

Проблеми екології та медицини

Том 13 №5-6 2009

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

Зміст



СТАТТІ



ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ TOLL-ПОДІБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 ASP299GLY У РОЗВИТКУ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ СТАТЕВИМ ШЛЯХОМ

Ізмайлова О. В., Шликова О. А., Боброва Н.О., Кайдашев І. П. 3

ВПЛИВ ФУЛЕРЕНІВ НА РОЗВИТОК АЛЕРГІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Куценко Н.Л., Микитюк М.В., Боброва Н.О., Кайдашев І.П. 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО СПЕКТРУ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ, ОТРИМАНОГО ІЗ СТЕГНОВИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ

Весніна Л.Е., Солохіна І.Л. 12

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРА 4 ASP299GLY У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Белоглазова К.В., Шлыкова О.А., Измайлова О.В. Кайдашев И.П. 15

ПРО12АЛА ПОЛИМОРФИЗМ RPAR Г2 И СЕНИЛЬНАЯ ДЕМЕНЦИЯ

Расин С.М., Шлыкова О.А., Расин М.С. Кайдашев И.П. 18

ІНТЕГРАТИВНА МОРФОЛОГІЯ

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ГОРТАНІ БЕЗ ОРОГОВІННЯ

Гасюк Ю.А. 22

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

ПРИНЦИПЫ И МЕРЫ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Ищейкина Ю.А.26

ВИКОРИСТАННЯ КИСНЕВИХ КОКТЕЙЛІВ ЯК ЗАСОБУ ПРОФІЛАКТИКИ ХВОРОБ ОРГАНІВ ДИХАННЯ У ДІТЕЙ

Саргош О.Д., Лусак В.П., Четверикова О.П., Римар М.П., Катрушов О.В.....31

МЕДИКО-СОЦІАЛЬНІ ТА СОЦІАЛЬНО-ІСТОРИЧНІ ПЕРЕДУМОВИ СТАНОВЛЕННЯ ГІГІЄНИ ВИХОВАННЯ ТА РОЗВИТКУ ШКІЛЬНОЇ ГІГІЄНИ ЯК НАУКИ В УКРАЇНІ НА ПОЧАТКУ ХХ СТОЛІТТЯ

Стельмахівська В.П.34

НЕКРОЛОГ

ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА НАТАЛІЇ МИКОЛАЇВНИ ГРИЦАЙ



СТАТТІ



ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК: 616.98:57.083.3

РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ TOLL-ПОДІБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 ASP299GLY У РОЗВИТКУ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЙ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ СТАТЕВИМ ШЛЯХОМ

Ізмайлова О. В., Шликова О. А., Боброва Н.О., Кайдашев І. П.

НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики

Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія»

Целью этого исследования был анализ ассоциации между полиморфизмом гена Toll-подобного рецептора 4 Asp299Gly и бактериальными инфекциями, передающимися половым путем, а также изучение распространенности данного полиморфизма среди практически здоровых людей полтавской популяции. В группу здоровых пациентов вошли 299 мужчин и женщин, проживающих в Полтавской области и 156 больных с диагностированной урогенитальной инфекцией. Была установлена высокая частота встречаемости аллеля G и генотипов AG и GG среди пациентов с бактериальными инфекциями, передающимися половым путем, в сравнении с практически здоровыми людьми полтавской популяции. Полученные результаты подтверждают важную роль Toll-подобных рецепторов в реализации врожденного иммунного ответа и позволяют рассматривать полиморфизм гена Toll-подобного рецептора 4 Asp299Gly в качестве дополнительного прогностического показателя в генетических исследованиях.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, полиморфизм, Toll-подобные рецепторы, бактериальные инфекции, передающиеся половым путем.

Вступ

Імунологічний захист проти різних патогенів здійснюється в результаті скоординованої роботи вродженої (неспецифічної) і адаптивної (специфічної) систем імунітету, взаємодія яких забезпечує ефективне протікання імунної відповіді. Активація вродженого імунітету являється першим і обов'язковим етапом розвитку адаптивного імунітету [6].

Ефекторні механізми вродженого імунітету вивчені достатньо добре, тоді як перші етапи взаємодії з патогенами і активація запалення стали зрозумілими лише в останні роки в результаті відкриття молекулярних структур розпізнавання різних типів мікроорганізмів [5]. Розпізнавання чужорідних для організму молекулярних структур мікробного походження відомих як патогенасоційовані молекулярні паттерни (pathogen associated molecular patterns – PAMPs) здійснюється за допомогою так званих паттернрозпізнаючих рецепторів (ППР) [2]. Прикладом PAMPs які, як правило, є загальними для певного класу патогенів, і

які є необхідними для забезпечення життєдіяльності мікроорганізмів, а тому не підлягають серйозним мутаційним змінам, що можуть бути летальними для мікроба, служать ліпополісахариди (ЛПС) грамнегативних бактерій, пептидоглікани грампозитивних мікроорганізмів, флагеллін, вірусна двохспірально РНК, зимозан, ліпотейхоева кислота, F-білок респіраторно-синцитіального вірусу, а також ДНК, багата на CpG-послідовності та ін. [5].

В результаті структурних досліджень до групи паттернрозпізнаючих рецепторів були віднесені і Toll-подібні рецептори (TLRs). У людини Toll-подібні рецептори являють собою сімейство молекул, яке налічує 13 індивідуальних рецепторів (на даний час добре охарактеризовані 11 із них), які здатні розпізнавати практично всі основні типи патогенів, у тому числі і різні типи бактерій, віруси, гриби, найпростіші та паразити [4].

Широкий спектр лігандів Toll-подібних рецепторів і експресія цих рецепторів на багатьох клітинах сприя-

ють залученню Toll-подібних рецепторів у патогенез імунітопосереджених захворювань людини [2].

На сьогоднішній день роль Toll-подібних рецепторів у розвитку багатьох інфекцій залишається не з'ясованою і потребує детального вивчення. Дефекти в системі Toll-подібних рецепторів, такі, як порушення розпізнавання лігандів, експресії TLR, трансдукції сигналу, синтез ефекторних молекул, а також поліморфізм генів Toll-подібних рецепторів можуть призводити до розвитку важких інфекційних, аутоімунних захворювань, атеросклерозу, алергопатології тощо [2]. Одним із найбільш вивчених варіантів поліморфізму генів Toll-подібних рецепторів є поліморфізм гена TLR4 Asp299Gly, який тісно пов'язується із розвитком гематогенного остеомієліту і системного кандидозу, більш важким перебігом atopічних захворювань, хворобою Крона, виразковим колітом [11, 12, 17].

У зв'язку з цим, актуальним є вивчення поширеності поліморфізму гена TLR4 Asp299Gly у практично здорових осіб полтавської популяції та у хворих із бактеріальними інфекціями, що передаються статевим шляхом (хламідіоз, уреаплазмоз, гарднереллез, мікоплазмоз, трихомоніаз) для уточнення патогенетичних механізмів уrogenітальних захворювань та покращення якості молекулярної діагностики імунітодефіцитних станів, пов'язаних із порушеннями функціональної активності Toll-подібного рецептора 4 (реєстраційний номер GenBank U88880).

Матеріали та методи

У дослідження було включено 299 практично здорових чоловіків та жінок, жителів Полтавської області та 156 хворих із діагностованою методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) уrogenітальною інфекцією (хламідіоз (n=16), уреаплазмоз (n=102), мікоплазмоз (n=4), гарднереллез (n=9), трихомоніаз (n=2), наявність декількох інфекцій (n=23)).

Усі жителі полтавського регіону пройшли детальне обстеження на кафедрі внутрішніх хвороб із доглядом за хворими Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» із визначенням даних соціально-побутового, професійно-екологічного, генетичного, епідеміологічного, вакцинального, алергологічного, терапевтичного,

хірургічного та кліматичного анамнезів, також даних клінічного стану на час огляду і об'єктивні дані зі сторони різних органів та систем.

Матеріалом для дослідження слугувала периферійна кров, а також зішкріб епітеліальних клітин із уретри і цервікального каналу, який отримували за допомогою спеціальних одноразових стерильних урогенітальних зондів. ДНК збудника виділяли з використанням системи прободіготовки «ДНК-експрес» (НПФ «Литех», Москва).

Поліморфну ділянку Asp299Gly гена Toll-подібного рецептора 4 ампліфікували за допомогою методу ПЛР на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-Технологія», Москва) за використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів TLR4:

5'-GATTAGCATACTTAGACTACTACCTCCATG-3' та
5'-GATCAACTTCTGAAAAAGCATTCCCAC-3'

за такою програмою: денатурація 94 °C, 30 сек, 52 °C, 1 хв, 72 °C 1 хв, 1 цикл; 30 циклів: 94 °C, 30 сек, 55 °C, 30 сек, 72 °C 30 сек; заключний цикл – 72 °C 5 хв. Зберігання – 10 °C.

Поліморфний варіант ідентифікували за допомогою подальшого рестрикційного аналізу з використанням ендонуклеази рестрикції Nco I (НВО «Сибензим», Новосибірськ). В результаті рестрикції були отримані фрагменти розміром 263 bp та 222 bp. Продукти розщеплення поліморфної ділянки гену TLR4 (Asp299Gly) виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі («Helikon», Москва) в 1 x TBE (50 mM трис-N₃BO₃ та 2 mM EDTA, pH 8,0) протягом 2 годин при напрузі 2V на 1 см гелю. Гель забарвлювали етидіумом бромідом з подальшою візуалізацією результатів в УФ-світлі.

Результати дослідження були оброблені статистично за допомогою критерію χ^2 і визначенням достовірності точним критерієм Фішера [2].

Результати та їх обговорення

Дані про частоту поліморфізму Asp299Gly гена Toll-подібного рецептора 4 серед осіб полтавської популяції та у пацієнтів із бактеріальною інфекцією, що передається статевим шляхом, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1
Розподіл частот генотипів і алелів гена Toll-подібного рецептора 4 серед осіб Полтавської популяції та хворих з уrogenітальною інфекцією, % (n)

Генотип, алель	Жителі полтавського регіону, n=299	Хворі з уrogenітальною інфекцією, n=156
AA	87,29 (261)	79,49 (124)
AG	10,71 (32)	15,38 (24)
GG	2,0 (6)	5,13* (8)
A	92,65	87,18
G	7,35	12,82*

* $p < 0,05$ у порівнянні з групою осіб полтавського регіону

Як видно із таблиці 1 «дикий тип» генотипу зустрічався у 87,29% полтавської популяції та у 79,49% хворих з уrogenітальною інфекцією. Частота генотипу AG серед осіб полтавської популяції і серед осіб з діагностованою уrogenітальною інфекцією склала 10,71% та 15,38% відповідно. Гомозиготний генотип за мутантним алелем зустрічався у 2,00% полтавської популяції та 5,13% хворих на бактеріальні інфекції, що передаються статевим шляхом.

Отримані результати вказують на важливу роль генотипу в розвитку захворювань, викликаних бактеріальною інфекцією, оскільки виявлена висока частота алелю G та генотипів AG і GG серед пацієнтів із бактеріальною інфекцією, що передається статевим шляхом, у порівнянні з практично здоровими особами полтавської популяції.

Таблиця 2
Порівняльний аналіз розподілу частот зустрічаємості алелей
і генотипів гену Toll-подібного рецептора 4 (Asp299Gly) в популяціях європеоїдів, %

Генотип, алель	Полтавчани (n=299)	Іспанці [3] (n=155)	Бельгійці [1] (n=139)	Угорці [2] (n=140)
AA	261 (87,29)	135 (87,1)	126 (90,6)	127 (90,7)
AG	32 (10,71)	20 (12,9)	12 (8,6)	12 (8,6)
GG	6 (2,0)	0 (0,0)	1 (0,8)	1 (0,7)
A	92,65	93,5	95,0	95,0
G	7,35	6,5	5,0	5,0

Як видно із представлених у таблиці 2 даних, популяції характеризуються незначною різницею у розповсюдженості алелей. Аналізуючи розподіл алелей А та G, можна відмітити схожість полтавської популяції з іншими популяціями європеоїдів.

Враховуючи важливу роль Toll-подібних рецепторів в реалізації вродженої імунної відповіді, логічно припустити, що дефекти на рівні самих рецепторів, на рівні різних компонентів, що приймають участь у передачі сигналу, а також факторів, які регулюють їх функцію, можуть призводити до розвитку інфекційних та запальних захворювань. Саме тому значна кількість зарубіжних наукових досліджень останніх років була спрямована на розкриття ролі функціонального поліморфізму в генах, що кодують Toll-подібні рецептори, які пов'язані з підвищеною чи зниженою сприйнятливістю до різноманітних інфекційних захворювань. Поліморфізм Toll-подібних рецепторів може призводити до порушень розпізнавання інфекційних агентів і дисбалансу функціонування системи вродженого імунітету, що в результаті буде проявлятися підвищенням чутливості до інфекцій та розвитком хронічних запальних захворювань [7].

