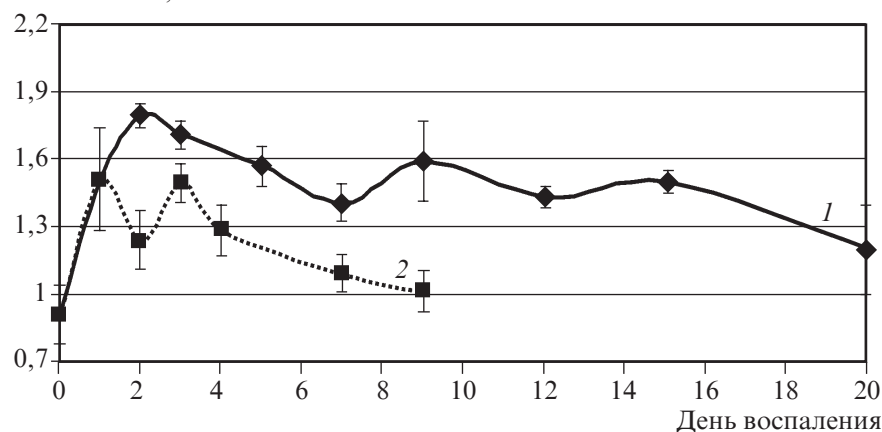


Рис. 2. Влияние жидкокристаллической системы с капсаицином на показатели объема конечности в области адьювант-индуцированного воспаления у крыс

В контрольной группе признаки воспаления отмечались до 20-го дня после введения флогена, в дальнейшем воспалительный процесс принимал хронический характер. Эффективность использованной терапевтической схемы мы можем объяснить не только значительным противовоспалительным действием капсаицина, но и высокой способностью ЖК матрицы усиливать чрескожную проницаемость для этого вещества.

Степень чрескожной проницаемости лекарственного вещества в случае трансдермального способа применения является одним из главных лимитирующих факторов, определяющих эффективность лечебного препарата. В наших работах [15; 16] было показано, что использование ЖК систем эфиров холестерина позволяет добиться значительного увеличения кожной проницаемости для небольших липофильных молекул, содержащих в своем составе ароматические и гетероциклы. Это становится возможным благодаря тому, что эфиры холестерина, будучи минорными компонентами мембран рогового слоя эпителия, определяют особенности липидной компоновки и влияют на уровень мембранной текучести. Дополнительным фактором, способствующим легкому встраиванию эфиров холестерина в липидные слои кожи, служит нахождение в переходной ЖК фазе смесей на их основе. Подобное фазовое состояние близко к фазовому состоянию биологических мембран, что значительно упрощает процесс проникновения данных веществ в кожные слои.

Использование лекарственной формы, состоящей из ЖК матрицы на основе эфиров холестерина и капсаицина в качестве активного вещества позволило добиться заметного лечебного эффекта в случае применения на модели адьювант-индуцированного воспаления.

Наряду с внешними признаками воспалительного процесса, бесспорную диагностиче-

скую ценность представляют также биохимические показатели сыворотки крови. В качестве подобных воспалительных маркеров нами были выбраны активность холинэстеразы и общее содержание серомукоидов. Данные об активности холинэстеразы представлены в табл. 1.

В зависимости от типа воспалительного процесса уровень холинэстеразы может как снижаться, так и повышаться. Введение адьюванта Фрейнда, сопровождающееся развитием острого воспаления, приводит к нарушению целостности волокон мышечной ткани, что повышает количество плазменной холинэстеразы и вызывает рост ее активности. При лечении лекарственной формой с капсаицином восстановление активности холинэстеразы до уровня, наблюдавшегося перед введением флогена — 48,68 мкмоль/(с·л), происходило на 9-й день. В группе сравнения активность фермента на 20-й день воспаления превосходила начальные показатели в 2,5 раза.

Показатели общего количества серомукоидов в сыворотке крови приведены в табл. 2.

Разрушение соединительной ткани в острой фазе воспалительного процесса сопровождается массированным попаданием серомукоидов в плазму крови. Динамика изменения их концентрации является важным прогностическим признаком при поражениях соединительной ткани, в том числе местных воспалительных процессов. Терапевтические мероприятия с использованием лекарственной формы с капсаицином позволили снизить количество серомукоидов сыворотки крови до начальных показателей (0,52 ед. опт. пл.) на 12-й день. Такое снижение свидетельствует о начале репаративных процессов соединительных тканей. В группе контроля сывороточные концентрации серомукоидов превосходили довоспалительные показатели более чем в 2 раза.

Динамика изменений биохимических показателей сыворотки крови хорошо коррелирует

Таблица 1
Активность сывороточной холинэстеразы при лечении неспецифического воспаления у крыс, мкмоль/(с·л)

День	Контрольная группа	Лечение ЖК + капсаицин
0	48,68	48,68
1	91,53	91,53
2	175,92	163,58
3	154,73	126,58
4	149,28	95,42*
7	146,81	80,10*
9	156,29	62,30*
12	176,46	51,84
15	158,36	—
20	118,69	—

Примечание. В табл. 1, 2: * — достоверное отличие от контроля, $p < 0,05$.

с соответствующими изменениями в морфологических признаках воспалительного процесса как для группы лечения, так и для контрольной группы животных.

Выводы

Проведенные исследования показали эффективность использования капсаицина в качестве противовоспалительного агента при адьювант-индуцированном неспецифическом воспалении. Использованная жидкокристаллическая матрица позволила, на наш взгляд, добиться высокой терапевтической концентрации действующего вещества.

Таблица 2
Концентрация серомукоидов в сыворотке крови при лечении неспецифического воспаления у крыс, ед. опт. пл.

День	Контрольная группа	Лечение ЖК + капсаицин
0	0,52	0,52
1	0,84	0,84
2	1,15	1,10
3	1,45	1,37
4	1,50	1,15*
7	1,62	1,01*
9	1,55	0,75*
12	1,90	0,57*
15	1,67	—
20	1,18	—

ющего вещества в очаге воспаления благодаря заметному увеличению чрескожной проницаемости для капсаицина. Уменьшение таких признаков воспаления как отек, покраснение, болезненность, нарушение функции было зарегистрировано нами уже после 2-го дня лечения. Полное восстановление морфологических показателей в зоне воспаления наблюдалось после 9-го дня лечения. В группе животных, не получавших лечение, признаки воспалительного процесса регистрировались вплоть до 20-го дня после введения флогогена. Нормализация биохимических показателей крови — активность сывороточной холинэстеразы и концентрация серомукоидов — также свидетельствует об улучшении состояния животных, лечившихся капсаицином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Харкевич Д. А. Фармакология / Д. А. Харкевич. — 10-е изд. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 908 с.
2. Беловол А. Н. Нестероидные противовоспалительные препараты: фокус на кеторолак / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Мистецтво лікування. — 2012. — № 1. — С. 15–19.
3. Bartolotty M. Red papper: from the kitchen to pharmacy / M. Bartolotty // J. Gastrointestinal Liver Dis. — 2013. — Vol. 22, N 3. — P. 253–256.
4. OARSI recommendations for management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines / W. Zhang, R. W. Moskowitz, G. Nuki [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. — 2008. — Vol. 16. — P. 137–162.
5. McCarthy G. M. Effect of topical capsaicin in the therapy of painful osteoarthritis of the hands / G. M. McCarthy, D. J. McCarty // J. Rheumatol. — 1992. — Vol. 19. — P. 604–607.
6. Epstein J. B. Topical application of capsaicin for treatment of oral neuropathic pain and trigeminal neuralgia / J. B. Epstein, J. H. Marcoe // Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol. — 1994. — Vol. 77. — P. 135–140.
7. Phase III placebo controlled trial of capsaicin cream in the management of surgical neuropathic pain in cancer patients / N. Ellison, C. L. Loprinzi, J. Kugler [et al.] // J. Clin. Oncol. — 1997. — Vol. 15. — P. 2974–2980.
8. Определение содержания капсаицина в разных сортах *Capsicum annuum* и изучение противовоспалительной активности его спиртовых экстрактов / Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, Р. Б. Богомольный, Аяд Мохаммед // Химия растительного сырья. — 2014. — № 3. — С. 303–308.
9. Куркин В. А. Стандартизация сырья и препаратов перца однолетнего / В. А. Куркин, Л. Р. Сулейманова // Фармация. — 2010. — № 6. — С. 15–18.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg, Council of Europe, 1986. — N 123. — 51 p.
11. Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
12. Стефанов О. В. Доклинические исследования лекарственных препаратов / О. В. Стефанов — К. : Авицена, 2001 — 528 с.
13. Interaction between cyclooxygenase inhibitors and capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesion. Role of oxidative stress / S. Kwicien, P. C. Konturek, A. Sliwowski [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. — 2012. — Vol. 63, N 2. — P. 143–151
14. Evaluation of in-vitro antibacterial anti-inflammatory activity for different extracts of *Rauvolfia tetraphylla* L. root bark / B. G. Rao, P. U. Rao, E. S. Rao [et al.] // Asian Pac. J. Trop. Biomed. — 2012. — Vol. 2, N 10. — P. 818–821.
15. Бойко Ю. А. Влияние жидкокристаллических систем эфиров холестерина на проницаемость и молекулярные свойства рогового слоя кожи *in vitro* / Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, Н. С. Новикова // Вісник Одеського національного університету — 2010. — Т. 15, № 13. — С. 106–114
16. Пат. на корисну модель 62236 Україна Засіб, що підсилює проникність шкіри для похідних 1,4-бенздіазепіну / Кравченко І. А., Бойко Ю. О., Новикова Н. С., Килименчук О. Д.; заявник та правовласник фіз.-хім. інститут ім. В. О. Богатського НАН України. — № у 2010 14097; заявл. 26.11.2010; опубл. 25.08.2011, Бюл. № 16.

Поступила 23.06.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Р. С. Вастьянов

УДК 615.262.1:544.252.24+547.94

Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, А. А. Шандра, М. Аят ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КАПСАИЦИНОМ

Противовоспалительный эффект капсаицина (активно-го соединения плодов *Capsicum annuum* L. [Solanaceae]) хорошо известен и показан в целом ряде исследований. Цель нашей работы — изучение противовоспалительной активности капсаицина в условиях модели острого локального воспалительного процесса. Для этого были приготовлены смеси с капсаицином, содержащие 50 % холестерилпеларгоната, 25 % холестерилвалерата, 25 % холестерилдипината. Лечение адьювант-индуцированного воспаления проводили жидкокристаллической лекарственной формой с капсаицином. Адьювант Фрейнда вводили субплантарно, что приводило к развитию ярко выраженной болезненной отечной воспалительной реакции задней конечности. Показано, что лечение капсаицином достоверно уменьшало проявления отека по сравнению с контрольной группой животных, где капсаицин был заменен на дистиллированную воду. Уровень активности сывороточной холинэстеразы и количество серомукоидов достоверно снижалось на 12-й день лечения капсаицином. Таким образом, жидкокристаллическая лекарственная форма с капсаицином обладает выраженными противовоспалительными свойствами.

Ключевые слова: капсаицин, воспаление, адьювант Фрейнда.

UDC 615.262.1:544.252.24+547.94

Yu. A. Boyko, I. A. Kravchenko, A. A. Shandra, M. Ayat ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE NEW LIQUID-CRYSTALLINE MEDICINAL FORM WITH CAPSAICIN

The anti-inflammatory effect of capsaicin (the active ingredient in *Capsicum annuum* L. [Solanaceae]) had been reported in several studies. The subject of the work is to determine the efficacy of topically applied capsaicin for acute inflammation. Topical liquid-crystalline cream with capsaicin are used to treat Freund's adjuvant induced inflammation. Formulation with capsaicin containing 25% cholesteroladipinate, 25% cholesterolvalerate, and 50% cholesterol pelargonate were prepared. Sub-plantar injections of Freund's adjuvant produced profound and time-related oedema in the rat hind paw. Capsaicin significantly inhibited paw swelling ($p < 0.05$) as compared to distilled water-treated 'controls'. The acetylcholinesterase and seromucoids levels were of normal range on the 12th day of treatment with capsaicin. It may be concluded that capsaicin has anti-inflammatory properties.

Key words: capsaicin, inflammation, Freund's adjuvant.

РІВЕНЬ ОКИСНЕНОГО ГЛУТАТІОНУ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Вступ

Алотрансплантація є стрес-фактором для організму, в результаті відбувається окиснення відновлених компонентів мембран наявних клітин, що веде до виникнення супероксидних аніонів [1]. Стрес — це один із найбільш активно досліджуваних фізіологічних станів організму, який зачіпає всі рівні його організації, і, в першу чергу, клітинний. Велика увага в сучасній фізіології клітин приділяється реакціям молекулярних систем, які забезпечують стійкість клітин і тканин до дії стрес-факторів [5]. Особливої актуальності набувають дослідження антиоксидантного захисту організму. Питання змін показників антиоксидантної системи в трансплантології м'язових тканин не з'ясоване. Глутатіон є одним із найважливіших компонентів системи антиоксидантного захисту у ссавців. Ця речовина бере участь в ензиматичних і неензиматичних реакціях дезінтоксикації від молекулярного до тканинного і системного рівнів [4].

Мета нашого дослідження — вивчення зміни рівня окисненого глутатіону при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини.

Матеріали та методи дослідження

У ході роботи було виконано три види операційного втручання: 1 — алотрансплантація ембріональних м'язових тканин; 2 — трансплантація м'язової тканини, взятої у щурів з од-

ного посліду; 3 — хибна операція. Експерименти проводили на базі лабораторії кафедри біохімії ОНУ ім. І. І. Мечникова. У роботі були використані білі нелінійні щури-самці масою 180–300 г. Щурів утримували на стандартному раціоні харчування віварію. Для алотрансплантації ембріональних м'язових тканин використовували ембріони віком 2–3 тиж. Під ефірним наркозом в асептичних умовах тварину фіксували до хірургічної дошки у положенні лежачи на спині, операційне поле виголювали та тричі обробляли антисептиком (йодобак). У мезогастральній ділянці поздовжнім розрізом пошарово розтинали черевну стінку. В ембріонів вилучали черевну м'язову тканину, яку фіксували лігатурою до черевної стінки дорослого щура. Рану пошарово зашивали наглухо вузловим швом. Операційну ділянку обробляли йодобакком. Загоєння рани відбувалося первинним натягом. Аналогічну операцію проводили зі стеговою м'язовою тканиною. Розріз виконували по внутрішній середній третині стегна. Трансплантацію м'язової тканини, взятої у тварин з одного посліду, проводили за тією самою схемою, що і алотрансплантацію для порівняння впливу ембріональної тканини на тканину реципієнта. Донором стегової та черевної м'язової тканини слугували щури-самці з одного посліду. Хибну операцію проводили для порівняння впливу хірургічного втручання. Контролем слугувала тканина, яку не піддавали хі-

рургічним втручанням. Рівень окисненого глутатіону [2] визначали в тканині донора та реципієнта на першу, третю та сьому добу після оперативного втручання.

Отримані дані обробляли статистично за Стьюдентом [3]. Спочатку обчислювали середньоарифметичне значення (Mсер) та розраховували середньоквадратичне відхилення (m). Використовуючи таблицю Стьюдента і значення t, визначали рівень значущості p. Відмінності між середніми значеннями вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Алотрансплантація стеговою м'язової тканини ембріона приводить до зменшення кількості окисненого глутатіону на першу добу дослідження як у тканині дорослого щура (в 1,4 разу), так і у тканині ембріона (в 1,5 рази) щодо контролю, що свідчить, імовірно, про перехід окисненої форми глутатіону у відновлену та є захисною функцією від окисного порушення (табл. 1). На сьому добу дослідження рівень окисненого глутатіону в стеговій м'язовій тканині дорослого щура в 1,4 разу перевищував контрольні значення, що є результатом зниження антиоксидантного захисту клітин. Якщо порівнювати рівень окисненого глутатіону у стеговій м'язовій тканині дорослого щура й ембріона, то в тканині дорослого щура його кількість достовірно перевищувала його вміст у тка-

Рівень окисненого глутатіону при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини, мкг/г тканини

Термін	Стегнова м'язова тканина		Черевна м'язова тканина	
	дорослого щура	ембріона	дорослого щура	ембріона
Контроль (без підсаджування)	4,00±0,38**	2,57±0,19	2,47±0,23	2,02±0,15
Перша доба	2,83±0,30*, **	1,75±0,15*	3,78±0,58**	2,27±0,14
Третя доба	3,73±0,35	2,83±0,41	5,23±0,47*, **	1,43±0,10*
Сьома доба	5,58±0,49*, **	2,32±0,23	2,30±0,25**	1,30±0,11*

Примітка. * — $p \leq 0,05$ достовірно щодо контролю; ** — $p \leq 0,05$ достовірно між м'язовими тканинами дорослого щура й ембріона.

Таблиця 2

Рівень окисненого глутатіону при трансплантації м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду, мкг/г тканини

Термін	Стегнова м'язова тканина		Черевна м'язова тканина	
	реципієнта	донора	реципієнта	донора
Контроль (без підсаджування)	4,00±0,38	4,00±0,38	2,47±0,23	2,47±0,23
Перша доба	2,83±0,41**	1,30±0,11*	9,10±0,56*	8,58±0,35*
Третя доба	5,70±0,45*, **	1,30±0,11*	7,42±0,37*, **	1,47±0,22*
Сьома доба	6,55±0,31*, **	1,17±0,06*	7,57±0,35*, **	1,27±0,12*

Примітка. * — $p \leq 0,05$ достовірно щодо контролю; ** — $p \leq 0,05$ достовірно між м'язовими тканинами донора та реципієнта.

нині ембріона до та після алотрансплантації, за виключенням третьої доби дослідження, де досліджуваний показник був приблизно однаковим.

Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона спричинює достовірну зміну рівня окисненого глутатіону щодо контролю лише на третю добу дослідження та перевищує контрольні показники удвічі, тобто окиснений глутатіон не відновлюється в тіолову форму, що призводить до зниження основного рівня оновленого потенціалу тіол-дисульфідної системи глутатіону. У черевній м'язовій тканині ембріона спостерігалося зменшення кількості окисненого глутатіону щодо контролю на третю (в 1,4 разу) та сьому (в 1,6 разу) добу дослідження. Такі зміни є захисною реакцією клітин від окисної деструкції.

У контролі рівні окисненого глутатіону черевної м'язової тканини дорослого щура й ембріона приблизно однакові та не виявляють між собою достовірної різниці. На першу (в 1,7 разу), третю (в 3,7 разу) та сьому (в 1,8 разу) добу дослідження рівень окисненого глутатіону був вищим у черевній м'язовій тканині дорослого щура порівняно з черевною м'язовою тканиною ембріона.

Трансплантація стегової м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду, призводить до достовірного збільшення рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта порівняно з контролем на третю (в 1,4 разу) та сьому (в 1,6 разу) добу дослідження (табл. 2). У стеговій м'язовій тканині донора навпаки спостерігалося зменшення рівня досліджуваного показника в усі терміни дослідження. При порівнянні кількості окисненого глутатіону між стеговою м'язовою тканиною донора й реципієнта встановлено, що у тканині реципієнта його кількість достовірно перевищує на першу (удвічі), третю (у 4,4 разу) та сьому (у 5,6 разу) добу дослідження.

Трансплантація черевної м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду на першу добу дослідження, призводить до збільшення рівня окисненого глутатіону щодо контролю у тканині як реципієнта (в 3,7 разу), так і донора (в 3,5 разу). На третю та сьому добу дослідження кількість досліджуваного показника у черевній м'язовій тканині реципієнта знизилася, але перевищувала контрольні значення приблизно утричі, тимчасом як у тканині донора зменшилася майже удвічі. На третю та сьому добу дослідження кількість окисненого глутатіону в черевній м'язовій тканині реципієнта

у 6 разів перевищувала її кількість у тканині донора.

Трансплантація м'язових тканин, взятих у щурів з одного посліду у даному випадку не чинить позитивного ефекту на тканині реципієнта, тому що рівень окисненого глутатіону збільшується.

При хибній операції рівень окисненого глутатіону на першу добу дослідження в стеговій м'язовій тканині дорослого щура в 3,5 рази перевищував контрольне значення та до сьомої доби знизився приблизно удвічі порівняно з контролем (табл. 3). У черевній м'язовій тканині хибнооперованих шу-

Таблиця 3

Рівень окисненого глутатіону при хибній операції, мкг/г тканини

Термін	Стегнова м'язова тканина дорослого щура	Черевна м'язова тканина дорослого щура
Контроль (без підсаджування)	4,00±0,38	2,47±0,2
Перша доба	14,13±0,14*	18,93±0,14*
Третя доба	4,15±0,41	24,08±4,71*
Сьома доба	2,25±0,31*	20,27±3,49*

Примітка. * — $p \leq 0,05$ достовірно щодо контролю.

рів спостерігалось достовірне зменшення кількості окисненого глутатіону щодо контролю в усі терміни дослідження.

Отже, алотрансплантація стегової м'язової тканини ембріона призводить до збільшення кількості окисненого глутатіону в тканині реципієнта, що є результатом зниження антиоксидантного захисту клітин. Можна припустити, що ці зміни пов'язані з впливом ембріональних клітин на тканину реципієнта. Алотрансплантація

черевної м'язової тканини ембріона приводить до стабілізації рівня окисненого глутатіону в тканині реципієнта.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин* / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. І. Сологуб, В. В. Снітинський // *Біологія тварин*. – 2000. – Т. 2, № 2. – С. 34–43.
2. *Горячковский А. М.* Клиническая биохимия в лабораторной диагностике : справ. пособие / А. М. Горячковский. – Одесса : Экология, 2005. – 616 с.

3. *Рокитский П. Ф.* Биологическая статистика / П. Ф. Рокитский. – Минск : Высшая школа, 1972. – 318 с.

4. *Салига Н. О.* Активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту у щурів за дії L-глутамінової кислоти / Н. О. Салига // *Український біохімічний журнал*. – 2013. – Т. 85, № 4. – С. 40–47.

5. *Birben E.* Oxidative stress and antioxidant defense / E. Birben, U. M. Sahiner, C. Sackesen // *WAO J.* – 2012. – N 5. – P. 9–19.

Надійшла 16.09.2015

Рецензент канд. мед. наук,
доц. Г. Ф. Степанов

УДК 594:094.3(262.5)

О. В. Кулібаба, С. А. Петров

РІВЕНЬ ОКИСНеноГО ГЛУТАТІОНУ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ

Глутатіон є одним з найважливіших компонентів системи антиоксидантного захисту у ссавців. У ході роботи було проведено три види операційного втручання: 1 — алотрансплантація ембріональних м'язових тканин; 2 — трансплантація м'язової тканини, взятої у щурів з одного посліду; 3 — хибна операція. Мета нашого дослідження полягала у з'ясуванні зміни рівня окисненого глутатіону при алотрансплантації ембріональної м'язової тканини. Алотрансплантація стегової м'язової тканини ембріона призводить до збільшення кількості окисненого глутатіону у тканині реципієнта, тимчасом як хибна операція — до його зменшення. Алотрансплантація черевної м'язової тканини ембріона сприяє стабілізації рівня окисненого глутатіону у тканині реципієнта. Можна припустити, що ці зміни пов'язані з впливом ембріональних клітин на тканину реципієнта.

Ключові слова: алотрансплантація, окиснений глутатіон, м'язова тканина.

UDC 594:094.3(262.5)

O. V. Kulibaba, S. A. Petrov

OXIDIZED GLUTATHIONE AT ALLOTRANSPLANTATION OF EMBRYONIC MUSCLE TISSUE IN RATS

Glutathione is one of the most important components of the antioxidant defense system in mammals. The aim of our study was to investigate the changes in the level of oxidized glutathione at allotransplantation of embryonic muscle tissue.

The work presents 3 types of surgical intervention: 1 — allograft of embryonic muscle tissue; 2 — transplantation of muscle tissue from the rats from the same litter, 3 — false operation.

The muscular tissue allograft embryonic femoral tissue increases the amount of oxidized glutathione in the tissue of the recipient. Allograft of embryonic abdominal muscle leads to stabilization of the level of oxidized glutathione in the tissue of the recipient. We can assume that these changes are related to the influence of embryonic cells in recipient's tissue.

Key words: allotransplantation, oxidized glutathione, muscle tissue.

УДК 612.62:616.155.194:615.038

А. П. Литвиненко,

В. О. Срібна,

Н. Г. Грушка, канд. біол. наук,

Т. Ю. Вознесенська, д-р біол. наук,

Т. В. Блашків, д-р біол. наук

ВПЛИВ ІМУНІЗАЦІЇ БИЧАЧИМ СИРОВАТКОВИМ АЛЬБУМІНОМ НА ООЦИТИ, КЛІТИНИ ЇХ ФОЛКУЛЯРНОГО ОТОЧЕННЯ, КЛІТИНИ ТИМУСА І ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У МИШЕЙ

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ

Вступ

Системні запальні процеси впливають на органи репродуктивної системи, зокрема на ско-

ротливість матки [1; 2], що може призводити до порушення імплантації та передчасних пологів, а також є однією з причин безплідності.

Раніше встановлено, що імунізація самок мишей введенням бичачого сироваткового альбуміну (БСА) призводить до запуску імунозапальної відповіді, яка

характеризується активацією клітинної ланки адаптивного імунітету, а саме антиген-специфічних лімфоцитів. Також відбувається зрушення лейкоцитарної формули вліво, збільшення індексу активації нейтрофілів, посилення функціонально-метаболічної активності клітин неспецифічної резистентності та зростання продукції біологічно активних речовин [3]. Однак можливі за таких умов розлади мейотичного дозрівання ооцитів, а також цитогенетичні порушення в клітинах фолікулярного оточення ооцитів, тимуса та лімфовузлів залишаються вивченими недостатньо.

Мета даної роботи — оцінити вплив імунізації БСА на мейотичне дозрівання ооцитів, життєздатність клітин фолікулярного оточення ооцитів, тимуса і лімфатичних вузлів і ушкодження цілісності геному клітин імунокomпетентних органів у мишей.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведене з використання невагітних самок мишей лінії СВА масою 16–18 г. Під час виконання роботи дотримувалися міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних досліджень. Імунізацію мишей здійснювали зростаючими дозами антигену — БСА (150–300 мг/кг маси миші, Sigma, USA) внутрішньовенно 1 раз на тиждень протягом 6 тиж. На сьому добу після останньої імунізації тварин піддавали ефірному наркозу і вилучали яєчники, пахові лімфовузли, тимус. Мишам контрольної групи вводили фізіологічний розчин за цією ж схемою. З яєчників мишей неферментативно (механічно) виділяли ооцити, які від мишей однієї групи збирали та розподіляли в окремі камери. Усі контрольні й

експериментальні ооцити культивували в однакових умовах (стерильний бокс, камери по 400 мкл культурального середовища DME з 15 мМ NERES, концентрація Ca^{2+} 1,71 мМ, температура 37 °С, тривалість 20 год).

Морфологічні дослідження ооцитів проводили під мікроскопом МБС-10. Визначали стан зародкового пухирця, перивітелінового простору та цитоплазми, а саме щільність, ступінь гранульованості, ознаки фрагментації та дегенерації. Після 2 год культивування підраховували ооцити (відсоток від загальної кількості), що перебували на стадії метафази I (розчинення зародкового пухирця), а після 20 год — на стадії метафази II (формування першого полярного тільця). Шляхи клітинної загибелі вивчали з допомогою методу прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 та йодиду пропідіуму. Зв'язані з хроматином барвники дають змогу оцінити морфологічні особливості ядерного матеріалу.

Відсоток живих і ушкоджених клітин тимуса та лімфатичних вузлів установлювали рутинним методом виключення барвника — трипанового синього. Забарвлення флуоресцентними барвниками проводили в забуференому фосфатами фізіологічному розчині (ЗФР) із подальшим двократним відмиванням клітин у ЗФР під час центрифугування (2000 об/хв, 7 хв) і фіксували 5 % формаліном у ЗФР (2 хв). Оцінку проводили не менш як 200 клітин за допомогою люмінесцентного мікроскопа «Люмам И-1» (ЛМО, Росія) з водно-імерсійним об'єктивом $\times 85$ та відеосистемою передачі зображення на комп'ютер. Для виявлення ушкоджень ДНК в ядрах клітин тимуса і лімфатичних вузлів використовували метод ДНК-комет

(лужний). Аналіз ДНК-комет на електрофореграмах, забарвлених Хехст 33342 (700 мкмоль/л) протягом 15 хв, здійснювали візуально, використовуючи люмінесцентний мікроскоп «Люмам И-1» (Росія) та відеосистему передачі зображення на комп'ютер при застосуванні водно-імерсійного об'єктива ($\times 30$). На кожному мікропрепараті аналізували не менше ніж 400 окремо розташованих ДНК-комет. За співвідношенням ДНК у «голові» та «хвості» комети поділяли на 5 класів (0–4). Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою програми GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, США); $p < 0,05$ вважалося статистично вірогідним.

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що за умов імунізації БСА у мишей зменшується кількість ооцитів, в яких розчиняється зародковий пухирець (метафаза I), що становить $(72,16 \pm 4,89) \%$ ($p < 0,05$; $n = 8$) порівняно з $(84,05 \pm 3,50) \%$ у контролі. Відбувається посилення загибелі клітин фолікулярного оточення ооцитів (ФОО) — кількість живих клітин ФОО зменшується до $(66,13 \pm 0,97) \%$ ($p < 0,01$; $n = 8$) порівняно з $(83,00 \pm 2,48) \%$ у контролі.

Крім того, спостерігається збільшення кількості клітин ФОО з морфологічними ознаками апоптозу до $(22,00 \pm 0,91) \%$ порівняно з показником у контролі $(8,11 \pm 0,59) \%$, тимчасом як кількість клітин з морфологічними ознаками некрозу вірогідно не змінюється порівняно з контролем і відповідно становить $(9,88 \pm 0,48) \%$ і $(8,89 \pm 1,39) \%$.

За умов уведення БСА спостерігається посилення загибелі клітин в органах імунної системи — у тимусі відбувається зменшення кількості живих клі-

тин до $(67,6 \pm 1,4) \%$ ($p < 0,01$; $n=8$) порівняно з $(91,7 \pm 0,8) \%$ у контролі; кількість клітин з морфологічними ознаками апоптозу і некрозу збільшується і відповідно становить $(17,43 \pm 0,95) \%$ ($p < 0,01$; $n=8$) і $(16,13 \pm 0,83) \%$ ($p < 0,01$; $n=8$) порівняно з показниками у контролі — відповідно $(5,01 \pm 0,53)$ і $(4,81 \pm 0,54) \%$.

При дослідженні клітин лімфатичних вузлів спостерігалися подібні зміни — зменшується кількість живих клітин до $(56,9 \pm 1,2) \%$ ($p < 0,001$; $n=6$) порівняно з $(87,1 \pm 1,5) \%$ у контролі. Також відмічається ослаблення життєздатності внаслідок підвищення кількості клітин лімфатичних вузлів з морфологічними ознаками як апоптозу, так і некрозу — відповідно $(18,9 \pm 1,2) \%$ ($p < 0,01$; $n=8$) і $(22,9 \pm 1,2) \%$ ($p < 0,01$; $n=8$) порівняно з контрольними показниками відповідно $(8,9 \pm 3,2)$ і $(5,0 \pm 3,2) \%$.

Дані про вплив імунізації БСА на розподіл ДНК-комет ядер клітин тимуса представлені на рис. 1.

За умов імунізації БСА відбувається ушкодження ДНК ядер клітин тимуса, а саме кількість клітин тимуса з ядрами 0-х/1-х зменшується в 3,12 разу, тимчасом як кількість клітин з ядрами 4-х збільшується в 2,23 разу порівняно з контролем.

Дані про вплив імунізації БСА на розподіл ДНК-комет ядер клітин лімфатичних вузлів представлені на рис. 2.

За умов імунізації БСА відбувається ушкодження ДНК клітин лімфатичних вузлів: кількість клітин з ядрами 0-х/1-х і 2-х зменшується відповідно у 2,3 і 2,1 разу, а кількість клітин з ядрами 4-х збільшується в 3,6 разу порівняно з такими показниками в контролі.

Відомо, що реакція організму на запалення, незалежно від локалізації запального процесу,

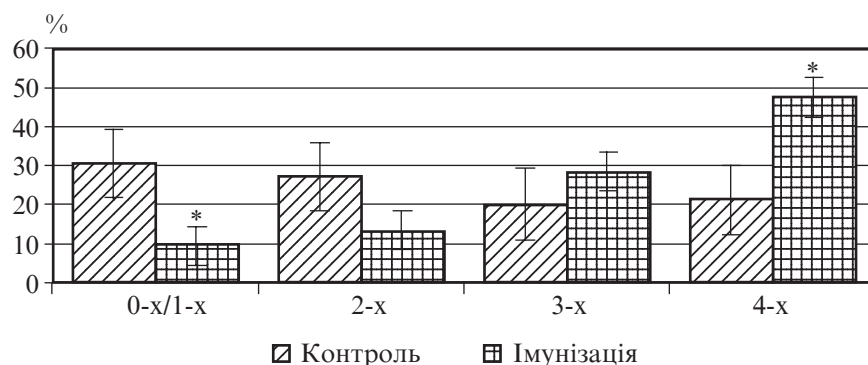


Рис. 1. Розподіл ДНК-комет ядер клітин тимуса за умов імунізації бичачим сироватковим альбуміном: * — $p < 0,05$ — вірогідність відмінностей величин середніх груп даних щодо таких показників у контрольних тварин

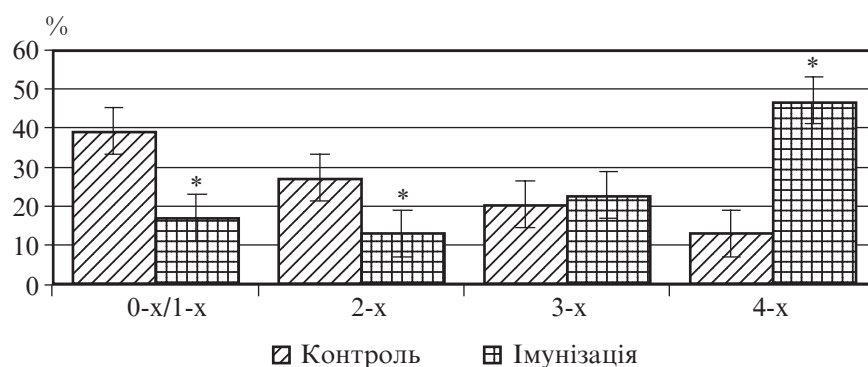


Рис. 2. Розподіл ДНК-комет ядер клітин лімфатичних вузлів за умов імунізації бичачим сироватковим альбуміном: * — $p < 0,05$ — вірогідність відмінностей величин середніх груп даних щодо таких величин у контрольних тварин

розвивається відповідно до загальних типових патологічних процесів за участі численних медіаторів запалення. Надмірна продукція цитокінів та інших медіаторів запалення (монооксиду азоту, ейкозаноїдів тощо) викликає порушення регуляторної функції імунної системи, призводить до їх безконтрольного виділення не лише в осередку запалення, але і в циркулюючій крові, до порушення балансу між прозапальними і протизапальними цитокінами на користь прозапальних [4; 5]. Таким чином, медіатори запалення з чинників, що захищають організм, перетворюються на ушкоджувальні, порушуючи мікроциркуляторну систему органів і тканин за межами первинного осередку запалення. Починає розвиватися синдром системної реакції на запалення,

а далі порушується функція органів і систем.

Нами вперше встановлено, за умов імунізації БСА відбувається ушкодження ооцитів, а саме пригнічення їх мейотичного дозрівання *in vitro* на стадії метафази I, зменшення кількості живих клітин і підвищення кількості клітин з морфологічними ознаками як апоптозу, так і некрозу у тимусі, лімфатичних вузлах і фолікулярному оточенні ооцитів, а також ушкодження ДНК ядер клітин тимуса та лімфатичних вузлів.

Ми вважаємо, що імунізація БСА спричиняє секрецію потужних вазоактивних і прозапальних чинників з подальшим збільшенням загибелі клітин, у сукупності це призводить до посилення запальних процесів на системному рівні, тому відбувається ушкодження функцій ор-

ганів імунної та репродуктивної систем, що узгоджується з даними про пригнічення мейотичного дозрівання ооцитів і посилення загибелі клітин ФОО, а також клітин тимуса та лімфатичних вузлів за апоптичним і некротичним шляхами за умов імунізації мишей гомогенатом алогенних яєчників [6].

Відомо, що запальний процес супроводжується активацією імунокомпетентних клітин як центральної, так і периферичної ланки імунної системи із посиленою продукцією прозапальних чинників. Підвищується генерація активних форм кисню та експресія індукцибельної NO-синтази, що призводить до відповідного збільшення утворення реактивних форм азоту [7], які, у свою чергу, можуть призвести до ушкодження ДНК клітин тимуса і лімфатичних вузлів.

Спираючись на власні результати, а також на дані літератури, є підстави стверджувати, що імунізація БСА призводить до системного запального процесу з ушкодженням клітин тимуса та лімфатичних вузлів, окрім цього, пригнічує мейотичне дозрівання ооцитів і знижує життєздатність клітин

фолікулярного оточення ооцитів.

Оцінка життєздатності клітин тимуса і лімфатичних вузлів та інтегральної цілісності їх геному дає підстави стверджувати, що імунізація БСА може змінювати активність експресії генів, асоційованих з репарацією, що відображається як однострунковий розрив ДНК.

Висновки

За умов імунізації БСА пригнічується мейотичне дозрівання ооцитів, а саме частка клітин, у яких розчиняється зародковий міхурець (матафаза I), зменшується на 16 % порівняно з контролем; відбувається скорочення кількості живих клітин фолікулярного оточення ооцитів, тимуса і лімфатичних вузлів; також скорочується кількість клітин з ядрами 0-х/1-х у тимусі та 0-х/1-х і 2-х у лімфатичних вузлах і збільшується кількість клітин з ядрами 4-х у тимусі та лімфатичних вузлах порівняно з такими в контролі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вознесенська Т. Ю. Функціонування органів репродуктивної системи в умовах експериментального імунного ушкодження яєчника у мишей / Т. Ю. Вознесенська, О. М. Калейні-

кова, Т. В. Блашків // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – № 2. – С. 125–128.

2. Моделювання хронічного запалення яєчників / Н. О. Волкова, М. С. Юхта, Т. О. Юрчук [та ін.] // Патологія. – 2014. – № 1. – С. 100–104.

3. Імуноморфологічна характеристика моделі системної патології імунокомплексного генезу у мишей / С. І. Павлович, А. П. Литвиненко, Н. В. Макогон [та ін.] // Вісник морфології. – 2014. – № 2. – С. 496–500.

4. T-cell exhaustion, co-stimulation and clinical outcome in autoimmunity and infection / E. F. McKinney, J. C. Lee, D. R. Jayne [et al.] // Nature. – 2015 Jun 29. doi: 10.1038/nature14468.PMID: 26123020.

5. Balk R. A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): where did it come from and is it still relevant today? / R. A. Balk // Virulence. – 2014. – Vol. 5 (1). – P. 20–26.

6. Протективна дія молсидоміну при імунній патології яєчників у мишей / Н. В. Макогон, Т. Ю. Вознесенська, Т. М. Бризгіна [et al.] // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т. 53, № 5. – С. 29–34.

7. Retinol, β -carotene and oxidative stress in systemic inflammatory response syndrome / C. Nogueira, F. Borges, E. Lameu [et al.] // Rev. Assoc. Med. Bras. – 2015. – Vol. 61 (2). – P. 116–120.

Надійшла 7.09.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. О. Ульянов

УДК 612.62:616.155.194:615.038

А. П. Литвиненко, В. О. Срібна, Н. Г. Грушка, Т. Ю. Вознесенська, Т. В. Блашків

ВПЛИВ ІМУНІЗАЦІЇ БИЧАЧИМ СИРОВАТКОВИМ АЛЬБУМІНОМ НА ООЦИТИ, КЛІТИНИ ЇХ ФОЛІКУЛЯРНОГО ОТОЧЕННЯ, КЛІТИНИ ТИМУСА І ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ У МИШЕЙ

Оцінювали вплив імунізації бичачим сироватковим альбуміном (БСА) на мейотичне дозрівання ооцитів, життєздатність клітин фолікулярного оточення ооцитів, тимуса та лімфатичних вузлів і ушкодження цілісності геному клітин імунокомпетентних органів у самок мишей.

Встановлено, що при імунізації БСА відбувається ушкодження ооцитів, а саме пригнічення їх мейотичного дозрівання, зменшення кількості живих клітин лімфатичних вузлів і фолікулярного оточення ооцитів, ушкодження ДНК ядер клітин тимуса і лімфатичних вузлів.

Зроблено висновок, що імунізація БСА може змінювати активність експресії генів, асоційованих з репарацією, що відображається як однострунковий розрив ДНК.