Серед відомих на сьогоднішній день PAMP найбільш повно охарактеризована саме взаємодія ЛПС із рецепторним комплексом Toll-подібного рецептора 4. TLR4 є первинним клітинним сенсором бактеріального ЛПС і ключовим медіатором імунної відповіді на грамнегативні бактерії [4]. Експонований на клітинній мембрані TLR4 розпізнає ЛПС та взаємодіє з іншими молекулами різного походження, у тому числі і рослинного. TLR4 може також розпізнавати протипухлинний препарат таксол і F-білок респіраторно-синцитіального вірусу, HSP60 хламідій, HSP70, HSP90, білки мікобактерій, фібронектин, гіалуронову кислоту, β-дефенсин-2 та ін. [10]. Для розпізнавання ЛПС TLR4 формує високоафінний рецепторний комплекс за участю аксесорних молекул CD14 і MD2. ЛПС взаємодіє з ЛПС-зв'язуючим білком сироватки, LBP і утворений комплекс розпізнається CD14-рецептором, який експресований на моноцитах периферійної крові та макрофагах. У комплексі з CD14 ЛПС зближується з TLR4 на поверхні клітини, а для індукції ефективної запальної відповіді необхідне його додаткове зв'язування із декретованим білком MD2 [3,13].

Аналіз структури гену TLR4 виявив два одонуклеотидних поліморфізми у позаклітинних доменах, які забезпечують розпізнавання ЛПС, що були пов'язані зі зміною функції відповіді на ЛПС [16]. Описані випадки відсутності у людини нормальної чутливості до ЛПС, що проявляється зниженням ЛПС-залежної продукції лейкоцитами IL-1β, при наявності амінокислотної заміни у послідовності TLR4 Asp299Gly [14].

Генетично обумовлене зниження відповіді на ЛПС призводить до вибіркового порушення захисних реакцій організму проти грамнегативних бактерій, що визначає схильність до більш важкого протікання інфекційного захворювання [5].

В ряді досліджень встановлена асоціація одонуклеотидного поліморфізму Asp299Gly гену TLR4 із розвитком гематогенного остеомієліту і системного кандидозу, з більш важким протіканням atopічних захворювань, хворобою Крона, виразковим колітом [11, 12, 17]. Проведені окремими вченими дослідження показали, що носії поліморфізму гену TLR4 Asp299Gly були більш схильними до розвитку септичного шоку, менінгококового менінгіту і грамнегативної інфекції.

Також Toll-подібний рецептор 4 відіграє важливу роль і у розпізнаванні грампозитивних мікроорганізмів. Встановлено, що TLR4-мутантні миші особливо схильні до сепсису, що викликаний пневмолізіноутворюючим S. Pneumonia [4].

Таким чином, зважаючи на отримані результати можна зробити припущення, що наявність алелю G асоціюється зі схильністю до розвитку поширених уrogenітальних інфекцій, таких як хламідіоз, уреаплазмоз, мікоплазмоз, бактеріальний вагіноз, трихомоніаз. Це не суперечить літературним даним, які вказують на значний вплив поліморфізму Asp299Gly гену Toll-подібного рецептора на характер розвитку інфекційної патології, особливо при захворюваннях, викликаних грамнегативними мікроорганізмами, що можна пояснити враховуючи ключову роль TLR4 у розпізнаванні та розвитку запальної відповіді на ЛПС [5].

Висновки

1. Серед здорових жителів полтавського регіону і хворих із бактеріальними інфекціями, що передаються статевим шляхом переважає алель А гену Toll-подібного рецептора 4 (92,645% і 87,18% відповідно) та генотип AA (87,29% і 79,49%).

2. Більша частота алелю G серед хворих з уrogenітальною інфекцією можливо є прогностично несприятливою ознакою щодо розвитку і перебігу захворювань, викликаних бактеріальною інфекцією, яка передається статевим шляхом.

Література

1. Поліморфізм рецептора ангіотензіна II 1-го типу у больових есенціальній гіпертензією в українській популяції / І. П. Кайдашев, М. С. Расин, Л. Г. Савченко [и др.] // Цитология и генетика. – 2005. - № 5. – С. 51-55.
2. Рецепторы врожденного иммунитета: подходы к количественной и функциональной оценке Toll-подобных рецепторов человека / Л. В. Ковальчук, М. В. Хорева, А. С. Варивода [и др.] // Иммунопатология и клиническая иммунология. – 2008. - № 4. – С.223-227.
3. Роль Toll-подобных рецепторов в регуляции иммунного ответа в норме и при патологии / Н. Я. Спивак, И. М. Бог-

- данова, Н. И. Мартиросова [и др.] // Физиологический журнал. – 2008. – Т. 54, № 6. – С. 87-99.
4. Роль и биологическое значение Толл-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма / А. Л. Байракова, Е. А. Воропаева, С. С. Афанасьев [и др.] // Вестн. Рос. АМН. – 2008. – № 1. – С. 45-54.
 5. Симбирцев А. С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета / А. С. Симбирцев // Иммунология. – 2005. – № 6. – С. 368-377.
 6. Сухих Г. Т. Иммунология беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько. – М.: Издательство РАМН, 2003. – 400 с.
 7. Толстомятова М. А. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей / М. А. Толстомятова, Г. А. Буслаева, И. Г. Козлов // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 1. – С. 115-120.
 8. Хаитов Р.М. Роль паттернраспознающих рецепторов во врожденном и адаптивном иммунитете / Р. М. Хаитов, М. В. Пашенков, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 66-76.
 9. Хилл Б.А. Основы медицинской статистики / Б. А. Хилл; пер. с англ. – М.: Медгиз, 1958. – 306 с.
 10. Яглова Н.В. Тучные клетки и врожденный иммунитет / Н. В. Яглова // Иммунология. – 2009. – № 2. – С. 139-143.
 11. Candida-specific IFN-gamma deficiency and toll-like receptor polymorphisms in patients with chronic mucocutaneous candidiasis / C. A. Van der Graaf, M. G. Netea, S. A. Morre [et al.] // J. Eur. Cytokine Netw. – 2006. – Vol. 17 (1). – P. 29.
 12. Deficient host-bacteria interactions in inflammatory bowel disease? The toll-like receptor (TLR)-4 Asp299Gly polymorphism is associated with Crohn's disease and ulcerative colitis / D. Franchimont, S. Vermeire, H. Housni [et al.] // Gut. – 2004. – Vol. 53 (7). – P. 978-992.
 13. Fitzgerald K. A. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex / K. A. Fitzgerald, D. C. Rowe, D. T. Golenbock // Microbes Infection. – 2004. – Vol. 6 (15). – P. 1361-1367.
 14. Identification of two major sites in the type I interleukin-1 receptor cytoplasmic region responsible for coupling to pro-inflammatory signaling pathways / J. Slack, K. Schooley, T. Bonnert [et al.] // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 4670-4678.
 15. Lack of genetic association of the Toll-like receptor 4 (TLR4) Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms with spondylarthropathies in a Hungarian population / P. Gergely, Jr. A. Blazsek, Z. Weiszha [et al.] // Rheumatology. – 2006. – Vol. 45 (10). – P. 1194-1196.
 16. Phylogenetic variation and polymorphism at the toll-like receptor 4 locus (TLR4) / I. Smirnova, A. Poltorak, E. Chan [et al.] // Genome Biol. – 2000. – Vol. 1. – P. 2-9.
 17. The tlr4 (tlr4 Asp299Gly) polymorphism is a risk factor for gram-negative and haematogenous osteomyelitis / A. H. Montes, V. Asensi, V. Alvarez [et al.] // J. Clin. Exp. Immunol. – 2006. – Vol. 143 (3). – P. 404-413.

Summary

THE ROLE OF POLYMORPHISM OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 ASP299GLY IN DEVELOPMENT OF A BACTERIAL INFECTIONS, SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES

Izmaylova O. V., Shlykova O. A., Bobrova N. A., Kaidashev I.P.

Key words: congenital immunity, polymorphism, Toll-like receptor, bacterial infections, sexually transmitted diseases

The purpose of this study was to analyze the association between gene of Toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphism and bacterial infections, sexually transmitted diseases, as well as study the prevalence of this polymorphism among healthy people of the Poltava population. The group of healthy patients included 299 men and women living in the Poltava region, and 156 patients diagnosed of urogenital infection. It established the high frequency of allele G and the AG and GG genotypes among patients with bacterial infections, sexually transmitted infections, compared with practically healthy people of the Poltava population. These results confirm the important role of Toll-like receptors in the realization of the innate immune response and allow for consideration of gene Toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphism as an additional prognostic indicator in genetic research.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,

Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 16.12.09

УДК 616-056-002-092.9:615

ВПЛИВ ФУЛЕРЕНІВ НА РОЗВИТОК АЛЕРГІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Куценко Н.Л., Микитюк М.В., Боброва Н.О., Кайдашев І.П.

Науково-дослідний інститут генетичних та імунологічних основ розвитку патології

та фармакогенетики Вищого державного навчального закладу України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Исследовано влияние фуллерена C₆₀ (FC₆₀) и модифицированного фуллерена (1,2 метанофуллерен C₆₀)-61 карбоксиацида на развитие аллергического воспаления на модели бронхиальной астмы. Экспериментальная модель бронхиальной астмы была воспроизведена на мышах линии Balb/c, путем внутрибрюшинной сенсибилизации с последующей ингаляцией 1% раствором овальбумина. Животным с бронхиальной астмой внутрибрюшинно вводили водную дисперсию FC₆₀, водную дисперсию FC₆₀ в смеси с овальбумином, водный раствор модифицированного фуллерена и конъюгированного с овальбумином. Исследования показали, что введение животным разных форм фуллеренов C₆₀ приводило к снижению интенсивности аллергического воспаления. Наблюдался терапевтический эффект как для фуллерена, конъюгированного с овальбумином, так и не конъюгированного.

Ключевые слова: фуллерены, бронхиальная астма, овальбумин, аллергическое воспаление.

Проблема лікування atopії залишається найбільш актуальною в сучасній медицині. Нові напрямки в розробці ефективних фармакологічних препаратів, без сумніву, допомагають вирішенню цієї проблеми, але в основній мірі дія лікарських засобів має симптоматичний характер. Відсутність стійкого ефекту після відміни прийому препарату і визначає їх дію недостатньою, що потребує пошуку нових високоефективних засобів, здатних впливати на патогенетично-імунологічну ланку розвитку алергічних захворювань.

Фулерени – унікальні моноатомні молекули, що мають форму сферичного каркасу, що вміщує 60 та більше атомів вуглецю. Відкриття фулеренів викликало стрімкий потік публікацій в науковому світі. Гідрофобна сфера, велика поверхня, висока спорідненість до електронів – основні приваблюючі особливості для використання цих речовин в медицині: в якості ефективних антиоксидантів, засобів цілеспрямованої доставки ліків та вакцин, надання нових властивостей відомим препаратам за рахунок їх модифікації [1,2,4].

Протягом останніх 17 років науковцями були синтезовані чисельні похідні фулеренів C_{60} (FC_{60}), в тому числі і водорозчинні, розроблені різноманітні способи отримання наносуспензій чистого фулерену та застосування їх в різних областях медицини [13]. Нещодавно було відмічено, що окремі наночастинки здатні пригнічувати розвиток алергічного запалення. Виявлено, що сенсibilізовані тучні клітини та базофіли периферійної крові, в цитоплазмі яких попередньо вводили модифікований розчинний в воді фулерен, виділяють значно менше гістаміну та цитокінів алергічної реакції після контакту з алергеном, порівнюючи з несенсibilізованими клітинами. Ін'єкція фулеренів мишам попереджала розвиток реакції гіперчутливості негайного типу, не викликаючи побічних реакцій. За допомогою імуногістохімічного контрастування клітин виявлено, що більша частина фулеренів зосереджена в цитоплазмі. Це призвело до появи припущень, що процес пригнічення запальних реакцій відбувається на рівні внутрішньоклітинних механізмів. Таким чином, на відміну від багатьох існуючих протиалергічних препаратів фулерени здатні дезактивувати тучні клітини та базофіли навіть до моменту вивільнення

медіаторів запалення [15]. Отримані дані свідчать про нову біологічну дію фулеренів та надають новий шлях до розробки протизапальної терапії при астмі, ревматоїдному артриті, захворюваннях серцево-судинної системи та ін.

Механізм дії фулеренів до кінця не вивчено і не обґрунтована ефективність їх використання в клінічній медицині. Крім того, відсутні дані впливу фулерену C_{60} на розвиток алергічного запалення при бронхіальній астмі. Тому, метою нашого дослідження було вивчення впливу різних форм фулерену C_{60} при експериментальній бронхіальній астмі.

Матеріали та методи

Дослідження проводилося на 36 мишах лінії Balb/c віком 6 тижнів. Всі тварини були поділені на 6 груп, по 6 тварин в кожній. Перша група – інтактні тварини. Другій контрольній групі тварин та останнім групам викликали експериментальну бронхіальну астму (БА) шляхом внутрішньочеревної сенсibilізації тварин розчином овальбуміну (ОВА група) в стерильному фізіологічному розчині. Сенсibilізацію проводили в 0 та 14 день. На 24, 25, 26 тваринам вводився ОВА у вигляді аерозолі, генерованого із 1% ОВА у 0,9% фізіологічному розчині за допомогою інгалятора ультразвукового «Муссон-2» (ФГУП «Алмаз», г. Ростов-на-Дону, Россия) протягом 40 хвилин. За годину до кожної інгаляції тваринам вводили внутрішньочеревно досліджувані фулерени у вигляді розчинів. Третій групі вводили FC_{60} (ОВА- FC_{60} група), четвертій – FC_{60} в суміші з ОВА (ОВА- FC_{60} -ОВА група), п'ятій - розчин модифікованого фулерену (1,2метанофулерен C_{60})-61карбоксилат (ОВА-m FC_{60} група), шостій - розчин модифікованого фулерену кон'югованого з ОВА (ОВА-m FC_{60} -ОВА група) [5]. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин. На 26 день, до та після останньої інгаляції ОВА, усім тваринам тричі протягом 30 хвилин була проведена ректальна термометрія (схема 1). Евтаназію тварин проводили методом цервікальної дислокації. Всі маніпуляції з тваринами проводили з дозволу комісії по біоетиці Вищого державного навчального закладу України «УМСА».

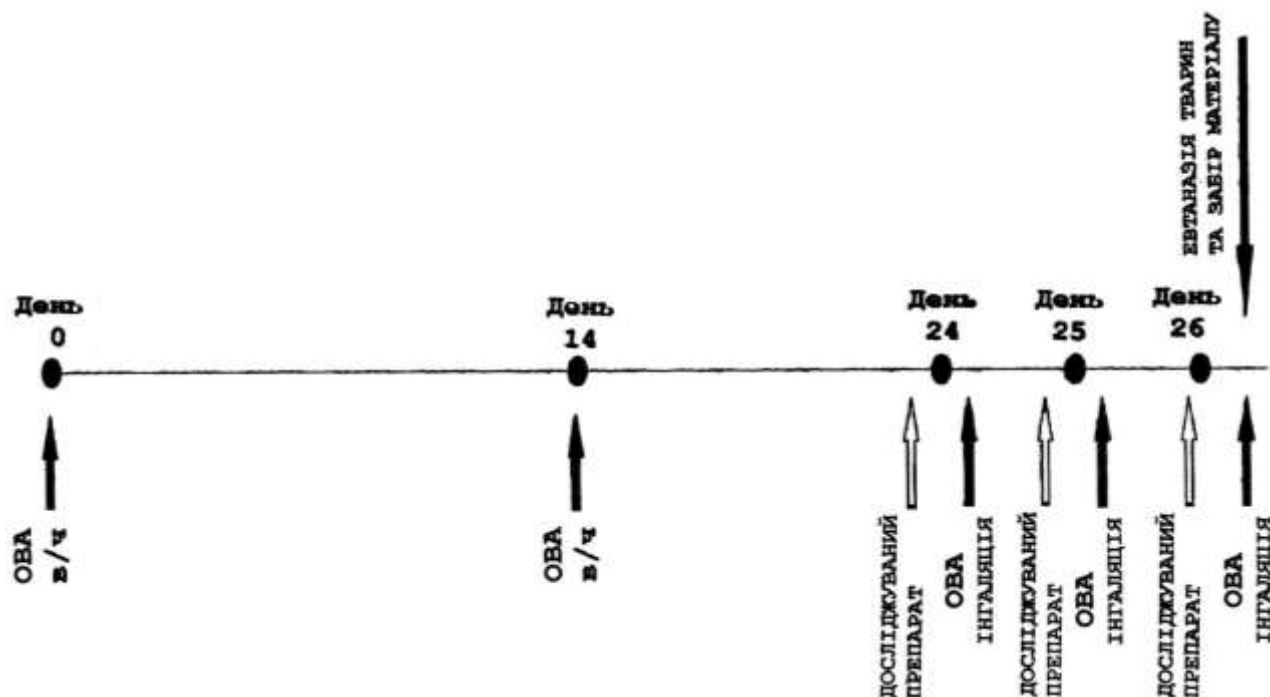


Схема 1. Загальна схема дослідження дії фулеренів C_{60} при експериментальній бронхіальній астмі

Водну дисперсію фулеренових часточок FC_{60} з розміром 10-200 нм, поверхні яких складалися з модифікованих гідроксильованих фулеренів отримували шляхом перемішування Фулерену C_{60} (Sigma, USA) з деіонізованою водою на магнітній мішалці протягом 2-х місяців [8]. До водної дисперсії FC_{60} додавали розчин OBA (Sigma, USA) з кінцевою концентрацією 10,4 г/л.

Для приготування розчину модифікованого фулерену mFC_{60} реагент (1,2метанофулерен C_{60})-61карбоксилат (Sigma, USA) 1,5 мг розчиняли в 0,25 мл піридину, до нього додавали 8 мг N-гідроксисукциніміду (Sigma, USA). Діциклогексилкарбодіімід (Fluka) розчиняли у 0,15 мл піридину і додавали до розчину фулеренів. Суміш залишали при кімнатній температурі на 48 годин. Потім повільно додавали до 1 мл розчину OBA (Sigma, USA) з концентрацією білку 10,4 мг/мл при pH 9,5. Рівень pH регулювали 1M $NaHCO_3$. Суміш залишали на 4 години при кімнатній температурі і діалізували проти ФСБ при температурі 4°C протягом ночі [6].

Вивільнення гістаміну під час розвитку реакції гіперчутливості негайного типу (РГНТ) визначали за рівнем зниження температури у тварин, яку вимірювали у тварин ректально, за допомогою електронного термометра Microlife MT 1951 (Microlife AG, Швейцарія). Термометрію проводили один раз до та тричі протягом 30 хвилин після останньої інгаляції OBA.

Для оцінки змін в органах мішенях під час розвитку РГНТ підраховували число еозинофілів та базофілів у тканинах легень, застосовуючи метод тканинних відбитків. Отримані препарати підсушували при кімнатній температурі 5-10 хв. Відбитки фарбували фарбою-фіксатором Май-Грюнвальда та Романовського-Гімзи. В отриманих препаратах підраховували число еозинофілів та базофілів клітин [3].

Для оцінки впливу FC_{60} та mFC_{60} на стан імунотетивних клітин Т-хелперів та Т-супресорів у тва-

рин з експериментальною БА визначали експресію $CD4^+$ та $CD8^+$ молекул в суспензії спленоцитів, використовуючи метод проточної цитометрії. Спленоцити отримували в асептичних умовах за загально відомим методом [3]. При цьому суспензію інкубували в присутності моноклональних антитіл до антигенів CD4 та CD8, мічені флюорисценізоціанатом (Caltag, США). Флюорисценцію клітин визначали на проточному цитофлюориметрі EPIX LX-MCL (Beckman Coulter, США), використовуючи програму System II™ software.

Отриманий цифровий матеріал був статистично оброблений: проводили обчислення середнього арифметичного в групах (M), середнього квадратичного відхилення (m), вірогідність отриманих результатів визначали за t-критерієм Вілкоксона та t-коефіцієнтом Ст'юдента на персональному комп'ютері за допомогою стандартного пакета програми STATISTICA 6.0

Результати та їх обговорення

Дослідження були присвячені вивченню впливу наночастинок – фулеренів на розвиток алергічного запалення з метою пошуку та розробки нових патогенетичних протиалергічних препаратів. Тому, на першому етапі ми викликали бронхіальну астму у експериментальних тварин, шляхом сенсibilізації мишей розчином овальбуміну. У сенсibilізованих OBA мишей спостерігали зміну в їх поведінці. Після інгаляції OBA експериментальні тварини чхали, терли лапками мордочки, поводити себе неспокійно. Окрім чіткого виражених клінічних проявів РГНТ, нами було досліджено основну патофізіологічну реакцію – вивільнення гістаміну з сенсibilізованих базофілів та тучних клітин під час взаємодії алергену з специфічними IgE на поверхні цих клітин. Як відомо, гістамін, приймає участь в терморегуляції організму. Медіатор знижує внутрішню температуру та регулює потовивідлення, що також знижує температуру тіла [9]. Тому, зниження температури тіла прямо відображає вивільнення ос-

новного медіатора реакції гіперчутливості негайного типу гістаміну. Таким чином, у сенсibilізованих ОВА тварин після інгаляції ОВА нами виявлено вірогідне зменшення температури тіла на 3°C в порівнянні з інтактними тваринами вже через 10 хвилин після інгаляції (рис.1), після чого відмічено її поступове повільне відновлення. Але навіть через 30 хвилин вона залишалась низькою – на 2°C, порівнюючи з інтактом. Отже, вірогідне зниження температури тіла у сенсibilізованих тварин після інгаляції причинного алергену

свідчить про патологічне надмірне вивільнення гістаміну з депо.

Інгаляція ОВА у тварин викликала також зміни в органах мішенях. В мазках-відбитках легень нами було відмічено вірогідне підвищення числа еозинофілів у 4 рази порівняно із інтактною групою (табл.1) та тенденція до збільшення базофілів (в 1,5 рази вище ніж у інтактних тварин). Відомо, що легенева еозинофілія є типовою характеристикою алергічного запалення дихальних шляхів при експериментальній БА у мишей [19].

Таблиця 1
Вплив фулеренів на рівень еозинофілів та базофілів в відбитках тканин легень у тварин з експериментальною БА (M±m) (n=6)

Групи тварин	Кількість еозинофілів, %	Кількість базофілів, %
Ін такт	4,3±1,0 [#]	1,6±0,5
ОВА-ОВА	16,5±4,9 [*]	2,5±0,8
ОВА- FC ₆₀	14,3±4,8 [*]	2,5±1,04
ОВА- FC ₆₀ -ОВА	12,5±4,7 [*]	2,3±1,5
ОВА- mFC ₆₀	5,5±1,5 [#]	3,0±0,8
ОВА- mFC ₆₀ -ОВА	12,2±4,1 [*]	3,5±1,5

Примітки: * - вірогідно щодо показників інтактної групи

- вірогідно щодо показників групи тварин з експериментальною БА (ОВА-ОВА).

Одночасно з дослідженням змін в органах мішенях, нами було виявлено зміну кількості основних субпопуляцій лімфоцитів в суспензії спленоцитів у тварин сенсibilізованих ОВА в порівнянні з інтактною групою. При цьому, кількість CD4⁺ зменшилась на 20%, а CD8⁺ - на 27% (рис. 2, 3). Таким чином, сенсibilізація мишей ОВА з послідуною інгаляцією тваринам причинного алергену призводила до клінічних

симптомів алергічного запалення, викиду основного медіатора алергії – гістаміну, легеневої еозинофілії та зниження загальної кількості імункомпетентних клітин в суспензії спленоцитів свідчить про розвиток у тварин бронхіальної астми, як модель розвитку алергічного запалення для подальшого вивчення впливу фулеренів.

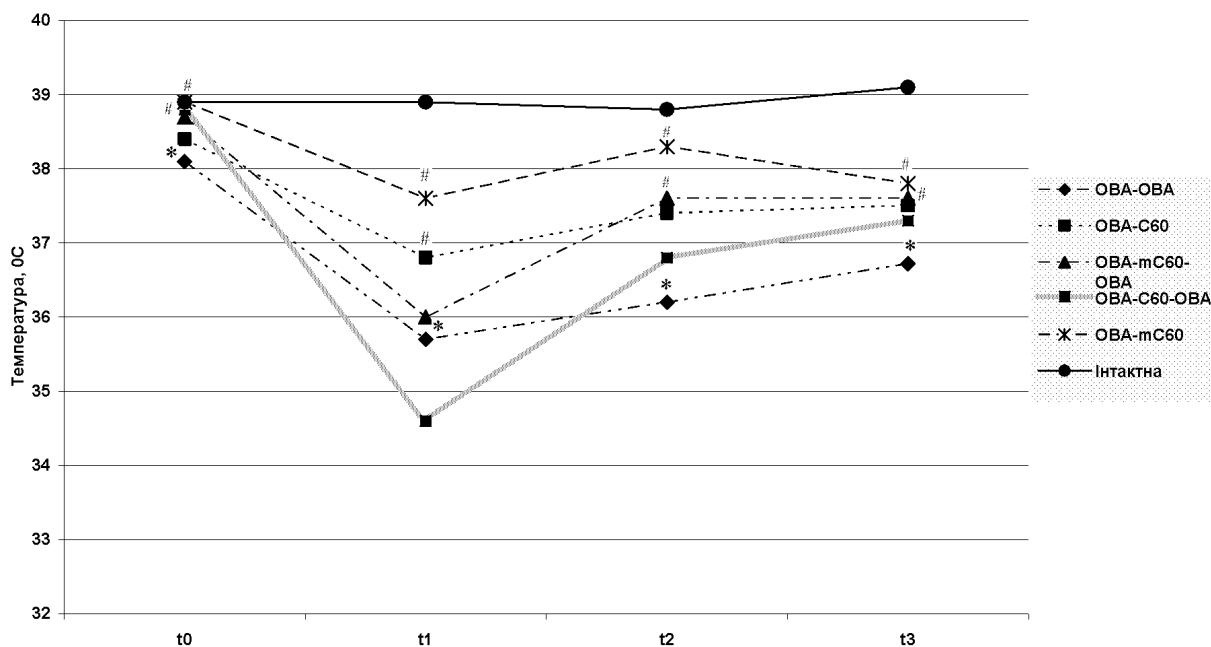


Рис.2 Вплив фулеренів на рівень CD4⁺ в суспензії спленоцитів у тварин з експериментальною БА.

Примітки: наведені індивідуальні значення, горизонтальна риска відображає середній показник у групі.