Ключові слова: імунізація, метод ДНК-комет, тимус, лімфатичні вузли, ушкодження ДНК.

UDC 612.62:616.155.194:615.038

А. П. Lytvynenko, V. O. Sribna, N. G. Grushka, T. Yu. Voznesenska, T. V. Blashkiv

BOVINE SERUM ALBUMIN IMMUNIZATION EFFECTS ON THE OOCYTES AND FOLLICULAR CELLS, THYMIC AND LYMPH NODES CELLS IN MICE

The effect of bovine serum albumin (BSA) immunization on the meiotic maturation of oocytes, viability of the ovarian follicular cells, thymus-derived lymphocytes and lymph nodes cells and damage of the genome's integrity of immune cells in female mice were investigated.

Thus, under the condition of BSA immunization oocytes damage, namely the suppression of meiotic maturation, reduction of the number of living cells of lymph nodes, thymus and follicular cells surrounding oocytes, nuclear DNA damage of the thymus and lymph nodes cells were observed.

We suggest that BSA immunization could modify the activity of gene expression associated with reparation displayed as single-strand DNA break.

Key words: immunization, DNA-comet assay method, thymus, lymph nodes, DNA damage.

Ю. В. Сухин, *д-р мед. наук, проф.*,
В. А. Логай,
П. В. Данилов¹,
Д. В. Лазарева¹, *канд. тех. наук, доц.*

АНАЛИЗ НАПРЯЖЕННО-ДЕФОРМИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ ПРИ НАГРУЗКЕ НА АНКЕРНЫЙ ФИКСАТОР, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ПОДВЕШИВАНИЯ ПЛЕЧА К АКРОМИОНУ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРИВЫЧНОГО ВЫВИХА ПЛЕЧА

Одесский национальный медицинский университет

¹ *Одесский национальный политехнический университет*

Введение

Изучение напряженно-деформируемого состояния (НДС) тел в рамках трехмерной теории упругости началось еще в XIX в. и к настоящему времени известны различные методы исследования задач и получены многие важные результаты в данной области. Ряд методов исследования трехмерных задач теории упругости основывается на представлениях решений однородных уравнений Ламе с помощью гармонических и бигармонических функций.

Эффективным показал себя метод решения плоских граничных задач теории упругости для односвязных и многосвязных областей, ставший впоследствии классическим, с помощью функций комплексного переменного и интегралов типа Коши.

Еще одним методом исследования трехмерных задач теории упругости является метод интегральных уравнений, который служит основой для разработки алгоритмов численного решения задач теории упругости. Находит применение в задачах пространственной теории упругости и метод интегральных преобразований.

Метод R-функций В. Л. Рвачева имеет высокую эффективность при решении пространственных задач теории упругости (особенно контактных).

При исследованиях трехмерных задач теории упругости для неканонических областей также применяется метод возмущений формы границы.

Идея сведения решения граничной задачи в трехмерной постановке к последовательному решению двумерных задач привела к созданию и использованию теории разложений по системе функций. При этом решение пространственной задачи представляется в виде ряда или асимптотического разложения по системе базисных функций относительно координаты, вдоль которой протяженность тела значительно меньше его геометрических размеров в других координатных направлениях. Однако при исследованиях НДС тел сложной конфигурации применение аналитических методов связано с весьма значительными математическими трудностями. Поэтому, учитывая расширение возможностей компьютерной техники, в последнее время стали широко использовать различные численные методы (конечных элементов, конечных разностей, вариационно-разностные и др.).

Большинство современных компьютерных программ основывается на методе конечных элементов (МКЭ) [1]. Среди этих программ выделяется своими возможностями пакет ANSYS, который и был выбран для ре-

шения поставленной задачи. Данное исследование проводилось в рамках разработки нового метода лечения привычного вывиха плеча, основанного на закрытом подвешивании плечевой кости к акромиальному отростку лопатки с помощью анкерного фиксатора [2].

Материалы и методы исследования

С точки зрения механики, рассматриваемая задача представляет собой задачу трехмерной теории упругости. Математически она описывается следующей группой соотношений:

1. *Статические уравнения.* Дифференциальные уравнения равновесия (уравнения Навье). Условия на поверхности.

2. *Геометрические уравнения.* Связь между функциями перемещений и деформаций — формулы Коши. Уравнения неразрывности деформаций (уравнения Сен-Венана).

3. *Физические уравнения.* Обобщенный закон Гука в прямой форме. Обобщенный закон Гука в обратной форме.

Основные уравнения содержат 15 неизвестных функций: три компоненты вектора перемещения, шесть компонент тензора напряжений и шесть компонент тензора деформаций. Все искомые неизвестные являются функциями координат x, y, z точки тела.

Физические характеристики костной ткани

Показатель, Н/м ²	Вещество	
	Компактное	Губчатое
Модуль упругости	17,2·10 ⁹	0,09·10 ⁹
Прочность при растяжении	(98,10–117,72)·10 ⁶	14,715·10 ⁶
Прочность при сжатии	(117,72–56,96)·10 ⁶	(6,867–14,715)·10 ⁶

Таким образом, в каждой точке нагруженного тела можно выделить 15 параметров НДС. Для отыскания этих функций имеем 15 уравнений: три дифференциальных уравнения равновесия; шесть формул Коши; шесть формул закона Гука в прямой или обратной форме. Следовательно, с точки зрения математики, задача может быть решена. Это решение сводится к интегрированию перечисленных 15 уравнений при удовлетворении условий на поверхности и уравнений неразрывности деформаций.

Математические выражения перечисленных выше соотношений здесь не приводим вследствие их достаточной сложности, однако они хорошо известны и представлены в соответствующей литературе по теории упругости.

Построение конечно-элементной модели фрагмента кости с искусственным включением

Большой разброс значений механических характеристик материала кости, заложенный нами в построенную математическую модель, объясняется тем, что для живых систем характерна исключительно высокая изменчивость свойств, обусловленная индивидуальными, возрастными, функциональными различиями исследуемых объектов и огромным количеством внешних факторов [3]. В производимых расчетах мы придерживались величин физических характеристик костной ткани представленных в табл. 1.

Средства препроцессорного твердотельного моделирования программы ANSYS позволяют иметь дело непосредственно с геометрической моделью, не обращаясь к специфическим объектам (узлы и элементы) конечно-элементной модели [4].

При построении фрагмента плечевой кости в программе ANSYS использовался «восходящий» метод твердотельного моделирования. При этом создание модели начинается с

объектов самого низкого порядка. Изначально создаются ключевые точки, затем связанные с ними линии, поверхности и объемы.

Геометрию фрагмента кости можно описать неоднородными рациональными B-сплайнами. Представление объектов модели на основе сплайнов делает возможным применение метода построения поверхности, известного как «обтягивание каркаса». С помощью этого метода был задан некоторый набор поперечных сечений, на основе которых создана соответствующая указанным сечениям поверхность.

Одним из самых важных этапов конечно-элементного анализа является построение сетки конечных элементов. Точность расчетов с помощью МКЭ зависит от правильного выбора типов и размеров конечных элементов [5]. В существующих программных комплексах, как правило, предусматриваются два основных метода: построение произвольной сетки и упорядоченной. Так как трехмерная геометрия созданной модели преимущественно состоит из криволинейных поверхностей, построение упорядоченной сетки не представляется возможным. Поэтому при разбивке на конечные элементы использованы автоматические программные средства для построения произвольной сетки.

Построенная модель аппроксимирована объемным шестигранным конечным элементом SOLID45 который имеет три степени свободы в каждом узле — перемещение в направлениях осей X, Y, Z узловой системы координат. Элемент может принимать вырожденную

форму, что особенно удобно при рассмотрении конструкций сложной конфигурации.

Конечно-элементная модель фрагмента кости с искусственным включением преимущественно состоит из элементов, имеющих пирамидальную форму, включает в себя объемы анкерного винта, компактного и губчатого веществ (рис. 1).

Анкерный винт диаметром 5 мм имеет конусовидную форму: длина винта — 13 мм, шаг резьбы — 2 мм, материал — титан. Толщина компактного вещества принята равной 0,6 мм.

В результате аппроксимации сгенерировано 417 865 элементов и 79 034 узлов.

Анализ напряженно-деформированного состояния костной ткани при изменении угла приложения нагрузки

Для изучения НДС в тканях около имплантатов на базе универсальных конечно-элементных моделей проведен ряд численных экспериментальных исследований. В данных моделях предусмотрена возможность изменения угла приложения. Целью исследований являлось определение максимальной (безопасной) нагрузки, которую может выдержать костная ткань плечевой кости. В ходе эксперимента увеличивалась нагрузка до тех пор, пока максимальные эквивалентные напряжения не превысят 117,72 МПа для компактного вещества и 14,715 МПа — для губчатого.

Рассмотрено два варианта: отведение руки и сгибание. В каждом из вариантов менялся угол отведения (сгибания) руки. Расчетные схемы представлены на рис. 2.

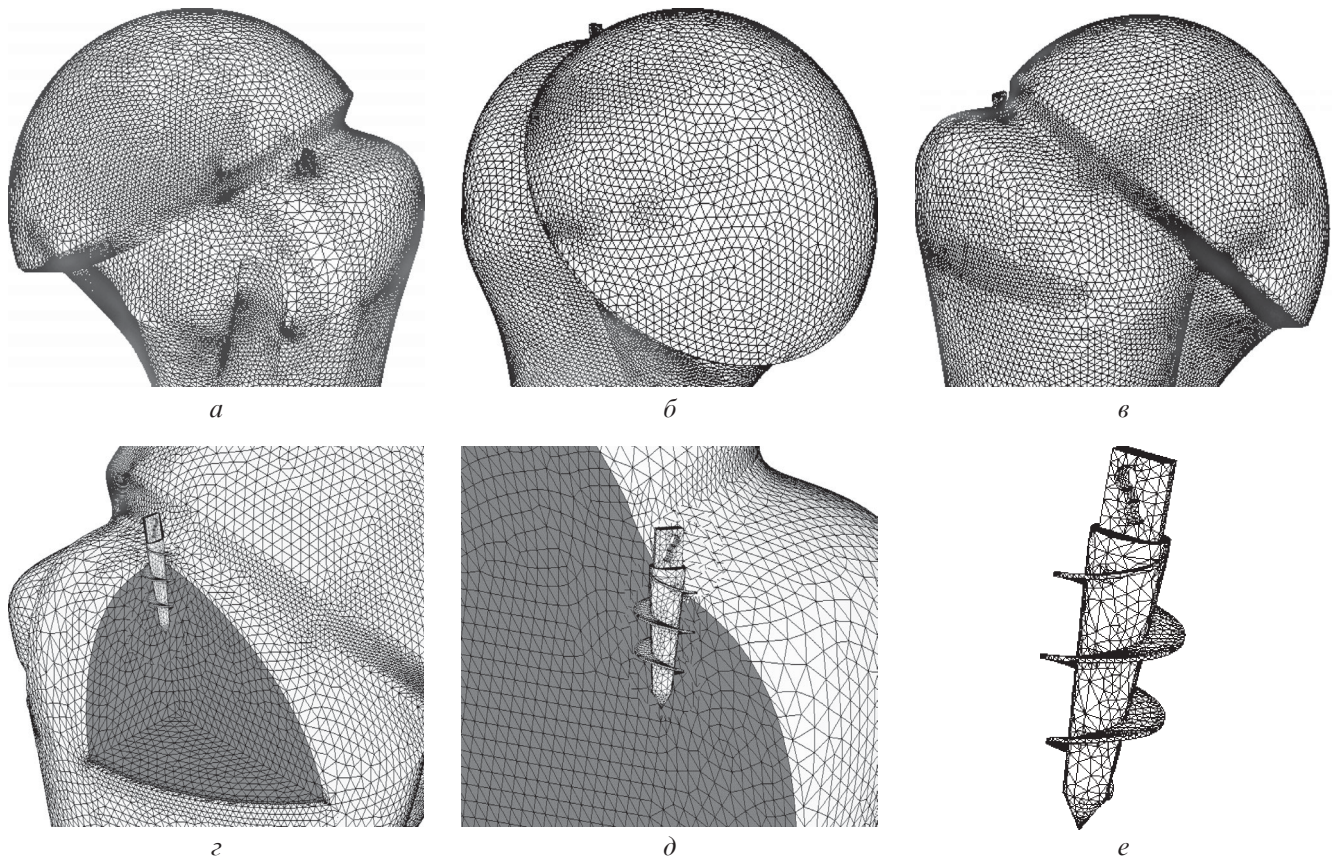


Рис. 1. Конечно-элементная модель фрагмента кости с искусственным включением (а-е)

В результате расчета получены эпюры перемещений, распределение полей эквивалентных напряжений в винте компактного и губчатого веществ. На рис. 3 показаны поля эквивалентных напряжений для всей модели в целом, при отведении руки на 45° . Такое изображение полей напряжений малоинформативное, так как существенное изменение напряжений возникает в локальной зоне вблизи имплантата; в местах, удаленных от зоны импланта-

ции, напряжения не превышают 22 МПа (для компактного вещества).

Максимальные напряжения возникают в винте, как правило, в месте приложения нагрузки. Учитывая, что предел прочности в винте выше, чем у кости, и разрушение кости наступит раньше, в дальнейшем винт будем исключать из рассмотрения. Это даст возможность более детально изучить НДС костной ткани.

При таком варианте нагружения нагрузка, которую может выдержать костная ткань, не должна превышать 45 Н. Максимальное напряжение, равное 117,49 МПа, возникает в компактном слое кости в зоне имплантации (рис. 4). Дальнейшее увеличение нагрузки может привести к разрушению компактного слоя.

В губчатой кости напряжения не значительны и составляют 0,95 МПа (рис. 5). Это свидетельствует, во-первых, о том, что основную нагрузку воспринимает компактный слой кости. Во-вторых, в модели заложены механические свойства трех различных структур. Компактное вещество более жесткое, следовательно, выдерживает большее напряжение, нежели губчатое. Однако губчатая кость, благодаря пористой структуре, имеет специфическую эластичность и не разрушается при существенных (более 10 %) деформациях в условиях многократных нагрузок, способна восста-

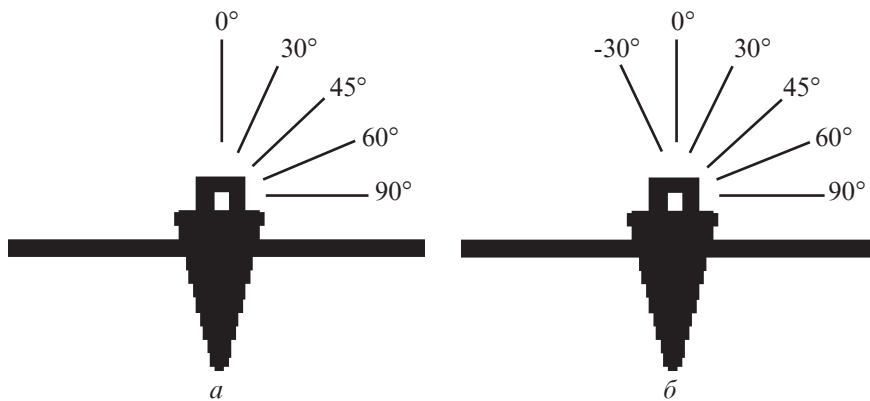


Рис. 2. Расчетные схемы: а — отведение; б — сгибание

NODAL SOLUTION
STEP=1; SUB=1; TIME=1;
SEQV(AVG); DMX=0.043273;
SMN=0.002659; SMX=197.524

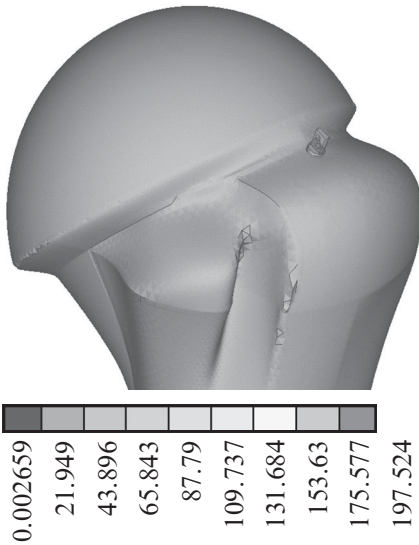


Рис. 3. Эквивалентные напряжения

NODAL SOLUTION
STEP=1; SUB=1; TIME=1;
SEQV(AVG); DMX=0.032488;
SMN=0.002218; SMX=117.489

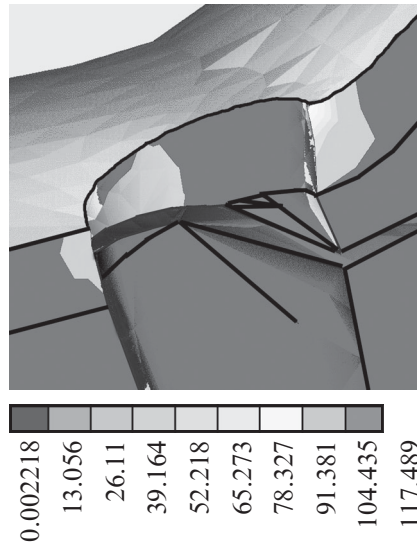


Рис. 4. Эквивалентные напряжения в компактном слое кости

NODAL SOLUTION
STEP=1; SUB=1; TIME=1;
SEQV(AVG); DMX=0.031425;
SMN=0.002067; SMX=0.949256

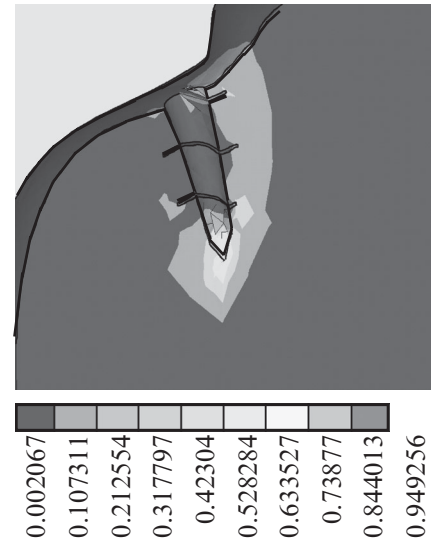


Рис. 5. Эквивалентные напряжения в губчатой кости

NODAL SOLUTION
STEP=1; SUB=1; TIME=1;
USUM(AVG); DMX=0.043273;
SMX=0.043273

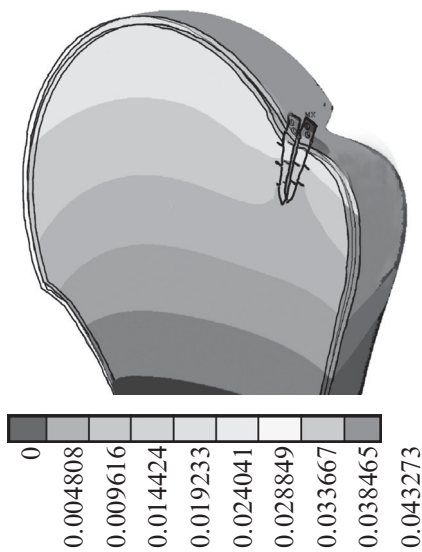


Рис. 6. Суммарные перемещения

Таблица 2

Максимальные значения нагрузки и соответствующие напряжения при разных вариантах нагружения

Вариант	Угол наклона нагрузки, град.	Максимальная нагрузка, Н	Напряжения, МПа	
			Компактное вещество	Губчатое вещество
Отведение	0	20	115,52	0,46
	30	20	116,78	0,55
	45	45	117,49	0,95
	60	27	117,99	0,72
	90	58	117,73	1,21
Сгибание	-30	46	117,14	0,96
	0	25	117,26	0,60
	30	17,5	115,15	0,28
	45	17,5	115,70	0,31
	60	19	117,83	0,38
	90	28	117,60	0,59

навливать исходную форму после устранения нагрузки. При этом в такой ткани напряжения слабо возрастают или даже остаются постоянными.

Максимальное суммарное перемещение для всей системы в целом относительно трех осей равно 0,043 мм (рис. 6). Полученные значения нагрузки и со-

ответствующие напряжения для двух видов костной ткани сведены в табл. 2.

Выводы

1. Метод конечных элементов определен как наиболее удобный численный метод решения задач, описывающих состояние физических систем слож-

ных структур, поскольку модель фрагмента кости с искусственным включением представляет собой сложную в геометрическом и физическом отношении систему, расчет которой возможен только численным методом.

2. Проведенное исследование свидетельствует о том, что мак-

симальные напряжения возникают в месте приложения нагрузки и не превышают пределов прочности. Кроме того, напряженной является область на стыке имплантата, компактного и губчатого веществ, где возникает концентрация напряжений на поверхности соединения, вызванная резкой сменой жесткости сопрягаемых материалов.

3. При изменении угла приложения нагрузки в модели наблюдается возникновение локальной зоны концентрации напряжений. Удаляясь от зоны концентрации, следует резкое уменьшение напряжений. В зоне этих концентраторов возник-

ают местные напряжения, которые сопровождаются локальными пластическими деформациями (при высоких значениях напряжений). Исходя из этого, справедливо отметить следующее. Несмотря на то, что в некоторых вариантах максимальная нагрузка равна 17,5 Н, она может быть увеличена до 50 Н. Однако при выборе максимальной нагрузки следует помнить и о характеристиках костной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галлагер Р. Метод конечных элементов. Основы / Р. Галлагер ; пер. с англ. – М. : Мир, 1984. – 428 с.
2. Сухин Ю. В. Метод лечения повторяющегося вывиха плеча у людей

с высоким операционным риском / Ю. В. Сухин, В. А. Логай, В. П. Сухин // Літопис травматології та ортопедії. – 2013. – № 3/4. – С. 41–42

3. Сухарев М. Ф. Изучение биомеханического взаимодействия имплантатов и кости методом математического моделирования / М. Ф. Сухарев, А. В. Бобров // Клиническая имплантология и стоматология. – 1997. – № 2. – С. 34–37.

4. Дашенко А. Ф. ANSYS в задачах инженерной механики / А. Ф. Дашенко, Д. В. Лазарева, Н. Г. Сурьянинов ; под ред. Н. Г. Сурьянинова. – Одесса : Астропринт, 2007. – 484 с.

5. Сегерлинд Л. Применение метода конечных элементов / Л. Сегерлинд. – М. : Мир, 1979. – 392 с.

Поступила 12.10.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. В. Сердюк

УДК 616.717.41-089.28

Ю. В. Сухин, В. А. Логай, П. В. Данилов, Д. В. Лазарева
АНАЛИЗ НАПРЯЖЕННО-ДЕФОРМИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ ПРИ НАГРУЗКЕ НА АНКЕРНЫЙ ФИКСАТОР, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ ПОДВЕШИВАНИЯ ПЛЕЧА К АКРОМИОНУ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРИВЫЧНОГО ВЫВИХА ПЛЕЧА

В статье освещены результаты эксперимента, которые являются основным этапом в предложенной оригинальной методике лечения повторяющегося вывиха плеча. Прочность фиксации анкерного винта в головке плечевой кости — основная характеристика надежности разработанного метода лечения привычного вывиха плеча. Данный метод лечения позволяет минимизировать объем оперативного вмешательства, уменьшить операционный риск и полностью избежать рецидивов вывиха в дальнейшем.

Ключевые слова: привычный вывих плеча, малоинвазивное оперативное лечение, прочность фиксации анкерного винта.

UDC 616.717.41-089.28

Yu. V. Sukhin, V. A. Logay, P. V. Danilov, D. V. Lazareva
ANALYSIS OF TENSE-DEFORMED CONDITION OF HUMERUS BY THE LOAD ON THE ANCHOR LATCH USED FOR THE HANGING THE SHOULDER TO THE ACROMION FOR TREATING RECURRENT SHOULDER DISLOCATION

The article highlights the results of the experiment, which is a major step in the proposed original method of recurrent shoulder dislocation treatment. The strength of the anchor screw fixation in the humerus head is the main characteristic of the reliability of curing recurrent shoulder dislocation. This method of treatment allows to minimize volume of operation, to reduce operational risk and to avoid of recurrence of dislocation in the future.

Key words: recurrent shoulder dislocation, minimally invasive surgery, the strength of fixing the anchor screws.

УДК 614.777:661.185.6]-099-092.4/9

В. В. Бабієнко, д-р мед. наук, проф.,
І. В. Сахарова,
Л. І. Данильченко, канд. мед. наук

ВИВЧЕННЯ КУМУЛЯТИВНОЇ ТА ШКІРНО-РЕЗОРБТИВНОЇ ДІЇ АЗОТОВМІСНИХ ДЕТЕРГЕНТІВ В УМОВАХ ПІДГОСТРОГО ДОСЛІДУ

Одеський національний медичний університет

Вступ

В умовах науково-технічного прогресу великого економічного і соціального значення набувають охорона навколишнього середовища і раціональне використання природних ре-

сурсів. Інтенсивна діяльність людини на сучасному етапі розвитку науки, технології та техніки призвела до появи в біосфері нових хімічних речовин. Група поверхнево-активних речовин (ПАР) — детергентів у складі фенольної основи

Манніха (ФОМ 9) та її оксигетильованих похідних неонолів ФОМ 9–4; ФОМ 9–12; ФОМ 9–20 належить до поширених забруднювачів водоймищ, у тому числі джерел водопостачання населення. Це пов'язано з широким використанням цих ре-

човин у багатьох галузях народного господарства як основи промислового випуску мючих засобів, емульгаторів, антикорозійних і бактерицидних препаратів тощо.

Актуальність вивчення механізмів біологічної дії даних речовин також зумовлена необхідністю розв'язання важливих наукових проблем, пов'язаних з недостатньою глибиною оцінки біологічної активності та відсутністю наукової інформації щодо тонких механізмів реалізації біологічної дії тих груп детергентів, які широко використовуються різними галузями народного господарства. Крім того, актуальність вивчення механізмів біологічної дії азотовмісних детергентів пов'язана з науковим обґрунтуванням заходів з охорони об'єктів навколишнього середовища, зокрема поверхневих джерел, що забруднюються стічними водами промислових підприємств, які використовують в технологічних процесах нонілбензоли [1]. Саме урахування механізмів біологічної дії цих речовин є підставою для надійної регламентації та обґрунтування заходів з охорони довкілля, а також здоров'я населення.

Матеріали та методи дослідження

У дослідах використовували 128 білих щурів ($m=180-220$ г), 128 білих мишей ($m=18-25$ г) та 32 морські свинки ($m=350-400$ г).

Кумулятивні властивості азотовмісних ПАР були вивчені на білих щурах. Протягом 30 днів тваринам масою 180–220 г перорально вводили речовини з розрахунку 1/10, 1/100, 1/1000 ЛД₅₀, що становило для ФОМ 9 52,0; 5,2; 0,52 мг/кг; неонулу ФОМ 9–4 — 104,0; 10,4; 1,04 мг/кг; неонулу ФОМ 9–12 — 116,0; 11,6; 1,16 мг/кг і неонулу ФОМ 9–20 — 202,0; 20,2; 2,02 мг/кг маси тварини відповідно.

Кумулятивні властивості сполук вивчали також за тестом «субхронічної токсичності» за

R. K. Lim et al. [6]. У процесі проведення досліду перші чотири дні тварини отримували по 0,1 ЛД₅₀, наступні чотири — по 0,15; з 9-го по 12-й день — 0,22; з 13-го по 16-й день — 0,34; з 17-го по 20-й день — 0,5; з 21-го по 24-й день — по 0,75 ЛД₅₀.

Шкірно-резорбтивну дію вивчали за допомогою методу біохемілюмінесценції (БХЛ).

Результати дослідження та їх обговорення

Розрахунок коефіцієнта кумуляції (Кк) проводили за Ю. С. Каганом і В. В. Станкевичем:

$$K_k = \frac{LD_{50} \text{ (сумарна при повторному введенні)}}{LD_{50} \text{ (при однократному введенні)}}$$

Оцінку кумулятивних властивостей здійснювали за шкалою, запропонованою Л. І. Медведем і співавт. Коефіцієнти кумуляції за R. K. Lim et al. були визначені у таких межах: ФОМ 9 — 3,15; неонол ФОМ 9–4 — 3,65; неонол ФОМ 9–12 — 5,43; неонол ФОМ 9–20 — 7,16.

З використанням результатів гострого та підгострого експериментів за формулою Г. Н. Красовського було розраховано також

$$K_k = D_k \cdot 50LD_{50} \cdot a \cdot n,$$

де D_k — сумарна доза, отримана усіма тваринами протягом досліду (що загинули й вижили), г/кг;

a — відсоток тварин, що загинули;

n — кількість тварин у групі.

Результати дослідів дозволили розрахувати Кк для досліджуваних сполук на таких рівнях (рис. 1).

Відповідно до шкали Л. І. Медведя, $K_k > 5$ свідчить про слабо виражені кумулятивні властивості. Як видно з наведеного рис. 1, азотовмісні ПАР ФОМ 9 та неонол ФОМ 9–4 слід зарахувати до сполук із вираженими кумулятивними властивостями, тичмасом як неонол ФОМ 9–12 та неонол ФОМ 9–20 — до слабо кумулятивних.

У зв'язку з різноманітним характером місцевої дії речовин при використанні води в різних галузях народного господарства нами було вивчено вплив азотовмісних ПАР на шкіру та слизові оболонки експериментальних тварин. Досліди проводили на морських свинках світлої масті. Досліджувані речовини кількістю 1–2 краплі вносили у чистому вигляді в кон'юнктивальний мішок правого ока тварини (ліве око було контрольним). Стан ока контролювали через 1, 24, 48 та 72 год після внесення речовини. Обстеження проводилося візуально з боковим освітленням лампи. Реакцію оцінювали в балах: 0 — видима реакція відсутня; 1 — легке почервоніння кон'юнктиви; 2 — почервоніння кон'юнктиви й склери частково в напрямку до рогівки; 3 — різке почервоніння кон'юнктиви й усїєї склери, гнійний офтальміт. Окремо враховували реакції рогівки, радужної оболонки та кон'юнктиви, звертаючи при цьому увагу на ступінь гіперемії, набряку кон'юнктиви (за чотири- і п'ятибальною системою), стан судин склери та рогівки, прозорість рогівки, її ушкодження (за п'ятибальною системою), наявність крововиливів і деструкції (за трибальною системою). Результати підсумовували і робили висновок

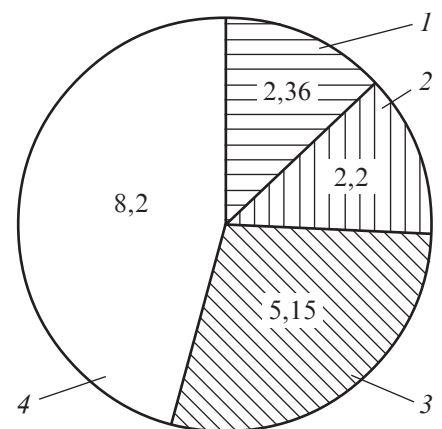


Рис. 1. Коефіцієнти кумуляції азотовмісних поверхнево-активних речовин: 1 — ФОМ 9; 2 — неонол ФОМ 9–4; 3 — неонол ФОМ 9–12; 4 — неонол ФОМ 9–20

Оцінка вираженості подразливих властивостей речовин при одноразовій аплікації

Вираженість подразливої дії	Середній сумарний бал вираженості еритеми й величини набряку	Клас
Відсутність	0	0
Слабка	0,1–2,0	1
Помірна	2,1–4,0	2
Виражена	4,1–6,0	3
Різко виражена	6,1–8,0	4
Надзвичайно сильна (некротична) при нанесенні: нерозбавленої речовини	Розвивається некроз	5
50 % розчину	Розвивається некроз	6
25 % розчину	Розвивається некроз	7
10 % розчину	Розвивається некроз	8
5 % розчину	Розвивається некроз	9
розчинів менше 5 %	Розвивається некроз	10

про ступінь і природу ураження ока при дії на нього досліджуваної сполуки.

Було виявлено, що азотовмісні ПАР характеризуються вираженою дією на слизові оболонки, причому ефект більшою мірою був вираженим під впливом ФОМ 9, меншою — неонолу ФОМ 9–20. Почервоніння кон'юнктиви, склери, набряк слизових оболонок, розширення судин, гнійні виділення минали через 8–16 діб. Відповідно до класифікації «Оцінка вираженості подразливих властивостей речовин при одноразовій аплікації», розробленій І. В. Саноцьким і А. А. Каспаровим, це відповідає трьом балам. Розведення 1 : 500 подразнення не викликає. ФОМ 9 призводить до деформації очної щілини, що відповідає чотирьом балам. Вивчення шкірно-подразнювальної дії (табл. 1) показало, що ці властивості більшою мірою притаманні ФОМ 9, неонолу ФОМ 9–4 і меншою мірою — неонолам ФОМ 9–12 та ФОМ 9–20.

Шкірно-резорбтивну дію вивчали за допомогою методу БХЛ. Нашкірні аплікації випробовуваних речовин при чотиригодинній їх експозиції приводили до збільшення надслабкого світіння крові, що вказувало на можливість ПАР проникати через неушкоджену шкіру. Клінічно про наявність резорбтивної дії можна було судити при нашкірних аплікаціях ФОМ і більшою мірою — під впливом ФОМ 9 за проявом симптомів інтоксикації. Тварини ставали млявими, загальмованими, шкірні покриви були ціанотичними, шерсть наїжачувалася, дихання набувало переривчастого характеру. Загибелі тварин, однак, не спостерігалося. Слід зазначити, що інтенсивність світіння крові при нашкірних аплікаціях спостерігалася вже збільшеною через 1 год від моменту постановки досліду. Це вказує на стимуляцію перекисного окиснення ліпідів, нагромадження вільних радикалів і, насамкінець, про вплив безпо-

середньо на клітинні мембрани та їх ушкодження.

Висновки

1. У підгострому досліді при пероральному впливі досліджуваної речовини здатні пригнічувати гуморальний і клітинний імунітет, змінювати імунобіологічну реактивність організму.

2. Основні патогенетичні ланки механізму біологічної дії полягають у стимулюванні азотовмісними детергентами процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів, виснаженні антиоксидантної системи, порушенні структурно-функціональних одиниць нейрогуморальної регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, біоенергетики, біосинтетичних процесів і окисного фосфорилування в організмі.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Биологическая активность детергентов — производных нонилбензолов в связи с проблемой охраны водных объектов* / В. И. Жуков, С. А. Стеценко, В. И. Пивень [и др.]. — Белгород : Белвитамины, 2000. — 237 с.
2. *Гідроекологічний дослідницький моніторинг басейну Нижнього Дністра* / Н. В. Ковальова, В. І. Медінець, О. П. Конарева [та ін.] // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія Біологія. — 2010. — № 3 (44). — С. 113–116.

3. *Жуков В. И.* Медико-биологические аспекты проблемы охраны водных объектов от загрязнения поверхностно-активными веществами / В. И. Жуков, Р. И. Кратенко, Ю. К. Резуненко [и др.]. — Харьков : Торнадо, 2000. — 394 с.

4. *Леоненко О. Б.* Сучасні уявлення про механізм гомеостатичної реакції за участю біотрансформації і детоксикації хімічних речовин, вільнорадикального окислення, імунної та антиоксидантної систем організму / О. Б. Леоненко, В. А. Стежка // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть : матер. 14-го з'їзду гігієністів України. — Дніпропетровськ : АРТ-ПРЕС, 2004. — Т. II. — С. 176–178.

5. *Мудрий І. В.* Токсиколого-гігієнічна оцінка синтетичних поверхнево-активних речовин (огляд літератури) / І. В. Мудрий // Современные проблемы токсикологии. — 2001. — № 3. — С. 55–60.

6. *Ostroumov S. A.* Biological Effects of Surfactants / S. A. Ostroumov; ed. Taylor & Francis. — Boca Raton ; London ; New York : CRC Press, 2006. — 279 p.

7. *Вайтнер Е. В.* Загрязнение природных водных объектов синтетическими поверхностно-активными веществами / Е. В. Вайтнер // Научные труды 2-й отчетной конференции молодых ученых ГОУ УГТУ-УПИ : сб. статей. — Екатеринбург : УГТУ-УПИ, 2002. — С. 129–131.

8. *Laha S.* Surfactant-soil interactions during surfactant-amended remediation of contaminated soils by hydrophobic organic compounds: a review / S. Laha, V. Tansel, A. Ussawarujikulchai // J. Environ. Manage. — 2009. — Vol. 90, N 1. — P. 95–100.

Надійшла 15.10.2015

Рецензент канд. мед. наук,
доц. Ю. М. Ворохта

У статті розглянуті аспекти біологічної дії азотовмісних детергентів в умовах підгострого дослідження. Визначені параметри токсичності, видової специфічності, охарактеризована клінічна картина отруєння. Установлено, що ці сполуки належать до помірно токсичних і здатні чинити шкідливий вплив на санітарно-токсикологічні показники, що за певних обставин може призвести до порушення водокопитування та погіршення здоров'я населення.

Ключові слова: азотовмісні детергенти, біологічна дія, джерела водопостачання, здоров'я.

The article describes the biological effect of the nitrogen-containing surfactants' impact. The options of toxicity, species-specific were determined, the clinical picture of poisoning were described. The results of the researches showed that these substances were moderately toxic and they may provoke the adverse effect for the sanitary-toxic indicators which can cause damage to water supply and health status.

Key words: surfactants, biological effect, water supply, health.

УДК 547.495.9:615.225:661.982

С. В. Горбачова, канд. біол. наук, доц.,

І. Ф. Бленічев, д-р біол. наук, проф.

МОЖЛИВІ ШЛЯХИ ПЕРЕРИВАННЯ NO-ЗАЛЕЖНИХ ШЛЯХІВ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗИ РІЗНОЇ СЕЛЕКТИВНОСТІ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Запорізький державний медичний університет

Вступ

Церебральна ішемія викликає складний комплекс біохімічних і молекулярних механізмів, що погіршує неврологічні функції через роз'єднання фізіологічних процесів і порушення цілісності нейронів. Вони опосередковуються ексайтотоксичною глутаматергічною сигналізацією, іонним дисбалансом, розвитком вільнорадикальних реакцій. Крім того, запальні реакції, ініційовані на судинно-нервовий інтерфейс, і зміни в динамічному зв'язку між ендотеліальними клітинами, астроцитами і нейронами вносять істотний вклад в патогенез церебрального інсульту. Формування окисного стресу, який є неминучим супутником ішемії нервової тканини, нерозривно пов'язане із запаленням. При цьому формується замкнуте «хвиль-

не» коло — запалення призводить до активації чутливих до окисно-відновного потенціалу шляхів трансдукції сигналів, що підсилює окиснювальний стрес [1].

Істотна роль у механізмах загибелі нейронів при розвитку глутамат-кальцієвого каскаду належить NO-опосередкованим механізмам. Відкриття NMDA-рецепторів, яке відбувається на тлі токсичних концентрацій глутамату, викликає потік іонів кальцію всередину клітин. Це, в свою чергу, спричиняє активацію кальцій-залежної ізоформи NO-синтази і посилене утворення оксиду азоту, який бере участь в ушкодженні нейронів. Його токсична дія пов'язана з порушенням мітохондріального окисного фосфорилування та метаболізму рибонуклеотидредуктази, утворенням високотоксичного пероксинітриду, який

блокує низку нейрональних рецепторів, інактивує супероксиддисмутазу (СОД) і викликає посилення вільнорадикального окиснення. Механізм токсичності NO включає також ковалентну модифікацію білків при взаємодії з їх тіоловими групами, а також безпосереднє ушкодження ДНК [2].

Сьогодні відомі три ізоформи NO-синтази: ендотеліальна (eNOS), нейрональна (nNOS) і індукційна (iNOS). Перші дві є конститутивними, активність яких залежить від концентрації іонів Ca^{2+} , індукція останньої відбувається після активації гліальних клітин, макрофагів, клітин ендотелію ендотоксинами і цитокінами. Одноразовий запуск експресії цієї ізоформи NO-синтази приводить до синтезу NO протягом тривалого часу, її активність не залежить від внутрішньоклітинного рівня Ca^{2+}

[3]. Методологічні підходи, спрямовані на обмеження гіперпродукції NO, повинні враховувати належність до певного ізоферменту. Проте є неоднозначні дані про нейропротективну дію інгібіторів різної селективності до різних ізоформ NO-синтази [4].

У наших попередніх дослідженнях була вивчена експресія різних ізоформ NO-синтази і маркерів окисного та нітрозативного стресу в тканинах мозку з експериментальним порушенням мозкового кровообігу (ПМК) [5].