* - вірогідно щодо показників інтактної групи

- вірогідно щодо показників групи тварин з експериментальною БА (ОВА-ОВА).

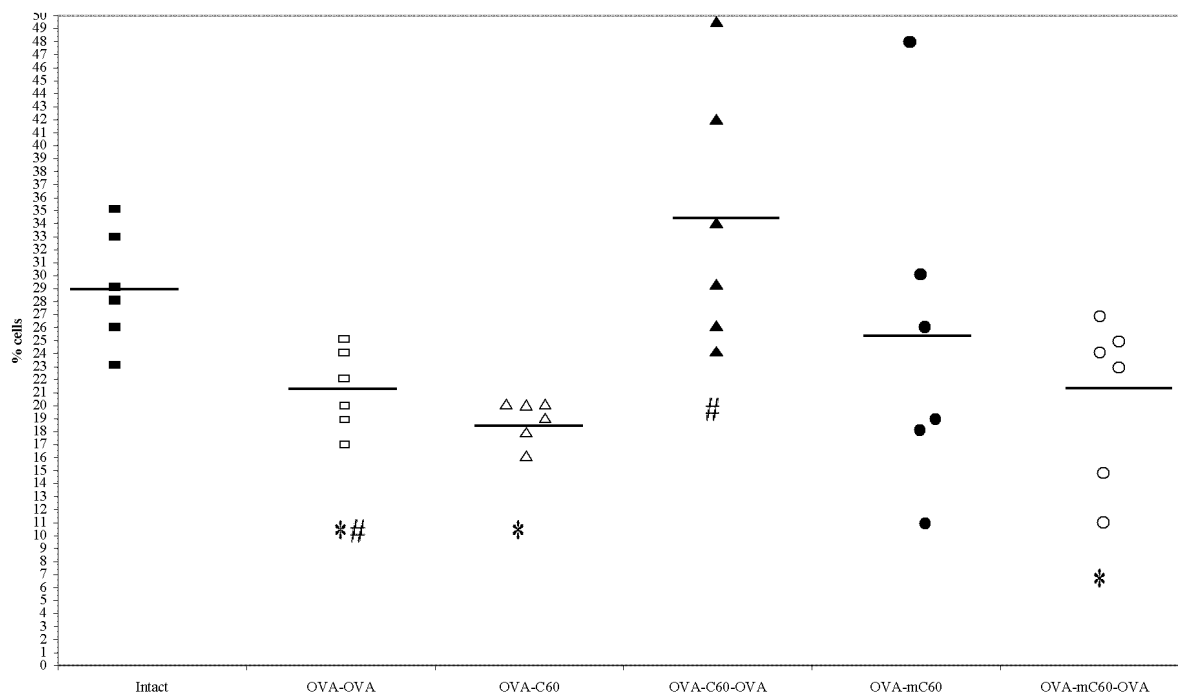


Рис.3 Вплив фулеренів на рівень $CD8^+$ в суспензії спленоцитів у тварин з експериментальною БА

Примітки: наведені індивідуальні значення, горизонтальна риска відображає середній показник у групі.

* - вірогідно щодо показників інтактної групи

- вірогідно щодо показників групи тварин з експериментальною БА (OVA-OVA).

Під час вивчення впливу водної дисперсії FC_{60} на розвиток алергічного запалення нами було досліджено температуру тіла експериментальних тварин з метою оцінки вивільнення гістаміну. Ректальна температура у сенсibilізованих тварин до інгаляції OVA була найнижчою в групі тварин з експериментальною БА – на $1^{\circ}C$ нижче ніж у інтактних тварин. В групах тварин, яким попередньо вводили фулерени, коливалась між показниками інтактних та тварин з БА.

Через 10 хвилин після останньої інгаляції овальбуміном в групі тварин з експериментальною БА спостерігалось різке падіння ректальної температури. Крім того вірогідне падіння ректальної температури відмічено в усіх інших дослідних групах в порівнянні з інтактними тваринами. При цьому мінімальне зниження температури нами було відмічено у тварин, яким вводили FC_{60} та mFC_{60} . Саме ці форми фулеренів вірогідно попереджали зниження температури у тварин з БА. А саме, у цих тварин температура не опускалась нижче $36,8^{\circ}C$, в той час, як у тварин з БА знижувалась до $35,6^{\circ}C$.

Через 20 хвилин після останньої інгаляції овальбуміном в усіх експериментальних групах тварин спостерігалась тенденція до нормалізації ректальної температури. При цьому температура у тварин, яким вводили FC_{60} та mFC_{60} становила на $1,5-2^{\circ}C$ вищою, ніж у тварин з БА.

На 30-й хвилині вимірювання показники ректальної температури продовжували наблизитися до таких показників інтактної групи. На цьому етапі вірогідно вищою була температура у тварин, яким також вводили mFC_{60} та mFC_{60} -OVA, в порівнянні з показниками тварин БА.

Таким чином, попереднє введення фулеренів експериментальним тваринам з БА призводило до попередження зниження температури тварин. Під час введення фулеренів найбільш ефективним виявився mFC_{60} , що свідчить про здатність цих наночастинок пригнічувати розвиток реакції гіперчутливості негайного типу.

У тварин, яким вводили водну дисперсію FC_{60} , спостерігалось зниження числа еозинофілів на 13% у порівнянні з групою тварин з БА (табл.1). До найбільш суттєвого зниження кількості еозинофілів, на 66,7 %, призводило введення mFC_{60} . Введення складних форм фулеренів – FC_{60} в суміші із OVA та mFC_{60} , кон'югованого із OVA, призводило до незначного зниження числа еозинофілів, у цих тварин ми продовжували спостерігати легеневу еозинофілію. Отже найнижчі показники кількості еозинофілів відмічались у тварин, яким вводили mFC_{60} , і саме у тварин даної групи число еозинофілів наближалось до показників інтактної групи і складало $5,5 \pm 2\%$. Тож зниження рівня легеневої еозинофілії є показником того, що введення фулеренів виявляло імунорегулюючу дію при імуніологічному запаленні в легенях при експериментальній БА. Найбільш ефективним виявився модифікований некон'югований FC_{60} . Під час вивчення впливу фулеренів на кількість базофілів в тканинах легень нами не виявлено суттєвих змін числа цих клітин між тваринами з БА та тваринами, яким вводили фулерени.

При оцінці імунної системи мишей з БА в групі тварин, яким вводили модифікований фулерен, кон'югований з OVA, спостерігалось підвищення експресії молекул $CD4^+$ спленоцитів на 25%, а в групі тварин, яким вводили FC_{60} в суміші з OVA на 6%

(мал. 2). В той час як в групах тварин, яким вводили інші форми фулеренів, рівень експресії молекул CD4⁺ майже не змінювався. Кількість CD8⁺ клітин вірогідно збільшувалась на 63% у тварин, яким вводили FC₆₀ в суміші з ОВА та у тварин, яким вводили модифікований фулерен на 16,3% (мал. 2). В групі тварин, яким вводили водну дисперсію FC₆₀ відмічалось зниження CD8⁺ клітин на 14,3% у порівнянні із тваринами з БА. Введення модифікованого FC₆₀, кон'югованого з ОВА, не виявило змін у рівні експресії CD8⁺.

З літературних джерел відомо про спробу використання хімічних властивостей фулеренів для лікування алергій [17]. Науковці звернули увагу на можливість фулеренів взаємодіяти з вільними радикалами – хімічні молекули, які мають неспарені електрони [7,14,16,18]. Так, фулерен C₆₀ легко приєднує вільні радикали, таким чином нейтралізуючи їх. Результати досліджень свідчать, що такі властивості фулеренів можуть бути використані для захисту нервових клітин від руйнівного впливу вільних радикалів. Завдяки значним зусиллям та взаємодії науковців-медиків та науковців, що займаються дослідженнями в сфері нанотехнологій, був створений фулерен, в структуру, якого включено додаткові функціональні групи. Модифікація фулерену підвищила розчинність цих наночастинок. За даними дослідників, після цих змін фулерени повністю втратили токсичні властивості для тканин організму. Наступним етапом вчені намагались внести ці модифіковані фулерени мишам в середину тучних клітин. При цьому під час провокаційних тестів за допомогою причинних алергенів на фоні фулеренів сила алергічної реакції зменшувалась. Знижувався викид гістаміну, а також активність інших біологічно-активних речовин при алергічному запаленні. За даними вчених це відбувалось завдяки зв'язуванню розчинними фулеренами вільних радикалів, що з'являються при алергії [15].

Слід відмітити, що самі по собі фулерени є токсичними речовинами, наприклад, фулерен C₆₀ призводить до окислення ліпідів. В одній з робіт відмічено, що при хімічній модифікації фулеренів гідроксильними або карбоксильними групами наночастинок стають менш токсичними. Це відбувається завдяки підвищенню гідрофільності фулеренів, в результаті чого фулерен стає водорозчинним. Доведено, що розчинність фулеренів в воді прямопропорційна зменшенню їх токсичності. Наприклад, у C₆₀(OH)₂₄ не виявлені токсичні властивості, навіть при максимально допустимих концентраціях [11].

Повідомлялось про винахід протипухлинних ліків на основі фулеренів. Показано, що нітроксидні метанофулерени в комбінації з циклофосфамідом має протипухлинну дію при лейкемії [10].

На сьогоднішній день активно створюються та вивчаються сполуки, в структурі яких фулерен ковалентно або за допомогою міжмолекулярних зв'язків з'єднаний з іншими активними речовинами [12].

На теперішній час продовжується вивчення фізико-хімічних властивостей фулеренів та можливість розширення їх застосування в клінічній медицині.

Таким чином, у проведеному нами дослідженні було вивчено вплив фулерену C₆₀ та розчиненого модифікованого фулерену C₆₀ на розвиток алергічного запалення. При цьому нами відтворено модель бронхіальної астми у мишей шляхом сенсibilізації ОВА та його інгаляцією, що підтверджено розвитком РГНТ (зміна поведінки, викид гістаміну, зниження температури тіла, легенева еозинофілія та зміна рівню імунно-компетентних клітин) у тварин.

За умов розвитку експериментальної бронхіальної астми введення різних форм фулеренів C₆₀ призводило до зниження інтенсивності алергічного запалення. Причому терапевтичний ефект спостерігався як для фулерену, кон'югованого з алергеном, так і не кон'югованого. Отже, спостерігався прямий антиалергійний ефект фулерену.

Література

1. Залесский В. Н., Дынник О. Б. Молекулярная медицина: применение нанотехнологий для молекулярной визуализации в кардиологии / В. Н. Залесский, О. Б. Дынник // Укр. мед. часопис. – 2008. – №1. – С. 25–32.
2. Использование нанотехнологий в эндодонтическом лечении зубов / В. Румянцев, Ю. Цатурова, Ф. Черджиева [и др.] // CATHEDRA. – 2008. – №1. – С. 46–49.
3. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва [та ін.]; під ред. І. П. Кайдашева. – П. : Полімет, 2003. – 320 с.
4. Нанотехнології, наномедицина: перспективи наукових досліджень та впровадження їх результатів у медичну практику / Л. Г. Розенфельд, В. Ф. Москаленко, І. С. Чекиман [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2008. – №5. – С. 63–68.
5. A causative relation ship exists between eosinophils and the development of allergic pulmonary pathologies in the mouse / H. H. Shen, S. I. Ochkur, M. P. McGerry [et al.] // J. Immunology. – 2003. – Vol. 170. – P. 3296–3305.
6. Antigenicity of fullerenes: Antibodies specific for fullerenes and their characteristics / B.-X. Chen, S.R. Wilson, M. Das [et al.] // Immunology. 1998. – Vol. 95. – P. 10809–10813.
7. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications / S. Bosi, T. Da Ros, G. Spalluto [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2003. – Vol. 38. – P. 913–923.
8. Fullerene is in vivo Powerful Antioxidant With no Acute or Sub-acute Toxicity / N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel [et al.] // Nano Letters. – 2005. – Vol. 5. – P. 12–16.
9. Fullerene nanomaterials Inhibit the allergic response / J. J. Ryan, H. R. Bateman, A. Stover [et al.] // J. Immunol. – 2007. – Vol. 179. – P. 665–672.
10. Gubskaya V. P. Synthesis, structure and biological activity of nitroxide malonate methanofullerenes / V. P. Gubskaya, L. Sh. Berezhnaya, A. T. Gubaidullin [et al.] // Org.Biomol.Chem. – 2007. – Vol. 5. – P. 976–981.
11. Hopkin M. Flies get a grip / M. Hopkin // Nature. – 2004. – Vol. 431(7010). – P. 756–756.
12. Lynch M. The Origins of Genome Complexity / M. Lynch, J. S. Conery // Science. – 2003. – Vol. 302 (5649). – P. 1401–1404.
13. Moghimi S. M. Nanomedicine: current status and future prospects / S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray // FASEB J. – 2005. – Vol. 19. – P. 311–330.
14. Nakamura E. Functionalized fullerenes in water: the first 10 years of their chemistry, biology, and nanoscience / E. Nakamura, H. Isobe // Acc. Chem. Res. – Vol. 36. – P. 807–815.
15. Ryan J. J. Fullerene nanomaterials Inhibit the allergic response / J. J. Ryan, H. R. Bateman, A. Stover // J. Immunol. – 2007. – Vol. 1. – P. 665–672.
16. Satoh M. Pharmacological studies on fullerene (C₆₀), a novel carbon allotrope, and its derivatives / M. Satoh, I. Takayanagi // J. Pharmacol. Sci. – 2006. – Vol. 100. – P. 513–518.
17. Schwartz L. Effector cells of anaphylaxis: mast cells and basophiles / L. Schwartz // Novartis Found, Symp. – 2004. – Vol. 257. – P. 65–74.
18. Taylor A. E. Fullerene derivatives protect against oxidative stress in murine macrophage line cells and ischemia-reperfused lungs / A. E. Taylor // Am. J. Physiol. – 2004. – Vol. 287. – R1–R2.
19. Treatment with anti-CC chemokine receptor 3 monoclonal antibody or dexamethasone inhibits the migration and differentiation of bone marrow CD34⁺ progenitor cells in an allergic mouse model / S. Ben, X. Li, F. Xu [et al.] // Allergy. – 2008. – Vol. 63. – P. 1164–1176.