Метою даної роботи є вивчення ефективності різних інгібіторів NO-синтази в умовах експериментальної церебральної ішемії за їхньою здатністю обмежувати розвиток реакцій окисного і нітрозативного стресу.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені відповідно до Директиви Європейського союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів над тваринами. Досліди виконані на білих безпородних щурах масою 180–200 г, обох статей, отриманих із розплідника ДЗ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Виходячи з мети цього дослідження, нами були використані інгібітори трьох вищезазначених ізоформ: неселективний інгібітор eNOS — N-нітро-L-аргінін; високоселективний інгібітор nNOS — N-пропіл-L-аргінін і високоселективний конкурентний інгібітор iNOS — (S)-метилтіосечовина. Експериментальні тварини були розподілені на 5 груп: I — псевдооперовані тварини, II — тварини з експериментальним ПМК (контроль), III — ПМК + N-нітро-L-аргініну метиловий ефір — (L-NAME) (кат. № 0665) дозою 5 мг/кг, IV — ПМК + N-пропіл-L-аргініну гідрохлорид (кат. № 1200) дозою 2,5 мг/кг [6]; V — ПМК + (S)-метилтіосечовини сульфат (кат. № 0776) дозою 1 мг/кг [7]. Усі використані сполуки вироб-

ництва фірми Tocris Bioscience (Велика Британія). Порушення мозкового кровообігу викликали оборотною двосторонньою оклюзією загальних сонних артерій. Процедура виконували під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг), шляхом хірургічного доступу виділяли загальні сонні артерії, підводили під них шовкові лігатури і перерезували. Враховуючи високу смертність при даній модельній патології, використовували таку кількість тварин, щоб кожна експериментальна група складалася з 10 особин. Препарати вводили внутрішньоочеревинно зазначеними дозами 1 раз на добу протягом 4 днів спостереження, безпосередньо після оклюзії. Тваринам I та II груп протягом дослідження у відповідному об'ємі внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин. З експерименту тварин виводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) [8].

Для біохімічних досліджень використані фрагменти, що розташовані у ділянці сенсомоторної зони кори головного мозку і гомогенізовані в рідкому азоті. Цитозольну фракцію виділяли методом диференційного центрифугування (15 000 g) при температурі + 4 °C на 0,15 М фосфатному буфері рН 7,8. Вміст окисненого і відновленого глутатіону визначали флюориметрично [8]. Активність глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази (ГР) і глутатіон-S-трансферази досліджували спектрофотометрично [9].

Вираженість окисного стресу оцінювали за нагромадженням продуктів окисної модифікації білків — альдегідних і кетонних похідних білкових молекул у реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [10], а також за рівнем нітротирозину, який визначали імуноферментним методом з використанням стандартного тест-набору “Nitrotyrosine ELISA Kit” (“HyCult biotechnology”, Нідерланди) згідно з доданою до набору інструкцією. Рівень

нітритів визначали спектрофотометрично з реактивом Гріса [11].

Результати дослідження оброблені з використанням статистичного пакету ліцензійної програми “STATISTICA® for Windows 6.0”, а також “Microsoft Excel 2010”. Статистичну обробку проводили із застосуванням t-критерію Стьюдента і U-критерію Манна — Уїтні. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності з рівнем значущості менше 0,05 (95 %) [12].

Результати дослідження та їх обговорення

Експериментальне ПМК викликало формування патобіохімічних реакцій нітрозативного й окисного стресу, ознаки якого проявлялися вже через 12 год після моделювання патології. Генерація активних форм кисню і посилене утворення оксиду азоту в перші 12 год експерименту проявлялися підвищенням рівня маркерів окисної деструкції білків, зниженням вмісту відновленої форми глутатіону з паралельним нагромадженням його окисненої форми (табл. 1). Слід зазначити, що першою реакцією тканини мозку на ішемію було збільшення рівня NO, нітротирозину і зниження відновленого глутатіону, значення цих показників досягали статистично значущих відмінностей ($p < 0,05$). Решта показників мали характер тенденції до підвищення. Вивчаючи ферментативну ланку, виявили компенсаторне підвищення активності, що є адаптивно-приспосувальною реакцією тканини мозку на ішемію.

Введення інгібіторів NO-синтази різної селективності викликало різноспрямований характер змін. Так, L-NAME, який належить до неселективних інгібіторів і викликає необоротне гальмування активності конституціональних і оборотне індуцибельного ізоферменту, на ранніх етапах виявляє прооксидантні властивості. Зазначена

Показники оксидативного стресу та системи глутатіону в тканинах головного мозку через 12 год після моделювання порушення мозкового кровообігу, $M \pm m$

Показник	Псевдооперовані	ПМК (контроль)	L-NAME	L-PA	S-MT
АФГ, ум. од./г білка	1,62±0,15	2,00±0,18	2,35±0,26	1,76±0,14	1,91±0,18
КФГ, ум. од./г білка	0,76±0,14	1,04±0,13	1,31±0,20	0,88±0,13	1,06±0,13
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	5,47±0,58	7,40±0,43 [#]	6,37±0,80	5,57±0,66	7,22±0,57
Нітротирозин, нмоль/г білка	9,63±0,87	13,35±1,59 [#]	15,74±1,30	10,84±1,06	11,33±0,80
СОД, ум. од./ (мг білка·хв)	272,00±9,98	292,20±9,22	254,10±9,47	280,70±6,43	293,60±5,99
Глут. віднов., мкмоль/г білка	3,95±0,27	3,00±0,22 [#]	2,92±0,23	3,51±0,19	2,97±0,21
Глут. окис., мкмоль/г білка	0,12±0,02	0,19±0,03	0,22±0,03	0,16±0,02	0,18±0,02
Г-S-T, ммоль/(хв·г білка)	27,56±2,35	31,47±2,48	29,30±2,01	30,42±2,45	29,04±1,95
ГР, ммоль/(хв·г білка)	13,94±1,53	15,42±0,84	14,90±1,26	15,13±1,63	15,00±1,94
ГПО, ммоль/(хв·г білка)	69,9±3,4	71,27±2,71	70,51±2,68	70,07±3,00	70,08±1,84

Примітка. У табл. 1–3: [#] — $p < 0,05$ щодо групи псевдооперованих тварин; * — $p < 0,05$ щодо групи тварин з ПМК; L-NAME — N-нітро-L-аргініну метиловий ефір; L-PA — N-пропіл-L-аргініну гідрохлорид; S-MT — (S)-метилтіосечовини сульфат.

здатність L-NAME інгібувати eNOS порушує місцеву вазодилатацію і призводить до поглиблення загальної картини патологічного процесу. N-пропіл-L-аргінін протягом перших 12 год ішемії викликав достовірне зниження рівня NO, але вплив на інші показники не досягав статистично значущих відмінностей. Зазначений інгібітор є селективним щодо нейрональної NO-синтази, активність якої значно підвищується в перші години ішемії. Це пояснюється, по-перше, терміном спостереження — до 12 год гіперактивація nNOS, викликана іонами кальцію, починає знижуватися з паралельним підвищенням індуцибельної ізоформи, а по-друге, інгібування nNOS призводить до активації ядерного

фактора NF- κ B, який викликає індукцію iNOS [13].

Використання селективного інгібітора індукцибельного ізоферменту на першому етапі спостереження не чинило істотного впливу на досліджувані показники (див. табл. 1). Це пояснюється незначним внеском цього ізоферменту в гіперпродукцію NO у цей часовий проміжок.

Синтезований у перші години ішемії NO взаємодіє з алифатичними й ароматичними амінами з утворенням N-нітроамінів, про що свідчить підвищення вмісту нітротирозину на 38,6 % (див. табл. 1). Подальше спостереження показало підвищення цього показника. Так, наприкінці 1-ї доби показник в 1,7 разу перевищував значення групи псевдооперованих тва-

рин, на 4-ту добу рівень нітротирозину сягав 29,6 нмоль/г білка, що в 3,1 разу вище, ніж у групі порівняння. Паралельно з формуванням нітрозативного стресу відзначалося порушення функціонування антиоксидантної системи, що проявлялося нагромадженням вільних радикалів і, як наслідок, збільшенням рівня продуктів окисної модифікації білкових молекул. Підвищення вмісту альдегідних і кетонних похідних білків щодо значень псевдооперованих тварин відбувалося на тлі зниження активності антиоксидантних ферментів (табл. 2, 3). Зниження активності СОД, яка відіграє ключову роль у знешкодженні супероксид-радикала, викликало зміщення в бік окиснених інтер-

Таблиця 2

Показники оксидативного стресу та системи глутатіону в тканинах головного мозку через 24 год після моделювання порушення мозкового кровообігу, $M \pm m$

Показник	Псевдооперовані	ПМК (контроль)	L-NAME	L-PA	S-MT
АФГ, ум. од./г білка	1,62±0,15	2,60±0,25 [#]	1,97±0,19*	2,49±0,32	2,28±0,13*
КФГ, ум. од./г білка	0,76±0,14	1,39±0,16 [#]	1,03±0,14	1,33±0,14	1,03±0,18
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	5,47±0,98	9,10±0,92 [#]	6,04±1,03*	8,95±0,87	6,33±0,94*
Нітротирозин, нмоль/г білка	9,63±0,87	16,50±1,16 [#]	11,40±1,38*	16,30±1,31	12,40±1,22*
СОД, ум. од./ (мг білка·хв)	272,00±9,98	234,20±8,55 [#]	261,2±10,2	239,50±8,25	257,60±9,72
Глут. віднов., мкмоль/г білка	3,95±0,27	1,87±0,13 [#]	2,24±0,26	1,89±0,17	2,27±0,21
Глут. окис., мкмоль/г білка	0,12±0,02	0,29±0,02 [#]	0,21±0,03	0,27±0,03	0,20±0,03
Г-S-T, ммоль/(хв·г білка)	27,56±2,35	20,40±1,83 [#]	21,80±1,87	20,30±1,74	23,60±2,05
ГР, ммоль/(хв·г білка)	13,94±1,53	10,20±1,08 [#]	12,90±1,33	10,60±1,16	11,70±1,79
ГПО, ммоль/(хв·г білка)	69,9±3,4	41,90±2,61 [#]	45,20±3,28	42,30±2,73	46,40±3,17

Показники оксидативного стресу та системи глутатіону в тканинах головного мозку на 4-ту добу після моделювання порушення мозкового кровообігу, $M \pm m$

Показник	Псевдооперовані	ПМК (контроль)	L-NAME	L-PA	S-MT
АФГ, ум. од./г білка	1,62±0,15	3,90±0,27 [#]	2,94±0,18*	3,70±0,23	2,46±0,15*
КФГ, ум. од./г білка	0,76±0,14	2,20±0,14 [#]	1,89±0,17	2,13±0,25	1,22±0,12*
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	5,47±0,98	10,50±0,79 [#]	7,92±0,92	9,26±2,03	6,95±1,04*
Нітротирозин, нмоль/г білка	9,63±0,87	29,60±2,06 [#]	17,30±1,84*	25,40±2,15	18,80±1,66*
СОД, ум. од./мг білка·хв	272,00±9,98	93,40±7,64 [#]	176,40±9,43*	98,30±7,63	179,2±10,1*
Глут. віднов., мкмоль/г білка	3,95±0,27	0,65±0,11 [#]	1,84±0,36*	0,68±0,13	2,57±0,16*
Глут. окис., мкмоль/г білка	0,12±0,02	0,77±0,14 [#]	0,52±0,09	0,75±0,11	0,49±0,08*
Г-S-T, ммоль/(хв·г білка)	27,56±2,35	7,60±0,85 [#]	12,90±1,37*	7,50±0,83	17,40±1,57*
ГР, ммоль/(хв·г білка)	13,94±1,53	6,40±0,59 [#]	8,54±1,44	6,62±0,76	9,98±1,31*
ГПО, ммоль/(хв·г білка)	69,9±3,4	25,10±2,13 [#]	40,80±3,29*	26,60±2,24	41,30±2,54*

медіатів. При цьому деяка частина синтезованого NO, зв'язуючись з високотоксичним супероксид-радикалом, утворює молекулу пероксинітриту. При цьому, по-перше, нагромаджуються значні кількості надзвичайно нейротоксичного ONOO⁻, а по-друге, значно знижується біодоступність самого NO.

Проведення терапії інгібітором nNOS — N-пропіл-L-аргініном на 1-шу і 4-ту добу не чинило істотного впливу на досліджувані показники, тому що в більш відстрочені періоди внесок цього ізоферменту у формування нітрозативного стресу є несуттєвим. Гіперпродукція NO на цих етапах викликана участю iNOS гліальних клітин, макрофагів і нейтрофілів. Віддалений характер підвищення iNOS пов'язаний з більш пізньою активацією астроглії. На відміну від nNOS і eNOS, iNOS залишається активною протягом тривалого часу і синтезує значні концентрації NO. Цим пояснюється виявлений нами позитивний ефект інгібіторів, які селективно пригнічують активність індукційного ізоферменту на пізніх термінах спостереження (див. табл. 2, 3). Наприкінці 1-ї доби після моделювання ПМК уведення (S)-метилтіосечовини викликало істотне зниження проявів нітрозативного стресу, її ефект був більш тривалим і зберігався до закінчення спосте-

реження. Зазначений препарат на 4-ту добу експерименту знижував рівень АФГ на 36,9 %; КФГ — на 44,5 %, активність СОД підвищувалася у 2,6 разу, що стало наслідком зниження рівня нітротирозину на 53,3 %. Застосування L-NAME викликало схожі за спрямованістю, але менш виражені зміни, що пов'язано з гальмівним впливом цієї сполуки на eNOS. У наших роботах відзначена роль інтермедіатів і ферментів тіолдисульфідної системи у механізмах біодоступності NO як у дослідах *in vitro*, так і при моделюванні експериментального ПМК [14–15]. Зниження активності ферментів системи глутатіону, у першу чергу ГПО, яка забезпечує розщеплення нітрозотіолів з вивільненням NO, в умовах окисного стресу є однією з причин зниження його біодоступності.

Таким чином, нейротоксичний ефект NO залежить від певного ізоферменту NO-синтази. Аналіз отриманих даних вказує на обмежену роль нейрональної ізоформи в умовах експериментального ПМК. Найбільш доречною мішенню для фармакологічної регуляції NO-залежних механізмів нейродеструкції є iNOS, тому що її активність підвищується через 12 год після розвитку ішемії, а дія здійснюється протягом наступних кількох діб.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Нейропротекція* и нейропластичность / И. Ф. Беленічев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная [и др.] – К. : Логос, 2015. – 512 с.
2. *Гусев Е. И.* Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова – М. : Медицина, 2001. – 328 с.
3. *Arginine-Based Inhibitors of Nitric Oxide Synthase: Therapeutic Potential and Challenges* / J. Vitecek, A. Lojek, G. Valacchi, L. Kubala // *Mediators of Inflammation*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 2541–2563.
4. *Nikki S. R.* Inhibition of the Endothelial Isoform of Nitric Oxide Synthase Impairs Long-Term Memory Formation in the Chick / S. R. Nikki, E. G. Marie, T. N. Kim // *Learn Mem*. – 1999. – N 6. – P. 458–466.
5. *Горбачова С. В.* Вплив тіолових антиоксидантів на прояви ендотеліальної дисфункції в судинах головного мозку шурів з порушенням мозкового кровообігу / С. В. Горбачова, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов // *Медична хімія*. – 2015. – № 2. – С. 9–14.
6. *Klamer D.* The neuronal selective nitric oxide synthase inhibitor, N-omega-propyl-L-arginine, blocks the effects of phencyclidine on prepulse inhibition and locomotor activity in mice / D. Klamer // *Eur. J. Pharmacol*. – 2004. – Vol. 503, N 103. – P. 358–364.
7. *Максимович Н. Е.* Использование L-аргинина и ингибиторов образования оксида азота для коррекции воспалительного процесса в мозге крыс при его ишемии-реперфузии / Н. Е. Максимович // *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. – 2014. – № 3. – С. 14–17.
8. *Чекман И. С.* Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губ-

ский, И. Ф. Беленичев. – К. : ГФЦ МЗ Украины, 2010. – 81 с.

9. *Asatiani B. S.* Ферментные методы анализа / В. С. Асатиани. – М. : Наука, 1969. – 739 с.

10. *Halliwell B.* Free radical in Biology and Medicine / В. Halliwell, М. С. Ytteridge. – Oxford : Clarendon Press, – 1999. – 320 p.

11. *Горбунов Н. В.* Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток — зерен мозжечка / Н. В. Горбунов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1995. – № 7. – С. 40–48.

12. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : Медиасфера, 2002. – 312 с.

13. *Nitric Oxide and Superoxide Contribute to Motor Neuron Apoptosis Induced by Trophic Factor Deprivation* / A. G. Este'vez, N. Spear, M. Manuel, R. Radi // The Journal of Neuroscience. – 1998. – N 18 (3). – P. 923–931.

14. *Горбачева С. В.* Антиоксидантная модуляция нейроапоптоза в условиях дисбаланса тиол-дисульфидной системы и накопления окисленных промежуточных соединений *in vitro* / С. В. Горбачева, И. Ф. Беленичев //

Вісник проблем біології та медицини. – 2015. – № 3. – С. 124–129.

15. *Belenichev I. F.* The Thioldisulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbachova, N. V. Bukhtiyarova // Neurochemical Journal. – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 24–27.

Надійшла 1.12.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Р. С. Вастьянов

УДК 547.495.9:615.225:661.982

С. В. Горбачова, І. Ф. Беленічев

МОЖЛИВІ ШЛЯХИ ПЕРЕРИВАННЯ NO-ЗАЛЕЖНИХ ШЛЯХІВ НЕЙРОДЕСТРУКЦІЇ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ІНГІБІТОРІВ NO-СИНТАЗИ РІЗНОЇ СЕЛЕКТИВНОСТІ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Робота присвячена вивченню нейропротективної активності інгібіторів різних ізоформ NO-синтази на моделі експериментального порушення мозкового кровообігу. Установлено, що на ранніх термінах церебральної ішемії розгортаються реакції окисного і нітрозативного стресу, опосередковані гіперпродукцією оксиду азоту. Аналіз одержаних даних указує на обмежену роль нейрональної ізоформи в умовах експериментального порушення мозкового кровообігу. Найдоречнішою мішенню для фармакологічної регуляції NO-залежних механізмів нейродеструкції є індукцибельна NOS, оскільки її активність підвищується через 12 год після розвитку ішемії, а дія здійснюється протягом наступних кількох днів.

Ключові слова: оксид азоту, ізоферменти NO-синтази, інгібітори, нейродеструкція.

UDC 547.495.9:615.225:661.982

S. V. Gorbachova, I. F. Byelenichev

POSSIBLE WAYS OF NO-DEPENDENT PATHWAYS IN NEURODESTRUCTION USING INHIBITORS OF NO-SYNTHASE OF DIFFERENT SELECTIVITY UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CEREBRAL CIRCULATION IMPAIRMENT

The purpose of the given work is to study an efficiency of different inhibitors of NO-synthase under conditions of experimental cerebral ischemia by their capability to limit reactions of oxidative and nitrosative stress.

It has been established that neurotoxic NO effect depends on definite enzyme of NO-synthase. Analysis of the obtained data shows a limited role of neuronal isoform in conditions of experimental impairment of blood circulation. The most relevant target for pharmacological regulation of NO-dependent mechanisms of neurodestruction is iNOS because of the fact that its activity begins to increase in 12 hours after ischemia development and its action is realized during next several days.

Key words: nitric oxide, isoenzymes of NO-synthase, inhibitors, neurodestruction.

Передплатуйте
і читайте
журнал



**ДОСЯГНЕННЯ
БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ**

У випусках журналу:

Передплата приймається
у будь-якому передплатному
пункті

Передплатний індекс 08205

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

П. Б. Антоненко, д-р мед. наук, доц.

ЗВ'ЯЗОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ З МАРКЕРАМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Одеський національний медичний університет

Вступ

Уже понад 50 років ізоніазид залишається головною зброєю в боротьбі з туберкульозом (ТБ). Його метаболізм є предметом серйозних досліджень, більшість з яких фокусується на фармакодинамічних і токсикологічних аспектах певних метаболітів ізоніазиду. Численні метаболіти ізоніазиду були ідентифіковані, включаючи гідразин, ацетилгідразин, ізонікотинову кислоту, амоній тощо [1; 2]. Дві найбільші форми токсичності ізоніазиду, що спостерігаються у тварин і людей — це нейротоксичність і гепатотоксичність [3]. Водночас механізм токсичної дії ізоніазиду остаточно не зрозумілий. Одним із можливих механізмів є утворення вільних радикалів.

Метою даної роботи було з'ясування можливого зв'язку між рівнем ізоніазиду й одного з його основних метаболітів — ацетилізоніазиду та вмістом маркерів стану про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз.

Матеріали та методи дослідження

Зразки крові були одержані від 84 хворих на ТБ легень, що вперше діагностовані, в Одесь-

кому обласному протитуберкульозному диспансері в 2012 р., з яких 39 (46,4 %) жінок, решта 45 (53,6 %) — чоловіків. Вік хворих від 18 до 73 років (середній вік — 35,9 року). Усі хворі на туберкульоз одержували ізоніазид усередину з розрахунку 4–6 мг/кг маси тіла (загалом 300–400 мг) на добу згідно з наказом МОЗ України № 384 від 9.06.2006 р. [4]. Взяття венозної крові проводили у хворих на ТБ через 2, 4, 6 і 24 год після прийому ізоніазиду. Вміст ізоніазиду вимірювали згідно з методикою Волленберга в модифікації Р. І. Шендерової [5]. Метод базується на здатності ізоніазиду утворювати в кислому середовищі з ванадієвокислим амонієм кольорову комплексну сполуку, інтенсивність забарвлення якої вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 400 нм. Вміст ацетилізоніазиду виявляли за вищенаведеною методикою, але попередньо додавали до зразків сироватки крові хворих сірчану кислоту, яка призводить до перетворення ацетилізоніазиду в ізоніазид, і в результаті вимірювали вміст «загального» ізоніазиду (ізоніазид + ацетилізоніазид). Для обчислення рівня ацетилізоніазиду від концентрації «загального» ізоніазиду віднімали раніше отриману концен-

трацію «чистого» ізоніазиду (без додавання сірчаної кислоти). Рівень дієнових кон'югатів (ДК) вимірювали в сироватці крові з використанням гептанізопропілового спирту із подальшим визначенням на СФ-46 при 233 нм [6]. Активність каталази вимірювали в сироватці з застосуванням перекису водню і молібдату амонію із подальшим визначенням на СФ-46 при 410 нм [7]. Потім обчислювали інтегральний показник — антиоксидантний індекс (АОІ) як відношення активності каталази до вмісту ДК. Обчислення фармакокінетичних і статистичних даних проводили із залученням Microsoft Excel, програми «Primer Biostatistica».

Результати дослідження та їх обговорення

Згідно з одержаними даними, максимальний рівень ацетилізоніазиду 4,752 мкг/мл спостерігали через 4 год після введення ізоніазиду. У наступні часові відрізки вміст ацетилізоніазиду поступово знижувався. Мінімальний рівень метаболіту ізоніазиду спостерігався наприкінці доби — 3,244 мкг/мл. Водночас у самого ізоніазиду максимальна концентрація спостерігалася через 2 год і становила 4,162 мкг/мл з подальшим

Вміст ізоніазиду і ацетилізоніазиду та показники про- й антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз протягом доби

Час, год	Концентрація, мкг/мл		Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
	ізоніазиду	ацетилізоніазиду			
2	4,162±0,198	3,788±0,461	1,663±0,120	0,151±0,024	0,092±0,018
4	2,481±0,202	4,752±0,499	1,655±0,105	0,162±0,034	0,095±0,020
6	1,194±0,174	3,390±0,367	1,526±0,095	0,166±0,025	0,111±0,018
24	0,162±0,121	3,244±0,432	1,521±0,104	0,168±0,032	0,120±0,023
Серед.	2,005±0,200	3,790±0,438	1,602±0,096	0,162±0,023	0,112±0,020

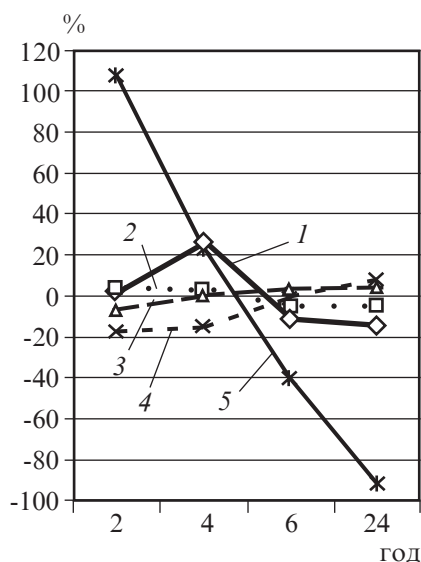


Рис. 1. Динаміка концентрації ізоніазиду, ацетилізоніазиду і показників про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз щодо середньодобового рівня відповідного показника, %: 1 — ацетилізоніазид; 2 — дієнові кон'югати; 3 — каталаза; 4 — АОІ; 5 — ізоніазид

зниженням концентрації наприкінці доби — 0,162 мкг/мл. Протягом доби відбувалося поступове зменшення рівня ДК і зростання активності каталази з АОІ на тлі поступового зменшення концентрації метаболітів ізоніазиду після 4 год (рис. 1). Так, через 2 год після прийому ізоніазиду відзначалася максимальна концентрація ДК — 1,663 моль/л (табл. 1, див. рис. 1). У наступних часових відрізках вміст ДК поступово знижувався і досягнув свого мінімуму — 1,521 моль/л через добу. Щодо активності каталази й антиоксидантного індексу, то відзначалася зворотна закономірність — мінімальна активність спостерігалася через 2 год після прийому препарату — 0,151 мкат/л і 0,092 відповідно — з поступовим зростанням і максимумом через 24 год — 0,168 мкат/л і 0,120 відповідно. Вірогідна різниця між показниками про- й антиоксидантної систем на різних часових відрізках була відсутня.

Одержані дані засвідчили, що зменшення концентрації ізоніазиду і ацетилізоніазиду протягом доби після введення асоціювалося з певним зменшенням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів — ДК і зростанням активності ферменту антиоксидантної системи — каталази, а також АОІ. Це узгоджується з даними літератури, згідно з якими ізоніазид характеризується системною токсичністю, зокрема гепато- і нейротоксичністю [3].

Зважаючи на зростання показників антиоксидантної системи (каталаза) і зменшення вмісту продуктів прооксидантної системи (ДК) на тлі зменшення вмісту метаболітів ізоніазиду в крові хворих на ТБ було доцільним дослідити на-

явність кореляції між показниками про- й антиоксидантної систем і концентрацією ацетилізоніазиду та ізоніазиду. Для цього було проаналізовано зв'язок між вказаними показниками в кожному окремому часовому відрізку — 2, 4, 6, 24 год.

При дослідженні кореляції між маркерами про- й антиоксидантної систем було встановлено наявність прямої кореляції між концентрацією ацетилізоніазиду через 4 год після введення ізоніазиду, а також середньодобової концентрації з рівнем ДК; розрахункове значення t-критерію становить 2,326 і 4,896 відповідно при критичному значенні t-критерію 1,988 в даному випадку і далі в тексті (рис. 2).

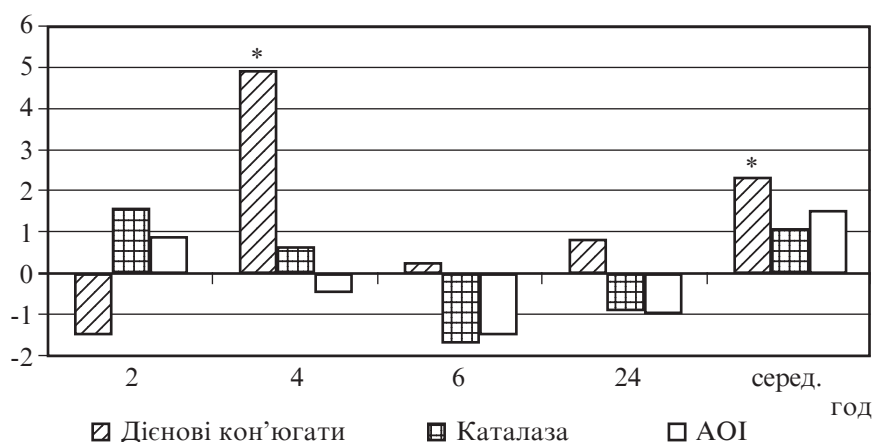


Рис. 2. Кореляція між концентрацією ацетилізоніазиду та відповідними часовими показниками про- й антиоксидантної систем. На рис. 2, 3: за віссю абсцис — час після введення ізоніазиду (серед. — середньодобовий показник); за віссю ординат — розрахунковий t-критерій; * — розрахункове значення t-критерію є більшим від його критичного значення (1,988)

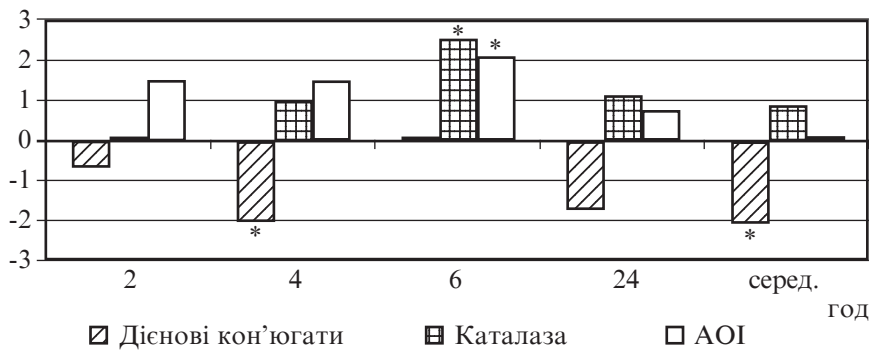


Рис. 3. Кореляція між концентрацією ізоніазиду та відповідними часовими показниками про- й антиоксидантної систем

Таблиця 2

Кореляція між співвідношенням ацетилізоніазид/ізоніазид та маркерами про- й антиоксидантної систем

Час, год	Дієнові кон'югати	Каталаза	Антиоксидантний індекс
2	1,299	0,692	0,163
4	2,684*	-1,989*	-2,599*
6	0,153	-2,483*	-2,414*
24	1,880	-0,689	-0,904
Сер.	2,123*	-1,113	-1,527

Примітка. * — розрахункове значення t-критерію є більшим від його критичного значення (1,988)

Через 4 год після введення ізоніазиду спостерігалась обернена кореляція між концентрацією протитуберкульозної речовини і вмістом ДК (розрахункове значення t-критерію 2,011), а через 6 год — пряма кореляція з активністю каталази й АОІ (розрахункове значення t-критерію 2,544 і 2,086). Також середньодобовий рівень ізоніазиду обернено корелював із вмістом ДК. Таким чином, одержані результати засвідчили обернену кореляцію між концентрацією ізоніазиду і вмістом ДК, а також пряму кореляцію з активністю каталази і рівнем антиоксидантного індексу (рис. 3).

Для дослідження впливу метаболітів ізоніазиду на стан про- й антиоксидантної систем з урахуванням концентрації вихідної сполуки було обчислено співвідношення ацетилізоніазид/ізоніазид з подальшим математичним аналізом на наявність кореляції (табл. 2). Спів-

відношення ацетилізоніазид/ізоніазид прямо корелювало з вмістом ДК через 4 год і в середньому протягом доби (розрахункове значення t-критерію 2,684 і 2,123 відповідно), водночас обернено корелювало з активністю каталази через 4 і 6 год (-1,989 і -2,483 відповідно), а також АОІ (розрахункове значення t-критерію -2,599 і -2,414).

Отже, згідно з отриманими даними, спостерігається пряма кореляція між вмістом ацетилізоніазиду і його співвідношенням з ізоніазидом щодо вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ДК) і обернена кореляція з активністю антиоксидантної системи (каталази). Одержані результати засвідчили, що токсичність ізоніазиду, принаймні частково, може бути пов'язана з утворенням ацетилізоніазиду.

Висновки

1. Зменшення концентрації ацетилізоніазиду та ізоніазиду у

хворих на туберкульоз через 2–4 год після введення ізоніазиду асоціювалося зі зменшенням рівня дієнових кон'югатів і збільшенням активності каталази.

2. Збільшення вмісту ацетилізоніазиду через 4 год після введення асоціювалося зі збільшенням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів, що свідчить про ймовірну токсичність метаболіту ізоніазиду — ацетилізоніазиду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ramachandran G. Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis : a review / G. Ramachandran, Soumya Swaminathan // Pharmacogenomics and Personalized Medicine. – 2012. – N 5. – P. 89–98.
2. Role of reactive metabolites in drug-induced hepatotoxicity / A. Srivastava, J. L. Maggs, D. J. Antoine [et al.] // Handb. Exp. Pharmacol. – 2010. – N 196. – P. 165–194.
3. Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India / V. H. Gupta, D. N. Amarpurkar, M. Singh [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2013. – Vol. 28, N 8. – P. 1368–1374.
4. Про затвердження протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз : Наказ МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. : нормативні директивні правові документи. – К., 2006. – 87 с.
5. Шендерова Р. И. Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Вилленберга / Р. И. Шендерова // Лабораторное дело. – 1975. – № 2. – С. 114–116.
6. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная. – М., Медицина, 1977. – С. 63.
7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарева // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Надійшла 12.10.2015

Рецензент д-р мед. наук, проф. Н. А. Мацегора

ЗВ'ЯЗОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ З МАРКЕРАМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Метою даної роботи було з'ясування можливого зв'язку між вмістом ізоніазиду та його метаболіту ацетилізоніазиду з вмістом маркерів стану про- й антиоксидантної систем у хворих на легеневий туберкульоз. Вимірювали вміст ізоніазиду, ацетилізоніазиду, рівень дієнових кон'югатів і активність каталази у венозній крові через 2, 4, 6 і 24 год. після прийому стандартної дози ізоніазиду.

Концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз обернено корелювала з рівнем дієнових кон'югатів і прямо — з активністю каталази. Збільшення вмісту ацетилізоніазиду через 4 год. після введення асоціювалося з підвищенням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів. Одержані результати засвідчили, що токсична дія ізоніазиду частково пов'язана з утворенням ацетилізоніазиду.

Ключові слова: ацетилізоніазид, ізоніазид, перекисне окиснення ліпідів, туберкульоз.

THE CONNECTION BETWEEN ISONIAZID LEVEL AND MARKERS OF LIPIDS PEROXIDATION IN THE PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

The goal of present work was investigation of putative link between level of isoniazid and its principal metabolite acetylisoniazid with the level of pro- and antioxidant systems markers in patients with pulmonary tuberculosis (TB). Isoniazid, acetylisoniazid, diene conjugates (DC) level and catalase activity were detected in venous blood 2, 4, 6 and 24 hrs. after ingestion of standard dose of isoniazid.

Isoniazid concentration in TB-patients was in reverse correlation with DC level and in direct correlation with catalase activity. Increasing of acetylisoniazid level 4 hrs after isoniazid administration associated with raising of markers of lipids peroxidation. The obtained data witnessed that toxic effect of isoniazid partially can be explained by production of acetylisoniazid.

Key words: acetylisoniazid, isoniazid, lipids peroxydation, tuberculosis.

УДК 618.14-002-08:615.849

О. Я. Назаренко¹, д-р мед. наук,

І. З. Гладчук, д-р мед. наук, проф.,

А. Г. Волянська, канд. мед. наук, доц.

ІНФОРМАТИВНІСТЬ
ТРАНСВАГІНАЛЬНОЇ ГІДРОЛАПАРОСКОПІЇ
ПРИ ОБСТЕЖЕННІ ПАЦІЄНТОК З БЕЗПЛІДНІСТЮ

Одеський національний медичний університет

¹ Військово-медичний клінічний центр Південного регіону, Одеса

Вступ

Вперше огляд органів черевної порожнини шляхом введення в неї освітлювальних приладів здійснив російський акушер-гінеколог Д. О. Отт (1901). Автор назвав даний метод вентроскопією і застосовував його під час вагінальних операцій. Цього ж року Г. Келлінг на з'їзді німецьких природознавців і лікарів продемонстрував огляд черевної порожнини собаки за допомогою цистоскопа після попереднього створення пневмоперитонеума. У подальшому метод огляду органів малого таза за допомогою ендоскопа через заднє склепіння піхви дістав назву кульдоскопії, а ревізія черевної порожнини, здійснювана при введенні оптичної системи через передню черевну

стінку, названа лапароскопією [1].

A. Decker і T. Cherry (1944) повідомили про застосування кульдоскопії в діагностиці захворювань органів малого таза. Метод набув подальшого розвитку у роботах F. S. Billingsley et al. (1963), R. H. Hall et al. (1967) та ін. Проте через низьку інформативність, необхідність виконання процедури в коліно-ліктвовому положенні хворої метод поступився місцем стандартній трансабдомінальній лапароскопії (ТАЛ), яка сьогодні є «золотим стандартом» у діагностиці та лікуванні інтраабдомінальної патології [2–4].

Gordts et al. (1998) представили нову ендоскопічну техніку візуальної діагностики органів малого таза у жінок, виконува-

ну через заднє склепіння піхви в положенні хворої лежачи на спині, як при піхвових операціях. Ураховуючи, що дана процедура виконується в середовищі фізіологічного розчину, вона дістала назву трансвагінальної гідролароскопії (ТВГЛ). Головною перевагою даної методики є можливість виконання її в амбулаторних умовах під місцевою інфільтраційною або внутрішньовенною анестезією. Недолік ТВГЛ-діагностики — обмеженість візуального огляду органів, розташованих у задній частині порожнини малого таза, і відсутність звичного для лікарів панорамного огляду органів малого таза [7].

Сьогодні проведено обмежену кількість досліджень, які вивчають діагностичну точність ТВГЛ порівняно зі стандарт-

ною ТАЛ. Наявні роботи обмежуються одиничними спостереженнями [5; 6].

Мета роботи — провести порівняльну оцінку даних, отриманих методами трансвагінальної та трансабдомінальної лапароскопії, встановити діагностичні можливості трансвагінальної гідролапароскопії порівняно з класичним трансабдомінальним ендоскопічним втручанням.

Матеріали та методи дослідження

У клініці гінекології Військово-медичного клінічного центру Південного регіону (Одеса) за допомогою методів ТВГЛ і ТАЛ було обстежено 56 субфертильних пацієнток репродуктивного віку. Основні критерії відбору — наявність в анамнезі безплідності більше 2 років, а також відсутність патології органів малого таза, що виявляється під час гінекологічного огляду та трансвагінального ультразвукового дослідження. В усіх обстежуваних жінок було отримано письмову згоду на проведення обох процедур. На доопераційному етапі пацієнткам також виконували загальноклінічні, біохімічні аналізи крові, сечі, бактеріоскопічні, бактеріологічні дослідження вагінальних виділень, гормональний профіль плазми крові. Вивчалася спермограма статевого партнера.

Усім пацієнткам внутрішньовенно інтраопераційно проводили антибіотикопрфілактику. Спочатку виконували процедуру ТВГЛ, результати якої документували, а отриману інформацію згодом порівнювали з даними ТАЛ. Пацієнтки перебували в дорсолітотомічному положенні. Після дезінфекції зовнішніх статевих органів і піхви в порожнину матки вводили катетер Фолея № 10, балон якого заповнювали 5 мл фізіологічного розчину. Задню губу шийки матки захоплювали кульовими щипцями і оголювали заднє склепіння піхви. Зібрану

систему голка-троакар «Карл Шторц» фіксували в точці введення, розташованій по середній лінії, на 15 мм нижче за шийку матки в задньому склепінні піхви, і активізували пружинний механізм, що здійснює тонкоголкову пункцію на глибину від 10 до 25 мм. Через зовнішній троакар системи у дугласів простір вводили ендоскоп діаметром 2,7 мм з оптичним кутом 30°. Підігрітий до 37 °С фізіологічний розчин інстилювали в порожнину малого таза в об'ємі від 200 до 800 мл. Освітлення забезпечувалося високоінтенсивним джерелом холодного світла через фіброоптичний світловод. Зображення спостерігали на кольоровому моніторі з високою роздільною здатністю.

Огляд починався із задньої стінки матки. За допомогою обертання і більш глибокого введення ендоскопа проводили послідовну оцінку стану маткових труб, яєчників, ділянки очеревини *fossa ovarica* з обох сторін. Потім досліджували прохідність маткових труб за допомогою хромогідротубації водним розчином метиленового синього, який вводили в порожнину матки через балонний катетер Фолея № 10. Трубну прохідність оцінювали за появою синього забарвлення з дистального устя маткової труби. Після вилучення з черевної порожнини фізіологічного розчину й інструментів, з метою оцінки стану порожнини матки, виконували діагностичну гістероскопію тим самим ендоскопом, без попереднього розширення цервікального каналу. Стандартне трансабдомінальне лапароскопічне втручання виконували типовим способом, під загальним знеболенням з інтубацією трахеї, після створення карбоксиперитонеума і надання хворій положення Тренделенбурга.