Summary

EFFECT OF FULLERENES ON THE ALLERGIC INFLAMMATION DEVELOPMENT IN EXPERIMENT

Kutsenko N.L., Mikityuk M.V., Bobrova, N.A., Kaidashev I.P.

Key words: fullerenes, bronchial asthma, ovalbumin, allergic inflammation.

The influence of fullerene C₆₀ (FC₆₀) and modification of the fullerene (1,2 methanofulleren C₆₀)-61 carboxylatsida on the development of allergic inflammation in a model of bronchial asthma was studied.

The experimental model of asthma has been replicated in mice of the Balb / c line, by intraperitoneal sensitization followed by inhalation of 1% solution of ovalbumin. The animals with bronchial asthma intraperitoneally introduction aqueous dispersion of FC60, aqueous dispersion of FC60 in a mixture with ovalbumin, an aqueous solution of the modified conjugated with ovalbumin.

Studies have shown that the different forms of fullerenes C60 led to intensity of allergic inflammation decrease. Therapeutic effect as for the fullerene conjugated with ovalbumin, as not conjugated was observed.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,

Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 11.11.2009

УДК [543.645.6:616.748-092.9]:543.42

ДОСЛІДЖЕННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО СПЕКТРУ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСУ, ОТРИМАНОГО ІЗ СТЕГНОВИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ

Весніна Л.Е., Солохіна І.Л.

Науково-дослідний інститут генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики, Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

В работе представлены данные о получении комплекса пептидных веществ из бедренных мышц крыс и определении их характеристик с помощью обратно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование хроматографического спектра комплекса пептидов бедренных мышц в сравнении с пептидным комплексом коркового вещества почек крыс позволило определить различия как в количестве фракций, их расположении вдоль хроматограммы, так и по их гидрофобности.

Ключевые слова: регуляторные пептиды, пептидный комплекс бедренных мышц, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Одним із найважливіших та актуальних питань сучасної біології та медицини полягає в дослідженні ролі регуляторних пептидів в механізмах регуляції гомеостазу в нормі та при патології. Останні дослідження свідчать, що головні системи, відповідальні за підтримку сталості внутрішнього середовища - нервова, ендокринна, імунна мають єдиний механізм хімічної регуляції, який реалізується опосередковано синтезом та секрецією клітинних медіаторів: пептидних гормонів та цитокінів [12].

Пептидні молекули виконують сигнальну роль та роль регуляторів різноманітних функцій організму – від окремих функцій спеціалізованих клітин до складних поведінкових актів [7].

В основі пептидергічної регуляції знаходиться загальний тип отримання та переносу інформації на субклітинному, клітинному та тканинному рівнях, що забезпечується поступовим переходом спектрів біологічної активності окремих пептидів та спроможністю адекватно реагувати на різноманітні втручання [12].

На даний момент досягнутий значний прогрес в області створення лікарських препаратів на основі пептидів, активно вивчається їх клінічна ефективність з метою обґрунтування використання в комплексній терапії різноманітних захворювань та патологічних станів [11].

Так, зокрема, під керівництвом професора Кайдашева І.П. на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Української медичної стоматологічної академії проводились дослідження біологічної активності низькомолекулярних пептидних комплексів нирок, печінки, селезінки, тимусу, міокарда, пародонта, лімфовузлів, підшлункової залози. Вивчалась терапевтична активність окремих пептидів при експериментальних патологічних станах (аутоімунний панкреатит, алоксановий діабет, гострий стрес, гостре отруєння, тощо), їх імунотропна дія. Проводилась розробка фармакологічної речовини на основі пептидних комплексів [4,5,6].

Подальші дослідження в цій актуальній області, зокрема, виділення нових пептидних речовин, визначення їх біологічної активності, дали б змогу доповнити уяву про міжклітинну пептидергічну взаємодію в цілісному організмі, сприяти розвитку фармакологічного аспекту даного питання, розширюючи спектр використання пептидних речовин в якості лікарських засобів. Тому метою роботи стало отримання пептидного комплексу стегнових м'язів щурів та визначення його хроматографічного спектру.

Матеріали та методи дослідження

Для дослідження використовували скелетні м'язи 6-ти місячних щурів лінії Вістар, в якості контролю

використовували пептидний комплекс кіркової речовини нирок. Поліпептидні речовини екстрагували з тканин за методикою [1] в нашій модифікації.

Тканини скелетних м'язів очищували від судин, фасцій та жирової тканини, подрібнювали до консистенції фаршу у ступці на холодну, заливали холодним ацетоном у співвідношенні 1:10 та зберігали при +4 °С протягом 12-24 годин. Потім ацетон видаляли, тканини висушували при постійному помішуванні при кімнатній температурі. Висушені тканини екстрагували 3% льодовою оцтовою кислотою з додаванням 0,1% хлориду цинку та 0,1% хлориду магнію у співвідношенні 1:10 при +4 °С протягом 72 годин при постійному перемішуванні.

Суміш фільтрували для видалення дисперсного осаду, фільтрат обробляли ацетоном у співвідношенні 1:10 при +4 °С протягом 12-24 годин. Отриманий преципітат промивали сумішшю ацетону та ефіру у співвідношенні 1:1, висушували та розчиняли у підкисленій дистильованій воді. Для отримання пептидів з молекулярною масою до 10 кДа розчин центрифугували через фільтр з діаметром пор 10 кДа.

Поліпептидні екстракти аналізували в умовах об'єдно-фазової високоефективної рідинної хроматографії, яка дає можливість розділення складних сумішей та дослідження речовин тваринного походження, що мають мінімальні відмінності у фізико-хімічних властивостях. Дослідження проводили у двох паралелях. Для ідентифікації отриманого пептидного комплексу 0,1 г досліджуваного матеріалу розчиняли у 1,0 мл дистильованої води, центрифугували протягом 15 хвилин при 3000 об/хв. Отриманий розчин фільтрували через мембранний капроновий фільтр ММК-0,20 з розміром пор 0,2 мкм, першу порцію фільтрату відкидали. Для аналізу використовували проби об'ємом 6 мкл.

На рідинному хроматографі «Міліхром-4ВУФ» (Росія) використовували систему SMART tm SYSTEM (LKB, «Pharmacia», Швеція). Дотримувалися наступних умов: колонка μ RCP-C2/C18-SC 2,1/10, діаметр 10 мм, довжина 600 мм (Code No. 17-0704-0, «Pharmacia» (Швеція); сорбент – Сефадекс G-25; рухома фаза: ацетонітрил - 1% розчин трифтороцтової кислоти («Applied Biosystems», USA Analytical Grade) – вода дегазована через фільтр POP-16 або іншим зручним способом.

Гradientне елювання відбувалось за наступних умов:

№ ПФ	Об'ємне співвідношення компонентів ПФ, об %			Об'єм ПФ, мкл
	Ацетонітрил	1% ТФО кислота	Вода	
1	0	1	9	400
2	0,5	1	8,5	50
3	1	1	8	50
4	2	1	7	100
5	4	1	5	400
6	8	1	1	400
7	8	1	1	50
8	10	1	0	500

Швидкість рухомої фази – 80 мкл/хв, детекцію проводили при довжині хвилі 280 нм та температурі колонки 20°C.

Результати та їх обговорення

Вперше пептидні біорегулятори багатоклітинних систем було отримано з гіпоталамічної області мозку, епіфізу, тимусу та судинної стінки за допомогою оцтовокислої екстракції в присутності іонів Zn^{2+} , з наступним осаджуванням комплексів поліпептидів ацетоном та очищуванням методом гель-фільтрації для видалення важкорозчинних фракцій [8,9,10]. Даний метод екстракції пептидів із біологічних тканин дозволив позбавитись баластних та алергенних компонентів [2].

Нами були внесені модифікації в методику виділення пептидних екстрактів, що базувались на використанні більш активної галогенвмісної органічної кислоти та введення в систему екстракції крім іонів цинку, іонів магнію [1]. Це дозволило отримувати пептидні комплекси з більш значною біологічною активністю [3].

Хроматографічний спектр екстракта стегнових м'язів щурів представлений на рис.1.

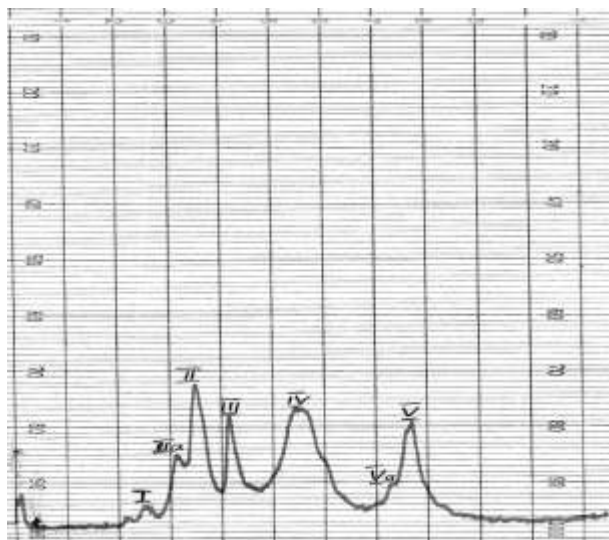


Рис 1. Хроматограма комплексу поліпептидів стегнових м'язів щурів

Тут та на рис. 2:

по осі ординат – оптична густина, опт. Од.;

по осі абсцис – час утримання, хв.

Аналіз хроматографічного спектру пептидів м'язів стегна показав наявність 5 фракцій. Фракції II та V включали додаткові піки (II, IIa та V, Va). Найбільш питома вага припадала на фракції II, III, IV та V. За обсягом фракції розподілилися наступним чином: IV, II, V, III, I. Враховуючи відносну рівномірність розподілення фракцій по довжині хроматограми, зроблено висновок про вміст пептидів з різним ступенем гідрофільності та гідрофобності у складі екстракту. Визначено, що основна маса речовини містилася в більш гідрофобній частині хроматограми з часом утримання від 20 до 50 хвилин та достатньо високій оптичній густині при 280 нм.

Для порівняння було використано пептидний екстракт, отриманий за таким же методом з кіркової речовини нирок щурів. Хроматограма пептидного комплексу кіркової речовини нирок представлена на рис.2.

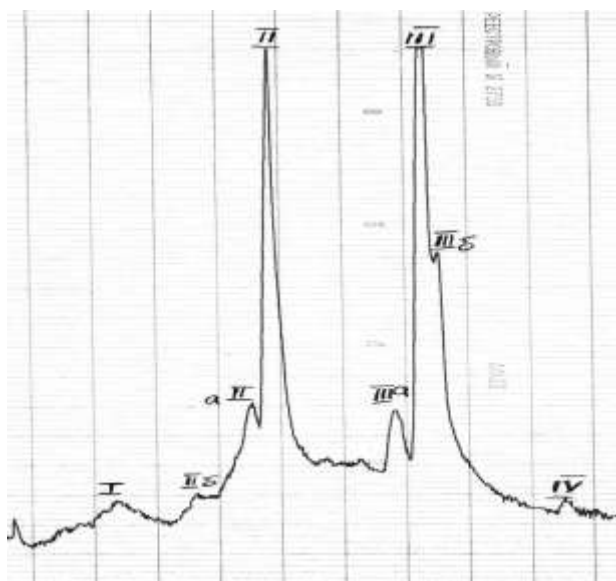


Рис 2. Хроматограма комплексу поліпептидів кіркової речовини нирок щурів.

Згідно результатам, комплекс регуляторних пептидів кіркової речовини нирок містить 4 фракції та відрізняється за характером їх розташування по довжині хроматограми. Також, фракції II та III мали по два додаткових піки (IIa, IIб та IIIa, IIIб, IIIг). Основні фракції з найбільшою питомою вагою - II, III, розташовувалися у частині хроматограми з меншим часом утримання до 50 хвилин та характеризувалися більшою гідрофільністю. Характерним було також наявність на хроматограмі піку з часом утримання близько 50 хвилин та достатньо високою оптичною щільністю при 280 нм. У цілому фракції розподілилися (в порядку збільшення питомої ваги) в послідовності I, IIб, II, IIa, IIIa, III, IIIб, IV.

Таким чином, нами було отримано поліпептидні екстракти стегнових м'язів та кіркової речовини нирок щурів. При дослідженні хроматографічного спектру отриманих речовин визначено відмінності як за кількістю фракцій, їх розташуванням впродовж хроматограми, так і за їх гідрофобністю.