Результати обробляли статистично, використовуючи стандартний програмний пакет Microsoft Excel for Office 2000.

Результати дослідження та їх обговорення

Вік обстежуваних жінок варіював від 21 до 40 років, у середньому дорівнюючи ($27,0 \pm 2,5$) року. Для виконання ТВГЛ і ТАЛ були відібрані субфертильні пацієнтки, у яких у процесі передопераційного обстеження не було виявлено якоїсь патології придатків матки. Обстеження з приводу первинної безплідності проводили у 30 (53,5 %) пацієнток, повторної — у 26 (46,4 %). Середня тривалість безплідності становила ($7,5 \pm 1,4$) року — від 2 до 14 років. Сперма статевих партнерів 10 пацієнток відрізнялася зниженою кількістю рухливих сперматозоїдів. У решти пар був повністю виключений чоловічий фактор безплідності. У 9 (16,0 %) хворих раніше виконувалися абдомінальні оперативні втручання на внутрішніх статевих органах. Більшість із них — 7 (77,7 %) — оперовані лапароскопічно з приводу гострої гінекологічної патології (позаматкова вагітність, апоплексія яєчника, пельвіоперитоніт), а також з приводу дистальної трубної оклюзії та склерополікістозу яєчників. Традиційним відкритим доступом раніше оперовані 2 (22,2 %) пацієнтки — з приводу апоплексії яєчника. Середній проміжок часу між операціями становив ($19,7 \pm 2,7$) міс. — від 12 до 37 міс. У 2 (3,5 %) жінок при УЗД знайдено поодинокі субмукозні вузли діаметром 20 і 17 мм. Ще у 4 (7,1 %) випадках зафіксовано наявність поліпів у порожнині матки розмірами від 5 до 15 мм.

У 54 (96,4 %) жінок пункція дугласового простору була успішною і дозволила ввести в порожнину малого таза відеоендоскоп. У 2 (3,5 %) випадках не вдалося ввести в порожнину малого таза троакарну систему з ендоскопом. При контрольній трансабдомінальній лапароскопії з'ясувалося, що в одному випадку введення оптичної системи і фізіологічного розчину здійснювалося в параректальну

клітковину, у другому випадку — у клітковину правої широкої маткової зв'язки. Слід відзначити, що обидві невдалі пункції здійснювалися у початковий період виконання ТВГЛ. Цих двох пацієнток було виключено з дослідження, оскільки ТВГЛ у них не виконувалася.

Середня тривалість ТВГЛ становила $(18,7 \pm 2,1)$ хв — від 15 до 25 хв. Середня витрата фізіологічного розчину дорівнювала $(458,0 \pm 50,7)$ мл — від 250 до 800 мл. Інтраопераційні ускладнення ТВГЛ — 3 (5,5 %) — пов'язані з кровотечею: у 2 (3,7 %) випадках у зв'язку з пораненням задньої стінки тіла матки і в 1 (1,8 %) випадку — з пораненням судин крижово-маткової зв'язки. Виниклі ускладнення діагностувалися в процесі процедури, за ціркою крові, що візуально визначалася на екрані монітора, і за яскравим забарвленням фізіологічного розчину, який витікав із черевної порожнини.

У процесі ТВГЛ-ревізії намагалися досягти чіткої візуалізації кожної з 10 досліджуваних структур малого таза: задня стінка порожнини малого таза і крижово-маткові зв'язки (1), задня стінка матки (2), істмічний і ампулярний відділи правої маткової труби (3), фімбріальний відділ правої маткової труби (4), правий яєчник (5), *fossa ovarica* справа (6), істмічний і ампулярний відділи лівої маткової труби (7), фімбріальний відділ лівої маткової труби (8), лівий яєчник (9), *fossa ovarica* зліва (10). Візуалізація кожної структури в процесі ТВГЛ виконується окремо і не залежить від результатів візуалізації суміжної ділянки. Так, у разі дистальної трубної оклюзії можна детально оглянути істмічний і ампулярний відділи маткової труби, але не знайти її фімбріальний відділ, а візуалізація задньої стінки порожнини малого таза і обох крижово-маткових зв'язок відбувається одночасно і практично відразу при введенні ендоскопа в карман дугласового простору.

При успішному пунктируванні та введенні ендоскопа в порожнину малого таза в усіх дослідженнях не являло ніяких технічних труднощів вивчення прямокишково-маткового заглиблення, крижово-маткових зв'язок і задньої стінки матки. За допомогою ТВГЛ повноцінного огляду всіх відділів маткової труби, включаючи дистальне устя, обох полюсів і обох поверхонь яєчника, а також ділянки очеревини *fossa ovarica* вдалося досягти при обстеженні 84 (77,7 %), 90 (83,3 %) і 82 (75,9 %) перерахованих тубооваріальних структур відповідно (табл. 1).

Під повним (інформативним) трансвагінальним гідропараскопічним досліджен-

ням ми мали на увазі отримання чіткої візуалізації всіх 10 перерахованих у табл. 1 досліджуваних структур малого таза. У випадках, коли нам не вдавалося чітко розглянути від однієї до чотирьох досліджуваних структур, таке ТВГЛ-обстеження вважали частковим. І в тих випадках, коли не вдалося візуально знайти більше 4 указаних структур, ТВГЛ-огляд був неінформативним і діагностичної цінності не мав. Як показали подальші трансабдомінальні ендоскопічні втручання, рівень інформативності ТВГЛ-обстеження значною мірою залежав від вираженості спайкового процесу органів малого таза (табл. 2).

Таблиця 1

Порівняльні результати можливості візуальної діагностики структур малого таза методами трансабдомінальної лапароскопії і трансвагінальної гідропараскопії, абс. (%)

Досліджувані структури малого таза	ТАЛ, n=54	ТВГЛ, n=54
Задня стінка порожнини малого таза і крижово-маткові зв'язки	54 (100,0)	54 (100,0)
Задня стінка матки	54 (100,0)	54 (100,0)
Істмічний і ампулярний відділи правої маткової труби	54 (100,0)	43/54 (79,6)
Фімбріальний відділ правої маткової труби	54 (100,0)	41/54 (75,9)
Правий яєчник	54 (100,0)	46/54 (85,1)
<i>Fossa ovarica</i> справа	54 (100,0)	41/54 (75,9)
Істмічний і ампулярний відділи лівої маткової труби	54 (100,0)	42/54 (77,7)
Фімбріальний відділ лівої маткової труби	54 (100,0)	40/54 (74,0)
Лівий яєчник	54 (100,0)	44/54 (81,4)
<i>Fossa ovarica</i> зліва	54 (100,0)	41/54 (75,9)

Таблиця 2

Залежність інформативності трансвагінального гідропараскопічного обстеження від патології малого таза, виявленої в процесі трансабдомінальної лапароскопії, абс. (%)

Результати ТВГЛ, n=54	Результати ТАЛ, n=54		
	Поодинокі спайки або повна їх відсутність	Спайковий процес I–II ступеня	Спайковий процес III–IV ступеня
Повна (інформативна) ТВГЛ 33 (61,1)	29/33 (87,8 %)	4/33 (12,2 %)	—
Часткова ТВГЛ 15 (27,7)	3/15 (20,0 %)	12/15 (80,0 %)	—
Неінформативна ТВГЛ 6 (11,1)	—	—	6/6 (100,0)

**Результати трансвагінальної гідропароскопічної
і трансабдомінальної діагностики, абс. (%), n=54**

Остаточний ендоскопічний діагноз	ТАЛ	ТВГЛ
Відсутність будь-якої патології з боку досліджуваних структур малого таза	30 (55,5)	34 (61,1)
Пацієнтки з наявністю патологічних змін з боку досліджуваних структур малого таза	24 (44,4)	20 (37,0)
Одностороння дистальна трубна оклюзія	4	3/4 (75,0)
Двостороння дистальна трубна оклюзія	3	0/3 —
Одностороння проксимальна трубна оклюзія	3	3/3 (100,0)
Двостороння проксимальна трубна оклюзія	3	1/3 (33,3)
Перитубарний спайковий процес	17	9/17 (52,9)
Періоваріальний спайковий процес	18	10/18 (55,5)
Спайковий процес I–II ступеня вираженості	11	6/11 (54,5)
Спайковий процес III–IV ступеня вираженості	6	6/6*
Ендометріоз крижово-маткових зв'язок	8	6/8 (75,0)
Ендометріоз яєчників	8	4/8 (50,0)
Ендометріоз очеревини малого таза	7	4/7 (57,1)

Примітки:

1. Більшість пацієнток мали поєднання кількох патологічних станів, різної локалізації.
2. * — в умовах спайкового процесу III–IV ступеня вираженості ТВГЛ-діагностика органів малого таза не інформативна.

Усього повний (інформативний) ТВГЛ-огляд досягнутий у 33 (61,1 %) пацієнток, практично у 90 % із них була відсутня будь-яка патологія органів малого таза і лише у 10 % був незначний спайковий процес і/або зовнішній ендометріоз I–II ступеня. У випадках часткового ТВГЛ-огляду — 15 (27,7 %) випадків — значно зростала кількість хворих зі спайковим процесом і зовнішнім ендометріозом I–II ступеня — до 80 %. У хворих з III–IV ступенем вираженості спайкового процесу малого таза ТВГЛ-діагностика була неінформативною, що обов'язково потребувало подальшого виконання стандартного трансабдомінального ендоскопічного втручання.

ТВГЛ-діагнози повністю збігалися з даними, отриманими в результаті ТАЛ-діагностики, в 92,5 % випадках. Як показали обидві ендоскопічні методики, у 30 (55,5 %) субфертильних пацієнток була повністю відсутня будь-яка патологія органів малого таза. У пацієнток, у яких при проведенні ТВГЛ виявляли якісь патологічні знахідки у досліджуваних структурах, не було нормальної фізіологічної трансабдомінальної лапароскопічної картини малого таза (табл. 3).

Зафіксовано 17 (31,4 %) випадків трубної патології, діагностованих шляхом трансабдомінальної лапароскопії, 11 (64,7 %) з яких були правильно діагностовані шляхом ТВГЛ. У 6 (11,1 %) випадках, що супроводжувалися тяжким спайковим процесом, ТВГЛ-діагностика органів малого таза була неінформативною.

Ендометріюїдні осередки за допомогою класичної ТАЛ виявлені у 11 (20,3 %) жінок. Згідно з класифікацією AFS, вони були розцінені як I і II стадії — 6 (11,1 %) і 5 (9,2 %) випадків відповідно. Частіше ендометріюїдні осередки виявлялися на крижово-маткових зв'язках, поверхні яєчників і очеревині заднього листка широкої маткової зв'язки в ділянці *fossa ovarica*.

За допомогою ТВГЛ діагностовано 7 (63,7 %) випадків зовнішнього ендометріозу. В 1 (9,0 %) випадку ендометріома діаметром до 20 мм не була знайдена, незважаючи на повний ТВГЛ-огляд. Ця ендометріома перед операцією діагностована за допомогою УЗД, проте була розцінена як кіста жовтого тіла з крововиливом. У 3 (27,2 %) випадках ендометріюїдні осередки яєчників і в ділянці *fossa ovarica* не були виявлені.

Не було жодного випадку хибнопозитивної діагностики зовнішнього ендометріозу методом ТВГЛ. У 3 (27,2 %) жінок при трансабдомінальній лапароскопічній діагностиці виявлені ендометріюїдні осередки, локалізовані на передньому листку широкої маткової зв'язки. Проте у цих пацієнток були також осередки на очеревині дугласового простору, які були правильно діагностовані під час ТВГЛ.

При проведенні стандартної ТАЛ тазові спайки знайдені у 18 (33,3 %) обстежуваних пацієнток. У 7 (38,8 %) із них спа-

йок за допомогою ТВГЛ візуалізувати не вдалося. У 3 (16,6 %) випадках ТВГЛ-огляд був інформативним із чіткою візуалізацією усіх 10 досліджуваних структур. У цих пацієнток поодинокі, тонкі, безсудинні спайки розташовувалися в міхурово-матковому заглибленні й у верхньому поверсі малого таза, при цьому вони не впливали на просторове розташування тазових органів і репродуктивну функцію жінок. У решті 4 (22,2 %) випадках поодинокі спайки фіксували придатки матки до парієтальної очеревини верхнього поверху порожнини таза, внаслідок чого ТВГЛ-огляд був частковим. Успішна ТВГЛ-діагностика перитубарного і періоваріального (включаючи і *fossa ovarica*) спайкового процесу здійснена у 9 (52,9 %) і 10 (55,5 %) пацієнток відповідно. Як довело подальше стандартне лапароскопічне обстеження, успішна ТВГЛ-діагностика перитубарного і періоваріального спайкового процесу можлива у пацієнток, де тазовий спайковий процес не перевищував II ступінь розповсю-

дження. Як і у випадках із зовнішнім ендометріозом, жодного випадку хибнопозитивної ТВГЛ-діагностики спайкового процесу виявлено не було.

Висновки

Таким чином, рівень інформативності ТВГЛ значною мірою залежить від вираженості тазового спайкового процесу. Тому в пацієток, у яких припускається наявність III–IV ступеня вираженості спайкового процесу (наявність в анамнезі відкритих оперативних втручань на органах малого таза і тяжких запальних процесів внутрішніх статевих органів), рекомендовано виконання класичного трансабдомінального ендоскопічного втручання, оскільки ТВГЛ-дослідження не матиме жодної діагностичної цінності. Проте, як показали результати нашого дослідження, у половини субфертильних пацієток не виявляється будь-якої інтраабдомінальної патології. Дана категорія хворих може виявлятися на етапі ТВГЛ і в подальшому уникнути більш інвазивного втручання, як ТАЛ. Згідно з проведеним досліджен-

ням, збіг діагнозів обох ендоскопічних методик спостерігається більш ніж у 90 % обстежуваних хворих. Тому, враховуючи можливість виконання ТВГЛ в амбулаторних умовах, під місцевою анестезією, її слід рекомендувати як скринінговий метод першої лінії обстеження пацієток із безплідністю, що дозволяє візуально оцінити стан дугласового простору, яєчників, маткових труб.

Наше пробне дослідження продемонструвало, що ТВГЛ — реально здійсненна, безпечна й інформативна методика, вона може розглядатися як альтернативна процедура при обстеженні жінок із безплідністю. У разі виявлення патологічних знахідок, часткової або неінформативної ТВГЛ-діагностики пацієнткам слід рекомендувати виконання класичного трансабдомінального ендоскопічного втручання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кулаков В. И. Оперативная гинекология — хирургические энергии / В. И. Кулаков, Л. В. Адамян, О. А. Мынбаев. — М. : Медицина, 2000. — 860 с.
2. Савельева Г. М. Лапароскопия в гинекологии / Г. М. Савельева, И. В.

Федоров. — М. : ГЭОТАР Медицина, 1999. — 320 с.

3. *Culdoscopy*, an appraisal of the results. A review of 450 cases / F. S. Billingsley, T. B. Leberherz, J. C. Hodges [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1963. — N 87. — P. 172–177.

4. *Diagnostic accuracy of transvaginal hydrolaparoscopy in infertility* / R. Campo, S. Gordts, L. Rombauts, I. Brosens // *Fertil. Steril.* — 1999. — N 6. — P. 1157–1160.

5. *Is laparoscopy still the gold standard in infertility assessment? A comparison of fertiloscopy versus laparoscopy in infertility* : Results of an international multicentre prospective trial : The 'FLY' (Fertiloscopy-Laparoscopy) study / A. Watrelot, M. Nisolle, H. Chelli [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2003. — N 18 (4). — P. 834–839.

6. *Prognostic capacity of transvaginal hydrolaparoscopy to predict spontaneous pregnancy* / E. A. Tetering, M. Y. Bongers, M. A. Wiegerinck [et al.] // *Human Reproduction.* — 2007. — Vol. 22 (4). — P. 1091–1094.

7. *Transvaginal hydrolaparoscopy as an outpatient procedure for infertility investigation* / S. Gordts, R. Campo, L. Rombauts, I. Brosens // *Hum. Reprod.* — 1998. — N 13. — P. 99–103.

Надійшла 28.09.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. Г. Марічереда

УДК 618.14-002-08:615.849

О. Я. Назаренко, І. З. Гладчук, А. Г. Волянська
ІНФОРМАТИВНІСТЬ ТРАНСВАГІНАЛЬНОЇ ГІДРОЛАПАРОСКОПІЇ ПРИ ОБСТЕЖЕННІ ПАЦІЄТОК З БЕЗПЛІДНІСТЮ

Стандартна трансабдомінальна лапароскопія (ТАЛ) вважається «золотим стандартом» обстеження жінок із безплідністю. Через необхідність інтубаційної анестезії та інтраопераційних ускладнень до ТАЛ часто вдаються після тривалого періоду невдалих спроб лікування. Трансвагінальна гідролароскопія (ТВГЛ) заснована на вагінальному доступі. Використовуючи тонкоголкову пункційну техніку, її можна виконувати в амбулаторних умовах під місцевою анестезією. Проте відсутня інформація щодо відповідності даних, що стосуються ТВГЛ, результатам ТАЛ-діагностики. Проведено проспективне дослідження виконання, безпеки і діагностичної точності ТВГЛ порівняно з діагностичною ТАЛ у 56 жінок із безплідністю. Дослідження доводить, що ТВГЛ є високоінформативною, здійснюваною і безпечною малоінвазивною технікою обстеження субфертильних пацієток порівняно з класичним трансабдомінальним ендоскопічним втручанням.

Ключові слова: трансвагінальна гідролароскопія, субфертильність, спайковий процес малого таза, лапароскопія, інформаційна цінність.

UDC 618.14-002-08:615.849

O. Ya. Nazarenko, I. Z. Gladchuk, A. G. Volyanska
TRANSVAGINAL HYDROLAPAROSCOPY INFORMATIVITY AT EXAMINATION OF PATIENTS WITH INFERTILITY

Standard transabdominal laparoscopy (TAL) is considered the “gold standard” study of women with infertility. Because of the need for endotracheal anesthesia and intraoperative complications TAL is often used after a long period of unsuccessful attempts at treatment. Transvaginal hydrolaparoscopy (TVHL) is based on vaginal access. Using a fine needle puncture technique, it can be performed on an outpatient basis under local anesthesia. Nevertheless, there were no data relating to the results of the matching TVHL data and TAL diagnosis. It was conducted a prospective comparative study of the feasibility, safety and diagnostic accuracy of TVHL compared to diagnostic TAL in 56 women with infertility. Research proves that transvaginal hydrolaparoscopy is highly informative, feasible and safe minimally invasive technique survey of subfertile patients in comparison with a classic transabdominal endoscopic intervention.

Key words: transvaginal hydrolaparoscopy, subfertility, pelvic adhesions, laparoscopy, informative validity.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ЗУБНЫХ ЩЕТОК СЛОЖНОЙ ФОРМЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СОСТОЯНИЕ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА И ТКАНИ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

Одесский национальный медицинский университет

Введение

Полноценная чистка зубов от мягкого зубного налета является гарантией защиты развития хронического генерализованного катарального гингивального воспаления, особенно у детей, больных хроническим тонзиллитом (ХТ). Хронический тонзиллит — одно из самых распространенных заболеваний, встречающихся в повседневной педиатрической практике. Хронический характер инфекции ЛОР-органов чаще всего является показателем недостаточного функционирования иммунной защиты организма. Постоянная активизация неспецифических защитных механизмов приводит к возникновению воспалительных реакций, но недостаточна для полного подавления возбудителей инфекции. Рецидивирующие заболевания — это следствие наличия скрытых инфекций, которые активизируются в периоды ослабления иммунной системы. Часто этому способствует неоправданное назначение антибиотиков. В большинстве случаев они действуют бактериостатически, но при этом снижается активность фагоцитов [1; 2].

Другим фактором, снижающим резистентность организма, являются бактериальные и вирусные заболевания верхних дыхательных путей. Респираторные бактерии и вирусы на-

рушают барьерные функции слизистой оболочки, тем самым способствуя снижению местного иммунитета, а также понижают способность фагоцитов поглощать возбудителей инфекции [1; 2].

При ХТ, особенно при его декомпенсированной форме, происходят нарушения в иммунном статусе, что исследовалось многими авторами [3]. Существуют также исследования, которые свидетельствуют, что и при разных формах ХТ, и при разных формах хронического фарингита характерны не только местные изменения слизистой оболочки ротоглотки, но и нарушения иммунного гомеостаза всего организма [1–3].

Вследствие всего вышеизложенного, у детей, имеющих хроническую тонзиллярную инфекцию, возможна генерализация хронического катарального воспаления в гингиве, что нарушает иммунный гомеостаз ротоглотки и всего организма ребенка в целом. Вот почему чистка зубов считается передовым бастионом обороны против мягкого зубного налета, содержащего микроорганизмы, и развития гингивита в незрелых структурах тканей пародонта.

Это было продемонстрировано в классическом исследовании Leo et al., когда после прекращения чистки зубов происходило быстрое накопление

мягкого зубного налета и развитие гингивита в течение 3 нед. Возобновление чистки зубов, особенно с применением антибактериальных средств, разрешало эти проблемы в течение недели [4]. Микроорганизмы, содержащиеся в мягком зубном налете на зубах, при неудовлетворительной гигиене полости рта могут стать решающим фактором в генерализации хронического катарального гингивита на фоне тонзиллярной инфекции, особенно у детей в препубертатный и пубертатный периоды [5].

Что касается научных исследований, посвященных зубным щеткам, то использование компьютерного моделирования для их разработки дало толчок к созданию новых образцов. Перед исследователями открылись новые возможности, которые могут быть успешно реализованы. Влияние этого способа конструирования уже можно ощутить. Если в течение долгого времени разработка новых образцов зубных щеток ограничивалась вариациями на тему гладкой подстрижки щетинок, то с недавних пор эта ситуация явно изменилась беспрецедентным взрывом активности в области их компьютерного моделирования. Производятся новые зубные щетки, разработанные с целью усилить влияние чистки зубов на стоматологическое здоровье [4]. Эти новые

формы щеток, порой сложные, продемонстрировали в лабораторных и клинических условиях значительную эффективность при удалении мягкого зубного налета и добавочный эффект при очищении межзубных промежутков [6; 7].

Методология оценки эффективности должна изменяться достаточно часто для того, чтобы идти в ногу с прогрессом в производстве. Так и произошло при разработке новых поколений зубных щеток. Субъективные методы оценки недостаточно критичны для полной дифференциации способности улучшенных механических средств удалять зубной налет. Индекс оценки зубного налета, например, разработанная Turesky модификация индекса Quigley–Hein, подходит для достаточно больших участков поверхности зуба, где присутствует налет, а более прицельный модифицированный Navy-индекс не изолирует проксимальные участки зубов, такие же важные для определения степени механического удаления зубного налета, как и пришеечные области. Чтобы преодолеть его несоответствие, модифицированный Navy-индекс усовершенствовали в индекс Rustogi et al. [4], который мы и применили в своих исследованиях. При проведении условных линий, делящих поверхность зуба на отдельные участки, индекс Rustogi et al. позволяет более точно и научно обоснованно провести оценку эффективности удаления мягкого зубного налета. В нескольких, одновременно проведенных исследованиях этот индекс позволил отчетливо показать разницу в эффективности удаления зубного налета, обусловленную использованием зубных щеток [4].

В нашем клиническом исследовании, для того чтобы сравнить относительную эффективность удаления мягкого зубного налета четырьмя различными современными зубными щетками с усложненным дизай-

ном щетинок, использовали индекс гигиены Rustogi et al. [4]. Модифицированный пародонтальный индекс гингивита Lobene et al. [4] был применен для определения эффективности воздействия этих щетинок на состояние десен после 3 мес. самостоятельной чистки зубов детьми в домашних условиях.

Материалы и методы исследования

Изучению подверглись четыре зубные щетки:

1. Oral-B Clinic Line Pro-Flex, Procter & Gamble. Мягкая.
2. Colgate Total. Colgate-Palmolive Company. Мягкая.
3. Aquafresh All Angles Flex Zone, GlaxoSmithKline. Мягкая.
4. Reach Floss Clean, Johnson&Johnson. Мягкая.

Все зубные щетки, исследованные в данном клиническом обследовании, были приобретены в Украине и предоставлены научному руководителю программы и в лабораторию гигиены полости рта ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины».

Детей — мальчиков и девочек в возрасте от 10 до 15 лет, осматривали для определения уровня мягкого зубного налета, используя гигиенический индекс Rustogi et al., представляющий собой модификацию нового Navy-индекса (рис. 1). Индекс Rustogi et al. применяется для количественной оценки зубного налета с помощью следующих кодов: «1» — присутствие налета; «0» — отсутствие налета в области девяти определенных участков поверхности зуба (зоны А, В, С, D, E, F, G, H, I). Критерием отбора детей для участия в данном исследовании служила величина индекса зубного налета, равная 0,6 или превышающая это значение. Среднее значение индекса налета для каждого ребенка рассчитывали по формуле:

$$\frac{\text{сумма участков с налетом}}{\text{сумма осмотренных участков}}$$

Степень хронического гингивита у детей, имеющих в анам-

незе ХТ, определяли по модифицированному индексу гингивита Lobene et al. Для включения ребенка в группу исследуемых требовалось, чтобы у него величина индекса гингивита была равна 1,8 или превышала это значение. Дети (200 пациентов), которые отвечали этим критериям, были включены в данное исследование. После включения детей в число участников исследования у них оценивали состояние мягких тканей полости рта и результаты заносили в карту обследования ребенка. Вслед за этим детям была проведена профессиональная гигиена полости рта и предложено в течение 48 ч отказаться от чистки зубов дома, а затем вновь прийти в клинику для исходного обследования перед началом клинических испытаний. Пройдя регистрацию результатов исходного осмотра, дети по случайному признаку были разделены на четыре группы. Каждого из них снабдили одной из четырех исследуемых зубных щеток (в соответствии с подгруппой) и зубной пастой Colgate, содержащей 1000 ppm фторида. Она использовалась в период исследования всеми участниками для стандартизации условий и уменьшения фактора влияния пасты. Всех детей проинструктировали о необходимости чистить зубы два раза в день — утром и вечером, стандартной пастой и

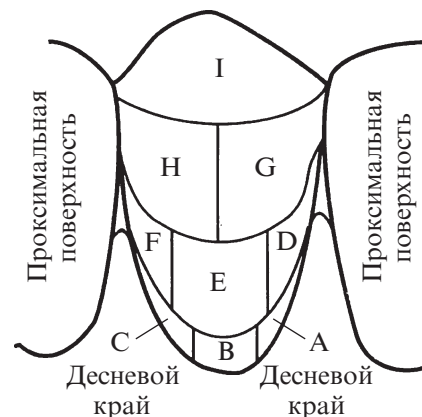


Рис. 1. Модификация Rustogi нового Navy-индекса зубного налета (по Rustogi et al., 1994)

**Исходные характеристики детей,
завершивших трехмесячное участие в исследовании**

Тип зубной щетки	Количество детей, n	Из них		Средний возраст, лет
		Мальчиков	Девочек	
Oral-B Clinic Line Pro-Flex	50	16	34	12,4
Colgate Total	47	16	31	12,1
Aquafresh All Angles Flex Zone	49	22	27	12,2
Reach Floss Clean	47	17	30	12,4

щеткой (по стандартному методу чистки зубов), соответствующей подгруппе исследования. Им было назначено прийти в клинику для промежуточной оценки зубного налета и гингивита через 6 нед., воздержавшись от гигиены в течение 24 ч, предшествующих осмотру. Во время промежуточного осмотра определяли величину индексов зубного налета и гингивита, состояние мягких тканей (для определения безопасности исследуемого средства). Результаты заносились в протокол исследования.

После проведения этого осмотра детей вновь снабжали зубной пастой, и они продолжали чистить зубы определенной зубной щеткой.

Аналогичный осмотр повторяли еще раз, через последующие 6 нед., в течение которых дети осуществляли самостоятельно двукратную ежедневную чистку зубов дома. Во время заключительного обследования проводили окончательную оценку величины индексов зубного налета и гингивита, состояния мягких тканей. На этом дети заканчивали свое участие в исследовании.

Все результаты оценки индексов зубного налета и гингивита исследователь диктовал предварительно обученному регистратору, который заносил данные в компьютер. Распечатку данных обследования подписывали ответственный исполнитель и научный руководитель.

Все осмотры при проведении данного исследования вы-

полнялись в рамках реализации программы «Профилактика основных стоматологических заболеваний», на клинической базе кафедры стоматологии детского возраста ОНМедУ — в Медицинском центре детского стоматологического здоровья, осуществлял их один обученный и подготовленный специалист, который не знал, какую щетку использовали дети, то есть исследование проводилось «слепым» методом.

Результаты исследования и их обсуждение

Выборка. Для клинических испытаний были отобраны 200 детей (школьников средних школ Одессы и Ильичевска) с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (ХГКГ), в анамнезе у которых имелся ХТ. Каждый тип щетки использовали 50 детей. Семь детей прекратили свое участие по причинам, не связанным с исследованиями. Окончательное распределение детей по группам при заключительном осмотре представлено в табл. 1.

Безопасность. Исходные данные, результаты исследования мягких тканей через 6 нед. и через 3 мес. не выявили нежелательных проявлений в ротовой полости детей.

Оценка зубного налета. В табл. 2 представлены средние значения индекса зубного налета, выявленные при каждом осмотре для четырех групп. Как видно из этой таблицы, все четыре группы детей, применявших в дальнейшем зубные щетки, при исходном осмотре были хорошо сбалансированы.

Данные показывают, что при исследовании зубной щетки Oral-B Clinic Line Pro-Flex и обычного стандартного метода чистки зубов — два раза в день, происходит достоверное ($p < 0,001$) уменьшение количества зубного налета, как через 6 нед., так и через 3 мес. Причем последнее значение индекса зубного налета на 54,39% ($p < 0,001$) меньше исходного уровня. В группе детей, использовавших зубную щетку Colgate Total, также наблюдалось дос-

Индекс зубного налета, среднее значение (стандартное отклонение)

Тип зубной щетки	Количество детей, n	Исходный осмотр	Через 6 нед.	Через 3 мес.	Улучшение через 3 мес. по сравнению с исходным осмотром*, %
Oral-B Clinic Line Pro-Flex	50	0,69 (0,6)	0,41 (0,7)	0,29 (0,11)	-54,39
Colgate Total	47	0,62 (0,6)	0,51 (0,8)	0,46 (0,10)	-25,72
Aquafresh All Angles Flex Zone	49	0,63 (0,6)	0,53 (0,8)	0,47 (0,10)	-24,70
Reach Floss Clean	47	0,63 (0,6)	0,55 (0,8)	0,48 (0,10)	-21,69

Примечание. * — все показатели редукции зубного налета через 3 мес., в сравнении с исходными значениями, были признаны достоверными ($p < 0,001$).

Показатели достоверности (p) изменений индекса зубного налета за время исследования

Тип зубной щетки	Количество детей, n	Сравнение результатов осмотра		
		Через 6 нед. с исходными	Через 3 мес. с исходными	Через 3 мес. с 6-недельными
Oral-B Clinic Line Pro-Flex	50	0,001	0,001	0,001
Colgate Total	47	0,001	0,001	0,010
Aquafresh All Angles Flex Zone	49	0,001	0,001	0,010
Reach Floss Clean	47	0,001	0,001	0,010

Таблица 4

Достоверность различий (p) влияния на индекс зубного налета между группами детей, использовавшими разные зубные щетки

Показатель	Colgate Total	Aquafresh All Angles Flex Zone	Reach Floss Clean
Oral-B Clinic Line Pro-Flex			
Исходный осмотр	Различия недостоверны	Различия недостоверны	Различия недостоверны
Через 6 нед.	0,01	0,01	0,01
Через 3 мес.	0,01	0,01	0,01

Примечание. Между тремя другими зубными щетками не было статистически достоверных различий.

товерное уменьшение зубного налета и через 6 нед., и через 3 мес. ($p < 0,001$). По сравнению с исходными данными, редукция после трехмесячного использования зубной щетки составила 25,72 %. Группа, применявшая при тех же условиях зубную щетку Aquafresh All Angles Flex Zone, достоверно ($p < 0,001$) продемонстрировала уменьшение распространения зубного налета по сравнению с исходным осмотром на 24,70 %. В группе, где дети чистили зубы щеткой Reach Floss Clean, показано достоверное ($p < 0,001$) снижение индекса зубного налета во время осмотров через 6 нед. и через 3 мес. Дети этой группы завершили участие в исследовании, продемонстрировав 21,69 % редукции зубного налета по сравнению с данными исходного осмотра.

Когда сравнили достоверность изменений показателей индекса зубного налета у детей разных групп за определенные промежутки времени (табл. 3), то оказалось, что в группе Oral-B Clinic Line Pro-Flex наблюдалось статистически достоверное уменьшение этой величины в каждом периоде. Это продемонстрировано, начиная с исходных измерений, и далее — через 6 нед. и через 3 мес. В группах, использовавших другие зубные щетки (Colgate Total, Aquafresh All Angles Flex Zone, Reach Floss Clean), также отмечено постепенное уменьшение исходного уровня данного индекса через 6 нед., а затем через 3 мес. ($p < 0,001$). Кроме того, в последних трех группах снижение индекса зубного налета между осмотрами через 6 нед. и через 3 мес. также оказалось статистически достоверным ($p < 0,01$).

Согласно данным табл. 4, в отличие от исходных показателей, удаление зубного налета у детей, применявших зубные щетки Oral-B Clinic Line Pro-Flex, было достоверно лучше ($p < 0,01$), чем в других группах. Вариационный анализ показал,

что различия между величинами индекса зубного налета, определенного при осмотре через 6 нед. детей группы Oral-B Clinic Line Pro-Flex и трех других групп, было статистически достоверным ($p < 0,01$). Между данными, полученными в любой из остальных трех групп детей, достоверных различий не выявилось. При заключительном обследовании средние зна-

чения индекса зубного налета в группе, использовавшей зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex, достоверно отличались от данных остальных трех групп. При сравнении между собой показателей индекса зубного налета у детей этих трех групп не было достоверных различий. На рис. 2 представлено графическое изображение этих данных.

Индекс зубного налета

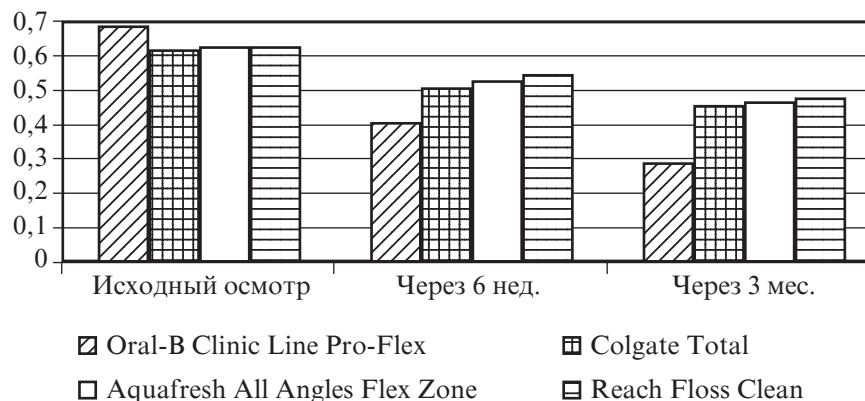


Рис. 2. Диаграмма показателей индекса зубного налета

Индекс гингивита, среднее значение (стандартное отклонение)

Тип зубной щетки	Количество детей, n	Исходный осмотр	Через 6 нед.	Через 3 мес.	Улучшение через 3 мес. по сравнению с исходным осмотром*, %
Oral-B Clinic Line Pro-Flex	50	2,11 (0,18)	1,65 (0,17)	1,08 (0,26)	-48,80
Colgate Total	47	2,15 (0,28)	1,91 (0,22)	1,83 (0,19)	-14,87
Aquafresh All Angles Flex Zone	49	2,13 (0,18)	1,93 (0,17)	1,82 (0,23)	-14,54
Reach Floss Clean	47	2,07 (0,22)	1,91 (0,22)	1,81 (0,21)	-12,55

Примечание. * — значения редуции, определенные через 3 мес., по сравнению с исходным осмотром, были достоверными ($p < 0,001$).

Оценка гингивита. Значения модифицированного индекса гингивита для всех четырех групп представлены в табл. 5. Сюда включены средние значения индекса, выявленные при исходном осмотре и осмотрах через 6 нед. и через 3 мес., а также рассчитаны (в процентах) средние для каждой группы показатели изменения этого индекса через 3 мес. исследований, по сравнению с исходными данными.

Средние исходные значения индекса гингивита для каждой из четырех групп (с колебаниями от 2,07 до 2,15) были однородными и демонстрировали достаточный уровень поражения тканей пародонта у детей, который позволял в дальнейшем ощутить достоверное улучшение их состояния. Как видим, в группе, использовавшей зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex, клинические испытания начались с исходного значения модифицированного индекса гингивита, равного 2,11 (см. табл. 5). Через 3 мес. эта величина снизилась до 1,08, то есть редуция интенсивности гингивита — 48,80 %. В группе Colgate Total исходный показатель модифицированного индекса гингивита был равен 2,15, а в конце трехмесячных испытаний он уменьшился до 1,83, что представляет редуцию гингивита равной 14,87 %. У детей, использовавших зубную щетку Aquafresh All Angles Flex Zone, на старте исследования индекс гингивита составлял 2,13, а затем уменьшился до 1,82, то есть

редуция гингивита была равна 14,54 %. Для детей, применявших Reach Floss Clean, среднее исходное значение индекса гингивита составляло 2,07, а заключительное — 1,81. Редуция равна 12,55 %.

При дальнейшем анализе динамики изменения показателей гингивита (табл. 6) у детей, использовавших зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex, установлено, что эти значения достоверно уменьшились, по сравнению с исходными, и через 6 нед. ($p < 0,001$), и через 3 мес. ($p < 0,001$). Достоверными были и различия между показателями гингивита, диагностированными при осмотрах через 6 нед. и через 3 мес. ($p < 0,001$).

В трех других группах через 6 нед. или 3 мес. использования зубных щеток также происходило достоверное ($p < 0,001$) уменьшение исходных значений индекса гингивита. Однако за период между осмотрами че-

рез 6 нед. и через 3 мес. у детей этих групп достоверных изменений индекса не наблюдалось.

Из табл. 7 следует, что, в отличие от показателей исходного осмотра, у детей, использовавших зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex, редуция гингивита и через 6 нед., и через 3 мес. была достоверно большей ($p < 0,001$), чем в других группах. За эти же периоды времени различий в показателях индекса гингивита между тремя другими группами выявить не удалось. На рис. 3 представлено графическое изображение этих результатов.

Для данного исследования были выбраны четыре доступные для населения зубные щетки со сложной формой головки и ручки: Oral-B Clinic Line Pro-Flex, Colgate Total, Aquafresh All Angles Flex Zone, Reach Floss Clean. Все щетки мягкие.

Клинические испытания этих четырех зубных щеток сложно-

Таблица 6

Показатели достоверности (p) изменений индекса гингивита за время исследования

Тип зубной щетки	Количество детей, n	Сравнение результатов осмотра		
		Через 6 нед. с исходными	Через 3 мес. с исходными	Через 3 мес. с 6-недельными
Oral-B Clinic Line Pro-Flex	50	0,001	0,001	0,001
Colgate Total	47	0,001	0,001	Различия недостоверны
Aquafresh All Angles Flex Zone	49	0,001	0,001	Различия недостоверны
Reach Floss Clean	47	0,01	0,001	Различия недостоверны

Сравнение показателей достоверности (p) динамики индекса гингивита между исследуемыми группами детей

Показатель	Colgate Total	Aquafresh All Angles Flex Zone	Reach Floss Clean
Oral-B Clinic Line Pro-Flex			
Исходный осмотр	Различия недостоверны	Различия недостоверны	Различия недостоверны
Через 6 нед.	0,01	0,01	0,01
Через 3 мес.	0,01	0,01	0,01

Примечание. Между тремя другими зубными щетками не было статистически достоверных различий.

Индекс гингивита

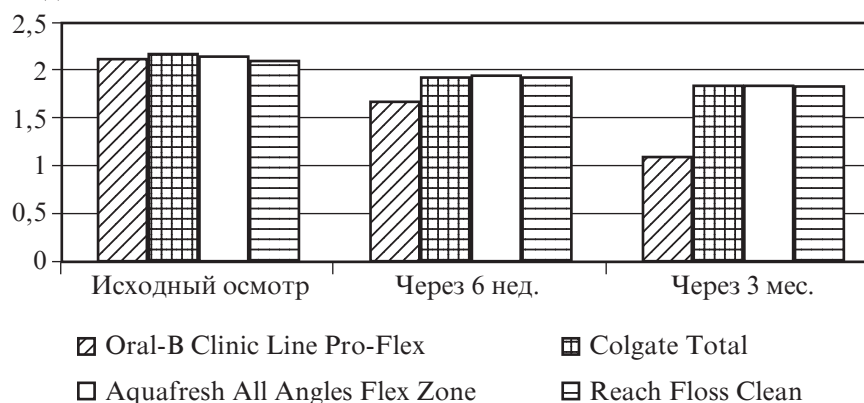


Рис. 3. Диаграмма показателей индекса гингивита

го дизайна ясно продемонстрировали их способность удалять мягкий зубной налет и уменьшать степень выраженности гингивита. Но лишь одна из щеток демонстрирует свои особые уникальные возможности. При специфическом сравнении всех этих зубных щеток Oral-B Clinic Line Pro-Flex достоверно превосходила каждую из трех других как при удалении зубного налета, так и при снижении интенсивности гингивита. Указанная зубная щетка была специально разработана, чтобы действовать в режиме «худшей», чем требуется по правилам, техники чистки зубов. Но, похоже, что отличие дизайна дает еще и чисто медицинское превосходство зубной щетке Oral-B Clinic Line Pro-Flex, которое и было продемонстрировано в данном клиническом исследовании, за счет подвижных и независимых одна от одной стороны со щетинками CrissCross, легко адаптирующихся к индивидуальному строению ротовой полости ребенка.

Щетинки CrissCross расположены под углом 25°, проникают в межзубные промежутки, разрушают и выметают зубной бактериальный налет, удаляют больше налета вдоль линии десен, не травмируют ткани зубов и десен за счет мягких закругленных щетинок, обеспечивая этим хороший уровень чистки — удаляют до 94 % налета на аппроксимальных (контактных) поверхностях и снижают при этом уровень кровоточивости десен на 26 %.

При планировании этих исследований важными факторами, которые принимались в расчет, были периоды между повторными исследованиями (осмотрами). Было решено, что второй визит ребенка с родителями должен произойти через 6 нед., хотя это и дольше, чем стандартный четырехнедельный период. Заключительное же исследование через 3 мес. должно было оценить долговременную эффективность зубных щеток. Дополнительно к использованию информативного метода

оценки зубного налета по Rustogi et al. было принято решение наблюдать за динамикой изменения интенсивности гингивита как индикатора эффективности чистки зубов, используя метод Lobene et al. Во время исходного осмотра не было выявлено достоверных различий индексов зубного налета или гингивита между детьми — участниками исследования, входившими в четыре группы. Результаты осмотров через 6 нед. и через 3 мес. показали, что средние значения индексов зубного налета и гингивита при использовании зубной щетки Oral-B Clinic Line Pro-Flex были достоверно ($p < 0,01$) ниже, чем у детей, использовавших другие зубные щетки (Colgate Total, Aquafresh All Angles Flex Zone, Reach Floss Clean).

Как через 6 нед., так и через 3 мес., при сравнении достоверности изменений индексов во всех группах, использовавших четыре зубных щетки, показатели индекса зубного налета

были статистически достоверно ($p < 0,001$) ниже, чем при первоначальном осмотре. Кроме того, величина индекса зубного налета уменьшилась за период между промежуточным (6 нед.) и заключительным (3 мес.) осмотрами как при использовании зубной щетки Oral-B Clinic Line Pro-Flex ($p < 0,001$), так и в случае с другими испытуемыми щетками ($p < 0,01$). Средние значения индекса гингивита при исходном осмотре не различались достоверно между всеми четырьмя группами детей — участников испытания. Через 6 нед. и через 3 мес. все исследуемые зубные щетки достоверно снизили ($p < 0,001$) средние показатели индекса гингивита. Оба осмотра показали, что индекс гингивита в группе детей, применявших Oral-B Clinic Line Pro-Flex был достоверно ниже ($p < 0,001$), чем в трех остальных группах. Между тремя другими типами зубных щеток таких различий не выявлено. Только

у детей, использующих Oral-B Clinic Line Pro-Flex, величина индекса гингивита при заключительном осмотре (через 3 мес.) была достоверно ($p < 0,001$) ниже, чем во время промежуточного осмотра (через 6 нед.).

Выводы

Достоверная эффективность удаления зубного налета щеткой Oral-B Clinic Line Pro-Flex подтверждена нами при ее клиническом использовании в течение 3 мес. у детей, больных ХГКГ и имеющих в анамнезе ХТ. Несмотря на то, что все четыре испытанные зубные щетки показали достоверное уменьшение количества зубного налета за оба периода проведения исследования, зубная щетка Oral-B Clinic Line Pro-Flex значительно превосходила остальные модели.

Снижение интенсивности гингивита при промежуточном и заключительном осмотрах, по сравнению с исходными данными, также было достоверным для всех четырех зубных щеток. Однако щетка Oral-B Clinic Line Pro-Flex в большей степени, чем другие, уменьшала интенсивность гингивита за периоды 6 нед. и 3 мес. При

анализе динамики показателей гингивита в период от 6 нед. до 3 мес. видно, что только зубная щетка Oral-B Clinic Line Pro-Flex достоверно уменьшила величину индекса гингивита. Эти важные показатели свидетельствуют о большой клинической эффективности данного типа зубной щетки у данного контингента пациентов — детей с ХГКГ, имеющих в анамнезе тонзиллярную патологию. Данный тип зубной щетки — Oral-B Clinic Line Pro-Flex необходимо назначать детям с ХГКГ, в анамнезе у которых основное заболевание — ХТ, для улучшения уровня гигиены полости рта, борьбы с бактериальным мягким зубным налетом, что улучшит состояние слизистой оболочки ротоглотки. На этом фоне последующие лечебно-профилактические мероприятия пародонтальной терапии гингивита у детей получают свою максимальную клиническую эффективность и улучшат лечение тонзиллярной патологии, что в свою очередь усилит иммунный гомеостаз всего организма ребенка и стимулирует защитные механизмы полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дрынов Г. И. Профилактика и терапия респираторных инфекций при проведении курса специфической иммунотерапии / Г. И. Дрынов, О. К. Иванюшина, Ф. Н. Дьякова // Лечащий врач. – 2001. – № 3. – С. 45–47.
2. Дрынов Г. И. Результаты лечения детей с хроническим тонзиллитом препаратом Тонзилгон / Г. И. Дрынов, О. К. Иванюшина, Ф. Н. Дьякова // Детский доктор. – 2001. – № 1. – С. 67–69.
3. Митин Ю. В. Досвід використання препарату Тонзилгон Н при гострих та хронічних захворюваннях глотки / Ю. В. Митін, Ю. В. Дєєва // Матеріали ІХ з'їзду оториноларингологів України. – 2000. – С. 101–105.
4. The clinical effect on plaque and gingivitis over three-month's use of four complex-design manual toothbrushes / N. C. Sharma, J. Galustians, J. J. McCool [et al.] // J. Clin. Dent. – 1994. – Vol. 5 (4). – P. 114–118.
5. Терапевтическая стоматология детского возраста / под ред. Л. А. Хоменко, Л. П. Кисельниковой. – К. : Книга-плюс, 2013. – 864 с.
6. Косенко К. Н. Профилактическая гигиена полости рта / К. Н. Косенко, Т. П. Терешина. – Одесса : КПОТТ, 2003. – 296 с.
7. Новицкая И. К. Зубные щетки / И. К. Новицкая, Т. П. Терешина // Вісник стоматології. – 2002. – № 1 (33). – С. 46–48.

Поступила 6.10.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Ю. Г. Романова

УДК 616.311.2-002.2-06:616.322-002.2]-053.2-092-085

Ю. Н. Коваль, Л. Б. Цевух

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СОВРЕМЕННЫХ ЗУБНЫХ ЩЕТОК СЛОЖНОЙ ФОРМЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА СОСТОЯНИЕ ГИГИЕНЫ ПОЛОСТИ РТА И ТКАНИ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ КАТАРАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ

Зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex исследовали вместе с зубными щетками Colgate Total, Aquafresh All Angles Flex Zone, Reach Floss Clean для того, чтобы сравнить их влияние на зубной налет и гингивит в течение шестинедельного и трехмесячного периодов. После 3 мес. использования всех зубных щеток продемонстрировано снижение ($p < 0,001$) индексов зубного налета и гингивита по сравнению с исходными значениями. При осмотрах как через 6 нед., так и через 3 мес. в группе детей, использовавших зубную щетку Oral-B Clinic Line Pro-Flex, средние значения показателей зубного налета и гингивита были достоверно ниже ($p < 0,01$) по сравнению с тремя другими исследованными зубными щетками. При статистическом анализе изменений, наблюдавшихся за период от 6 нед. до 3 мес., выявлено, что лишь в группе Oral-B Clinic Line Pro-Flex отмечалось достоверное ($p < 0,001$) уменьшение величины индекса гингивита.

Ключевые слова: дети, хронический генерализованный катаральный гингивит, хронический тонзиллит, зубные щетки, зубной налет, индекс зубного налета, индекс гингивита.

UDC 616.311.2-002.2-06:616.322-002.2]-053.2-092-085

Yu. N. Koval, L. B. Tsevuukh

CLINICAL EFFICIENCY OF APPLICATION OF MODERN TOOTH BRUSHES OF COMPLICATED SHAPE AND THEIR INFLUENCE ON THE STATE OF HYGIENE OF ORAL CAVITY AND PERIODONTAL TISSUES AT CHRONIC GENERALIZED CATARRHAL GINGIVITIS OF CHILDREN WHO SUFFER FROM CHRONIC TONSILLITIS

The tooth brush of Oral-B Clinic Line Pro-Flex was investigated together with the tooth brushes Colgate Total, Aquafresh All Angles Flex Zone, Reach Floss Clean in order to compare their influence on a plaque and gingivitis during six weeks and three months period. After three months of the use of all tooth brushes there was reduction ($p < 0,001$) of indexes of dental deposit and gingivitis as compared to initial values. At examinations both in six weeks and in three months in the group of children, using the tooth brush Oral-B Clinic Line Pro-Flex, average values of indexes of dental deposit and gingivitis were for certain lower ($p < 0,01$) as compared to three other investigational tooth brushes. There was a reliable ($p < 0,001$) diminishing of size of index of gingivitis only in the group of Oral-B Clinic Line Pro-Flex at the statistical analysis of changes observed in period from six weeks to three months.

Key words: children, chronic generalized catarrhal gingivitis, chronic tonsillitis, tooth brushes, dental deposit, index of dental deposit, index of gingivitis.

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ОЛІГОСАХАРИДІВ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО БІОХІМІЧНОГО СКРИНІНГУ ЛІЗОСОМНИХ ХВОРОБ НАКОПИЧЕННЯ

¹ Національна дитяча спеціалізована лікарня «Охматдит», Київ;

² ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України», Київ;

³ Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, Київ

Вступ

Таблиця 1

Лізосомні хвороби накопичення, що супроводжуються олігосахаридурією [1]

Захворювання	Дефектний фермент
Сфінголіпідози	
GM1-гангліозидоз	β-Галактозидаза
GM2-гангліозидоз АВ (хвороба Сандхоффа)	Гексозамінідаза А та В
Глікопротеїнози	
Аспартилглюкозамінурія	Аспартилглюкозамінідаза
Фукозидоз	α-L-Фукозидаза
α-Манозидоз	α-D-Фанозидаза
β-Манозидоз	β-D-Манозидаза
Сіалідоз	Нейрамінідаза
Галактосіалідоз	Катепсин А
Хвороба Шиндлера	α-N-Ацетил-галактозамінідаза
Муколіпідози	
Муколіпідоз IIα, IIIα, IIIγ	N-ацетилглюкозамін-1-фосфотрансфераза
Мукополісахаридози (МПС)	
МПС I	α-L-Ідуронідаза
МПС II	Ідуронат-2-сульфатаза
МПС IIIA	Гепарин-N-сульфатаза
МПС IIIB	α-N-Ацетил-глюкозамінідаза
МПС IIIC	α-Глюкозамін N-ацетилтрансфераза
МПС IIID	N-Ацетилглюкозамін-6-сульфатаза
МПС IVA	N-Ацетилгалактозамін-6-сульфатаза
МПС IVB	β-Галактозидаза
МПС VI	N-Ацетилгалактозамін-4-сульфатаза

Лізосомні хвороби накопичення (ЛХН) — це великий клас спадкових хвороб обміну речовин, який включає близько 60 нозологічних форм [1]. Молекулярні механізми етіопатогенезу ЛХН зумовлені генетично детермінованими змінами функціонування лізосомних ферментів, що контролюють процес внутрішньоклітинного розщеплення таких макромолекул, як глікозаміноглікани, гліколіпіди, глікопротеїни. Дефіцит лізосомних ферментів (екзоглікозидаз) у пацієнтів із ЛХН призводить до накопичення в лізосомах глікопротеїнів та гліколіпідів з недеградованими олігосахаридними ланцюгами і, як наслідок, утворення великої кількості субстратів, на які спрямована дія ендоглікозидаз. Це призводить до утворення надлишку патологічних олігосахаридних ланцюгів, які екскретуються з сечею, що дає можливість розглядати гіперекскрецію олігосахаридів як біомаркер для діагностики лізосомних хвороб накопичення. Важливе місце серед ЛХН посідають захворювання, що супроводжуються вираженою олігосахаридурією [1] (табл. 1).

Найбільш зручним методом детекції надлишку олігосахаридів у сечі є тонкошарова хроматографія (ТШХ). Дослідження олігосахаридів сечі методом

одновимірної ТШХ на силікагелі було вперше використане в 1972 р. для скринінгу пацієнтів з аспартилглюкозамінурією [2]. Цей метод в 1975 р. був удо-

сконалений і використаний для діагностики α-фукозидозу, α- і β-манозидозу (глікопротеїнози), GM1-гангліозидозу (сфінголіпідоз). Подальші модифіка-

ції цього методу сприяли застосуванню його для діагностики більш широкого спектра спадкових захворювань, що супроводжуються олігосахаридурією [3; 4].

Метою нашої роботи був аналіз екскреції олігосахаридів сечі методом ТШХ у пацієнтів з ЛХН для встановлення критеріїв використання даного методу в ході селективного біохімічного скринінгу хворих на ЛХН.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження була добова сеча пацієнтів (1867 осіб) з різних регіонів України, які звернулися за консультацією в Медико-генетичний центр (МГЦ) і Центр метаболічних захворювань (ЦМЗ) НДСЛ «ОХМАТДИТ» МОЗ України з підозрою на наявність спадкових хвороб обміну речовин за період з 2004 по 2014 рр.

Тонкошарову хроматографію олігосахаридів добової сечі проводили на пластинах завдовжки 20 см з покриттям Silica gel 60 на алюмінієвій підкладці (Merck). Перед використанням пластини прогрівали на нагрівальному пристрої УСП-1М при 100 °С протягом 15 хв. Зразки на ТШХ пластини наносили за допомогою капіляра в кількості, еквівалентній 20 мкг/л креатиніну (приблизно 10–20 мкл) тонкою смужкою завдовжки 10 мм, одночасно підігріваючи пластину на нагрівальному пристрої УСП-1М до температури 40 °С [5]. Для проведення ТШХ використовували скляну камеру висотою 20 см. Система розчинників, що використовувалася для проведення аналізу, складалася з льодяної оцтової кислоти, бутанолу та деіонізованої води у співвідношенні 2 : 1 : 1 відповідно [5]. Як стандарт використовували 10 % розчин лактози, нанесений у кількості 10 мкл. Для досягнення вищої якості розділення фракцій, прогонку тієї ж пластини проводили двічі. Для візуаліза-

ції фракцій олігосахаридів застосовували орциновий реагент (50 мг орцину, 9,5 мл етилового спирту, 0,5 мл сірчаної кислоти), який наносили методом поливання ТШХ пластин з подальшим прогріванням при 100 °С до появи забарвлення [5].

Для інтерпретації результатів ТШХ олігосахаридів у сечі використовували значення відносного коефіцієнта рухливості з лактозою як референтної речовини (R_{lac}) [6]:

$$R_{lac} = \frac{\text{Відстань, яку пройшла речовина, що визначається}}{\text{Відстань, яку пройшла референтна речовина (лактоза)}}$$

Швидкість руху речовини при проведенні ТШХ залежить від якості розчинника, сорбенту та техніки експерименту. Для оцінки якості процедури проведення ТШХ використовували розрахунок абсолютного коефіцієнта рухливості референтної речовини (R_f) [6]:

$$R_f = \frac{\text{Відстань, яку пройшла референтна речовина (лактоза)}}{\text{Відстань, яку пройшов фронт розчинника}}$$

Під час аналізу результатів не враховувалися зразки, у яких значення R_f лактози становило менше 0,28, тому що за таких умов неможливо візуалізувати та вірно ідентифікувати всі фракції олігосахаридів.

Результати дослідження та їх обговорення

Показаннями до виключення ЛХН, пов'язаних зі збільшенням екскреції олігосахаридів, була наявність у пацієнтів таких симптомів, як порушення психомоторного розвитку, ускладненого ураженням внутрішніх органів (органомегалія невизначеного генезу), патологія органів зору, кісткової системи, наявність специфічної зовнішності (грубі риси обличчя) [7].

Оцінку спектра олігосахаридів сечі методом ТШХ у пацієнтів з підозрою на ЛХН (1867 осіб) проводили у порівнянні зі зразками хроматограм здорових осіб відповідної вікової категорії у кожному дослідженні. У 87 пацієнтів, із всіх обстежених, було виявлено патологічні фракції олігосахаридів, які не траплялися у здорових осіб відповідної вікової групи. Детально проаналізувавши дані клінічного обстеження, цим пацієнтам було проведено ензимодіагностику для підтвердження діагнозу певної лізосомної патології. Діагноз ЛХН підтверджено у 71 пацієнта (табл. 2).

Аналіз результатів ТШХ олігосахаридів у пацієнтів з підтвердженим діагнозом ЛХН дозволив оцінити спектр специфічних олігосахаридних фракцій, характерний для різної лізосомної патології, і на основі цього аналізу визначити критерії селективного відбору пацієнтів із ЛХН, що супроводжуються олігосахаридурією.

На рис. 1 показано фрагменти ТШХ пластин зі спектрами олігосахаридів, виявлених у пацієнтів з підтвердженим діагнозом ЛХН.

Аналіз спектра олігосахаридів, що визначався у пацієнтів з підтвердженим діагнозом ЛХН, проводився у порівнянні з кон-

Таблиця 2
Лізосомні хвороби накопичення, виявлені у пацієнтів із патологічною олігосахаридурією

Захворювання	Кількість пацієнтів
Мукополісахаридоз II (МПС II)	30
GM1-гангліозидоз	20
Мукополісахаридоз I (МПС I)	17
Галактосіалідоз	1
Сіалідоз	1
α-Манозидоз	1
Мукополісахаридоз IVB (МПС IVB)	1

Таблиця 3

Значення R_{lac} фракцій олігосахаридів сечі у пацієнтів із лізосомними хворобами накопичення до 1 року

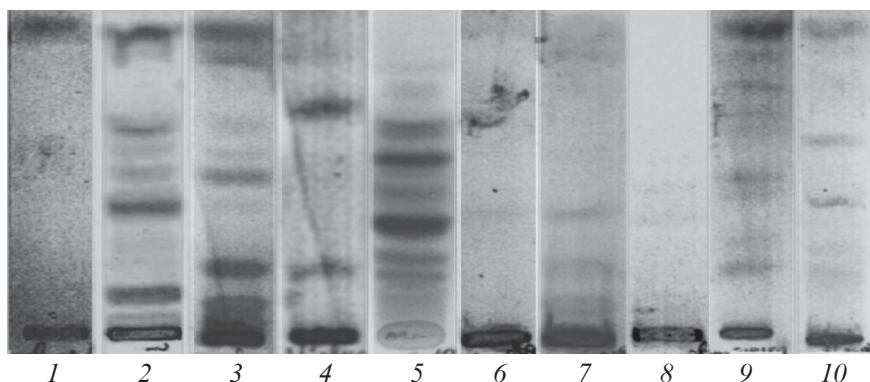


Рис. 1. Зразки тонкошарової хроматографії олігосахаридів сечі пацієнтів з лізосомними хворобами накопичення: 1 — стандарт лактози; 2 — GM1-гангліозидоз; 3 — галактосіалідоз; 4 — сіалідоз; 5 — α -манозидоз; 6 — МПС I; 7 — МПС II; 8 — МПС IVB; 9 — здорова дитина до першого року життя; 10 — здорова дитина 6 років

трольними зразками сечі осіб до 1 року життя та старше 1 року для виключення фізіологічної олігосахаридурії дітей різного віку [8]. Усі пацієнти з GM1-гангліозидозом та галактосіалідозом на момент обстеження мали вік до 1 року, тимчасом як пацієнти з підтвердженим діагнозом інших ЛХН на момент обстеження були старше 1 року. Тому значення R_{lac} для виявлених у пацієнтів фракцій олігосахаридів порівнювали зі значенням R_{lac} фракцій, характерних для фізіологічної олігосахаридурії у дітей відповідного віку (табл. 3, 4).

Спектр фракцій олігосахаридів сечі у зразках пацієнтів з ЛХН та їх значення R_{lac} значно відрізняються від зразків здорових осіб різної вікової категорії, що дає змогу використовувати метод ТШХ олігосахаридів сечі для селективного біохімічного скринінгу пацієнтів з підозрою на лізосомну патологію. Так, у пацієнтів із сіалідозом спостерігалася наявність специфічних фракцій олігосахаридів у регіоні R_{lac} 0,20 та 0,75 за відсутності будь-яких інших фракцій. При α -манозидозі реєструвалася екскреція цілої низки різних за рухливістю олігосахаридів зі значенням R_{lac} від 0,043 до 0,7, що нехарактерно для здорових осіб старшої вікової групи. Проте не всі ЛХН характеризувалися наявністю унікальних спе-

цифічних патологічних фракцій олігосахаридів. Так, у пацієнтів із GM1-гангліозидозом, галактосіалідозом та МПС I, II і IVB типів на ТШХ пластині візуалізувалися характерні добре забарвлені групи патологічних фракцій олігосахаридів зі значенням $R_{lac} < 0,15$, що відповідають важким довголанцюговим олігосахаридам, імовірно гепта- та октасахаридам, відсутнім у здорових осіб усіх вікових груп [3]. Проте виявлені у цих пацієнтів спектри олігосахаридів були подібні один до одного, що не давало змогу розрізнити ці захворювання між собою.

Отже, метод ТШХ олігосахаридів сечі має досить велику діагностичну значущість для

Контроль (до 1 року)	GM1-гангліозидоз, n=20	Галактосіалідоз, n=1
0,86–0,90	—	0,90
0,69–0,76	0,69–0,71	0,69
0,63–0,68	—	—
0,55–0,63	0,59–0,62	0,59
0,47–0,50	0,49–0,50	0,49
0,36–0,42	0,40–0,42	—
0,29–0,33	0,30–0,33	—
0,20–0,28	—	—
0,15–0,21	—	0,19
—	0,11–0,12	—
—	—	0,08
—	0,043–0,047	0,046

Примітка. У табл. 3, 4: виділено фракції, які не трапляються у здорових осіб відповідної вікової категорії.

первинної діагностики захворювань із групи ЛХН, але є певні обмеження у використанні його для диференційної діагностики ЛХН у зв'язку з його неспецифічністю щодо окремих нозологій. Патологічні фракції гепта- та октасахаридів є спільними для кількох лізосомних захворювань, тому при виявленні останніх можна лише запідозрити наявність у пацієнта ЛХН. У будь-якому разі, даний метод

Таблиця 4

Значення R_{lac} фракцій олігосахаридів сечі у пацієнтів із лізосомними хворобами накопичення старше 1 року

Контроль (старше 1 року)	Сіалідоз, n=1	Манозидоз, n=1	МПС I, n=17	МПС II, n=30	МПС IV, n=1
0,87–0,91	—	—	—	—	—
—	0,75	0,70	0,69–0,71	—	—
0,53–0,63	—	0,58	—	—	—
0,47–0,50	—	0,49	—	—	0,47
—	—	0,38	—	—	—
0,34–0,42	—	0,35	0,36–0,38	0,36–0,38	0,34
0,20–0,28	—	0,28	—	—	—
0,15–0,21	0,20	0,20	—	0,20–0,21	—
—	—	0,11	—	—	—
—	—	0,08	0,07–0,09	0,07–0,09	0,09
—	—	0,043	—	—	—

дає змогу значно звужити групу пошуку пацієнтів для проведення наступного діагностичного етапу. В усіх випадках виявлення підвищеної екскреції патологічних олігосахаридів з сечею обов'язковим є проведення підтверджувальної діагностики з виявленням первинного біохімічного дефекту, який призвів до нагромадження цих метаболітів.

Таким чином, ТШХ олігосахаридів сечі є доступним для широкого використання в спеціалізованих лабораторіях методом, що дозволяє використовувати його під час селективного біохімічного скринінгу хворих на ЛХН, які супроводжуються олігосахаридурією, і, як наслідок, знизити ймовірність хибної діагностики спадкових захворювань і більш раціонально застосовувати високоартісні методи підтверджувальної діагностики.

Висновки

1. Олігосахаридурія, зумовлена різними формами ЛХН, характеризується наявністю специфічних фракцій олігосахаридів у сечі, які не трапляються у

здорових осіб відповідної вікової категорії.

2. Обмеженням використання методу ТШХ олігосахаридів є його неспецифічність щодо окремих лізосомних захворювань, тому при виявленні олігосахаридів можна лише запідозрити наявність у пацієнта ЛХН.

3. В усіх випадках виявлення позитивних результатів аналізу олігосахаридів сечі методом ТШХ потрібне підтвердження діагнозу шляхом виявлення первинного біохімічного або генетичного дефекту методами ензимодіагностики та молекулярно-генетичної діагностики.

4. Метод ТШХ олігосахаридів сечі дає можливість значно звужити групу пошуку пацієнтів з підозрою на наявність ЛХН і тому може бути рекомендований для використання під час селективного біохімічного скринінгу хворих на ЛХН, що супроводжуються олігосахаридурією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Mehta A. Lysosomal storage disorders: a practical guide / A. Mehta, B. Winchester. – Wiley-Blackwell, 2012. – P. 6–46.

2. Palo J. Studies on serum and urinary glycopeptides and glycosaminoglycans in aspartylglucosaminuria / J. Palo, H. Savolainen // Clin Chim Acta. – 1972. – Vol. 36. – P. 431–437.

3. Blau N. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics / N. Blau, M. Duran, K. Michael Gibson. – Springer, 2008. – P. 325–331.

4. Sewell A. C. Urinary Oligosaccharides / A. C. Sewell // Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics: A Laboratory Manual. – Wiley-Liss, 1991. – P. 219–231.

5. Рыбакова К. Д. Биохимические методы диагностики наследственных болезней / К. Д. Рыбакова, Н. А. Кузьмичева. – М., 1984. – С. 32–35.

6. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии / Ф. Гейсс. – М., 1999. – Т. 1. – С. 176–188.

7. Биохимия человека / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – М.: Мир, 1993. – С. 299–309.

8. Мицик Н. Й. Диференціація норми та патології в ході селективного біохімічного скринінгу лізосомних хвороб накопичення, що супроводжуються підвищеною екскрецією олігосахаридів / Н. Й. Мицик, Н. В. Ольхович, Н. Г. Горovenko // Ukr. Biochem. J. – 2015. – Vol. 87, N 3. – P. 26–34.

Надійшла 25.08.2015

Рецензент канд. мед. наук,
доц. Г. Ф. Степанов

УДК 616-056.7-07

Н. Й. Мицик, Н. В. Ольхович, Н. Г. Горovenko

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ОЛІГОСАХАРИДІВ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО БІОХІМІЧНОГО СКРИНІНГУ ЛІЗОСОМНИХ ХВОРОБ НАКОПИЧЕННЯ

Олігосахаридурія, зумовлена різними формами лізосомних хвороб накопичення, характеризується наявністю специфічних фракцій олігосахаридів у сечі. У пацієнтів із сіалідозом спостерігалася наявність специфічних фракцій олігосахаридів у регіоні R_{lac} 0,20 та 0,75 за відсутності будь-яких інших фракцій. При α -маннозидозі виявлялася екскреція різних за рухливістю олігосахаридів зі значенням R_{lac} від 0,043 до 0,7. У пацієнтів з GM1-гангліозидозом, галактосіалідозом та мукополісахаридозом I, II та IVB типів методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластині візуалізувалися характерні, добре забарвлені групи патологічних фракцій олігосахаридів зі значенням $R_{lac} < 0,15$, що відповідають гепта- та октасахаридам.

Метод ТШХ олігосахаридів сечі дає можливість значно звужити групу пошуку пацієнтів з підозрою на наявність ЛХН і тому може бути рекомендований для використання під час селективного біохімічного скринінгу хворих на ЛХН, що супроводжуються олігосахаридурією.

Ключові слова: олігосахариди, тонкошарова хроматографія, олігосахаридурія, лізосомні хвороби.

UDC 616-056.7-07

N. Y. Mytsyk, N. V. Olkhovych, N. G. Gorovenko

APPLICATION OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY OF OLIGOSACCHARIDES FOR SELECTIVE BIOCHEMICAL SCREENING OF LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS

Oligosacchariduria, caused by different forms of lysosomal storage disorders (LSD), is characterized by the presence of specific fractions of oligosaccharides in urine, which are not observed for healthy individuals of the respective age category. The patients with sialidosis had specific fractions of oligosaccharides in the region of R_{lac} 0.20 and 0.75 with no other fractions present. In case of α -mannosidosis there was evident excretion of a number of oligosaccharides, different in their mobility, with the R_{lac} value from 0.043 to 0.7, which is not remarkable for healthy individuals of the older age category. The thin layer chromatography (TLC) plates of patients with GM1-gangliosidosis, galactosialidosis and MPS I, II and IVB type had remarkable evident and well-stained groups of pathological fractions of oligosaccharides with the value of $R_{lac} < 0.15$, which correspond to hepta- and octasaccharides, not present in healthy individuals of all the age groups.

The TLC method of urine oligosaccharides allows narrowing the search groups of patients who are assumed to have LSD, thus it may be recommended for application in the course of selective biochemical screening of LSD patients, accompanied with oligosacchariduria.

Key words: oligosaccharides, thin layer chromatography, oligosacchariduria, lysosomal diseases.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЕЗАСПОКІЙЛИВОЇ АКТИВНОСТІ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Одним із провідних симптомів у хворих на розсіяний склероз є наявність хронічного болювального синдрому. Як відомо, біль є лише сигналом, що інформує нас про наявність чинного або можливого ушкодження тканини. Залежно від типу та виду болю, його тимчасових характеристик механізм так званої ноцицептивної передачі дещо змінюється, що впливає на фармакологічні підходи терапії болювального синдрому [1].

Підбір індивідуальної фармакологічної терапії для кожного пацієнта залежить від багатьох факторів, що враховують джерело, причину та патологічний механізм болю, а також наявність супровідних станів. Кардинальною помилкою у лікуванні болю є об'єднання всіх терапевтичних альтернатив призначенням тільки анагетика [2]. Відомо, що ад'ювантні та симптоматичні засоби в процесі терапії хронічного болювального синдрому застосовуються для посилення дії анагетиків, а також з метою корекції небажаних симптомів, які супроводжують основне захворювання, стосовно нашого дослідження — розсіяного склерозу.

Сьогодні при нейропатичному болю призначають антиконвульсанти. При цьому механізм дії пов'язують з гальмуванням проведення болювої імпульсації по периферичних нервах і гангліях задніх корінців, з дією на патологічні процеси, що відбуваються у задніх рогах і чутливих ядрах черепних нервів, а також на ноцицептивні та анти-

ноцицептивні механізми центральної нервової системи [3].

З урахуванням вищезазначеного, метою роботи було дослідження змін ноцицептивного потенціалу за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу — експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ) та фармакологічного антиноцицептивного профілю протисудомних засобів за вказаних умов на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 54 білих безпородних щурах масою 220–290 г, які утримувались у стандартних умовах виварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» [4]. Експеримент складався з двох етапів: I етап — реєстрація ноцицептивної відповіді (реакція вокалізації) за умов сформованого ЕАЕ при одноразовому введенні антиконвульсантів на тлі п'ятиденної терапії метилпреднізолоном; II етап — оцінка змін показників антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів у структурах головного і спинного мозку у щурів після визначення показників анагетичної активності (тварин виводили з експерименту через 30 хв реєстрації болювої чутливості).

Для відтворення ЕАЕ найбільш поширений метод введення енцефалітогенної емульсії внутрішньошкірно в подушечки пальців, у ділянки гриди-

ни або спинки, а також в основу хвоста щурів [5; 6].

Дослідження виконувалися відповідно до принципів Гельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), Конвенції Ради Європи у правах людини та біомедицини (1997), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983), «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», що затверджені I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) згідно з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментах та інших навчальних цілях».

Тварин вибірково розділили на 6 дослідних груп (n=8), яким одноразово вводили протисудомні засоби за умов сформованого ЕАЕ. Усі вони отримували протягом 5 днів метилпреднізолон (3,4 мг/кг): I група — контроль (ЕАЕ без лікування); II група — метилпреднізолон; III група — метилпреднізолон + карбамазепін (150 мг/кг), IV група — метилпреднізолон + топірамаат (300 мг/кг), V група — метилпреднізолон + натрію вольпроат (155 мг/кг); VI група — метилпреднізолон + габапентин (100 мг/кг) та VII група — метилпреднізолон + прегабалін (100 мг/кг).

Для оцінки антиноцицептивної активності антиконвульсантів використаний метод електричного подразнення кореня хвоста щурів [7]. Оцінку болю-

вої чутливості здійснювали за реакцією вокалізації (центрального компонента формування ноцицептивної відповіді) в початковому стані та через 90 хв після одноразового перорального введення дослідних засобів.

Для біохімічних досліджень використовували гомогенати утворень головного мозку (кора, стовбур) та спинного (грудний і поперековий відділи), де визначали активність ферменту супероксиддисмутази (СОД) і показників продуктів перекисного окиснення ліпідів, зокрема, рівень малонового діальдегіду (МДА) [8].

Усі отримані дані опрацьовані загальноприйнятими в медико-біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням стандартних пакетів комп'ютерних програм [9].

Результати дослідження та їх обговорення

Першим етапом нашого дослідження було формування ЕАЕ: пік змін у поведінці тварин формувалася на 7-му добу дослідження; протягом наступних 5 днів щури отримували метилпреднізолон дозою 3,4 мг/кг як базову патогенетичну терапію. На даному етапі визначали анальгетичний потенціал досліджуваних антиконвульсантів.

Установлено, що реакція вокалізації на електричне подразнення хвоста у вихідному стані за умов сформованого ЕАЕ та базової терапії метилпреднізолоном у щурів усіх груп реєструвалася на рівні від $1,300 \pm 0,312$ (гр. V) та $1,48 \pm 0,10$ (гр. III). За даних умов вводили протисудомні засоби внутрішньозлунково одноразово за групами як указано вище.

Результати дослідження подані на рис. 1. Реєстрацію реакції вокалізації проводили на 90-й хвилині досліду після введення антиконвульсантів. Так, максимальна знеболювальна активність спостерігалася на тлі введення прегабаліну та габапентину, що відповідало збільшенню анальгетичної активності

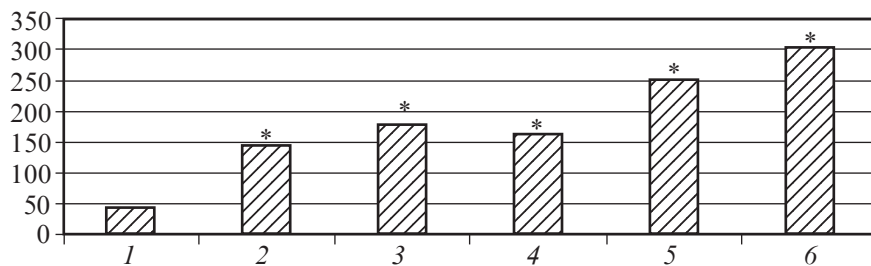


Рис. 1. Антиноцицептивний потенціал при електроподразненні кореня хвоста щурів за умов експериментального алергічного енцефаломієліту (90-та хвилина) на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном: 1 — контроль; 2 — карбамазепін; 3 — топірамаат; 4 — натрію вальпроат; 5 — габапентин; 6 — прегабалін; * — $p \leq 0,05$ щодо показників вихідного стану

у 4,1 ($p \leq 0,05$) та 3,6 ($p \leq 0,05$) рази порівняно з показниками вихідного стану. Також цікаві результати спостерігаються на тлі введення натрію вальпроату та топірамаату: знеболювальний потенціал на 90-й хвилині становив 163,8% ($p \leq 0,05$) і 181,0% ($p \leq 0,05$) відповідно порівняно з показниками вихідного стану.

Відомо, що антиоксидантна система протидіє ушкоджувальному ефекту вільних радикалів, які утворюються при змінах демієлінізації у центральній нервовій системі. Дія фермен-

тів антиоксидантного захисту, а саме СОД, спрямована на зниження концентрації оксидантів у тканинах до рівня, необхідного для забезпечення нормального протікання біохімічних процесів у клітині. Активація процесів перекисного окиснення ліпідів призводить до нагромадження токсичних продуктів (наприклад МДА), які шкідливо впливають на клітинні мембрани. Проведено аналіз нейрохімічних змін у структурах мозку, а саме рівня активності СОД і вмісту МДА (табл. 1)

Таблиця 1

Нейрохімічний аналіз змін в утвореннях головного (кора, стовбур) і спинного мозку

Група	Структура мозку	СОД, акт. ум. од./мг білка	МДА, нмоль/мг
I	Кора	0,101±0,080	1,585±0,110
	Стовбур	0,282±0,080	1,181±0,160
	Спинний мозок	0,180±0,050	1,890±0,220
II	Кора	0,249±0,070	1,352±0,150
	Стовбур	0,320±0,150	1,171±0,130
	Спинний мозок	0,322±0,150	1,470±0,110
III	Кора	0,535±0,130	0,824±0,050
	Стовбур	0,229±0,080	0,489±0,050
	Спинний мозок	0,615±0,140	0,641±0,140
IV	Кора	0,296±0,090	1,031±0,070
	Стовбур	0,396±0,100	0,583±0,070
	Спинний мозок	0,277±0,080	0,933±0,100
V	Кора	0,360±0,020	0,632±0,010
	Стовбур	0,441±0,010	0,518±0,020
	Спинний мозок	0,289±0,010	0,764±0,020
VI	Кора	0,551±0,110	0,517±0,050
	Стовбур	0,816±0,180	0,803±0,050
	Спинний мозок	0,411±0,080	0,820±0,130
VII	Кора	0,712±0,070	0,503±0,080
	Стовбур	0,654±0,090	0,603±0,150
	Спинний мозок	0,427±0,100	0,341±0,030

Встановлено, що дуже низький рівень СОД у структурах мозку (кора, стовбур, спинний мозок) спостерігався у групі контролю, дещо вищі показники реєструвалися під впливом метилпреднізолону у корі та стовбура — на +146 % ($p > 0,05$) та +78,9 % ($p > 0,05$) відповідно. Комбінації метилпреднізолону й антиконвульсантів показали підвищений рівень активності СОД порівняно з показниками групи контролю. Найбільші показники антиоксидантного захисту для кори великих півкуль відзначені у групі VII — ($0,712 \pm 0,070$) ум. од./мг білка, для стовбура у групах III та VII — ($0,816 \pm 0,180$) і ($0,654 \pm 0,090$) ум. од./мг білка відповідно, а для спинного мозку у групі III — ($0,615 \pm 0,140$) ум. од./мг білка. При аналізі показників МДА показано, що більш високі значення у групі контролю, а щодо показників у корі та спинному мозку — у групи метилпреднізолон + топірамат. Найменший рівень МДА визначено у групі VII — у 3,15 разу для кори, у 1,95 разу для стовбура та у 5,5 рази для спинного мозку порівняно з показниками контролю. Також у групі VI у корі та спинному мозку рівень МДА менший на -67,4 % ($p < 0,05$) і -56,6 % ($p < 0,05$) порівняно з показниками у групі контролю.

Таким чином, у результаті досліджень поєднаного впливу

метилпреднізолону й антиконвульсантів (карбамазепін, топірамат, натрію вольпроат, габапентин та прегабалін) на показники антиноцицептивної активності у тварин в умовах експериментального розсіяного склерозу зазначено, що за показниками анальгетичного потенціалу більш безпечні й ефективні антиконвульсанти габапентин і прегабалін, що підтверджується при аналізі нейрохімічних показників вільнорадикального окиснення ліпідів та антиоксидантного стану у структурах мозку (кора, стовбур, спинний мозок). Препаратами вибору ад'ювантної знеболювальної фармакотерапії в умовах експериментального алергічного енцефаломієліту як експериментального еквівалента розсіяного склерозу, можуть бути прегабалін і габапентин, які виявили максимальну знеболювальну активність порівняно з карбамазепіном, топіраматом та натрію вольпроатом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Utilization and patients perception of the effectiveness of pain treatments in multiple sclerosis: a cross-sectional survey / D. M. Ehde, K. N. Alschuler, T. L. Osborne [et al.] // *Disabil Health J.* – 2015. – Vol. 8. – P. 452–456.
2. Алгоритми клінічного використання болетамуючих засобів (наркотичних та ненаркотичних анальгетиків) при гострому та хронічному синд-

ромі: метод. рекомендації / О. П. Вікторов, О. В. Макаренко, В. Й. Мамчур, С. М. Дронов. – К.: ДЕЦ України, 2011. – 56 с.