Висока ефективність пептидних препаратів, яка неодноразово підтверджена в експериментальних дослідженнях та дослідом клінічного використання,

потребує подальше вивчення їх механізмів фізіологічної дії, розподілу в організмі, очікувані та побічні ефекти. А це, в свою чергу, окрім рішення важливіших проблем біологічної регуляції організму за фізіологічних умов, дозволить намітити нові підходи до терапії та профілактики багатьох захворювань.

Література

1. А.с. 10180А Україна. МКІ 5 А61 К37/00. Спосіб одержання біологічно-активної речовини, що має регенераторну та модулюючу дію // Промислова власність. - 1996. - №3. - С. 3.1.76-3.1.77.
2. Изучение белковых компонентов пептидных регуляторов природного происхождения / Г.А. Рыжак, П.А. Некрасов, О.И. Киселев, В.Х. Хавинсон // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 2003. - Т. 135, № 1. - С.62-65.
3. Кайдашев И.П. Влияние почечных полипептидов на активность лимфоцитов при экспериментальном нефрите // Физиол. журн. - 1993. - Т. 39, № 5-6. - С. 52-56.
4. Кайдашев И.П. Новая группа биологических регуляторов багатоклеточных систем - пептиды головного комплекса гистосумисности // Журн. АМН України. - 2000. - Т. 6, №1. - С. 26-38.
5. Кайдашев И.П., Веснина Л.Е., Куценко Н.Л., Звягольська І.Н. Відтворення імунної відповіді на Ало- та гетероантигени введенням екзогенних пептидних комплексів здорових тварин при вторинних імунodefіцитах, викликаних дією антицитохромоксидазної сироватки // Проблеми екології та медицини. - 2004. - №1-2. - Т. 5. - С. 33-37.
6. Кайдашев И.П., Куценко Л.О., Боброва Н.О., та ін. Вивчення впливу пептидного екстракту підшлункової залози // Ліки. - 2005. - № 1-2. - С. 46-52.
7. Климов П.К., Барашкова Г.М. Эндогенные пептиды как единая система регуляторных веществ // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. - 1993. - Т.79, № 3. - С. 80-87.
8. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Влияние экстракта из тимуса на процессы заживления ожоговых ран в эксперименте // Эксперим. хирургия и анестезиология. - 1974. - № 2. - С. 49-51.
9. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Выделение, очистка и идентификация иммуномодулирующего полипептида, содержащегося в тимусе телят и человека // Докл. АН СССР. - 1981. - Т. 261, № 1. - С. 235-239.
10. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Писарев О.А. Выделение из тимуса и изучение природы фактора, стимулирующего иммуногенез // Докл. АН СССР. - 1977. - Т. 233, № 3. - С. 491-494.
11. Хавинсон В.Х., Анисимов В.Н. Физиологические аспекты пептидной регуляции старения // - 2009. - Т. 13, № 4. - С. 254-258.
12. Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Ашмарин И.П. Пептидергическая регуляция гомеостаза // Успехи соврем. биологии. - 2002. - Т. 122, № 2. - С. 190-203.

Summary

THE INVESTIGATION OF CHROMATOGRAPHIC SPECTRUM OF PEPTIDE COMPLEX OBTAINED FROM THE RAT FEMORAL MUSCLES

Vesnina L.E., Solohina I.L.

Key words: regulatory peptides, peptide complex femoral muscles, high-performance liquid chromatography.

Research Institute for Genetic and Immunological Grounds of Pathology and Pharmacogenetics, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

This paper presents data on peptide complex substances from rat femoral muscles and determines their characteristics by using reverse-phase high-performance liquid chromatography. Chromatographic spectra of peptide complexes of femoral muscles and cortical substance of kidneys were compared. The differences in the number of fractions, their positions within chromatographic picture (hydrophobic properties) were found and described.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,
Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 11.12.2009

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

УДК 616.72 – 002.72: 579.01.8:575.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРА 4 ASP299GLY У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Белоглазова К.В., Шлыкова О.А., Измайлова О.В. Кайдашев И.П.

Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского, г. Симферополь,
Высшее государственное учебное заведение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия» г. Полтава

У 37 хворих ревматоїдним артритом (РА) була вивчена частота поліморфізму гену Toll-like рецептора 4 Asp299Gly. Встановлено, що більшість хворих РА є носіями гомозиготного варіанту (AA) Asp299Gly Toll-like рецептора 4. Носії алелю G (AG,GG,G) Asp299Gly Toll-like рецептора 4 значно частіше зустрічаються в групі хворих РА, чим в групі здорових донорів. Можна передбачити, що хворі РА з гомозиготним варіантом (AA) Asp299Gly Toll-like рецептора 4 є гіперреспондерами на ендотоксин, тоді які мають алель G Asp299Gly даних рецепторів мають схильність до розвитку РА.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, Toll-like рецептори, поліморфізм.

В последние годы накапливается все больше сведений о патологиях, связанных с Toll-подобными рецепторами [9]. Широкий спектр лигандов TLR и представленность этих рецепторов на большинстве клеток организма способствуют вовлечению TLR в патогенез многих заболеваний. Дефекты в системе TLR: нарушения распознавания лигандов, экспрессии TLR, трансдукции сигнала, выработки эффекторных молекул, а также полиморфизм генов TLR могут приводить к развитию тяжелых инфекционных заболеваний (сепсис, менингит), аутоиммунных заболеваний, атеросклероза, аллергопатологии [9].

Целью данной работы явилось изучение генетического полиморфизма Toll-like рецептора 4 Asp299Gly у больных ревматоидным артритом (РА).

Материал и методы

Исследование проводилось на образцах крови 37 больных РА, находившихся на лечении в ревматологическом отделении КРУ клинической больницы им. Н.А.Семашко г. Симферополя, и 23 доноров. Все больные поступили в стационар по поводу обострения основного заболевания. Возраст пациентов РА от 19 до 72 лет. Длительность заболевания от 1 года и выше 10 лет.

У всех больных выявлен положительный ревматоидный фактор (серопозитивный вариант РА). Диагноз РА устанавливали по критериям ACR (Американская Коллегия Ревматологов, 1987г) [1]. Основными клиническими проявлениями являлись боль (при пальпации и движении), припухлость пораженных суставов, утренняя скованность в суставах от

30 минут, выраженное ограничение подвижности суставов. Данные объективного обследования суставов, используя стандартные опросники HAQ. По данным рентгенологического исследования были выявлены типичные для РА изменения. Рентгенологическую стадию определяли по модифицированному методу Steinbrocker. Активность РА по клиническим и лабораторным данным в среднем соответствовала II степени. Активность болезни определяли согласно классификации, принятой в Украине в 1979 (Ассоциация Ревматологов Украины 2002г) [3]. Нарушение функции суставов у больных РА было не менее II степени.

Материалом исследования служила периферическая кровь, которую получали при поступлении больного на стационарный этап лечения.

С целью изучения аллелей полиморфного участка Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 выделили ДНК из венозной крови обследованных методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфный участок ДНК амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», Москва) с использованием специфических олигонуклеотидных праймеров. Ампликоны подвергали рестрикционному анализу и идентифицировали методом электрофореза в агарозном геле.

Полученные результаты были обработаны с помощью статистики для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ТОВ «Альфа», г.Донецк.

Результаты и их обсуждение

Данные о частоте полиморфизма гена Toll-like рецептора 4 Asp299Gly у больных РА представлены в таблице 1

Таблица 1
Частота полиморфизма гена Asp299Gly Toll-like рецепторов 4 типа у больных РА.

Генотип, аллель	Контрольная группа, абс.% (n=23)	Группа больных ревматоидным артритом % (n=37)
GG	0,0 (0)	2,70* (1)
AG	4,35 (1)	10,81* (4)
AA	95,65 (22)	86,50 (32)
G	2,18	8,1*
A	97,82	91,9

* $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Анализируя данные таблицы выявлена высокая частота встречаемости аллеля G и генотипов AG, GG у больных РА. В группе здоровых доноров частота генотипов была следующая: AA-95,65%, AG-4,35%, аллель A встречался у 97,82%, а аллель G у 2,18% обследованных. Обращает на себя внимание отсутствие гомозиготного варианта GG, что возможно связано с небольшой кагортой обследованных. Сравнение частот встречаемости генотипов и аллелей A и G в контрольной и в группе больных РА показало, что среди больных РА аллель G встречается в 3 раза чаще, чем в контрольной группе, а генотипы AG, GG в 2 раза чаще.

Исходя из полученных результатов можно предположить, что лица имеющие аллель G гена Asp299Gly предрасположены к развитию РА.

Известно, что РА является иммунологически опосредованной болезнью с гиперактивацией В-клеточного звена иммунитета [12].

Известно, что классическим поликлональным активатором В-лимфоцитов является липополисахарид (ЛПС, эндотоксин - ЭТ), представляющий собой основной структурный компонент внешней мембраны грамотрицательных бактерий, постоянно действующим резервуаром, которой являются дистальные отделы кишечника [10;19].

Решающую роль в распознавании эндотоксина (ЭТ) грамнегативной бактерии и бактериальной ДНК играют CD 14 рецепторы на клетках моноцитарно-макрофагального ряда, которые не имея внутрицитоплазматического домена передают сигнал Toll-like рецепторам, преимущественно TLR4 типа [2;7]. Toll-like рецепторы входят в суперсемейство интегральных мембранных гликопротеинов I типа, которые экспрессируются на антиген-презентирующих клетках, включая макрофаги и дендритные клетки, и играют решающую роль в распознавании микробных компонентов, так называемых pathogen-associated molecular patterns [2].

Распознавание микробных компонентов TLR инициирует активацию сигнальных путей, в результате чего происходит экспрессия генов цитокинов (ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ИФН α/β и других), ко-стимуляторных молекул и некоторых других генов. Продукты этих генов контролируют систему врожденного иммунитета и, в дальнейшем, направляют развитие адаптивного иммунного ответа [8;16]. Характер и интенсивность ответа, опосредуемого TLR, определяется несколькими компонентами, составляющими систему TLR. Система TLR включает лиганды TLR, сами рецепторы (гены, кодирующие TLR, мРНК, белок), молекулы, осуществляющие трансдукцию сигнала – адаптерные белки, а также эффекторных молекул, которые вырабатываются в результате активации TLR и опосредуют их дальнейшие эффекты [8;13].

Arbour с соавт. в проведенном исследовании показали, что случайные мутации генов Asp299Gly и Thr399Ile оказывают влияние на внеклеточный домен Toll-like рецепторов 4 типа, ассоциированный с ослабленным ответом на ингаляционный ЛПС у человека. Мутация Asp299Gly прерывает TLR4- опосредованный ЛПС сигнал [6].

Данное исследование показало, что генетически обусловленная мутация Toll-like рецепторов 4 типа (мутация Asp299Gly) приводит к различному ответу на ЛПС [6].

В недавно проведенных экспериментах на мышах было выявлено, что мыши, у которых имелись дефекты функции TLR4 являются гиперреспондерами к ЭТ. Предполагают, что TLR4 играют важную роль в сигнализации о наличии ЭТ. Был обнаружен ген TLR4 на уровне хромосом, отвечающий за дефектный ответ на ЭТ. В этом исследовании также были установлены независимые мутации в генах TLR4 двух ЛПС гиперреспондерных линиях мышей (C3H/HeJ and C57BL10/ScCr). Это даёт возможность предположить, что TLR4 является доминантным рецептором для ЭТ in vivo [15].

У человека были идентифицированы полиморфные аллели TLR4 типа. Один из таких, сравнительно распространенных, полиморфизмов TLR4 типа может быть связан с повышенным риском развития септического шока и снижением риска развития атеросклероза, но не ассоциирован с повышением риска менингококковой инфекции. Однако другие аллели этого гена, которые встречаются реже, могут предрасполагать к развитию этой инфекции. Таким образом, TLR4 принимает непосредственно участие в сигнальном ответе на различные экзогенные и эндогенные молекулы [18].

Парадоксальным на первый взгляд могут показаться данные полученные Mieke F. Roelofs с соавт. (2008) при изучении взаимосвязи между функциональными вариантами (Asp299Gly) Toll-like рецептора 4, CD 14+ рецепторов и провоспалительных цитокинов у больных ревматоидным артритом, которые выявили, что AG вариант рецептора ассоциируется с более высоким уровнем CD 14+ рецепторов у больных ревматоидным артритом и с менее выраженным цитокиновым провоспалительным ответом на ЭТ в культуре мононуклеарных клеток [17]. На наш взгляд, это можно объяснить с позиций различных концентрации в периферической крови белка связывающего ЭТ (LPB) у больных РА и концентрации данного белка в культуральной среде, где обычно используется эмбриональная коровья сыворотка. Как известно, активация CD 14+ рецепторов под действием ЭТ происходит после образования комплекса ЛПС–LPB [8]. Не исключено, что более высокий ответ на ЛПС у больных РА с гомозиготным аллелем AA (которых в процентном отношении больше) связано с альтернативными пу-

тями эндотоксиновой активации клеток через другие типы рецепторов (CD 18, сквенджер рецепторы и др).