3. Jawahar R. A systematic review of pharmacological pain management in multiple sclerosis / R. Jawahar, U. Oh, S. Yang // *Drugs.* – 2013 – Vol. 73 (15). – P. 1711–1722.

4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайретдинова. – К., 2002. – 155 с.

5. Донченко Г. В. Экспериментальный аллергический энцефаломиелит: некоторые показатели энергетического, белкового и липидного обмена / Г. В. Донченко, А. П. Клименко, Т. М. Кучмеровская // *Нейрохимия.* – 2007. – № 3. – С. 232–238.

6. Нефьодов О. О. Моделирование та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур, Ю. В. Харченко // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2014. – Вип. 4, Т. 2 (114). – С. 205–208.

7. Brune K. Mode of action peripheral analgesic / K. Brune, K. Lanz // *Arzneimittel – Forsch.* – 1984. – Vol. 34, N 9a. – P. 1060–1065.

8. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л. А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – 736 с.

9. Ланач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Ланач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2001. – 408 с.

Надійшла 18.09.2015

Рецензент д-р мед. наук, проф. Л. С. Годлевський

УДК 615.214:616-071.4:616.832-004.2-092.9

О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЕЗАСПОКІЙЛИВОЇ АКТИВНОСТІ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЕНЦЕФАЛОМІЄЛІТУ

Досліджено вплив антиконвульсантів (карбамазепіну, топірамату, натрію вольпроату, прегабаліну і габапентину) на антиноцицептивну систему у щурів в умовах експериментального алергічного енцефаломієліту, який відповідає прояву клінічних ознак розсіяного склерозу, на тлі базової терапії метилпреднізолоном. Установлено збільшення анальгетичної активності на моделі електроподразнення кореня хвоста у щурів для антиконвульсантів прегабаліну і габапентину при поєднаному використанні з метилпреднізолоном відповідно в 4,1 ($p < 0,05$) і в 3,6 ($p < 0,05$) рази порівняно з показниками вихідного фону. При цьому зміни показників вільнорадикальних процесів у структурах мозку (кора, стовбур, спинний мозок) на тлі введення метилпреднізолону поєднано з габапентином і прегабаліном довели, що дані комбінації є терапевтично більш безпечними у запропонованому порівняльному ряду антиконвульсантів.

Ключові слова: антиконвульсанти, розсіяний склероз, оксидантний стрес, біль.

UDC 615.214:616-071.4:616.832-004.2-092.9

O. O. Nefyodov, V. Y. Mamchur

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF ANALGESIC ACTIVITY OF ANTICONVULSANTS IN TERMS OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ENCEPHALOMYELITIS

We investigated the influence of anticonvulsants (carbamazepine, topiramate, sodium valproate, pregabalin and gabapentin) for antinociceptive system in rats under conditions of experimental allergic encephalomyelitis, which corresponds to the manifestation of clinical signs of multiple sclerosis, against basic therapy of methylprednisolone. The increase of analgesic activity in models of electroirritation of tail's root in rats for anticonvulsants (gabapentin and pregabalin) when used together with methylprednisolone 4.1 ($p = 0.05$) and 3.6 ($p = 0.05$) times compared to the original background respectively. Thus changes of free radical processes in brain structures (cortex, brainstem, spinal cord) against the background of methylprednisolone administration in conjunction with gabapentin and pregabalin have shown that the combination is therapeutically data safer in comparative set of anticonvulsants.

Key words: anticonvulsants, multiple sclerosis, oxidative stress, pain.

ДІАГНОСТИЧНЕ І ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ КРОВІ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

Вступ

В організмі людини постійно відбувається вільнорадикальне окиснення органічних молекул, зокрема ліпідів. Процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) перебігають у цитоплазматичних мембранах (найперші мішені впливу вільних радикалів) [5; 8], структурна і функціональна дезорганізація яких є наслідком інтенсифікації ПОЛ. Структурними елементами клітинних мембран і водночас основним субстратом процесу пероксидації ліпідів є вищі жирні кислоти (ЖК), які впливають на електрофізіологічні властивості біологічних мембран, функцію мембранних білків й активність клітинних рецепторів [3; 7; 11].

Під впливом гіпоксії, стресів, процесів вільнорадикального окиснення та імунологічних змін в організмі відбувається дисбаланс ЖК на рівні мембранних структур, що може мати патогенетичне значення у розвитку патологічних станів (у тому числі в бронхолегеневій системі) [3; 7; 11; 13].

Стійкий ліпідний дисбаланс, що виникає при тривалій дії патогенного чинника може порушити специфічні функції клітин і викликати хронічне захворювання [3; 14; 15]. У літературі відзначено, що подібна структура клітинних мембран та склад ЖК у них дає можливість ототожнювати метаболізм ліпідів усіх клітин одного організму, у тому числі спектр ЖК епітеліальних клітин слизової оболонки бронхів [6; 12]. Тому можна вважати, що якісні та кількісні зміни ЖК у біологічних середо-

вищах можуть бути інформативним показником для діагностики патологічних процесів і свідчити про роль обміну ліпідів у виникненні хвороби.

Для розширення патогенезу захворювань надзвичайно важливого значення сьогодні надають вивченню біологічних середовищ. Найбільш чутливими до ліпідних медіаторів є компоненти крові та ендотеліальні клітини. Мембрани еритроцитів виявляють високу чутливість до активації ПОЛ, що швидко та різко змінює їх властивості, оскільки нагромадження гідрофільних угруповань у гідрофобному шарі мембрани сприяє утворенню своєрідних пор і порушує в ній транспорт (у тому числі селективний) [3; 11], що зумовлює необхідність вивчення нами спектра ЖК у крові (зокрема в еритроцитах і плазмі).

Респіраторні та метаболічні функції легень тісно пов'язані з обміном ліпідів, тому можна припустити, що будь-які патологічні процеси у легенях [1; 9] можуть впливати на стан фосfolіпідів організму людини та позначатися на складі сурфактанта легень і крові. Сурфактант легень є найбільшою біологічною мембраною в організмі людини, до складу якої входять насичені та ненасичені ЖК, де відбуваються також вільнорадикальні процеси, що регулюють поверхнево-активні властивості сурфактанта і підтримують вентиляцію легеневої тканини.

Функціонування всіх систем, незмінність внутрішнього середовища і стійкість фізіологічних реакцій організму взаємопов'язані, що зумовило мету про-

ведення досліджень: оцінити особливості складу жирних кислот ліпідів у плазмі та еритроцитах крові у хворих на туберкульоз легень (зокрема, при казеозній пневмонії).

Дослідження є фрагментом планових науково-дослідних робіт Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України: «Удосконалення існуючих і розробка нових методів антимікобактеріальної та патогенетичної терапії у хворих на туберкульоз легень» (номер державної реєстрації 0102 U 000788), «Поширеність, клінічний перебіг та наслідки лікування туберкульозу серед груп підвищеного ризику захворювання» (номер державної реєстрації 0108 U 003090).

Матеріали та методи дослідження

Нами було обстежено 103 (53,1 % від 194) здорові особи (І група, контрольна) та 91 (46,9 % від 194) хворий на туберкульоз легень (II і III групи). Серед хворих на туберкульоз легень були пацієнти із тяжким перебігом хвороби (зокрема, казеозною пневмонією), яких поділили на дві групи: 62 (68,13 %) хворих, які не потерпіли від наслідків аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС), — II група; 29 (31,87 %) хворих, які потерпіли від наслідків аварії на ЧАЕС, — III група. Здорові особи та хворі на туберкульоз легень були віком 18–65 років і не палили цигарки. Більшість потерпілих від наслідків аварії на ЧАЕС були учасниками ліквідації цих наслідків. Обстеження проводили у Київському міському протитуберкульозному диспансері № 1.

Склад ЖК фосфоліпідів у крові (плазмі та еритроцитах) визначали за методом газорідинної хроматографії, в основі якого лежить екстракція ліпідів із крові (плазми або еритроцитів), виділення фосфоліпідів, метилування і газохроматографічний аналіз ЖК за допомогою газорідинного хроматографа серії «Цвет-500» з плазміонізаційним детектором в ізотермічному режимі. Кількісну оцінку спектра ЖК ліпідів здійснювали за методом нормування площ і визначення частки ЖК ліпідів та виражали у відсотках (%) [2]. Підготовку проб і газохроматографічний аналіз проводили згідно з методикою Л. В. Сазоненко і Т. С. Брюзгіної (2003) [9; 10]. Похибка визначених показників становила $\pm 10\%$.

Статистичну обробку результатів дослідження виконували на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних програм Microsoft Office Excel, 2003, 2007. Вірогідними вважали різниці при рівнях статистичної значущості $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Матеріали клінічного дослідження були розглянуті комісією з питань етики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Винесено рішення, що дослідження виконані відповідно до сучасних наукових стандартів. Були передбачені заходи щодо забезпечення безпеки для здоров'я пацієнта, дотримання його прав людської гідності та морально-етичних норм у відповідності до принципів Гельсінкської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини та відповідних Законів України.

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведених досліджень у плазмі та еритроцитах крові у здорових осіб було встановлено схоже співвідношення сумарного вмісту насичених ЖК, сумарного вмісту

ненасичених ЖК і сумарного вмісту поліненасичених ЖК (ПН ЖК). У здорових осіб (I група) сумарний вміст насичених ЖК у плазмі крові дорівнював $(50,5 \pm 1,6)\%$ (в еритроцитах — $(51,2 \pm 1,4)\%$), сумарний вміст ненасичених ЖК — $(49,5 \pm 1,6)\%$ у плазмі ($(48,8 \pm 1,4)\%$ — в еритроцитах), а сума ПН ЖК становила $(33,3 \pm 1,5)\%$ у плазмі ($(28,4 \pm 1,0)\%$ — в еритроцитах) (рис. 1).

Аналіз результатів досліджень дає можливість стверджувати, що у здоровому організмі людини зберігається збалансований обмін речовин, який забезпечує фізіологічне функціонування органів і систем та характеризується в обох біологічних середовищах крові (у плазмі й еритроцитах) найбільшою сумарною кількістю насичених ЖК, меншим сумарним вмістом — ненасичених ЖК, а найменшою кількістю — суми ПН ЖК. Такий склад свідчить про наявний резерв незамінних ЖК у здорових осіб, які можуть включатися в обмін речовин при відповідних екстремальних ситуаціях, що зберігає рівновагу внутрішнього середовища в їх організмі та забезпечує його функціонування.

Оцінка комплексу ліпідів у плазмі й еритроцитах у здорових осіб показала подібність складу ЖК (за сумарним вмістом і співвідношенням окремих ЖК) в обох досліджуваних біологічних середовищах крові (плазмі, еритроцитах).

Легені та верхні дихальні шляхи — це невід'ємна частина всього організму, тому можна стверджувати, що зміни кількісного складу ЖК ліпідів у крові (плазмі й еритроцитах) у хворих на туберкульоз легень відображатимуть зміни в їхніх легенях.

За результатами наших досліджень, склад ЖК ліпідів у хворих на туберкульоз легень (зокрема, при казеозній пневмонії) II і III груп має односпрямовану зміну їх співвідношення як у плазмі, так і в еритроцитах

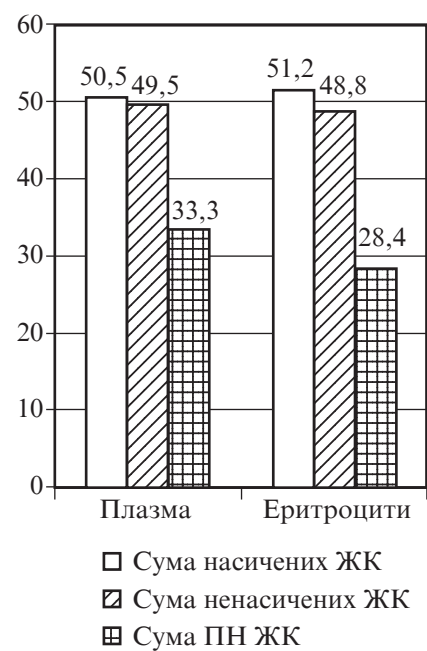


Рис. 1. Сумарний вміст насичених, ненасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі та еритроцитах крові у здорових осіб (I група)

крові. Однаковою мірою це стосується рівня насичених і ненасичених ЖК. У плазмі та еритроцитах крові ми реєстрували зниження вмісту пальмітинової (C16:0), стеаринової (C18:0), олеїнової (C18:1) і лінолевої (C18:2) ЖК, встановлено появу міристинової (C14:0), маргаринової (C17:0) і ейкозотрієнової (C20:3) ЖК. Отже, у хворих на туберкульоз легень при казеозній пневмонії встановлені порушення метаболізму вищих ЖК у плазмі та еритроцитах крові, зміни яких односпрямовані в обох середовищах крові (плазмі й еритроцитах).

Серед хворих на туберкульоз легень обох груп відмічалось вірогідне зниження вмісту пальмітинової ЖК (C16:0) до $(25,6 \pm 2,0)\%$ у плазмі, до $(23,4 \pm 1,8)\%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів II групи та до $(15,4 \pm 1,0)\%$ у плазмі, до $(21,7 \pm 0,7)\%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів III групи при контролі $(37,1 \pm 1,6)$ і $(33,6 \pm 0,8)\%$ відповідно, що свідчить про деструкцію лецитинової фракції фосфоліпідів унаслідок туберкульозного процесу в легенях. Вміст стеарино-

вої ЖК (С18:0) також вірогідно знижувався — до $(5,4 \pm 0,5) \%$ у плазмі та до $(7,4 \pm 0,8) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів II групи, до $(4,3 \pm 0,1) \%$ у плазмі та до $(10,3 \pm 0,5) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів III групи при $(13,4 \pm 0,7) \%$ і $(17,6 \pm 0,6) \%$ відповідно у контролі.

Утворення деяких ЖК (пальмітинової та стеаринової) відбувається у печінці, які етерифікуються у тригліцериди і резервуються у жирових депо, а в подальшому використовуються у складі фосфоліпідів для побудови клітинних мембран. Тобто у печінці існує певний фізіологічний баланс ЖК [4]. Із плазми крові вільні ЖК проникають у гепатоцити, де утворюється пальмітинова ЖК (С16:0), яка перетворюється в стеаринову ЖК (С18:0). Отже, зниження рівня пальмітинової (С16:0) і стеаринової (С18:0) ЖК у хворих на казеозну пневмонію свідчить про порушення у них функції печінки.

У хворих обох груп у плазмі крові з'явилася міристинова ЖК (С14:0) ($p < 0,001$), кількість якої дорівнювала $(39,0 \pm 3,0) \%$ у плазмі та $(35,0 \pm 3,0) \%$ в еритроцитах у пацієнтів II групи і $(53,4 \pm 2,8) \%$ у плазмі та $(5,8 \pm 0,4) \%$ в еритроцитах у пацієнтів III групи, що свідчило про суттєві зміни в ендокринній системі.

Рівень олеїнової ЖК (С18:1) у плазмі й еритроцитах крові у хворих обох груп (I, II) достовірно менший ($p < 0,001$), ніж у здорових осіб, що вказує на активну участь зазначеної ЖК у процесах ПОЛ. У здорових осіб рівень її у плазмі крові дорівнював $(16,3 \pm 0,5) \%$, в еритроцитах — $(20,4 \pm 0,9) \%$; у пацієнтів II групи — відповідно $(8,0 \pm 0,3) \%$ і $(7,7 \pm 0,9) \%$, у пацієнтів III групи — відповідно $(7,0 \pm 0,4) \%$ і $(6,9 \pm 0,5) \%$.

Кількість лінолевої ЖК (С18:2) у хворих на туберкульоз легень обох груп достовірно знижувалась у досліджуваних біологічних середовищах крові (суттєвіше у III групі) — до

$(8,0 \pm 1,0) \%$ у плазмі та до $(6,3 \pm 0,8) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у II групі, до $(3,0 \pm 0,5) \%$ у плазмі та до $(4,2 \pm 0,4) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у III групі. У I групі (здорові особи) рівень її дорівнював відповідно $(29,1 \pm 0,5) \%$ і $(14,5 \pm 1,1) \%$. Зміни щодо лінолевої ЖК (С18:2) у хворих на туберкульоз легень (зокрема, при казеозній пневмонії) свідчили про напруження метаболічних перетворень ліпідів, які пов'язані з синтезом біологічно-активних речовин, адже лінолева ЖК (С18:2) є попередником арахідонової ЖК (С20:4), кількість якої також значно знижена в еритроцитах крові ($p < 0,001$); у плазмі крові рівень арахідонової ЖК зростає.

У хворих обох груп установлені різноспрямовані зміни рівня арахідонової ЖК (С20:4) унаслідок інтенсифікації ПОЛ у клітинних мембранах: в еритроцитах вміст зменшувався до $(2,8 \pm 0,4) \%$ у пацієнтів II групи та до $(4,2 \pm 0,5) \%$ у пацієнтів III групи ($p < 0,001$) при $(13,9 \pm 0,7) \%$ у здорових осіб, у плазмі крові — підвищувався до $(5,2 \pm 0,3) \%$ у пацієнтів II групи ($p < 0,05$) та до $(5,0 \pm 1,0) \%$ у пацієнтів III групи ($p > 0,05$) при $(3,9 \pm 0,4) \%$ у здорових осіб.

У крові хворих на туберкульоз легень I і II груп з'являлись ейкозотрієнова (С20:3) та маргарінова (С17:0) ЖК ($p < 0,001$). Рівень ейкозотрієнової ЖК (С20:3) у плазмі становив $(1,2 \pm 0,3) \%$ у пацієнтів II групи та $(6,0 \pm 0,8) \%$ у пацієнтів III групи, в еритроцитах — відповідно $(2,80 \pm 0,08) \%$ та $(3,8 \pm 0,4) \%$, що було компенсаторною реакцією на вірогідну нестачу ПН ЖК. Рівень маргарінової ЖК (С17:0) у плазмі сягав $(2,7 \pm 0,3) \%$ у пацієнтів II групи та $(1,6 \pm 0,3) \%$ у пацієнтів III групи, в еритроцитах — відповідно $(5,6 \pm 0,6) \%$ та $(19,6 \pm 0,8) \%$. Кількість ейкозотрієнової та маргарінової ЖК вища у пацієнтів III групи, що поєднувалось із тяжким перебігом хвороби. У здорових осіб ейкозотрієнова та маргарінова ЖК відсутні.

Сумарний рівень насичених ЖК у хворих на туберкульоз легень із тяжким перебігом (зокрема, при казеозній пневмонії) зростає: до $(77,6 \pm 2,3) \%$ у плазмі та до $(80,4 \pm 1,8) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів II групи, до $(79,0 \pm 2,5) \%$ і $(80,9 \pm 2,0) \%$ відповідно у пацієнтів III групи ($p < 0,001$). Сумарний рівень ненасичених ЖК вірогідно знижувався: до $(22,4 \pm 2,3) \%$ у плазмі та до $(19,6 \pm 1,8) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів II групи, до $(21,0 \pm 2,5) \%$ і $(19,1 \pm 1,7) \%$ відповідно у пацієнтів III групи ($p < 0,001$). Сумарний рівень ПН ЖК також знижувався: до $(14,4 \pm 2,0) \%$ у плазмі та до $(12,0 \pm 1,5) \%$ в еритроцитах ($p < 0,001$) у пацієнтів II групи, до $(14,0 \pm 2,3) \%$ і $(12,2 \pm 1,4) \%$ відповідно у пацієнтів III групи ($p < 0,001$) (рис. 2, 3).

Висновки і перспективи подальших досліджень

Отже, за результатами досліджень установили, що у хворих на туберкульоз легень із тяжким перебігом (зокрема, із казеозною пневмонією) склад усіх ЖК у плазмі та еритроцитах

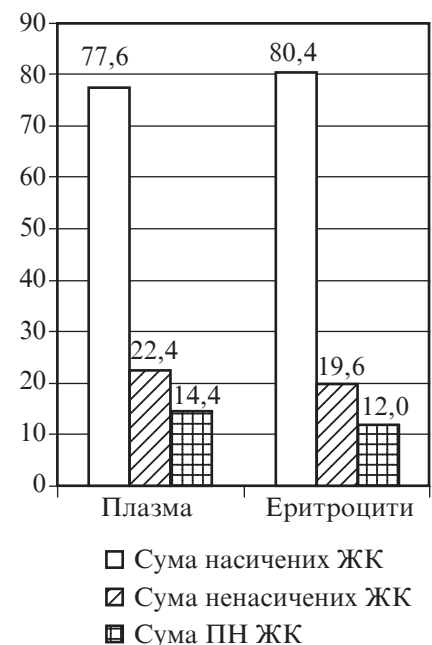


Рис. 2. Сумарний вміст насичених, ненасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі та еритроцитах крові у хворих на казеозну пневмонію, які не потерпіли від наслідків аварії на ЧАЕС (II група)

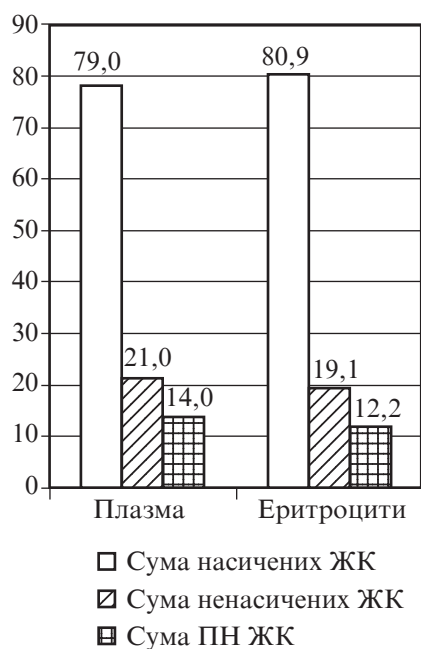


Рис. 3. Сумарний вміст насичених, ненасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі та еритроцитах крові у хворих на казеозну пневмонію, які потерпіли від наслідків аварії на ЧАЕС (III група)

крові суттєво змінюється: у пацієнтів обох груп виявлена одностороння закономірність у плазмі та еритроцитах крові щодо окремих ЖК та сумарного вмісту насичених, ненасичених і поліненасичених ЖК.

Комплекс ліпідів у плазмі та еритроцитах крові у хворих на туберкульоз легень із тяжким перебігом (II і III групи) відрізняється від здорових осіб (I група) підвищеним сумарним вмістом насичених ЖК внаслідок появи міристинової (C14:0) і маргаринової (C17:0) ЖК та зниженим сумарним вмістом ненасичених і поліненасичених ЖК. Наведені показники рівня ЖК у крові (плазмі й еритроцитах) у здорових осіб та у хворих на казеозну пневмонію характеризують особливості метаболізму їх ліпідів, який спрямований на забезпечення відповідного гомеостазу організму.

Таким чином, результати досліджень показали, що існують зв'язок і залежність між тяжким перебігом туберкульозу легень (зокрема, казеозної пневмонії) та зміною обміну ліпідів, на-

слідком чого є модифікація складу ЖК у крові, що необхідно враховувати при проведенні лікування даних пацієнтів. Аналіз вмісту окремих ЖК та сумарного рівня насичених, ненасичених і поліненасичених ЖК у плазмі та еритроцитах крові у здорових осіб і хворих на казеозну пневмонію визначає більшу чутливість еритроцитів до процесів перекисного окиснення ліпідів і свідчить про можливість використання еритроцитів як важливого біологічного матеріалу для вивчення обміну ліпідів, визначення тяжкості перебігу хвороби, що є перспективою для нових досліджень і допоможе проводити корекцію лікування хворих на туберкульоз легень (у тому числі при казеозній пневмонії).

ЛІТЕРАТУРА

1. Возіанов О. Ф. Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / О. Ф. Возіанов, В. Г. Бебешко, Д. А. Бази́ка. – К.: ДІА, 2007. – 806 с.
2. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца / С. Г. Гичка, Т. С. Брюзгина, Г. М. Вретик, С. Н. Рева // Український кардіологічний журнал. – 1998. – № 7/8. – С. 50–52.
3. Гула Н. М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах / Н. М. Гула, В. М. Маргітич. – К.: Наукова думка, 2009. – 335 с.
4. Данилова В. Г. Вплив показників прооксидантно-антиоксидантної системи на інтенсивність цитолізу при хронічних ураженнях печінки / Г. В. Данилова // Acta medica Leopoliensia / Львівський медичний часопис. – 2008. – № 1/2. – С. 24–28.
5. Дестабілізація жирнокислотного складу фосfolіпідів біомембран та порушення серцевого ритму у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / П. Ф. Дудка, Ю. В. Кузнєцова, Л. І. Соколова [та ін.] // Зб. наук. праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – К., 2010. – С. 120–124. («Современные достижения медицинской науки»: матеріали конф.)
6. Ільницький Р. І. Жирнокислотний спектр біологічних мембран та гемореологія у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень на тлі лікування фенспіридом / Р. І. Ільницький // Український пульмоно-

логічний журнал. – 2007. – № 4. – С. 48–52.

7. Кірсанова М. П. Оцінка жирнокислотного спектра ліпідів сироватки крові та мембран еритроцитів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у поєднанні з артеріальною гіпертензією / М. П. Кірсанова // Український пульмонологічний журнал. – 2011. – № 2. – С. 52–54.

8. Клінічні аспекти посилення ліпідної пероксидації та виникнення електричної нестабільності міокарда у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / П. Ф. Дудка, Ю. В. Кузнєцова, Т. О. Кузнєцова [та ін.] // Науковий вісник Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. – 2009. – № 25 (спецвипуск). – С. 87–90.

9. Оцінка жирнокислотного складу ліпідів крові у хворих на ревматоїдний артрит / О. Б. Яременко, Т. С. Брюзгіна, О. Ю. Камиш, Г. М. Вретик // Медична хімія / Medical Chemistry. – 2005. – Т. 7, № 2. – С. 86–88.

10. Сазоненко Л. В. Вивчення ліпідних показників сироватки крові у вагітних з прееклампсією в динаміці лікування / Л. В. Сазоненко, Я. М. Вітовський, Т. С. Брюзгіна // Медична хімія. – 2003. – № 1. – С. 86–88.

11. Соколова Л. І. Стан жирнокислотного метаболізму та ультраструктури клітинних мембран у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Л. І. Соколова // Український пульмонологічний журнал. – 2009. – № 3. – С. 55–57.

12. Состояние липидного компонента клеточной мембраны эритроцитов у больных с сочетанными заболеваниями внутренних органов в фазе ремиссии / Е. Ю. Шестопапов, Т. П. Новгородцева, Ю. К. Караман [и др.] // Внутренние болезни. – 2009. – № 1 (135). – С. 32–37.

13. Эссенциальные полиеновые жирные кислоты и артериальное давление, механизмы физиологического влияния / В. Н. Титов, С. Ф. Дугин, В. А. Дмитриев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 11. – С. 3–12.

14. Das U. N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology / U. N. Das // Biotechnol. J. – 2006. – Vol. 1. – P. 420–439.

15. Das U. N. Lipids in Health and Disease / U. N. Das // Biomedcentral. – 2008. – Vol. 7. – P. 1–5.

Надійшла 29.09.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Н. А. Мацегора

ДІАГНОСТИЧНЕ І ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІПІДІВ КРОВІ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ

Мета проведених досліджень — оцінити особливості складу жирних кислот ліпідів у плазмі та еритроцитах крові у хворих на туберкульоз легень (зокрема, при казеозній пневмонії).

Аналіз вмісту окремих жирних кислот та сумарного рівня насичених, ненасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі та еритроцитах крові у хворих на казеозну пневмонію (потерпілих і не потерпілих від наслідків аварії на ЧАЕС) визначає більшу чутливість еритроцитів до процесів перекисного окиснення ліпідів і свідчить про можливість більш повноцінного використання еритроцитів для вивчення обміну ліпідів, визначення тяжкості перебігу хвороби та проведення корекції лікування.

Ключові слова: жирні кислоти, плазма, еритроцити крові, казеозна пневмонія, потерпілі і не потерпілі від наслідків аварії на ЧАЕС.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE CHANGES IN INDICATORS OF BLOOD LIPID METABOLISM IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

The aim of the research was evaluate the features of composition of fatty acids of lipid in plasma erythrocytes of blood in patients with pulmonary tuberculosis (in particular, caseous pneumonia).

The comparative analysis of the content of individual fatty acids and total level of saturated, unsaturated and polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocytes of blood in patients with caseous pneumonia (affected and not affected by the consequences of the Chernobyl accident) determines a greater sensitivity to the erythrocyte lipid peroxidation and indicates a possible better use of erythrocytes of blood for the study of lipid metabolism, determining the severity of disease and correction of treatment.

Key words: fatty acids, plasma, erythrocytes of blood, caseous pneumonia, affected and not affected by the consequences of the Chernobyl accident.

УДК 616.12-008.331.1+616.61-008.64:615.036

Т. Ю. Понятовська

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЕНАЛАПРИЛУ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ M235T АНГІОТЕНЗИНОГЕНУ У ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

Одеський національний медичний університет

Вступ

Ренін-ангіотензин-альдостеронова система (РААС) напряму бере безпосередню участь у регуляції артеріального тиску (АТ), об'єму циркулюючої рідини та васкулярних реакцій на ушкодження та запалення. Надмірна активація РААС призводить до артеріальної гіпертензії (АГ), затримки рідини та запальних, тромботичних й атерогенних ефектів, що в довгостроковій перспективі можуть призводити до ураження органів-мішеней. Численні проспективні дослідження довели, що блокада РААС має протективну дію при АГ і хронічному захворюванні нирок [1].

Останніми десятиліттями активно вивчали гени-кандидати РААС, що можуть бути асоційовані не лише з високим ризиком кардіоваскулярних подій, а

й з метаболічними порушеннями, зокрема, ожирінням і порушенням толерантності до глюкози. Одним із функціональних поліморфізмів ангіотензиногену (АГТ), що зумовлює ризик АГ у популяції європейців, є місенс-мутація у вигляді заміни треоніну (Т) на метіонін (М) у 235-му кодоні. Подальші дослідження показали, що 235Т-алель АГТ зчеплений із заміною гуаніну (G) на аденін (A) у шостому положенні (-6 G/A) промоторної ділянки гена. Особи із ТТ-генотипом мають на 10–20% більші сироваткові концентрації АГТ, порівняно з пацієнтами, що мають ММ-алельний варіант. Два метааналізи надали висновок про значну асоціацію між M235T поліморфізмом та АГ з комбінованим ризиком 1,2 для 235Т-алеля в європейській популяції [2]. Недавні дослідження показують наявність взаємо-

зв'язку між високою концентрацією цитокінів ІЛ-1 та TNF- α , що промотують транскрипцію та експресію АГТ у гіпертензивних пацієнтів, гомозиготних за 235Т-алелем [3; 4].

Лише 11% пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) 2 типу та АГ досягають цільових значень АТ, що значно збільшує ризик ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних і кардіальних ускладнень [5]. Гіпертензивні хворі на ЦД 2 типу згідно із сучасними рекомендаціями, повинні досягати рівнів АТ нижче 140/90 мм рт. ст., а за наявності протеїнурії рівень АТ має бути нижче 130/90 мм рт. ст. [5; 6]. Генетичний поліморфізм компонентів РААС, окрім модифікації перебігу захворювання та високого ризику ускладнень, може асоціюватися із субоптимальною відповіддю на антигіпертензивну та нефропро-

текторну терапію інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту (ІАПФ) і блокаторами рецепторів до ангіотензину II типу (БРА) [7].

Таким чином, роль функціонально ослаблених поліморфізмів гена *AGT* потребує подальшого вивчення з позицій їх прогностичної цінності та можливості впровадження в клінічну практику з метою раннього призначення індивідуалізованого лікування пацієнтам високого ризику у відповідності до персонального фармакогенетичного профілю.

Мета дослідження — оцінити розповсюдженість алельних варіантів M235T гена *AGT* у пацієнтів із ЦД 2 типу та АГ, а також їх потенційний вплив на ефективність еналаприлу у вищезазначеній категорії хворих.

Матеріали та методи дослідження

Було обстежено 74 пацієнти із ЦД 2 типу й АГ, середній вік — $(58,8 \pm 6,8)$ року. У дослідження не включали пацієнтів із ЦД 1 типу, тяжкими коморбідними станами (злоякісні пухлини, гострі та хронічні вірусні інфекції). Усіх пацієнтів було обстежено згідно з Наказами МОЗ України № 1118 від 21.12.2012 р., № 384 від 24.05.2012 р. та уніфікованими клінічними протоколами з надання первинної та вторинної медичної допомоги хворим на ЦД 2 типу й АГ. Усі пацієнти отримували стандартне лікування пероральними цукрознижувальними засобами, найчастіше метформіном, гліметіпрідом або комбінацією метфор-

міну із інгібітором дипептиліпептидази-4. Хворим призначали прийом еналаприлу добовою дозою 5–20 мг на два прийоми з 12-годинним інтервалом залежно від маси тіла, початкових значень АТ та протеїнурії.

Для діагностики мікроальбумінурії було використано імуноферментний метод визначення “Micral-Test” (Boehringer Mannheim, Австрія).

Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) обчислювали за формулою СКД-ЕРІ [8].

Поліморфізми гена *AGT* оцінювали за стандартною методикою. Геномну ДНК було виділено з лейкоцитів венозної крові за допомогою набору реагентів «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛаб-сервис», Російська Федерація). Поліморфні варіанти гена *AGT* визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням комплектів реагентів для ампліфікації «SNP-експрес» (ТОВ НВФ «Литех», Російська Федерація). Проводили ПЛР на ампліфікаторі BIO-RAD (США). Для ампліфікації використовували 100–150 нг ДНК. Початкова денатурація при температурі 95 °С тривалістю 10 хв. Проводили ПЛР протягом 40 циклів: денатурація при 95 °С — 30 с, відпал при температурі 64 °С — 30 с, елонгація при 72 °С протягом 30 с та остаточна елонгація 3 хв при 72 °С. Розділення продуктів ампліфікації проводили в горизонтальному 2 % агарозному гелі, приготовленому на одноразовому трис-боратному буфері.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програмного

забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальність розподілу ознак було перевірено згідно з критеріями Шапіро — Уїлка, статистичну достовірність розбіжностей між групами оцінювали за допомогою дисперсійного аналізу ANOVA. Дані мікроальбумінурії, зважаючи на розподіл показників, відмінний від нормального, аналізували з використанням непараметричних методів.

Результати дослідження та їх обговорення

Гомозиготність за функціонально ослабленими поліморфізмами ангіотензиногену було визначено у 11 (14,86 %) досліджуваних осіб (табл. 1), що достовірно не перевищує середні показники для загальної європейської популяції. За даними популяційних досліджень, серед здорових осіб частка монозиготних носіїв Т-алеля сягає 10 % [9; 10]. Поясненням даного явища може слугувати значна кількість пацієнтів похилого віку з уже реалізованим генетичним ризиком за участі численних екзогенних факторів, що не підлягали оцінюванню в даному дослідженні.

Усі пацієнти після розподілу на групи за генотипом АГТ були співставними за віком та основними клінічними характеристиками. Однак достовірно найменшу тривалість ЦД 2 типу ($p_{TT-TM}=0,009$; $p_{TT-MM}=0,002$; $p_{TM-MM}=0,37$) із одночасно найбільш вираженою нирковою дисфункцією у вигляді зниження ШКФ ($p_{TT-TM}=0,007$; $p_{TT-MM}=0,001$; $p_{TM-MM}=0,34$) та високих показників мікроаль-

Таблиця 1

Розподіл пацієнтів за генотипом *AGT* та розповсюдженість різних алельних варіантів серед здорових європейців — представників однорідних етнічних груп, абс. (%)

Досліджуваний контингент	ММ	МТ	ТТ
Гіпертензивні пацієнти з ЦД 2 типу в Одеському регіоні, n=74	20 (27,04)	43 (58,1)	11 (14,86)
A. Mondry, 2005, Німеччина (n=720, нормотензивні пацієнти)	231 (32,1)	450 (63,3)	33 (4,6)
Л. Фіщук, Київ, Україна (n=102, нормотензивні жінки)	32 (31,37)	55 (53,92)	15 (14,71)
Нгуен Тхи Чанг, Т. П. Шкурат, 2010, Ростовська обл., Російська Федерація (n=159, нормотензивні пацієнти)	122 (76,5)	26 (16,2)	11 (7,3)
E. Androulakis, 2013, Греція (n=193, нормотензивні пацієнти)	64 (33,1)	112 (58,0)	17 (7,2)

Клінічна характеристика пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу й артеріальною гіпертензією залежно від поліморфізму M235T гена AGT до початку лікування

Показник	ММ, n=20	МТ, n=43	ТТ, n=11	P
Середній вік пацієнтів, років	60,60±7,88	58,30±6,62	59,00±6,57	0,601
Середня тривалість ЦД, років	10,6±2,1	9,77±3,00	7,7±2,4	0,007
Середні рівні офісного САТ, мм рт. ст.	139,7±9,2	139,7±10,5	144,9±14,1	0,247
Середні рівні офісного ДАТ, мм рт. ст.	89,3±7,3	89,8±6,9	87,0±6,1	0,309
Сечовина сироватки крові, ммоль/л	5,12±0,9	5,22±0,90	5,25±1,10	0,942
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	88,0±13,3	90,2±9,2	90,2±20,1	0,938
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	83,0±10,8	78,2±15,4	67,4±11,5	0,005
Мікроальбумінурія, мг на добу	216 (67–230)	128 (11–220)	326 (30–412)	0,001

Примітка. У табл. 2, 3: усі дані подано у форматі $M \pm SD$, окрім показника мікроальбумінурії, що представлений у вигляді медіани з максимумом та мінімумом у кожній досліджуваній групі; САТ — систолічний АТ; ДАТ — діастолічний АТ

бумінурії було зафіксовано у пацієнтів із ТТ гаплотипом гена AGT ($p_{ТТ-ММ}=0,0001$; $p_{ТТ-ММ}=0,012$; $p_{ММ-ММ}=0,06$), що може свідчити про нефроальтурнуючий потенціал Т-алеля у пацієнтів із таким типом коморбідності (табл. 2).

Після 12 тиж. лікування еналаприлом група пацієнтів із генотипом ММ досягла найбільш значущого зниження офісного АТ та цільових рівнів САТ і ДАТ ($p=0,001$ та $p=0,004$) (табл. 3). Субоптимальна відповідь на антигіпертензивну терапію може зумовлювати необхідність подальшої корекції дози ІАПФ або додавання другого антигіпертензивного агента для раціональної комбінованої терапії (блокатора кальцієвих каналів або діуретика).

Достовірного зниження рівнів креатиніну та сечовини сироватки крові, збільшення показника ШКФ не спостерігали в жодній групі. Найбільш вираженого зниження альбумінурії досягли пацієнти із МТ і ММ генотипами ($p=0,0003$ та $p=0,003$ відповідно).

Під час дослідження у МТ-гетерозиготного пацієнта на фоні лікування еналаприлом зафіксували кашель, типовий для прийому ІАПФ, у зв'язку з чим препарат було замінено на БРА-II. Інших небажаних побічних реакцій при прийомі еналаприлу у вигляді підвищення концентрації креатиніну сироватки, гіперкаліємії не відмічали.

Потенційним обмеженням для подальшої клінічної імплементації дослідження є генетич-

на гомогенність досліджуваної групи та відносно невелика кількість спостережень. Різна середня тривалість ЦД і АГ, наявність факторів, пов'язаних із прихильністю пацієнтів до лікування та способом життя, безумовно впливають на ефективність антигіпертензивної та нефропротекторної терапії. Потребуються подальші більш масштабні дослідження із залученням більшої кількості пацієнтів, щоб обґрунтувати можливий взаємозв'язок між генотипічними варіантами РААС та побічними ефектами ІАПФ.

Висновки

Таким чином, у хворих на ЦД 2 типу й АГ не частіше, ніж у загальній популяції, трапляються функціонально ослаблені алельні варіанти генів РААС. Така розповсюдженість у хворих після 45 років із комбінацією кардіоваскулярних і метаболічних порушень найімовірніше пояснюється наявним реалізованим генетичним ризиком. Найбільші значення мікроальбумінурії та значуще зниження ШКФ фіксували у пацієнтів, гомозиготних за Т-алелем гена AGT, що є ознакою нефроальтурнуючого потенціалу даного генотипу. Генотипування з метою виявлення пацієнтів високого ризику може бути цінним доповненням до стандартного клінічного обстеження хворих на ЦД 2 типу з метою більш

Клінічна характеристика пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу та артеріальною гіпертензією залежно від поліморфізму M235T гена AGT через 12 тиж. лікування еналаприлом

Таблиця 3

Показник	ММ, n=20	МТ, n=43	ТТ, n=11
Середні рівні офісного САТ, мм рт. ст.	125,1±8,3*	139,2±9,0	143,3±12,4
Середні рівні офісного ДАТ, мм рт. ст.	80,6±5,3*	88,9±5,6	87,6±5,6
Сечовина сироватки крові, ммоль/л	4,9±0,8	4,8±0,8	5,3±1,0
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	81,9±12,4	88,4±17,1	86,5±16,4
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	83,0±11,5	77,7±15,2	68,3±11,0
Мікроальбумінурія, мг на добу	79* (50–166)	102* (0–250)	345 (40–430)

Примітка. * — $p < 0,05$ порівняно із середніми результатами в групах до лікування еналаприлом

раннього призначення блокаторів РААС для профілактики виникнення дихальної недостатності. Перспективним виявляється подальше дослідження небажаних побічних ефектів блокаторів РААС та їх потенційного взаємозв'язку із функціональними поліморфізмами з метою індивідуалізації фармакотерапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ruggenti P.* The RAAS in the pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy / P. Ruggenti, P. Cravedi, G. Remuzzi // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2010. – N 6. – P. 319–330.

2. *Angiotensinogen M235T polymorphism and the risk of myocardial infarction and stroke among hypertensive patients on ACE-inhibitors or β -blockers* / H. Schelleman, O. H. Klungel, J. C. Wit-

teman // *European Journal of Human Genetics.* – 2007. – N 15. – P. 478–484.

3. *Cheng J.* Association between the M235T polymorphism of the AGT gene and cytokines in patients with hypertension / J. Cheng, A. Wang, J. Wan // *Exp Ther Med.* – 2012. – N 3 (3). – P. 509–512.

4. *AGT gene polymorphisms (M235T, T174M) are associated with coronary heart disease in a Chinese population* / X. Li, Q. Li, X. Wang [et al.] // *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* – 2013. – N 14 (4). – P. 354–359.

5. *Сіренко Ю. М.* Цільовий рівень АТ при цукровому діабеті 2 типу: оцінка наукових доказів / Ю. М. Сіренко // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2012. – № 6 (46). – С. 10–14.

6. *Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8)* / P. A. James, S. Oparil, B. L. Carter [et al.] // *JAMA.* – 2014. – N 311 (5). – P. 507–520.

7. *ESC/ESH Guidelines for management of arterial hypertension* / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz [et al.] // *European heart journal.* – 2013. – N 34. – P. 2159–2219.

8. *KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease* // *Kidney International Supplement.* – 2013. – N 3. – P. 1–150.

9. *Blood pressure and interactions between the angiotensin polymorphism AGT M235T and sodium intake: a cross-sectional population study* / T. Norat, R. Bowman, R. Luben [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – N 88 (2). – P. 392–397.

10. *Androulakis E.* Candidate gene polymorphisms and their association with preclinical organ damage in untreated hypertension / E. Androulakis // *JACC.* – 2013. – Vol. 61 (10). – P. 1470.

Надійшла 29.09.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Ю. І. Бажора

УДК 616.12-008.331.1+616.61-008.64:615.036

Т. Ю. Понятовська

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЕНАЛАПРИЛУ ЗАЛЕЖНО ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ M235T АНГІОТЕНЗИНОГЕНУ У ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

Метою дослідження було оцінити антигіпертензивний та нефропротективний ефекти еналаприлу залежно від типу мононуклеотидного поліморфізму M235T гена *AGT* у гіпертензивних пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу.

Субоптимальний антигіпертензивний та антипротеїнуричний ефекти еналаприлу в категорії Т-монозиготних пацієнтів за поліморфізмом M235T *AGT* зумовлює необхідність раннього призначення комбінованої антигіпертензивної терапії як з метою нефропротекції, так і задля зниження загального ризику серцево-судинних ускладнень.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, профілактика діабетичної нефропатії, еналаприл, M235T поліморфізм ангіотензиногену.

UDC 616.12-008.331.1+616.61-008.64:615.036

T. Yu. Ponyatovska

ENALAPRIL EFFICACY EVALUATION AND AGT M235T POLYMORPHISM IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

It was a research purpose to estimate antihypertensive and nephroprotective effects of enalapril depending on the type of the mononucleotide polymorphism of M235T gene *AGT* at hypertensive patients with saccharine diabetes of a 2 type.

Suboptimum antihypertensive and antiproteinuric the effects of enalapril in the category of the T-monozygotic patients after the M235T *AGT* polymorphism are predetermined by the necessity of the early setting of the combined antihypertensive therapy both with the purpose of nephroprotection and for the sake of decline of general risk of cardiovascular complications.

Key words: hypertension, diabetic nephropathy prevention, enalapril, AGT M235T polymorphism.

УДК 618.19-006.575.1

В. Н. Запорожан, д-р мед. наук, проф.,

В. Г. Дубинина, д-р мед. наук, проф.,

В. В. Бубнов, канд. мед. наук,

В. Г. Маричереда, д-р мед. наук, проф.,

Н. Н. Рожковская, д-р мед. наук, проф.,

Н. А. Быкова

АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА *WIF1* У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ПРОЦЕССАМИ И РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

Одесский национальный медицинский университет

Метилирование ДНК может служить диагностическим и прогностическим маркером для клинического применения [1; 2]. Ген *WIF1*, взятый нами для

оценки возможности использования его как диагностического маркера риска развития рака эндометрия, относится к группе генов-супрессоров Wnt-пути [5].

Изучение метилирования гена *WIF1* в оценке прогноза выживаемости при раке цервикального канала показало наличие в опухоли метилированной ДНК

промотора гена *WIFI* и было связано с плохой выживаемостью пациентов при раке шейки матки [3]. Также в работе Н. Suzuki (2008) было выявлено метилирование промотора гена *WIFI* в 45 % случаев у больных раком молочной железы [1]. В перечисленных выше работах авторов метилирование изучалось методом метилспецифической полициклической реакции (ПЦР), которая не дает возможности определять количественное содержание метилированной по CG-сайтам ДНК в образце опухоли, а оценивает метилирование по принципу «есть» или «нет». Нами же было проведено количественное определение содержания метилированной ДНК в первом экзоне гена *WIFI* с использованием технологии комбинированного бисульфит рестрикционного анализа (COBRA).

Материалы и методы исследования

Изучение метилирования первого экзона гена *WIFI* проводилось на биопсийном материале 12 образцов аденокарциномы эндометрия, 11 образцов ткани от больных с доброкачественными гиперпролиферативными процессами эндометрия и 6 образцов нормальной ткани эндометрия. Геномная ДНК была выделена с помощью наборов GeneJET DNA Purification Kit (Thermo scientific). Бисульфитная обработка геномной ДНК была выполнена согласно протоколу к набору EpiTect Bisulfite kit (Qiagen). После бисульфитной обработки выделенной ДНК была проведена амплификация методом TouchDown ПЦР с Hot-StartTag DNA Polymerase с использованием набора (Qiagen) и 5 пкмоль специфических праймеров: 95 °C — 15 мин, 10 циклов 95 °C — 30 с, 65 °C — 1 мин, со снижением температуры на 1 °C на цикл, 42 цикла 95 °C — 30 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 45 с; 72 °C — 10 мин.

Дизайн праймеров осуществляли с помощью программы

MethylPrimer Express v 1.0. Количественный анализ метилирования гена проводили с помощью метода COBRA. Для выполнения анализа к амплифицированной ДНК гена в объеме 15 мкл добавляли 2,5 мкл 10-кратного буфера и 1 мкл BStuI рестриктазы и инкубировали 1 ч при 60 °C. После инкубации проводили электрофорез в 2 % агарозном геле, затем окрашивали гель этидиум бромидом и сканировали с использованием системы визуализации VercaDoc 4000 (Bio-RAD). Анализировали электрофореграммы с помощью программы Quantitative One (BIORAD).

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение эпигенетических механизмов регуляции эмбрионального развития, роста и старения и нарушение этих механизмов, приводящее к возникновению различных заболеваний, в том числе онкологических, имеет большое значение в понимании механизмов онкогенеза. Одним из быстрых и количественных методов для анализа абберантного метилирования ДНК является COBRA. Суть метода состоит в проведении рестрикционного анализа амплифицированного участка гена по сайтам *CGCG*. Если ДНК метилирована, то происходит нарезание ферментом рестрикции BStuI амплифицированной цепи ДНК гена между *CGCG* последовательностью с образованием нескольких фрагментов в зависимости от количества *CGCG*-сайтов гена и степени их метилирования. В гене *WIFI* в первом экзоне находятся два *CGCG*-сайта или четыре *CG*-последовательности, которые могут быть метилированы. Поэтому для гена *WIFI* (после рестрикции и электрофореза в агарозном геле) характерно образование двух полос амплифицированного продукта с молекулярным весом 90 и 170 п. н. Последующий электрофорез,

сканирование геля и программная обработка данных с Quantitative One позволяют выявить количество метилированной и неметилированной ДНК в образце.

Во всех образцах ткани рака эндометрия не выявлено метилированной ДНК гена *WIFI*. Две полосы продуктов рестрикции амплифицированной ДНК видны только в положительном контроле (100 % метилированная ДНК, Qiagen). В образцах ткани с гиперплазией эндометрия и нормальной ткани эндометрия, взятых для анализа, также не было выявлено наличия метилированной ДНК. Метилирование промотора и первого экзона гена *WIFI*, по данным литературы, было обнаружено при различных формах рака, таких как рак молочной железы, рак яичников, рак шейки матки [2; 4]. Следует отметить, что отсутствие метилированной ДНК первого экзона гена *WIFI* в образцах ткани рака эндометрия и нормальной ткани эндометрия не свидетельствует о том, что ДНК вообще не метилирована. Данный анализ показывает отсутствие метилирования в двух *CGCG*-сайтах первого экзона гена (или в четырех *CG*-последовательностях), которые были взяты нами для изучения и которые, по данным литературы, были метилированы при раке молочной железы и раке шейки матки [2; 6].

Таким образом, в образцах тканей рака эндометрия, гиперпластических процессов и нормальной ткани эндометрия при анализе методом COBRA не выявлено наличия метилированной ДНК этого гена, относящего к ингибиторам Wnt сигнального каскада. Отсутствие метилированной ДНК в первом экзоне гена *WIFI* в указанных сайтах, которое было выявлено при других формах рака, возможно, указывает на то, что развитие рака эндометрия не связано с метилированием этих сайтов в гене *WIFI*, являющим-

ся супрессором Wnt сигнального пути.

Выводы

1. В результате проведенных исследований показано отсутствие метилированной ДНК в первом экзоне гена *WIF1* во всех изученных образцах ткани, включая рак эндометрия, гиперпластические процессы эндометрия и нормальную ткань эндометрия.

2. Полученные данные позволяют предположить, что метилирование первого экзона гена *WIF1* не является патогенетическим механизмом гипер-

пластических процессов и рака эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Frequent epigenetic inactivation of Wnt antagonist genes in breast cancer* / H. Suzuki, M. Touyta, H. Carrawa [et al.] // *Br. J. Cancer*. – Mar. 2008. – Vol. 25, N 98 (6). – P. 1147–1156.

2. *Quantitative DNA methylation analysis of candidate genes in cervical cancer* / E. M. Siegel, B. M. Riggs, A. L. Delmas [et al.] // *PLoS One*. – Mar., 2015. – Vol. 31, N 10 (3). – P. 113–121.

3. *Epigenetic inactivation of the secreted frizzled-related protein-5 (WIF1) gene in human breast cancer is associated with unfavorable prognosis* / J. Veeck, C. Geisler, E. Noetzel [et al.] // *Carcinogenesis*. – May, 2008. – Vol. 31. – P. 991–998.

4. *Verschuur-Maes A. H. Epigenetic progression of columnar cell lesions of the breast to invasive breast cancer* / A. H. Verschuur-Maes, P. C. de Bruin, P. J. van Diest // *Breast Cancer Res Treat.* – Dec., 2012. – Vol. 136 (3). – P. 705–715.

5. *Promoter methylation of WIF1 in patients with ovarian clear cell adenocarcinoma* / C. M. Ho, H. C. Lai, S. H. Huang [et al.] // *Eur J Clin Invest.* – Apr., 2010. – Vol. 40 (4). – P. 310–318.

6. *Prognostic relevance of Wnt-inhibitory factor-1 (WIF1) and Dickkopf-3 (DKK3) promoter methylation in human breast cancer* / P. J. Veeck, P. J. Wild, T. Fuchs [et al.] // *BMC Cancer*. – 2009. – Vol. 9. – P. 217–224.

Поступила 15.10.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. И. З. Гладчук

УДК 618.19-006.575.1

В. Н. Запорожан, В. Г. Дубинина, В. В. Бубнов, В. Г. Маричереда, Н. Н. Рожковская, Н. А. Быкова

АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА *WIF1* У ЖЕНЩИН С ГИПЕРПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ПРОЦЕССАМИ И РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

Эпигенетические изменения играют важную роль в опухолевой трансформации эпителиальной ткани эндометрия. Одной из составляющих эпигенетической трансформации клеток может быть метилирование промотора и первого экзона генов-супрессоров опухолевого роста.

Целью данного исследования был сравнительный анализ состояния метилирования гена *WIF1* у женщин с гиперпролиферативными процессами и раком эндометрия. Анализ метилирования был проведен методом COBRA, который, в отличие от метилспецифической ПЦР, дает возможность выявлять количество метилированной ДНК в изучаемом образце ткани. Установлено отсутствие метилированной ДНК гена *WIF1* в образцах ткани с гиперпластическими процессами, аденокарциномой и нормальной ткани эндометрия.

Ключевые слова: метилирование ДНК, ген *WIF1*, CG-сайт, рак эндометрия.

UDC 618.19-006.575.1

V. N. Zaporozhan, V. G. Dubinina, V. V. Bubnov, V. G. Marichereda, N. N. Rozhkovskaya, N. A. Bykova

ANALYSIS OF GENE *WIF1* METHYLATION IN WOMEN WITH HYPERPROLIFERATIVE PROCESSES OF ENDOMETRIUM AND ENDOMETRIAL CARCINOMA

Epigenetic changes play important role in tumor transformation of endometrium. One of the pathogenic mechanisms of epigenetic cell transformation may be a methylation of promotor and first exon of gene-suppressors of tumor growth.

The aim of the study was a comparative analysis of gene *WIF1* methylation in women with hyperproliferative processes of endometrium and endometrial carcinoma. Methylation analysis was done by using COBRA method, which could detect the amount of methylated DNA in tissue sample, unlike methylspecific PCR method. It was established the absence of gene *WIF1* methylated DNA as in endometrial hyperplasia, carcinoma and in normal endometrium.

Key words: DNA methylation, gene *WIF1*, CG-site, endometrial carcinoma.

УДК 616-08-039.74:614.2:37.047

В. В. Артеменко, *д-р мед. наук, доц.*,
В. М. Носенко, *канд. мед. наук, доц.*,
Р. С. Вастьянов, *д-р мед. наук, доц.*,
Л. И. Берлинская,
Д. А. Новиков,
С. С. Семченко,
О. С. Егоренко

СИМУЛЯЦИОННОЕ ОБУЧЕНИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ В МЕДИЦИНЕ

Одесский национальный медицинский университет

Вступление

В практической деятельности врач любой специальности нередко встречается с остро возникающими состояниями, требующими проведения срочной коррекции и поэтому называемыми неотложными состояниями (НС). Очень серьезную проблему представляет эффективное и юридически корректное медицинское образование специалистов для правильного, высокопрофессионального лечения этих драматических ситуаций. В последние годы разработаны современные стандарты медицинской помощи, отвечающие требованиям высокой эффективности и безопасности при различных НС.

Вместе с тем существующая система подготовки врачей не позволяет реализовывать их в полном объеме. Основной проблемой существующей системы является недостаточное внимание к обучению алгоритмам действий в экстремальных ситуациях, максимально быстрому принятию решения и безукоризненному выполнению манипуляций в непривычных условиях в сотрудничестве со специалистами различного (в том числе немедицинского) профиля. Имеется и проблема взаимо-

действия с пациентом у начинающего врача. Задача врача — получить максимально возможный практический опыт проведения манипуляций, в то время как пациент по объективным причинам требует специалиста с многолетним опытом. Кроме того, многие состояния требуют проведения сложных инвазивных манипуляций, сопряженных с возможными рисками для жизни пациента [1].

Исследования показывают, что практические навыки оказания помощи при НС, даже таком, как сердечно-легочная реанимация (СЛР), теряются значительно быстрее, чем теоретическая подготовка [2]. Немаловажно и то, что НС для конкретного врача в его практике могут встречаться довольно редко и возникает проблема в отсутствии постоянного тренинга. А самое главное, обучаться лечению конкретных НС в обычной клинической среде проблематично, возможность их отработки возникает только в случае развития угрозы жизни пациента, а ее не то что моделировать, а даже прогнозировать и ожидать неэтично (этично — не допустить развитие угрозы для жизни, т. е. — замкнутый круг и никакого обучения). Вот поэтому в дан-

ной ситуации, как ни в какой другой, и важна роль симуляционного обучения (СО).

Угрожающие жизни ситуации, по данным ВОЗ, возникают у детей, например, в 25 % случаев, поэтому можно предположить, что в каждом четвертом случае смерть ребенка является условно предотвратимой и зависит от квалификации специалиста, оказывающего первую экстренную врачебную помощь. Численность смертельных случаев у детей от врачебных ошибок также заставляет работать над способами их снижения [3].

Еще более наглядная картина представляется при возникновении НС у взрослых. Так, например, в США регистрируется более 250 тыс. случаев внезапной сердечной смерти (ВСС) в год. По данным ВОЗ, частота ВСС составляет 30 случаев в неделю на 1 млн населения, в разных странах — до 149 на 100 тыс. населения, а относительно всех подвергшихся вскрытию умерших больных составляет в возрасте 60–69 лет — 44,7 %. В 69 % всех случаев ВСС наступает дома, в 24 % — вне дома, в 7 % — на работе. Эти статистические данные свидетельствуют о том, что почти во всех случаях ВСС, при правильной организации, больному может быть

оказана СЛР. Еще более показательно то, что в мире ежегодно регистрируются около 160 эпизодов ВСС во время суточного мониторинга ЭКГ (а сколько не зарегистрировано!). Впечатляющие и следующие данные: в процессе выполнения кардиологических реабилитационных программ ВСС наступает примерно у 1 из 12–15 тыс. пациентов, а при проведении нагрузочных тестов — в 1 случае на 2 тыс. Большой интерес представляют данные холтеровского мониторинга у здоровых лиц: наджелудочковые экстрасистолы — от 14 до 91 %, желудочковые экстрасистолы — 46–89 %, миграция водителя ритма — 7–54 %, «выскальзывающие» комплексы — 4–46 %. А это все может привести к внезапной фибрилляции желудочков и ВСС [4].

В 2009 г. Всемирным альянсом безопасности пациентов при поддержке ВОЗ было опубликовано «Руководство по обеспечению безопасности пациентов» для высших учебных медицинских заведений [5], в котором отмечается, что учреждения должны создать безопасную и надежную образовательную среду для обучения клиническим навыкам. Одним из путей реализации данной цели является СО, которое имеет целый ряд преимуществ в отличие от традиционной системы подготовки врачей [6].

Опрос реанимационных заведений [7] показал, что 91 % из них используют СО для своих резидентов, от отдельных навыков и алгоритмов (техника СЛР, интубация) до командных тренировок, с повышением эффективности работы в команде и соблюдением протоколов American Heart Association при реальных НС в условиях клиники [8]. Многочисленные исследования показывают, что участники подобных тренировок считают, что их знания и навыки значительно улучшились [9], особенно в отношении сложных комплексных методик [10].

В мире накоплен довольно большой опыт работы в области СО [11]. Тем не менее, методика применения и оценки качества СО в медицине НС до сих пор неоднозначна [12]. Остаются открытыми такие вопросы, как частота проведения тренингов, методика обучения, особенно сложным инвазивным манипуляциям [13], модель симуляционного сценария [14], параметры оценки работы обучаемого [15].

Наиболее оптимальной является система медицинского образования, основанная на принципах распространенного во всем мире современного и прогрессивного проблемно-ориентированного подхода (ПОП) в образовании и его составной части — метода ситуационного обучения (МСО, или “case study”, анализ конкретных учебных ситуаций, от англ. *case* — случай, ситуация) и анализа. Этот метод предназначен для совершенствования навыков и получения опыта при выявлении, отборе и решении проблем, работе с информацией и осмыслении значения деталей, описанных в ситуации, а также при работе с предположениями и заключениями, оценке альтернатив, принятии решений, слушании и понимании других людей (навыки групповой работы).

Как метод активного проблемно-ситуационного анализа МСО основан на обучении путем решения конкретных задач — ситуаций (решение кейсов) и относится к неигровым имитационным активным методам обучения, к ПОП. Непосредственная цель метода — совместными усилиями группы обучаемых проанализировать ситуацию, возникающую при конкретном положении дел, и выработать практическое решение. По окончании — оценка предложенных алгоритмов и выбор лучшего в контексте поставленной проблемы.

Метод считается одним из самых эффективных способов

обучения навыкам решения типичных проблем. Отличительная особенность МСО — создание проблемной ситуации на основе фактов из реальной жизни. Он является достаточно эффективным средством организации медицинского обучения. В ходе разбора ситуаций обучающиеся учатся действовать в «команде», анализировать и принимать управленческие решения. Этот метод предназначен для получения знаний по дисциплинам, когда нет однозначного ответа на поставленный вопрос.

Акцент обучения переносится не на овладение готовым знанием, а на его выработку, на сотворчество обучаемого и преподавателя (отсюда принципиальное отличие МСО от традиционных методик — демократия в процессе получения знания, когда обучаемый по сути дела равноправен с другими обучаемыми и преподавателем в процессе обсуждения проблемы). Результат применения метода не только знания, но и навыки профессиональной деятельности.

Технология МСО: по определенным правилам разрабатывается модель конкретной ситуации, произошедшей в реальной жизни, и отражается тот комплекс знаний и практических навыков, которые обучаемым нужно получить. При этом преподаватель выступает в роли ведущего, генерирующего вопросы, фиксирующего ответы, поддерживающего дискуссию. Достоинством МСО является и развитие системы ценностей, профессиональных позиций, жизненных установок, своеобразного профессионального мироощущения и миропреобразования. В МСО преодолевается классический дефект традиционного обучения, связанный со слабой эмоциональностью изложения материала (эмоций, творческой конкуренции и даже борьбы в этом методе так много, что хорошо организованное обсуждение кей-

са напоминает театральный спектакль) [16].

Материалы и методы исследования

В 2014 г. на базе Одесского национального медицинского университета был создан первый на территории Украины Учебно-инновационный центр практической подготовки врача (в дальнейшем — Центр), который является структурным подразделением университета [17]. Одно из основных направлений его деятельности — разработка новых инновационных подходов к медицинскому образованию Украины, отработка теоретических и практических навыков лечения (в том числе и при НС) и приобретение опыта эффективной командной работы при этом [18]. Причем это актуально не только для врачей всех специальностей, но и для среднего медперсонала, сотрудников МЧС, бойцов армейских подразделений. Организация подготовки осуществляется путем создания условий для самостоятельного выполнения обучаемым диагностических и лечебных манипуляций на тренажерах под руководством врачебного и педагогического коллективов преподавателей, психологов. Она основана на принципах ПОП в медицинском образовании и МСО [19].

Используются муляжи, фантомы, манекены и роботы-симуляторы высокого уровня реалистичности последнего поколения, производимые фирмами Gaumard (Hal S3201, Noelle S575, 100, Pediatric Hal S3005, Premie Hal S3009, Premie Blue S108, the S100 Susie and Simon Newborn, S110 Mike and Michelle One Year Pediatric Patient Care Simulator, Super Chloe Patient Care Simulator) и Simulab (S402 Arterial and Venous Patient Training Arm, FemoraLineMan, TraumaMan, Vascular-AccessChild, Paracentesis Ultrasound Model, LumbarPuncture-Baby, CentralLineMan, Ultra-

sound Thoracentesis Model, SonoMom System, SonoMan System).

Результаты исследования и их обсуждение

В результате творческой научно-исследовательской работы Центра были получены собственные методики как со стороны педагогических, так и практических аспектов подготовки обучаемых к лечению НС.

Особенности ПОП и МСО в условиях Центра таковы. В оценке профессиональной пригодности обучаемых медицинских работников используется опросник поведения и переживания, связанного с работой (шкала “AVEM”), на основании анализа его показателей и их взаимосвязей выделяются четыре типа поведения и переживания в профессиональной среде [20]. Обучение реализуется в виде тренингов для небольших групп обучаемых (не более 6 человек).

Информация подается не сразу, а по частям (кейсами), по мере постепенного обсуждения имеющихся фактов и собранных данных (личный опыт, презентации преподавателя группы, доклады и рефераты самих обучаемых, данные из сети Интернет, из руководств, основанных на доказательной медицине, и т. п.). Основной упор делается на то, что проблемы темы занятия решаются по мере последовательного разрешения конкретных клинических ситуаций (кейсов) и достижения определенных целей соответственно утвержденным клиническим протоколам.

Примерный список ситуаций (кейсов) для сценариев: ВСС; политравма; гиповолемический, кардиогенный или анафилактический шок; тромбоэмболия легочной артерии; острый инфаркт миокарда; острая сердечно-сосудистая недостаточность; отек легких; приступ бронхиальной астмы; отек легких, острый ишемический или геморрагический инсульт; гипоглике-

мическая или кетоацидотическая кома; нарушения ритма сердца; острая кровопотеря; отравление сильнодействующим препаратом; напряженный пневмоторакс; отек Квинке; острая черепно-мозговая или спинальная травма; эпилептический статус; миастенический криз. Обучение сконцентрировано на поиске информации, необходимой для решения конкретных практических ситуаций (кейсов) и сценариев и на отработке практических навыков для этого.

Для отработки практических навыков используются манекены и фантомы низкого и среднего уровня реалистичности, для которых можно использовать УЗ-контроль (отработка техники наложения и удаления швов, навыков по десмургии и др., внутримышечных, внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутрикостных инъекций, проведение пункции и катетеризации артерий, периферических и центральных вен, катетеризации мочевого пузыря, торакоцентеза, лапароцентеза, перикардиоцентеза, введения назогастрального зонда, люмбальной пункции). На них также возможна отработка навыков индивидуальной и командной СЛР, приема Селлика, освобождение дыхательных путей при аспирации и обтурации, проведение искусственной вентиляции легких (ИВЛ) «рот в рот» и «рот в нос», мешком Амбу, постановки ларингеальной маски, оро- и назотрахеальной интубации, выполнение конико-, крико- и трахеотомии, трахеостомии).

Клинические ситуации многократно прорабатываются, в том числе и с помощью сценариев для роботов-симуляторов высокого уровня реалистичности с обратной связью и с гибкой системой программирования. Они дают совершенное воспроизведение физиологии и патофизиологии с возможностью аускультации сердечных тонов, дыхательных шумов как

в норме, так и при патологических состояниях, определения проведения пульса на магистральных и периферических сосудах, зрачковых рефлексов, меняющегося цвета кожных покровов, возможность проведения диагностических и лечебных манипуляций, мониторинга на обычных следящих системах артериального давления, частоты сердечных сокращений, насыщения крови кислородом и углекислым газом, центральной и периферической температуры, СЛР с использованием обычных медицинских приспособлений и аппаратуры (аппарат ИВЛ, мешок Амбу, дефибриллятор, ларингоскоп, ларингеальная маска, желудочный зонд, кардиомонитор, пульсоксиметр и т. п.).

Важен запрограммированный физиологический ответ робота на все действия обучаемого, на введение фармакологических препаратов, в частности, на дозу и путь введения, вывод необходимых параметров «жизнедеятельности» робота на монитор в динамике. Преимуществом являются беспроводная связь «робот — монитор — локальная компьютерная сеть — сеть Интернет», полная автономность, возможность транспортировки робота и воспроизведения ситуаций любой сложности (инсценировка НС в зоне военных действий, в транспорте скорой медицинской помощи, на борту самолета, дома, в операционной и т. д., так называемая симуляция *in situ*), возможность программирования любой клинической ситуации, редкой патологии и НС, сложных для показа в клинической практике. Используется постоянная видеозапись проводимого тренинга в режиме «on line» в каждой группе, которую могут наблюдать на мониторах все обучаемые. Роль преподавателя в группе обычно заключается в мониторинге и обеспечении дискуссии в нужном направлении, в проведении обязательного обсуждения (дебри-

финга), в совместном с обучаемыми анализе записанного в реальном времени видеоматериала.

Особенностью Центра является и то, что все преподаватели и инструкторы — это опытные практические врачи-клиницисты. В итоге каждому обучаемому по конкретной теме выставляется интегрированная оценка, включающая оценивание умения найти информацию по проблеме, вместе командно принять общее решение, отработать практические навыки по ее реализации, комплексно выполнить все требования клинического протокола или алгоритма лечения конкретной клинической ситуации. Используются и тренажеры для отработки навыков держания хирургического инструментария, привыкания и ориентирования в пространстве с последующим переходом к выполнению этапов реальных манипуляций с полной имитацией сопротивления тканей (гаптики), самостоятельным выбором инструментария, тактики выполнения операции с оценкой правильности действий, соответствий алгоритмам.

Мультидисциплинарные тренинги позволяют отработать алгоритмы действий при том или ином НС, с поэтапным развитием событий, например, начиная с ситуации осмотра и лечения пациента на дому, продолжая оказывать помощь в автомобиле скорой помощи, в приемном отделении, в операционной, в палате интенсивной терапии. Важно, что можно имитировать даже нестандартную, не часто возникающую ситуацию. Можно делать акцент не на объеме и качестве оказанной помощи, а, например, на этических, законодательных или эпидемиологических вопросах.

Командные тренинги дают возможность одновременного вовлечения в процесс врачей разных специальностей и среднего персонала, парамедиков, помогают отработать алгоритм

действий в конкретной клинической ситуации; оптимизировать командную работу, усовершенствовать сотрудничество врачей и среднего медицинского персонала; научиться четко распределять обязанности в команде. Особенностью обучения в Центре является то, что обычно командные тренинги формируются из реально существующих команд, из тех что вместе дежурят (конкретная смена по графику), действуют в практической обстановке оказания помощи при НС. Они не только тренируются вместе в Центре, но и будут применять командные навыки в своей дальнейшей деятельности. Это не кратковременные объединения только для СО, а подготовленная и уверенная в своей сплоченности и профессионализме команда на длительный срок.

Во время дебрифинга, который завершает и дополняет выполнения сценария, инструктор вместе с психологом проводят детальный анализ действий медицинского персонала и разрабатывает единый алгоритм в определенной ситуации. Проводится оценка практических умений при коррекции НС у обучаемых до и после СО. Оцениваются правильность выбора и алгоритм лечения, мануальные навыки, знания инструментария и умения его использования. Для оценки используется балльно-рейтинговая система [21], основанная на «Критериях оценки ответа студента по 100-балльной системе» (табл. 1).

Система психологического консалтинга и менеджмента. В Центре проводятся психологические тренинги, направленные на развитие у медицинских работников навыков саморегуляции, устойчивости к стрессу, мотивации на саморазвитие, коммуникативной компетенции и креативного мышления (например, подготовка к деятельности в экстремальных условиях). Так, в результате участия в тренингах происходит эмоционально-энергетический эффект,

Критерии оценки по балльно-рейтинговой системе

Оценка по 5-балльной системе	Оценка по 100-балльной системе	Оценка по ECTS
5 — Превосходно	96–100	A
5 — Отлично	91–95	B
4 — Хорошо	81–90	C
4 — Хорошо с недочетами	76–80	D
3 — Удовлетворительно	61–75	E
2 — Неудовлетворительно	41–60	Fx
2 — Неудовлетворительно (повторное изучение)	0–40	F

повышение социально-коммуникативной компетентности участников, трансферт — перенос тренинговых конструкций в практическую жизнь. Тренинги также имеют пролонгированный, долгосрочный эффект повышения профессиональной и личной компетентности, активизируют интеллектуальные, мотивационные и волевые потенциалы человека, позволяют осуществить рефлексию прошлого и моделировать будущее.

В конце цикла тренингов проводится анкетирование обучаемых.

Специалистами Центра были разработаны программы СО курсантов на всех предаттестационных циклах ОНМедУ. Особое место занимает подготовка врачей для оказания квалифицированной медицинской помощи в зоне боевых действий (с этой целью разработан специальный курс, позволяющий оперативно переподготовить врачей как в Центре, так и с помощью выездной бригады в полевые госпитали зоны боевых действий. Разработаны специальные рабочие программы по неотложной, доврачебной, врачебной и квалифицированной помощи в условиях боевых действий для врачей и среднего медицинского персонала. Также разработан курс по НС для лиц, не имеющих специального медицинского образования (сотрудники служб гражданской защиты, члены спасательных команд, военнослужащие, охранники, пожарные, моряки, работники милиции, водители и др.).

Для дополнительного углубленного исследования нами были взяты 109 врачей различных специальностей из прошедших обучение в Центре за последний год (анестезиологи, акушеры-гинекологи, врачи скорой помощи, семейные врачи, хирурги). У них проведена отработка практических навыков при основных НС, они прошли минимум три тренинга. Стаж ра-

боты врачей колебался от 1 до 12 лет. Были изучены результаты обучения на примере первых трех тренингов. Среди практических навыков было следующее: катетеризация периферических вен, внутренней яремной, подключичной и бедренной вен, пункция плевральной полости, постановка ларингеальной маски, оротрахеальная интубация, коникотомия, базовые методы СЛР (время до регистрации эффективности проводимой СЛР и общее оценивание ее индивидуального и командного выполнения). Изучалась длительность проведения этих манипуляций в динамике (табл. 2) во время самого тренинга или по видеозаписи.

Отмечено, что обучаемым во время третьего тренинга потребовалось в 1,5–2,2 раза меньше

времени на манипуляции. Для наглядности это представлено на диаграмме (см. рис. 1).

При этом отмечено, что оценки улучшились на протяжении обучения примерно в 1,5 раза. Оценивание командной СЛР во время первого тренинга и третьего также показало улучшение оценки в 1,59 раза.

Выводы

1. Отмечено достоверное улучшение качества проведения основных манипуляций при лечении неотложных состояний в результате проведения симуляционных тренингов.

2. Уже во время третьего тренинга зарегистрировано сокращение длительности выполнения практических навыков в 1,5–2,2 раза и примерно в 1,5 раза повышение общего оцени-

Таблица 2

Динамика длительности выполнения практических навыков при лечении неотложных состояний, n=109, M±m

Вид практического навыка	Длительность манипуляции, с	
	при первом тренинге	при третьем тренинге
Катетеризация периферических вен	18,19±0,20	12,59±0,17*
внутренней яремной вены	678±13	527±7*
подключичной вены	710±11	410±11*
бедренной вены	622±8	327±6*
Пункция плевральной полости	475±11	309±7*
Постановка ларингеальной маски	296±7	124±2*
Оротрахеальная интубация	322±6	126±1*
Коникотомия	647±6	347±6*
Эффективная СЛР	364,11±1,66	124,11±1,66*

Примечание. * — различия статистически достоверны по сравнению с показателями длительности манипуляции во время первого тренинга.



Рис. 1. Длительность выполнения практических навыков при лечении неотложных состояний на протяжении первых трех тренингов, с

вания и оценки качества командной работы.

3. Применение новых методик симуляционного обучения в системе медицинского образования, основанных на большом клиническом и педагогическом опыте преподавателей, проблемно-ориентированном подходе, методе ситуационного обучения, комплексном использовании психологических шкал и анкетирования дало возможность значительно повысить эффективность освоения практических навыков при лечении неотложных состояний врачами различных специальностей.

4. Симуляционный тренинг является эффективным инновационным методом современного медицинского обучения и рекомендуется к обязательному использованию в медицинском образовании Украины.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Simulator training in pediatric emergency medicine* / B. Blokhin, H. Loayza, I. Makrushin [et al.] // Second International Pediatric Simulation Symposium and Workshops, Florence, 22–23 Apr. 2009 : Book of abstracts. – Florence, 2009. – 557 p.
2. *Jeremy J. S. Learning and Simulation. References* / Hall J. S. B. Jere-

my. – L. : Hall Marketing, 2011. – 99 p.

3. *Medical simulation in the assessment of cardiopulmonary resuscitation* / B. Blokhin, I. Gavryutina, H. Loayza [et al.] // 14th Congress of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology (ISHNE), Moscow, 26–28 April 2011 : Book of abstracts. – M., 2011. – 445 p.

4. *Внезапная сердечная смерть. Причины внезапной сердечной смерти* [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://meduniver.com/Medical/Neotlogka/520.html>.

5. *Human Factors in Patient Safety. Review of Topics and Tools* // World Health Organization (WHO). – 2009. – 55 p.

6. *Роль симуляции в повышении качества оказания неотложной помощи* / Б. М. Блохин, И. В. Гаврютина, У. К. Лоайса [и др.] // Человек и лекарство : XVII Рос. нац. конгресс : сб. матер. и тез., Москва, 12–16 апр. 2010 г. – М., 2010. – 531 с.

7. *National growth in simulation training within emergency medicine residency programs, 2003–2008* / Y. Okuda, W. F. Bond, G. Bonfante [et al.] // Acad Emerg Med. – 2008. – Vol. 15. – P. 1113–1116.

8. *Improving medical emergency team (MET) performance using a novel curriculum and a computerized human patient simulator* / M. A. DeVita, J. Schaefer, J. Lutz [et al.] // Qual Saf Health Care. – 2005. – Vol. 14. – P. 326–331.

9. *Fritz P. Z. Review of mannequin-based high-fidelity simulation in emergency medicine* / P. Z. Fritz, T. Gray, B. Flanagan // Emerg Med Australas. – 2008. – Vol. 20. – P. 1–9.

10. *Simulator training improves fiberoptic intubation proficiency among emergency medicine residents* / E. Binstadt, S. Donner, J. Nelson [et al.] // Academic Emergency Medicine. – 2008. – Vol. 15, N 11. – P. 1211–1214.

11. *To err is human: building a safer health system* / ed. by L. Kohn [et al.]. – Washington DC : National Academy Press, 1999. – 322 p.

12. *Abrahamson S. Effectiveness of a simulator in training anesthesiology residents* / S. Abrahamson, J. S. Denson, R. M. Wolf // Qual Saf Health Care. – 2004. – Vol. 13, N 5. – P. 395–397.

13. *Creating and evaluating a data-driven curriculum for central venous catheter placement* / J. R. Duncan, K. Henderson, M. Street [et al.] // J Grad Med Educ. – 2010. – Vol. 2, N 3. – P. 389–397.

14. *Lateef F. Simulation-based learning: just like the real thing* / F. Lateef // Journal of Emergencies, Trauma and Shock. – 2010. – Vol. 3, N 4. – P. 348–352.

15. *The validity of performance assessments using simulation* / J. H. Devitt, M. M. Kurrek, M. M. Cohen, D. Cleave-Hogg // Anesthesiology. – 2001. – Vol. 95, N 1. – P. 36–42.

16. *Долгоруков А. Метод case-study как современная технология профессионально-ориентированного обучения* [Электронный ресурс] / А. Долгоруков. – Режим доступа : <http://ruscode.ru/2012/05/case-study/>.

17. *Створення симуляційного центру: засади та керівні настанови* / А. Коррея, А. Рейнольдс, В. В. Артьоменко [та ін.]. – К. : Вістка, 2015. – 55 с.

18. *Ефективність симуляційних методів навчання* / В. В. Артьоменко, Д. А. Новіков, О. С. Єгоренко, С. С. Семченко // Управління закладом охорони здоров'я. – 2015. – № 6. – С. 70–76.

19. *Проблемно-ориентированное обучение врачей анестезиологов на кафедре симуляционной медицины* / В. В. Артеменко, В. М. Носенко, Л. И. Берлинская, Д. Ф. Караконстантинов // Впровадження інноваційних технологій в медицину освіту: проблемно-орієнтоване навчання та віртуальні пацієнти : всеукр. наук.-метод. конф. з міжнар. участю, Запоріжжя, 22 квіт. 2015 р. : матеріали. – Запоріжжя, 2015. – С. 14–16.