Выводы:

1. Установлено, что большинство больных РА (86,50%) являются носителями гомозиготного варианта (AA) Asp299Gly Toll-like рецепторов 4 типа.
2. Носители аллеля G Asp299Gly Toll-like рецептора 4 значительно чаще встречаются в группе больных РА, чем в группе здоровых доноров ($p < 0,05$).
3. Можно предположить, что больные РА с гомозиготным вариантом (AA) Asp299Gly Toll-like рецепторов 4 типа, являются гиперреспондерами на эндотоксин, в то время как имеющие гетерозиготный вариант Asp299Gly данных рецепторов имеют предрасположенность к развитию РА.

Литература

1. Балабанова Р.М. Ревматические болезни / Балабанова Р.М., под ред. В.А.Насоновой., Н.В.Бунчука.- М.,1997.- С.257-294.
2. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Дранник Г.Н. - К.: ООО "Полиграф плюс", 2006.-481 с.
3. Коваленко В.Н. Ревматоидный артрит: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение / В. Н. Коваленко // Ліки України.- 2005.- № 1.- С. 24-26.
4. Коваленко В.Н. Ревматические заболевания: итоги пленума правления Ассоциации ревматологов Украины / В. Н. Коваленко // Здоров'я України.-№ 21.-С. 13-15.
5. Насонова В.А. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний / В.А.Насонова, Е.Л.Насонов.- М.: Москва, 2003.
6. Arbour N. C. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans / N. C. Arbour, E. Lorenz, B. C. Schutte // Nat Genet.-2000.-Vol. 25.-P. 187-91.
7. B Cell Maturation Antigen, the Receptor for a Proliferation-Inducing Ligand and B Cell-Activating Factor of the TNF Family, Induces Antigen Presentation in B Cells / Min Yang, Hidenori Hase // The Journal of Immunology.-2005.- Vol. 175.-P. 2814-2824.
8. CD14+,CD16+ blood monocytes and joint inflammation in rheumatoid arthritis./ N. Kawanaka, Yamamura et al. // Arthritis Rheum.- 2002.-Vol.46,N.10.-P. :2578.
9. Heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like receptor-4 complex./ K. Ohashi, V. Burkart, S. Flohe, H. Kolb // J Immunol.-2000.-Vol. 164.-P. 558-561.
10. Heine H. The biology of endotoxin / H. Heine, E.T. Riet-schel, A.J. Ulmer // Mol. Biotechnol.- 2001.-Vol.19,№3.-P. 279-296.
11. Immune activation in the small intestine in patients with rheumatoid arthritis / R Nissinen, M Leirisalo-Repo et al. // The Journal of Immunology.-2003
12. Inflammation in Rheumatoid Arthritis // Arthritis Rheum.- 2002.-Vol. 46,No.10.-P. 2578-2588.
13. Inhibition of Toll-like receptor 4 breaks the inflammatory loop in autoimmune destructive arthritis / S. Abdollahi-Roodsaz, L.A. Joosten et al. // Arthritis Rheum.-2007.-Vol. 56,N.9.-P. 2957-2967.
14. Macintire D.K. Bacterial translocation: clinical implications and prevention / D. K. Macintire, T. L. Bellhorn // Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.-2002.-Vol. 32, №5.-P. 1165-1178.
15. Phylogenetic variation and polymorphism at the Toll-like receptor 4 locus (TLR4) / I. Smirnova, A. Poltorak, K. Edward, L Chan et al. // Genome Biology.-2000.-Vol.1,N.1.-P. 002.1-002.10.
16. Potentiation of lipopolysaccharide-induced chemokine and adhesion molecule expression in corneal fibroblasts by soluble CD14 or LPS-binding protein / Fukuda K, Kumagai N et al. // Invest Ophthalmol Vis Sci.-2005.-Vol.46,N.9.-P. :3095-3101.
17. The functional variant(Asp299gly) of Toll-like receptors 4 influences TLR4-mediated cytokine production in rheumatoid arthritis / F. Mieke, Roelofs, H. Mark, Wenink, J. M. Erik Toonen et al. // Journal of Rheumatology.-2008.-Vol.35,N.4.-P. .558-561.
18. Toll-like receptors(TLR)2 and TLR4 in human peripheral blood granulocytes:a critical role for monocytes in leukocyte lipopolysaccharide responses / Sabroe I, Jones EC,Usher Lret al. // J.Immunol.-2002.-Vol. 168.-P. 4701-4710.
19. Yakovlev M. Element of endotoxin theory of human physiology and pathology: systemic endotoxemia, endotoxin aggregation and endotoxin insufficiency / M. Yakovlev // J.Endotoxin Research. – 2000.-Vol. 16,N2.– P. 120- 122.

Summary

GENE POLYMORPHISM TOLL-LIKE RECEPTOR 4 ASP299GLY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTRITIS

Beloglazova K. V., Shlykova O. A., Izmaylova O. V., Kaidashev I. P.

Key words: rheumatoid arthritis, Toll-like receptor, polymorphism

37 patients with rheumatoid arthritis (RA) were studied for the frequency of polymorphism Asp299gly Toll-like receptor 4 types. It has been established that most of patients with RA are carriers of homozygous variant (AA) Asp299gly Toll-like receptor type 4. Carriers of heterozygous variant (AG, GG, G) Asp299gly Toll-like receptor 4-type are more often found in the group of patients with RA than in the group of healthy donors. It can be supposed that patients with homozygous variant (AA) Asp299gly Toll-like receptor type 4 are hyperresponder to endotoxin, while the patients with heterozygous variant Asp299Gly are predisposed to RA development.

Crimea State Medical University, Simferopol

Ukrainian Ministry of Health Public Service,

Ukrainian Medical Stomatological Academy,

Матеріал надійшов до редакції 30.09.2009

удк 616-008:9-575(477)

ПРО12АЛА ПОЛИМОРФИЗМ PPAR γ 2 И СЕНИЛЬНАЯ ДЕМЕНЦИЯ

Расин С.М., Шлыкова О.А., Расин М.С. Кайдашев И.П.

Высшее государственное учебное заведение Украины

«Украинская медицинская стоматологическая академия» г. Полтава

12Ала алель гена PPAR найдений у 8 з 42 вісімдесятирічних жінок з початковими явищами сеньільній деменції (СЕД). Наявність 12Ала алелю обумовлює фенотип з нижчим рівнем системного запалення, інсулінорезистентності і менш атерогенним ліпідним профілем. Це вказує на важливу роль PPAR γ 2 в патогенезі СЕД і доцільність застосування специфічних агоністів цих рецепторів в профілактиці і терапії СЕД.

Ключові слова: поліморфізм, фенотип, сеньільна деменція.

В настоящее время развитие деменции в пожилом и старческом возрасте, прежде всего, ее основных форм: болезни Альцгеймера (БА) и сосудистой деменции, связывают с процессами активации моноцитарной макрофагальной системы мозга и хронического воспаления [1]. В этих процессах важную роль играют ядерные транскрипционные факторы, особенно PPAR γ 2, активация которых имеет преимущественно противовоспалительную направленность [8]. PPAR γ 2 являются ключевыми факторами развития жировой ткани и энергетического баланса. Экспериментальные данные и клинические наблюдения указывают, что через PPAR γ 2 осуществляется связь внутриклеточного метаболизма жиров и углеводов с факторами внешней и внутренней среды, прежде всего, наличием жира в диете и уровнем липидов в плазме [7]. В популяционных исследованиях у большого числа европеоидов установлено, что наличие аллеля 12Ала PPAR γ 2 ассоциирован с уменьшением риска развития сахарного диабета 2 типа (СД2) и ожирением, состояний, ассоциированных с воспалением и тесно связанных с развитием деменции в пожилом и старческом возрасте [5]. PPAR γ 2 экспрессируется в микроглиальных клетках и моноцитах мозга и, по имеющимся данным, ингибирует нейротоксичность и экспрессию провоспалительных цитокинов микроглией, как *in vitro*, так и *in vivo* [8]. В связи с этим представляет интерес изучение влияния этого полиморфизма на активность процесса системного воспаления, жирового и углеводного обмена и развитие сенильной деменции.

Цель работы: изучить взаимосвязь между наличием 12Ала аллеля гена PPAR γ 2, воспалительными, метаболическими и когнитивными нарушениями у женщин старшей возрастной группы (восьмидесятилетних) с начальными явлениями сенильной деменции.

Материал и методы

Обследовали 182 женщины в возрасте от 70 до 102 лет (средний возраст $84 \pm 0,09$ лет), находившихся от 1 до 11 лет в Горбаневском гериатрическом пансионате (г. Полтава). Для установления диагноза сенильной деменции (СЕД) все женщины прошли психиатрическое, нейропсихологическое, нейропсихометрическое, неврологическое, магниторезонансную томографию мозга, а также всестороннее общеклиническое и лабораторное обследование. Диагноз СЕД устанавливался в соответствии с критериями МКБ-10 для БА 1 типа [2]. Основными данными для постановки диагноза СЕД служили жалобы женщин на прогрес-

сирующую в течение последних 1-5 лет потерю памяти и расстройство других когнитивных функций (трудности в произношении и понимании речи, планировании повседневной деятельности, распознавании предметов, лиц и другие известные феномены), подтвержденные и дополненные родственниками или соседями по палатам, а также медперсоналом пансионата, длительно наблюдавшим за ними. Учитывались данные нейропсихологического обследования, проведенного авторами в кооперации со штатным психиатром и психологом пансионата и результаты психометрического тестирования (MMSE (Mini Mental State Examination с дополнениями тестом рисования часов, CDR (Clinical Dementia Rating), GDS (Global Deterioration Scale) [методики тестирования см. 2]. При этом исключались иные возможные причины деменции: неврологические заболевания, делирий, депрессия. Во многих случаях нельзя было исключить сочетание БА с сосудистыми изменениями, т.е. имела место смешанная патология, однако больные, страдающие выраженной дисциркуляторной энцефалопатией, тяжелой артериальной гипертензией (АГ), перенесшие инсульт или острую ишемическую атаку, имеющие МРТ-признаки обширных ишемических очаговых поражений, в исследование не включались.

Избранная популяция отличалась однородностью по всем известным дискриминирующим факторам: полу, возрасту, социальному положению, уровню образования, показателям артериального давления, наличия метаболического синдрома, гликемии, состоянию липидного обмена, что обеспечило возможность статистического анализа относительно небольшой популяционной группы, по сравнению с ранее полученными нами данными о распространении этого полиморфизма в украинской популяции и других близких европеоидных популяциях [9].

Полиморфизм PPAR γ 2, изучался с помощью полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом, как описано нами ранее [9].

Наличие инсулинорезистентности (ИР) диагностировали по повышению уровня С-пептида в крови по сравнению с установленной лабораторной нормой.

Кровь из локтевой вены забирали натощак, с 8 до 10 часов утра, в центрифужные пробирки. С-пептид определялся в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов фирмы «Bergu» (США) и иммуноферментного анализатора «STAT FAX-303». Эти исследования выполнены в лаборатории Научно-исследовательского институт генетических и иммунологических основ развития патологии и фармакогенетики (директор - профессор

И.П. Кайдашев). Глюкоза крови и показатели липидного обмена: общий холестерин, триглицериды, бета-и пребеталипопротеиды - на автоматическом анализаторе «Chemistry Analyzer Minaray» (Япония) с использованием стандартных тест-систем. Контроль качества осуществлялся системой «Биоконт «С». Антропометрические данные с помощью медицинских весов, ростомера и сантиметровой ленты.

Статистическая обработка материала проводилась на персональном компьютере с помощью лицензированной статистической программы «Статистика», США (STATIST.4_5). Количественные показатели сравнивали с помощью t-критерия. Непараметрические

данные оценивались по критерию χ^2 точным методом Фишера.

Результаты исследований

Генотипирование проведено в группе 42 женщин 75-92 лет (средний возраст $84 \pm 1,3$ года) с установленной СЕД в начальной стадии. 12Ала аллель (генотипы Про12Ала и Ала12Ала суммарно) обнаружен у 8 (19%), что значительно меньше, чем в общей популяции украинцев (37%), исследованной нами ранее [9].

В таблице 1 представлены данные психометрического тестирования в группах с различными генетическими маркерами.

Таблица 1

Показатели психометрического тестирования в группах пациенток с различными генетическими маркерами

Показатель/ группа	n	MMSE	Тест рисования часов
12Ала	8	$21 \pm 1,1$	$6,8 \pm 0,29$
Про12Про	28	$18 \pm 0,92$	$4 \pm 0,19$
P		0,009	0,008

Из таблицы следует, что уровень когнитивных нарушений в группе имеющих 12Ала аллель ниже, чем у гомозигот по 12Про аллелю. В недавно опубликованном популяционном исследовании найдено, что у европеоидов с 12Ала аллелем базальный уровень

когнитивных функций выше и степень когнитивного снижения в течение 4 лет меньше, чем у лиц с генотипом Про12Про [14].

В таблице 2 представлены данные антропометрических измерений.