20. *Schaarschmidt U. AVEM – Arbeitsbezogenes Verhaltensund Erlebnismuster: Handanweisung* / U. Schaarschmidt, A. W. Fischer. – Frankfurt : Swet&Zeitlinger, 1996. – 260 p.

21. *Речицький О. Н. Проблема оцінювання знань і вмінь студентів за 100-бальною шкалою* / О. Н. Речицький, С. Ф. Решнова // Наукові записки НДУ ім. М. Гоголя. – Серія : Психолого-педагогічні науки. – 2012. – № 1. – С. 102–107.

Поступила 1.10.2015
Рецензент д-р мед. наук,
проф. Л. С. Годлевский

В Одессе создан первый в Украине Учебно-инновационный центр практической подготовки врача. Проводилась оценка практических навыков при коррекции неотложных состояний до и после тренинга. Использовались новые методики обучения, психологические шкалы и анкетирование. Уже во время третьего тренинга отмечено сокращение длительности выполнения навыков примерно в 2 раза и в 1,5 раза повышение общего оценивания и оценки качества командной работы.

Ключевые слова: симуляционная медицина, неотложные состояния, проблемно-ориентированный подход, метод ситуационного обучения.

The first Educational-Innovative Centre for the Physician Practical Training in Ukraine has been created in Odessa. In assessing the practical skills that were acquired during the training to assist emergency conditions, it was marked reduction in the duration of skills approximately 2-fold and 1.5 times increase in the overall evaluation and quality assessment and teamwork.

Key words: simulation medicine, emergency conditions, a problem-oriented approach, the method of situational learning.

УДК 658.231.004.14.661.8

О. І. Брич, канд. мед. наук,
Е. О. Синетар,
В. Г. Каплуненко, д-р техн. наук

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ НАНОАКВАХЕЛАТІВ МЕТАЛІВ

*ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л. В. Громашевського НАМН України», Київ*

Незважаючи на значні зусилля людини в галузі профілактики та лікування госпітальних інфекцій, які, як відомо, викликаються умовно-патогенними мікроорганізмами, нині проблема залишається нерозв'язаною. Причинами виникнення госпітальних інфекцій стають порушення санітарно-епідеміологічного режиму в лікувальних закладах, поява нових, агресивних і множинистійких до антибіотиків штамів, боротися з якими стає дедалі важче.

Проблема поглиблюється через зношеність стерилізаційного устаткування, недостатню кількість і незначний асортимент дезінфекційних засобів. Так, частими етіологічними чинниками госпітальних інфекцій є метицилінрезистентні золотисті стафілококи (MRSA), ванкомицинрезистентні ентерококи, мультирезистентні ентеробактерії та неферментуючі грамнегативні бактерії [1; 2].

Ефективність протиепідемічних заходів, спрямованих на обмеження розповсюдження ін-

фекційних захворювань, значною мірою залежить від наявності достатнього арсеналу засобів бар'єрного захисту. Сьогодні звичайний медичний одяг не може ефективно захистити медперсонал від інфікування бактеріальними та вірусними збудниками. У багатьох країнах світу з метою профілактики госпітальних інфекцій застосовують медичні виробы з нетканого матеріалів (НМ) одноразового використання. Неткані матеріали — це текстильні виробы з натуральних (вовна, бавовна, льон) та штучних (поліефірних, поліамідних, віскозних) волокон, з'єднаних між собою методом склеювання, термічним, голкопробивним або струминним способом. Асортимент виробів з нетканого матеріалів широкий: одяг для лікарів, пацієнтів і відвідувачів, комплекти операційних покриттів, засоби догляду за хворими, засоби жіночої та дитячої гігієни.

Завдяки технічним та санітарно-гігієнічним характеристикам, їх використання для про-

філактики внутрішньолікарняних інфекцій є практично безальтернативним [3]. Дослідження, проведені нами у попередні роки, показали позитивні захисні властивості та низькі показники бактеріопроникності зразків нетканого матеріалів видів СММС, СМС, спанлейс стосовно ентерококів і кишкових паличок. Також встановлено, що деякі види НМ виявилися проникними для *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* [4]. Тому з метою визначення факторів, які впливають на рівень бар'єрних властивостей НМ, призначених для виготовлення медичних виробів одноразового використання, ми вважали доцільним продовжити мікробіологічні дослідження із використанням у роботі розчинів наноаквахелатів металів.

Мета роботи: дослідження бактеріопроникності оброблених наноаквахелатами металів зразків нетканого матеріалів, призначених для виготовлення медичних виробів одноразового використання.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили в наближених до реальних умовах практичного використання одноразового медичного одягу, виготовленого на основі НМ. В експериментальній роботі використовували зразки НМ, кожний площею 36 см², виду СМС щільністю 35 г/м² (виробництво ТОВ «Технокомплекс», Київ), попередньо просочені та висушені у стерильних умовах нативними і розведеними десяти- і стократно розчинами наноаквахелатів металів германію (Ge) у концентрації 1,8 г/л, селену (Se) — 0,2 г/л, срібла (Ag) — 1 г/л, міді (Cu) — 2 г/л та комбінацією останніх двох наноаквахелатів.

Водні розчини карбоксильованих наночастинок металів промислово виробляються в Україні (ТУ У 24.1-35291116-004:2009), їх люб'язно надано компанією «Наноматеріали і нанотехнології (Київ)» [5; 6].

У роботі використовували еталонні тест-штами *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, та клінічний ізолят *S. aureus* 240. Останній характеризувався множинною резистентністю до антибіотиків: бензилпеніциліну, оксациліну, гентаміцину, тобраміцину, левофлоксацину, моксифлоксацину, тетрацикліну, рифампіцину. Культури стафілококів вирощували на середовищі Мюллера — Хінтона, готували завись у стерильному фізіологічному розчині (2 см²) у концентрації 10⁶ КУО/мл з використанням приладу денситометра DENSIMAT (виробництво bioMerieux, Франція). На зовнішню поверхню зразків виду СМС, внесених у стерильні чашки Петрі, наносили завись тест-штаму приготовленої концентрації в кількості 0,3 см³, витримували при температурі 24 °С протягом 1 год. Після чого здійснювали посів досліджуваних зразків шляхом відбитку їх нижньої поверхні на поживне середовище Мюллера — Хінтона. Результати та ступінь бактеріопроникності оцінювали на другу добу інкубації при

37 °С у разі наявного росту індикаторних мікроорганізмів шляхом їх кількісного обліку за методикою [7].

З метою встановлення впливу вищевказаних наноаквахелатів металів на біологічні властивості множинно-резистентного штаму *S. aureus* 240, його вихідні біохімічні властивості, чутливість до антибіотиків і характеристики штаму після проходження бар'єру НМ, оброблених розчинами наноаквахелатів, досліджували за допомогою автоматичного баканалізатора Vitek 2™-Compact 15 (bioMerieux, Франція) з використанням GP-карт для ідентифікації та карт для визначення чутливості до антибіотиків AST-P580.

Результати дослідження та їх обговорення

Установлено, що зразки НМ виду СМС, просочені нативними розчинами наноаквахелатів

германію, селену, срібла, міді та комбінації срібла і міді, характеризуються високими бар'єрними та бактеріцидними властивостями, оскільки при нанесенні на зовнішню поверхню зразків зависи зазначених вище мікроорганізмів у концентрації 10⁶, останні практично не переходять на внутрішню поверхню та контактну з нею поверхню живильного середовища.

Виявлено, що у разі нанесення зависи мікроорганізмів на поверхню зразків, просочених розчинами наноаквахелатів германію, селену, срібла, міді та комбінації срібла і міді в концентрації 10⁻¹, НМ знижували кількість прохідних бактерій на 2–4 порядки порівняно з контролем — НМ, не обробленими наноаквахелатами (p<0,001). Результати бактеріопроникності відображені у табл. 1.

Найбільш ефективними, з точки зору бар'єрних, бактеріцидних властивостей виявилися

Таблиця 1

Результати бактеріопроникності зразків нетканних матеріалів, оброблених наноаквахелатами металів, n=3

Вид наноаквахелатів металів	Концентрація нанесеного наноаквахелату	Кількість прохідних (M±m) КУО <i>S. aureus</i> при нанесенні мікробної зависи 10 ⁶ на поверхню зразка СМС		
		ATCC 25923	ATCC 6538	<i>S. aureus</i> 240
Срібло (Ag)	Нативний розчин	11,0±1,9*	10,0±1,8*	18,0±2,4*
	10 ⁻¹	30,0±3,2*	32,0±3,3*	40,0±3,7*
	10 ⁻²	120,0±6,3	100,0±5,8	110,0±6,1
Мідь (Cu)	Нативний розчин	6,0±1,4*	9,0±1,7*	11,0±1,9*
	10 ⁻¹	20,0±2,6*	25,0±2,9*	28,0±3,1*
	10 ⁻²	62,0±4,5*	70,0±4,8*	88,0±5,4*
Срібло (Ag) + Мідь (Cu)	Нативний розчин	Ріст відсутній		
	10 ⁻¹ 10 ⁻²	3,0±1,0* 11,0±1,9*	2,0±0,8* 7,0±1,5*	6,0±1,4* 28,0±3,1*
Селен (Se)	Нативний розчин	6,0±1,4*	10,0±1,8*	9,0±1,7*
	10 ⁻¹	50,0±4,1*	80,0±5,2*	88,0±5,4*
	10 ⁻²	110,0±6,1	120,0±6,3	130,0±6,6
Германій (Ge)	Нативний розчин	Ріст відсутній		
	10 ⁻¹ 10 ⁻²	32,0±3,3* 110,0±6,1	41,0±3,7* 94,0±5,6*	28,0±3,1* 80,0±5,2*
Контрольний зразок СМС, без обробки наноаквахелатами		140,0±6,8	150,0±7,1	170,0±7,5
Контрольний висів зависи <i>S. aureus</i> на середовище Мюллера — Хінтона			6 · 10 ⁴	

Примітка. КУО — колонієутворювальна одиниця на середовищі Мюллера — Хінтона; * — p<0,001 — вірогідна різниця між показниками кількості КУО, що проходять НМ, оброблені наноаквахелатами металів, порівняно з контролем.

НМ, оброблені нативними розчинами наноаквахелатів срібла, міді та їх комбінацією. Так, взагалі був відсутній на поверхні повного середовища ріст мікроорганізмів, нанесених на зразки НМ, які попередньо були оброблені нативними розчинами наноаквахелату германію та комбінацією наноаквахелатів срібла і міді.

Установлено, що контакт культури *S. aureus* 240 з поверхнею всіх зразків НМ, оброблених наноаквахелатами металів, призводить до зміни деяких біохімічних властивостей культури, але не впливає на антибіотикорезистентність використаного в досліді штаму.

По-різному і найменше впливали на вихідні біохімічні властивості штаму *S. aureus* 240 наноаквахелати міді (Cu), селену (Se) та германію (Ge): кожний вид наноаквахелату приводив до зміни однієї біохімічної характеристики (позитивні або негативні тести порівняно з контролем). Так, контакт штаму *S. aureus* 240 з наноаквахелатом міді приводив до негативного тесту на N-ацетил-D-глюкозамін порівняно з позитивним контролем; позитивний тест на D-рибозу порівняно з негативним контролем спостерігався при контакті штаму з наноаквахелатом селену, позитивний тест на аргініндигідралазу на відміну від негативного контролю виявився при контакті *S. aureus* 240 з наноаквахелатом германію. Зміна чотирьох біохімічних ознак порівняно з контролем спостерігалася при культивуванні на середовищі Мюллера — Хінтона

штаму *S. aureus* 240, що контактував з поверхнею зразка НМ, обробленого нативним розчином наноаквахелату срібла (Ag).

Таким чином, текстильні матеріали, оброблені наноаквахелатами металів, характеризуються високими біоцидними властивостями і мають переваги, оскільки можуть бути використані як профілактичні антимікробні засоби захисту у місцях, де зростає небезпека поширення інфекцій: у дитячих, медичних закладах, на підприємствах громадського харчування, у зоні воєнних конфліктів і техногенних катастроф.

Висновки

1. Текстильні неткані матеріали, оброблені наноаквахелатами металів, характеризуються високими біоцидними властивостями і мають переваги, оскільки можуть бути використані як профілактичні антимікробні засоби захисту у місцях, де є загроза поширення інфекцій.

2. Установлено, що контакт резистентної до антибіотиків культури *S. aureus* 240 з поверхнею всіх зразків нетканних матеріалів, оброблених наноаквахелатами металів, приводить до зміни деяких біохімічних властивостей культури, але не впливає на антибіотикорезистентність штаму.

Перспективним у подальшому є вивчення можливостей використання нанопрепаратів для обробки не тільки нетканних матеріалів, а й полімерних виробів медичного призначення (наприклад катетерів) з метою

впливу на біологічні властивості мікроорганізмів — як збудників інфекційних захворювань людини, так і представників нормальної мікрофлори.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Характеристика* микрофлоры, выделенной при острых воспалительных заболеваниях легких и плевры / О. М. Абрамзон, Н. Н. Елагина, О. Л. Карташова, [и др.] // Журнал микробиологии. – 2003. – № 4. – С. 44–47.
2. *Поспелова С. В.* К вопросу об устойчивости к метициллину внебольничных штаммов стафилококков / С. В. Поспелова, Э. С. Горюхи, А. В. Перова // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 100–101.
3. *Афанасенко С. С.* Медико-економічне обґрунтування використання одноразових виробів медичного призначення / С. С. Афанасенко // Управління закладом охорони здоров'я. – 2007. – № 2. – С. 51–55.
4. *Бар'єрні властивості нетканних матеріалів* / О. І. Поліщук, О. І. Брич, О. Г. Гарницька, О. Г. Скуратова // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – К., 2011. – Вип. 20, кн. 2. – С. 146–150.
5. *Пат. на корисну модель № 29280* Україна, МПК (2006) : C07F 19/00, C12N 1/20. Аквахелат нанометалу / М. В. Косінов, В. Г. Каплуненко. – опубл. 10.01.2008, Бюл. № 1/2008.
6. *Пат. на корисну модель № 49049* Україна, МПК (2009) : C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/00, B82B 3/00. Надчистий нанокарбоксилат / М. В. Косінов, В. Г. Каплуненко. – опубл. 12.04.2010, Бюл. № 7.
7. *Пат. на корисну модель № 72218* Україна, МПК (2006) : G01N 15/08, C12Q 1/2, G01N 33/36. Спосіб визначення бактеріопроникності нетканних матеріалів / О. І. Поліщук, О. І. Брич, М. М. Колесніков, Е. О. Синетар, Т. О. Приходько. – опубл. 10.08.2012, Бюл. № 15.

Надійшла 8.10.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Л. С. Годлевський

УДК 658.231.004.14.661.8

О. І. Брич, Е. О. Синетар, В. Г. Каплуненко

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ НАНОАКВАХЕЛАТІВ МЕТАЛІВ

Установлено, що текстильні неткані матеріали, оброблені наноаквахелатами металів, характеризуються високими біоцидними властивостями і мають переваги, оскільки можуть бути використані як профілактичні антимікробні засоби захисту у місцях, де є загроза поширення інфекцій.

Ключові слова: наноаквахелати металів, неткані матеріали.

UDC 658.231.004.14.661.8

O. I. Brych, E. O. Synetar, V. G. Kaplunenko

METALS NANOQUAHELATES PROSPECTS USAGE

It is proved that the textile non-woven materials, processed by nanoaquahelates of metals are characterized by high bio-cidal properties and have the advantage, because they can be used as a prophylactic antimicrobial protection means in places where there is a threat of the spread of infections.

Key words: nanoaquahelates of metals, non-woven materials.

УДК 613.2-055.25:504.05(477.7)

В. Л. Михайленко

ЯКІСТЬ ПИТНОЇ ВОДИ — ФАКТОР, ЩО ДЕТЕРМІНУЄ СТАН ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ (НА ПРИКЛАДІ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ)

Одеський національний медичний університет

Вступ

Вода — найцінніший природний ресурс. Запаси води у Світовому океані сягають $1,4 \times 10^{18}$ т. Прісна вода на нашій планеті становить тільки 2,5 % світових запасів, уся інша маса — солоні води морів і океанів. Основним запасом прісної води є льодовики Арктики й Антарктики, у них законсервовано 75 % прісної води, ще 24 % містяться під землею у вигляді ґрунтових вод, а ще 0,5 % — у ґрунті як волога. Запас доступних прісних вод зосереджений у річках, озерах, під землею до глибини 1 км, таким чином на найбільш доступні та дешеві джерела води припадає трохи більше ніж 0,01 % світових запасів води. У природі не зменшуються запаси води, тому що існує кругообіг води в природі.

Однак водні ресурси вже не мають високої якості. Загальна кількість хімічних речовин, що забруднюють природні води і несприятливо впливають на здоров'я людини, сьогодні перевищує 50 000. Як відомо, кількість води на Землі незмінна, змінюється тільки її зосередження. Так, у воді, що випала на сушу у вигляді дощу, є два шляхи: у першому варіанті вона, збираючись у струмки та ріки, потрапляє в озера і водосховища, так звані поверхневі джерела водозабору, у другому — вода, просочуючись крізь ґрунт і підґрунтові шари, поповнює запаси ґрунтових вод. Власне, по-

верхневі та ґрунтові води і становлять два головних джерела водопостачання.

Якість поверхневої води з відкритого джерела залежить від кількості та частоти опадів і від екологічної ситуації в регіоні. Оподи несуть із собою певну кількість нерозчинених частинок (пил, бактерії, грибкові спори та більші мікроорганізми). З океану в дощові води при випаровуванні потрапляють іони натрію, магнію, кальцію та калію, а також хлорид- і сульфат-іони. Промислові викиди в атмосферу додають органічні розчинники та оксиди азоту та сірки. Потрапляють у воду і хімікати, що застосовуються в сільському господарстві, у тому числі і поверхнево-активні речовини.

Більша частина дощової та талої води потрапляє у ґрунт, де розчиняє органічні речовини, що містяться в ґрунтовому шарі. У найістотнішій кількості в ґрунтових водах містяться кальцій, магній, залізо, у меншому ступені — марганець (катиони). Разом із розповсюдженими у воді карбонатами, гідрокарбонатами, сульфатами та хлоридами вони утворюють солі, концентрація яких залежить від глибини шару. До цього типу належить більшість відомих мінеральних вод.

Одеська область має один з найбільш потужних в Україні агропромислових комплексів. У 26 сільських районах проживає близько 2,3 млн осіб. Характер промислового виробництва

Одеської області визначається інтенсивним розвитком сільського господарства. Значна частина сільськогосподарських угідь зайнята під садівництво та виноградарство. Наявна спеціалізація окремих районів з виробництва тих чи інших культур, що зумовлює різне за інтенсивністю та якісним складом пестицидне й агрохімічне навантаження.

Незважаючи на величезну актуальність збереження соціально-трудового потенціалу населення сільських регіонів країни, дослідження стану здоров'я населення проводяться в недостатньому обсязі, що зумовлено низьким рівнем матеріально-технічного забезпечення лікувально-профілактичних закладів та кадровим дефіцитом. Вивчення основних детермінант формування здоров'я населення в сучасних умовах інтенсивної сільськогосподарської діяльності становить великий науковий, практичний та соціальний інтерес.

Метою роботи було вивчення впливу якості питної води на здоров'я населення.

Матеріал та методи дослідження

Дослідження проведене протягом 2010–2014 рр. на базі кафедри загальної гігієни ОНМедУ. Відібрано 4250 проб питної води, сольовий склад питних вод оцінено за допомогою методів об'ємного та колориметричного аналізу. Відбір, консервацію, зберігання та транспортування проб питної води

проводили відповідно до вимог ГОСТ 4979-49 і ГОСТ 24481-80. Вміст ксенобіотиків визначали за загальноприйнятими методиками (ГОСТ 17.4.4.02-84, ГОСТ 17.4.3.01-83, СанПіН 42-128-4433-87).

Статистичну обробку проводили методами дисперсійного та кореляційного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

Основними джерелами питного водопостачання в Одеській області є річки Дністер, Південний Буг і Дунай та їх притоки, підземні джерела (міжпласстові та ґрунтові води).

Одеська область характеризується дефіцитом питної води — споживання на одного мешканця не перевищує 1000 м³ на

рік. При цьому централізованим водопостачанням охоплено 60 % населених пунктів області, у тому числі з поверхневих джерел забезпечується близько 1300 тис. населення (50 % населення області). Централізованим водопостачанням з артезіанських свердловин забезпечується 648 населених пунктів (565 тис. населення). Значна частина населення (близько 500 тис.) одержує водопостачання з окремих свердловин та 2320 шахтних колодязів. Майже 60 тис. населення користуються привозною водою.

За результатами хімічного складу питної води встановлено, що населення Одеської області споживає високомінералізовану воду. Зокрема, загальна мінералізація значно перевищує

гігієнічний регламент і становить (3532,20±2,44) мг/м³ (p<0,05). З мінералізацією води пов'язаний важливий органолептичний критерій — загальна жорсткість, тобто сукупність властивостей, зумовлених вмістом у ній лужноземельних металів, переважно іонів кальцію і магнію. Так, в Одеській області показник загальної жорсткості води перевищує гігієнічний норматив у 3,4 разу. Вміст кальцію та магнію також перевищує гігієнічний регламент — (344,8±21,1) та (54,9±2,3) мг/м³. Концентрації у питній воді інших хімічних елементів, що формують рівень загальної мінералізації, також значно перевищує гігієнічні регламенти (табл. 1).

Таким чином, склад питної води джерел водопостачання

Таблиця 1

Мінералізація питних вод Одеської області (макроелементний склад)

Район	Загальна мінералізація, мг/л	Загальна твердість, мг екв/л	Загальна лужність, мг екв/л	Ca/Mg	Магній, мг/л	Натрій, мг/л	Нітрати, мг/л
Ананіївський	643,0±5,2	7,6±0,2	6,7±0,3	0,8±0,1	62,1±3,5	61,4±3,4	1,1±0,3
Арцизький	1565,0±13,1	2,40±0,09	16,5±0,7	0,7±0,1	13,2±1,2	608,3±11,3	3,5±0,2
Балтський	724,0±6,5	3,70±0,14	6,6±0,3	1,2±0,1	49,8±2,3	35,6±1,0	5,4±0,2
Березовський	1013,0±11,1	12,1±0,3	4,9±0,1	2,5±0,1	104,0±12,3	219,6±17,2	11,3±0,1
Білгород-Дністровський	1680,0±12,5	7,7±0,1	3,7±0,1	0,8±0,1	41,8±2,1	238,4±35,2	8,3±0,7
Біляєвський	568,0±4,3	5,20±0,18	6,4±0,3	1,7±0,1	25,4±2,2	330,0±3,3	13,4±0,5
Болградський	1191,0±10,2	17,1±2,1	3,7±0,3	0,9±0,1	97,0±6,5	336,5±13,3	8,1±0,3
Великомихайлівський	689,0±9,3	10,0±0,5	5,9±0,3	1,5±0,1	64,0±3,6	378,0±12,7	9,1±0,1
Іванівський	809,0±6,7	4,4±0,4	5,1±0,1	1,0±0,1	33,2±0,9	84,3±3,3	2,1±0,1
Ізмаїльський	606,0±5,2	5,0±1,1	3,9±0,3	1,9±0,1	35,2±0,5	171,8±25,8	15,1±0,7
Кілійський	378,0±4,1	4,2±0,2	2,5±0,1	3,0±0,1	19,6±0,6	168,3±22,3	10,9±1,1
Кодимський	782,0±5,3	7,7±0,3	6,8±0,2	1,9±0,1	45,3±1,8	24,8±0,2	7,7±0,4
Комінтернівський	1290,0±15,8	6,5±0,4	9,3±0,3	0,7±0,1	54,7±1,6	395,0±15,7	34,2±4,2
Котовський	771,0±2,3	9,2±0,5	9,7±0,5	1,0±0,1	68,9±1,5	64,6±4,5	2,6±0,1
Красноокнянський	647,0±3,3	8,8±1,1	7,4±0,7	1,1±0,1	64,1±1,1	50,5±0,2	26,4±0,2
Любашівський	609,0±3,5	5,6±0,7	6,3±0,7	1,0±0,1	42,6±1,3	130,8±3,6	26,4±2,1
Миколаївський	859,0±4,9	11,0±1,5	6,6±0,9	2,5±0,1	104,6±6,6	264,5±11,2	27,5±2,1
Овідіопольський	836,0±5,3	3,80±0,08	4,0±0,2	0,8±0,1	31,8±1,2	332,3±12,3	2,9±0,3
Ренійський	995,0±9,6	5,3±1,3	3,6±0,3	2,8±0,1	64,0±1,3	171,3±16,3	4,7±0,4
Роздільнянський	508,0±3,8	6,2±0,4	5,2±0,3	2,2±0,1	27,4±1,7	317,7±15,7	3,4±0,2
Савранський	945,0±3,2	8,9±0,7	7,8±0,2	1,6±0,1	52,7±2,1	266,0±6,4	3,1±0,2
Саратський	1682,0±13,9	1,30±0,03	8,7±0,7	0,8±0,1	10,6±0,3	487,3±23,3	9,7±1,1
Тарутинський	813,0±6,7	3,70±0,07	12,5±1,5	0,9±0,1	27,7±0,7	89,9±5,1	3,4±0,2
Татарбунарський	1641,0±15,1	12,2±0,3	11,4±0,5	0,9±0,1	17,8±0,7	377,0±27,3	2,1±0,1
Фрунзівський	631,0±3,1	9,2±1,1	6,1±0,1	0,7±0,1	76,8±3,3	214,3±7,7	1,1±0,1
Ширяєвський	899,0±4,7	7,6±0,7	6,8±0,2	0,6±0,1	67,4±2,7	66,7±6,7	1,3±0,1

Одеської області має певні особливості, насамперед, зумовлені специфікою антропогенного та техногенного впливів, а саме високою концентрацією важких металів, хлору. Також викликає занепокоєння високий вміст пестицидів, який перевищує гігієнічний регламент, — (11,4±1,0) % і нітратів — (9,9±0,6) %, присутність яких зумовлена надмірним застосуванням у сільському господарстві мінеральних добрив та хімічних засобів захисту рослин. Дані аналізів з перевищенням гранично допустимих ситуацій шкідливих речовин протягом 2010–2014 рр. наведені у табл. 2.

Певне занепокоєння викликає і висока концентрація азотовмісних поверхнево-активних речовин, що сприяють інтенсивнішій міграції та транслокації вказаних хімічних забруднювачів (важких металів, мінеральних добрив, пестицидів), впливають на токсичність інших хімічних сполук.

Одержані результати ілюструють, що значна частина мешканців Одеської області вживає недоброякісну за хімічним складом воду. Забруднення питної води хімічними речовинами при постійному її вживанні зумовлює розвиток патологічних станів організму.

Так, нітрати у воді в 1,5 рази більш токсичні за нітрати, що містяться в овочах. Підвищений вміст нітратів у воді викликає токсичний ціаноз. Всмоктування нітратів призводить до підвищеного рівня метгемоглобіну в крові.

Свинець акумулюється в кістках, ушкошкоджує нервову систему, нирки, призводить до раннього атеросклерозу, порушення еритропоезу. Дитячим організмом свинець засвоюється в 3–4 рази активніше, ніж дорослим.

Підвищений вміст марганцю негативно впливає на вищу нервову систему, систему кровообігу, функцію підшлункової залози, провокує хвороби ендокринної системи, підвищує ймо-

Таблиця 2
Кількість аналізів з перевищенням гранично допустимих концентрацій шкідливих речовин у питній воді джерел водопостачання Одеської області протягом 2010–2014 рр., М±m, %

Показник	Кількість аналізів
Важкі метали	17,9±0,9
Пестициди	11,4±0,1
Нітрати	9,9±0,6

вірність онкологічних захворювань.

Хлор та побічні продукти потрапляють у воду в процесі хлорування. Однак високий рівень побічних продуктів хлорування значно підвищує ризик виникнення трьох вад розвитку — дефекту міжшлункової перегородки серця, так званої «вовчої пащі», а також до анемієфалії.

Результати дослідження дозволяють стверджувати, що в сучасних соціально-гігієнічних умовах значна частина населення Одеської області піддається ризику розвитку багатьох хвороб унаслідок вживання недоброякісної питної води.

Висновки

1. Населення Одеської області використовує питну воду зі значною кількістю сульфатів — (1879,1±122,3) мг/м³, перевищення гігієнічного регламенту в 3,9 рази, хлоридів (426,7±12,4) мг/м³, перевищення гігієнічного регламенту в 1,6 рази.

2. Питні води в окремих районах області відрізняються високою загальною жорсткістю (24,1±1,5) мг/м³, перевищення гігієнічного регламенту в 4,4 рази, та високою загальною мінералізацією (3532,3±244,1) мг/м³, перевищення гігієнічного регламенту в 3,5 рази.

3. Середньорічні концентрації важких металів у питній воді перебувають близько верхньої межі допустимого рівня або перевищують його (хром, магній).

4. До зон підвищеного екологічного ризику в Одеській області належать північні та південно-західні райони. Основний фактор ризику для здоров'я населення у цих районах — несприятливий сольовий склад питних вод.

ЛІТЕРАТУРА

1. Роль водного фактора в епідеміології неінфекційних захворювань / Л. Г. Засипка, Ю. М. Ворохта, В. В. Бабієнко, М. П. Любчак // Вісник морської медицини. – 2011 – № 2. – С. 47–50.

2. Эльпинер Л. И. Роль водного фактора в обеспечении здоровья населения / Л. И. Эльпинер // Вода: химия и экология. – 2009. – № 3. – С. 6–10.

3. *Drinking Water Minerals and Mineral Balance* // Impact, Health Significance, Safety Precautions / Ed. I. Rosborg. – Stockholm: Springer, 2015. – 137 p.

4. *Atherogenesis inhibition induced by magnesium-chloride fortification of drinking water* / H. Cohen, Y. Sherer, A. Shaish [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2002. – Vol. 90, N1. – P. 207–213.

5. *Komatina M. M. Medical Geology Effects of Geological Environments on Human Health* / M. M. Komatina. – Amsterdam, 2011. – 487 p.

6. *Kozisek F. Health risks from drinking demineralised water* / F. Kozisek. – Prague : National Institute of Public Health, 2010. – 27 p.

7. *Карпес* и фтор: роль водного фактора, проблемы и решения / Ю. А. Рахманин, Л. Ф. Кирьянова, Р. И. Михайлова, Е. М. Севастьянова // Вестник РАМН. – 2001. – № 6. – С. 34–39.

Надійшла 15.10.2015

Рецензент канд. мед. наук,
доц. Ю. М. Ворохта

УДК 613.2-055.25:504.05(477.7)

В. Л. Михайленко

ЯКІСТЬ ПИТНОЇ ВОДИ — ФАКТОР, ЩО ДЕТЕРМІНУЄ СТАН ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ (НА ПРИКЛАДІ ОДЕСЬКОЇ ОБЛАСТІ)

Розглянуті гігієнічні аспекти водопостачання Одеської області. Проаналізований якісний склад питних вод та його вплив на стан здоров'я населення. Установлено, що південні та південно-східні райони Одеської області належать до зон підвищеного екологічного ризику через несприятливий для здоров'я населення сольовий склад питних вод.

Ключові слова: населення, здоров'я, питна вода, джерела водопостачання.

UDC 613.2-055.25:504.05(477.7)

V. L. Mykhaylenko

THE QUALITY OF DRINKING WATER AS THE HUMAN'S HEALTH DETERMINATIVE FACTOR (AT THE EXAMPLE OF ODESSA REGION)

The questions of hygienic monitoring of water supply in Odessa region were analyzed. The qualitative composition of drinking water and its effect on the health population were studied. There were found that the south and east-south regions are the areas of the high ecological risks because of adverse drinking water's salt composition.

Key words: population, health, drinking water, water supply.

*Передплачуйте
і читайте
журнал*



ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

У випусках журналу:

**Передплата приймається
у будь-якому передплатному
пункті**

Передплатний індекс 08205

- ◆ Фундаментальні проблеми медицини та біології
- ◆ Нові медико-біологічні технології
- ◆ Оригінальні дослідження
- ◆ Огляди
- ◆ Інформація, хроніка, ювілеї

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ для журналу «Досягнення біології та медицини»

Звертаємо увагу авторів на те, що публікація матеріалів у журналах «Одеський медичний журнал» і «Досягнення біології та медицини», які видаються Одеським національним медичним університетом, — платна. Оплата здійснюється після рецензування статей та схвалення їх до друку, про що авторів повідомляють додатково.

З питань сплати за публікацію статей та довідок про їх надходження й опрацювання просимо звертатися до Віри Григорівни Ліхачової за тел. +38 (048) 728-54-58 (р.), +38 (097) 977-23-31 (м.), e-mail: vera@odmu.edu.ua.

Копію квитанції про сплату слід надсилати поштою на адресу: Одеський національний медичний університет, редакція журналу (назва журналу), Валіховський пров., 2, м. Одеса, 65082 — або передавати на факс +38 (048) 723-22-15 для В. Г. Ліхачової.

До розгляду приймаються статті, які відповідають тематиці журналу й нижченаведеним вимогам.

1. Стаття надсилається до редакції у двох примірниках, підписаних усіма авторами. Вона супроводжується направленням до редакції, завізованим підписом керівника та печаткою установи, де виконано роботу, а для вітчизняних авторів також експертним висновком, що дозволяє відкрити публікацію. До неї на окремому аркуші додаються відомості про авторів, які містять вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ім'я та по батькові (повністю), місце роботи та посаду, яку обіймає автор, адресу для листування, номери телефонів і факсів.

Якщо у статті використано матеріали, які є інтелектуальною власністю кількох організацій і раніше не публікувалися, автор повинен надати дозвіл на їх публікацію кожної з цих організацій.

Автори повинні повідомити, для якої рубрики (розділу) призначена стаття. Основні рубрики (розділи) журналу: «Фундаментальні проблеми медицини та біології», «Нові медико-біологічні технології», «Оригінальні дослідження», «Огляди», «Інформація, хроніка, ювілеї». Докладніше про зміст рубрик (розділів) читайте на 3-й сторінці обкладинки.

2. Редакція віддає перевагу одноосібним роботам і роботам, виконаним невеликим колекти-

вом авторів (2–3). У першу чергу друкуються статті передплатників журналу, а також замовлені редакцією.

Не приймаються до розгляду статті, що вже були надруковані в інших виданнях, а також роботи, які за своєю сутністю є переробкою опублікованих раніше статей і не містять нового наукового матеріалу або нового наукового осмислення вже відомого матеріалу. За порушення цієї умови відповідальність цілковито покладається на автора.

3. Мова статей — українська для вітчизняних авторів, російська для авторів з інших країн СНД.

4. Матеріал статті повинен бути викладеним за такою схемою:

- а) індекс УДК;
- б) ініціали та прізвище автора (авторів), науковий ступінь;
- в) назва статті;
- г) повна назва установи, де виконано роботу;
- д) постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
- е) аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор;
- ж) виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття;
- з) формулювання цілей статті (постановка завдання);
- и) виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;
- к) висновки з даного дослідження і перспективи подальших розвідок у даному напрямку;
- л) література;
- м) два резюме — мовою статті й англійською обсягом до 800 друкованих літер кожне за такою схемою: індекс УДК, ініціали та прізвище автора (авторів), назва статті, текст резюме, ключові слова (не більше п'яти).

5. Обсяг оригінальних та інших видів статей не повинен перевищувати 8 машинописних сторінок, оглядів — 10, коротких повідомлень — 2.

Зауважуємо: загальний обсяг містить усі елементи публікації, тобто заголовні дані, власне статтю чи повідомлення, перелік літератури, ре-

зюме, ключові слова, таблиці (не більше трьох), графічний матеріал (не більше двох рисунків або фото) тощо, крім відомостей про авторів. Але вільна площа окремих аркушів, на яких вміщено невеликі таблиці, рисунки та ін., із загально-го підрахунку вилучається.

6. Текст друкують на стандартному машинописному аркуші (ширина полів: лівого, верхнього та нижнього по 2 см, правого — 1 см), сторінка тексту повинна містити не більше 32 рядків по 64 знаки в рядку.

У статтях повинна використовуватися міжнародна система одиниць СІ.

Хімічні та математичні формули вдрукують або вписують. Структурні формули оформляють як рисунки. У формулах розмічають: малі та великі літери (великі позначають двома рисками знизу, малі — двома рисками зверху простим олівцем); латинські літери підкреслюють синім олівцем; грецькі літери обводять червоним олівцем, підрядкові та надрядкові цифри і літери позначають дугою простим олівцем.

До розгляду приймаються лише статті, виконані з використанням комп'ютерних технологій. При цьому до матеріалів на папері обов'язково додають матеріали комп'ютерного набору та графіки на дискеті — теж у двох примірниках. Текст слід друкувати шрифтом Times New Roman (Times New Roman Cyr) 14 пунктів через півтора інтервалу й зберігати у файлах форматів Word for Windows або RTF (Reach Text Format) — це дозволяє будь-який сучасний текстовий редактор.

Не слід імпортувати у текст ніякі об'єкти: таблиці, графіки, рисунки тощо.

7. Таблиці можна створювати лише засобами того самого редактора, який застосовано для набору основного тексту. Їх слід друкувати на окремих сторінках; вони повинні мати нумерацію та назву.

8. Графічний матеріал може бути виконаним у програмах Excel, MS Graph і поданим у окремих файлах відповідних форматів, а також у форматах TIF, CDR або WMF. При цьому роздільна здатність штрихових оригіналів (графіки, схеми) повинна бути 300–600 dpi B&W, напівтонових (фотографії та ін.) 200–300 dpi Gray Scale (256 градацій сірого). Ширина графічних оригіналів — 5,5; 11,5 та 17,5 см.

Рисунки та підписи до них виконують окремо і подають на окремому аркуші. На зворотному боці кожного рисунка простим олівцем слід указати його номер і назву статті, а в разі необхідності позначити верх і низ.

Відповідні місця таблиць і рисунків потрібно позначити на полях рукопису. Інформація, наведена в таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.

9. Список літератури оформлюється відповідно до ДСТУ ГОСТ 7.1:2006, а скорочення слів і словосполучень — відповідно до ДСТУ 3582-97 та ГОСТ 7.12-93 і 7.11-78.

Звертаємо увагу авторів на те, що оформлення списку літератури за новим ДСТУ суттєво відрізняється від попереднього. Для тих, хто не має доступу до повного тексту ДСТУ, на сайті Одеського національного медуніверситету наведено приклади оформлення бібліографічних записів. Доступ за посиланням <http://odmu.edu.ua/index.php?v=1179>.

Список літературних джерел повинен містити перелік праць за останні 5 років і лише в окремих випадках — більш ранні публікації. В оригінальних роботах цитують не більше 10 джерел, а в оглядах — до 30. До списку літературних джерел не слід включати роботи, які ще не надруковані.

У рукопису посилання на літературу подають у квадратних дужках згідно з нумерацією за списком літератури. Література у списку розміщується згідно з порядком посилань на неї у тексті статті. Якщо наводяться роботи лише одного автора, вони розміщуються за хронологічним порядком.

На кожену роботу в списку літератури має бути посилання в тексті рукопису.

10. Редакція залишає за собою право рецензування, редакційної правки статей, а також відхилення праць, які не відповідають вимогам редакції до публікацій, без додаткового пояснення причин. Рукописи авторам не повертаються.

З метою підвищення відповідальності рецензента за рекомендовану працю під статтею вказуються його науковий ступінь, вчене звання, ініціали та прізвище, за винятком статей, представлених членами НАН і відомчих академій України.

11. Статті, відіслані авторам для виправлення, слід повернути до редакції не пізніше ніж через три дні після одержання. В авторській коректурі допустиме виправлення лише помилок набору.

12. Статті треба надсилати за адресою: Редакція журналу «Досягнення біології та медицини», Одеський національний медичний університет, Валіховський пров., 2, Одеса, 65082, Україна.

Редакційна колегія

Журнал

ДОСЯГНЕННЯ БІОЛОГІЇ та МЕДИЦИНИ

- ▶ **проблемні статті з нових медико-біологічних технологій**
 - * технології створення нових лікарських засобів, вакцин, діагностикумів
 - * біотехнології в лабораторній практиці
 - * діагностичні, лікувальні та профілактичні технології

- ▶ **оригінальні дослідження — результати пріоритетних робіт, що вносять суттєвий вклад у розвиток медицини та біології**

- ▶ **статті з фундаментальних проблем медицини та біології**
 - * молекулярної біології та генетики
 - * біології та біофізики клітин
 - * фізіології, біохімії та морфології людини
 - * експериментальної та клінічної фармакології та патофізіології
 - * нові досягнення в галузі вивчення етіології та патогенезу захворювань
 - * сучасні досягнення в діагностиці, профілактиці та лікуванні захворювань

- ▶ **огляди з сучасних актуальних проблем біології та медицини**

- ▶ **інформація, хроніка, ювілеї**