Таблица 2

Данные антропометрических измерений у больных сенильной деменцией в зависимости от наличия 12Ала аллеля

Показатель/ группа	n	Индекс массы тела, кг/м ²	Индекс талия/бедро, см	Окружность талии, см
12Ала	8	$31 \pm 1,2$	$0,99 \pm 0,05$	$93 \pm 1,0$
Про12Про	29	$29 \pm 0,9$	$0,98 \pm 0,03$	$91 \pm 0,9$
P		0,32	0,11	0,45

Из данных таблицы 2 следует, что в обеих группах отмечалась равная степень ожирения. В отличие от этого, в указанном выше популяционном исследовании ИМТ выше у лиц с 12Ала аллелем, возможно, вследствие участия в нем лиц обоего пола.

Нами изучены показатели системного воспаления: содержание С-реактивного белка, фибриногена, лейкоцитов крови и скорости оседания эритроцитов. В таблице 3 представлены полученные результаты.

Таблица 3

Показатели системного воспалительного процесса у больных сенильной деменцией в зависимости от наличия 12Ала аллеля

Показатель/ генетический маркер	n	СРБ, (мг/л)	Фибриноген, г/л	Лейкоциты, 10^9 /л	СОЭ, мм/час	Серомукоид, Ед
12Ала	8	+ у 2 ($3,3 \pm 1,1$)	$2,1 \pm 0,20$	$5,2 \pm 2,0$	$6,2 \pm 4,1$	$26 \pm 1,4$
Про12Про	29	+ у 26 ($7,2 \pm 0,4$)	$3,0 \pm 0,12$	$7,8 \pm 2,3$	$14 \pm 2,4$	$28 \pm 1,2$
P		$\chi^2=5,7$ 0,018	0,05	0,26	0,28	0,81

Из представленных данных следует, что показатели системного воспаления меньше у лиц с наличием 12Ала аллеля. Так СРБ обнаружен у 26 из 29 лиц с Про12Про генотипом (90%) и только у 2х из 8 больных с 12Ала аллелем (25%), среднее содержание его в 2 раза выше в группе 12Про. Уровень фибриногена также на 30% выше у лиц с Про12Про генотипом.

Данных о состоянии системного воспаления у лиц с СЕД в зависимости от полиморфизма 12Ала мы в доступной литературе не обнаружили, хотя известно, что при старении и развитии БА эти явления усиливаются [8].

В таблице 4 представлены показатели углеводного обмена в тех же группах

Таблица 4

Некоторые показатели углеводного обмена у больных сенильной деменцией в зависимости от генетических маркеров

Показатель/ группа	n	С-пептид, мг/л	Глюкоза, ммоль/л	Индекс С-пептид/ глюкоза
12Ала	8	$2,5 \pm 0,4$	$4,4 \pm 1,2$	$0,57 \pm 0,13$
Про12Про	29	$5,0 \pm 0,5$	$4,6 \pm 1,4$	$1,09 \pm 0,14$
P		0,04	0,15	0,03

Данные таблицы 4 свидетельствуют о меньшей степени инсулинорезистентности у лиц с 12Ала аллелем. Уровень базальной секреции инсулина у лиц с 12Ала аллелем, судя по содержанию С-пептида в крови, в два раза меньше у этой группы, чем у 12Про

гомозигот, при равной гликемии. Эти данные также получены нами впервые.

В таблице 5 представлены показатели липидного обмена в описанных выше группах больных СЕД.

Таблица 5
Некоторые показатели липидного обмена у больных сенильной деменцией в зависимости от генетических маркеров

Показатель/ группа	n	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, мг/л	В- и пре-β-липопротеиды, ммоль/л
12Ала	8	5,2±0,84	136±12	62±2,0
Про12Про	28	6,8±1,05	152±11	78±3,2
Р		0,05	0,42	0,04

Из полученных данных следует, что у больных с генотипом 12Ала ниже уровень общего холестерина и атерогенных липопротеидов, чем в популяции с генотипом Про12Про. Так уровень холестерина выше в последней группе на 23,5%, а уровень бета- и пре-бета-липопротеидов на 20,5%. Это соответствует имеющимся данным о состоянии липидного обмена у лиц с метаболическим синдромом [5].

Таким образом, нами установлено, что в исследованной нами группе больных СЕД, в целом, отмечается ожирение, системное воспаление, инсулинорезистентность, гиперлипидемия, то есть явления характерные для метаболического синдрома, однако степень этих нарушений существенно меньше, а когнитивные способности выше у части женщин этой группы, имеющих 12Ала аллель.

Обсуждение результатов

Кроме известных физиологических эффектов PPARγ2 играет важную роль в патогенезе различных болезней центральной нервной системы: рассеянного склероза, бокового амиотрофического склероза, болезни Альцгеймера и Паркинсона, а также атеросклеротических поражений мозговых (и других) сосудов [8]. Все эти заболевания объединяет их воспалительный характер [12]. Данные о способности PPARγ2 подавлять провоспалительные эффекты макрофагов и аутоиммунную агрессию привели к идее, что они могут быть отличными лечебными средствами при этих болезнях. Известные положительные эффекты нестероидных противовоспалительных препаратов, как выяснилось, по крайней мере, частично, осуществляются через активацию ими PPARγ2 [11]. Имеются отдельные сообщения о положительном эффекте специфических агонистов PPARγ2 - тиазолидинонов (глитазонов) при некоторых из названных выше заболеваний, в том числе, болезни Альцгеймера [6].

Помимо противовоспалительного, специфическим действием PPARγ2 является их способность преодолевать инсулинорезистентность (ИР), что достигается перераспределением потоков жирных кислот из плазмы в жировую ткань [4]. Наши предварительные исследования подтверждают наличие явлений хронического неспецифического воспаления, ИР и метаболического синдрома у старых женщин с явлениями СЕД (работа в печати). Так, уровень СРБ и фибриногена у них больше, чем у молодых женщин в 2,2 и 1,8 раза, соответственно, и на 20-40% больше, чем у аналогичной по всем параметрам группы восьмидесятилетних женщин без признаков СЕД. Такие же данные получены нами в отношении уровня С-пептида, отражающего секрецию инсулина и, таким образом, сви-

детельствующего о ИР. Этот показатель и индекс С-пептид/глюкоза оказался у восьмидесятилетних больных СЕД в 1,5 и 2 раза выше, чем у женщин без СЕД. Это еще раз подтверждает роль хронического воспаления и ИР в патогенезе СЕД.

В исследованиях физиологической и патофизиологической роли PPARγ2 большую роль играет изучение влияния распространенного в европейской популяции полиморфизма этих рецепторов Про12Ала, существенно влияющего на их функциональную активность. Установлено, что лица с 12Ала аллелем PPARγ2 менее подвержены заболеванию сахарным диабетом 2 типа (СД2), являющемуся конечным звеном ИР [5]. Показано также, что макрофаги, полученные от лиц с явлениями МС, который также является отражением ИР, менее активно секретируют противовоспалительные цитокины [4]. Работ, посвященных роли полиморфизма PPARγ2 в патогенезе БА и других заболеваний ЦНС крайне мало. Они проведены на различных контингентах больных с ранней и поздней формой БА и результаты их противоречивы [8, 14]. Согласно полученным нами данным наличие 12Ала аллеля обуславливает фенотип с более низким уровнем системного воспаления, инсулинорезистентности и менее атерогенным липидным профилем. Это указывает на важную роль PPARγ2 в патогенезе СЕД и необходимость более активной профилактики и лечения лиц с генотипом Про12Про.

Литература

- Абрамов А.Ю. Бета-амилоид активует синтез оксида азота в астроцитах гиппокампа и гибель нейронов/ А.Ю. Абрамов, В.А. Касымов, В.П. Зинченко // Биологические мембраны. -2008. -Том 25. -N1. - С. 11-17
- Гаврилова С. Болезнь Альцгеймера: диагностика и лечение/ С. Гаврилова // Врач. -М, 2004. -N6. - С. 22-26.
- Лутай М.И. . Атеросклероз: современный взгляд на патогенез. Укр. кардіол. журн. – 2004. – №1. – с. 22-34.
- Расін О.М. Молекулярні механізми протизапальної дії глітазонів та статинів: роль PPAR-γ / О.М. Расін, І.П. Кайдашев, М.С. Расін// Міжнародний ендокринологічний журнал.-2007.-№ 6(12).- С. 71-76.
- Altshuler D. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes / Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M. et al // Nat Genet.-2000.- Vol.26.-P. 76-80.
- Combs C. K. Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease: inhibition of β- amyloid-stimulated proinflammatory responses and neurotoxicity by PPARγ2 agonists, /Combs C. K., D. E. Johnson, J. C. Karlo et al.// The Journal of Neuroscience.-2000.- Vol. 20.- №. 2.- P. 558-567.
- Desvergne B. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism /Desvergne B. Wahli W // Endocr Rev.- 1999.- Vol.20.- P. 649-688.
- Heneka M.T. PPARs in the brain /Heneka M.T., Landreth GE// Biochim Biophys Acta.- 2007. – V.-1771(8).-P. 1031-45.

9. Kaydashev I.P. Frequency of the Pro12Ala gene polymorphism PPAR γ 2 in ukrainian population and its possible role in metabolic syndrome development Kaydashev I.P., Rasin A.M., Shlykova O.A. // Cytology and Genetics.- 2007.- Vol. 41, № 5.- P. 43-47.
10. Landreth G/ PPARgamma Agonists as Therapeutics for the Treatment of Alzheimer's Disease / Landreth G, Q. Jiang, S. Mandrekar//Neurotherapeutics.- 2008.- Vol.5,N.3.-P. 481-489.
11. McGeer P.L. Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease /McGeer P.L., McGeer E.G.// Neurobiol Aging.- 2001.-Vol. 22.-P. 799–809.
12. Scacchi R. The peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ 2) Pro12Ala polymorphism is associated with higher risk for Alzheimer's disease in octogenarians /R. Scacchi, A. Pinto, G. Gambina, A. Rosano//.- doi:10.1016/j.neurobiolaging.- 2008.- Vol. 6.- P. 005.
13. Watson G. S. Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study /Watson G. S. , B. A. Cholerton, M. A. Reger, et al.// American Journal of Geriatric Psychiatry.- 2005.- Vol. 13, – 11. P. 950–958.
14. Yaffe K. PPAR γ 2 Pro12Ala genotype and risk of cognitive decline in elders /K. Yaffe, MD, A.M. Kanaya, MD, K. Lindquist, MS at al.// Neurobiol Aging.- 2008.-Vol. 29, N.1.- P. 78–83.

Summary

PRO12ALA POLYMORPHISM OF PPAR γ 2 AND SENILE DEMENTION

Rasin S.M., Shlykova O.A., Rasin M.S., Kaydashev I.P.

Key words: polymorphism, phenotype, senile demention.

12 Ala allele of gene of PPAR γ 2 is found at 19% (8 persons) in the group of 42 women of senior age (eightygenaries) with the senile demention (SD). PPAR γ 2 play an important role in pathogenesis SD, what is testifies by more low level of system inflammation, insulinresistens and dyslipidemia at SD persons having 12Ala allele. This information confirm expedience of the use of specific agonists of PPAR γ 2 in a prophylaxis and therapy of SD.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,

Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 15.12.2009

ІНТЕГРАТИВНА МОРФОЛОГІЯ

УДК: 616.22-006.04-018

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ГОРТАНІ БЕЗ ОРОГОВІННЯ

Гасюк Ю.А.

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Установлено, что участки ранней инвазии плоскоклеточного рака гортани без ороговения имеют каплеподобную или гнездоподобную форму. В опухолевых комплексах наблюдается поэтапное нарушение процессов ороговения в раковых клетках, которое проявляется явлениями паракератоза. При этом раковые клетки имеют неполный набор ультраструктурных признаков плоскоклеточной дифференцировки. За счет патологических митозов, которые проявляются фрагментацией хроматина в профазу, конденсацией хроматина в метафазу и формированием микроядер в анафазу, раковые клетки поэтапно трансформируются в полиплоидные или анаэплоидные. Это вызывает выраженный клеточный и ядерный полиморфизм. Экспрессии цитокератина CK34 βE12 на периферии цитоплазмы клеток соответствует их тонофиламентозным структурам.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак гортани, дифференцировка.

Рак гортані складає близько 2% в структурі загальної онкозахворюваності та 60-70% в структурі онкооториноларингології. Актуальність даної проблеми обумовлена постійним зростанням захворюваності, несвоечасною діагностикою, складністю лікування, а також високим рівнем інвалідизації [1,4,6,8]. В переважній більшості випадків (95%) карцинома даної локалізації представлена різними гістологічними типами плоскоклітинного раку

[1,6,8]. Серед них досить часто зустрічається плоскоклітинний рак без ороговіння - злоякісна епітеліальна пухлина, клітинні елементи якої подібні на епітеліоцити проміжного (парабазального) шару багатoshарового плоского епітелію. Оскільки такі клітинні елементи являють собою проміжну стадію між базальними та шипуватими епітеліоцитами, то такий різновид карциноми також називають «інтермедіальний або проміжний рак» [2]. Таким чином актуальність проблеми, а також недостатні знання щодо її морфогенезу спонукають до вивчення морфологічних особливостей плоскоклітинного раку гортані без ороговіння.

Мета дослідження

Метою даного дослідження стало вивчення морфологічних особливостей плоскоклітинного раку гортані без ороговіння.

Об'єкт та методи дослідження

Вивчення морфологічних особливостей плоскоклітинного раку гортані (ПРГ) без ороговіння проводилось на підставі ретроспективного аналізу клініко-анатомічного матеріалу, який отримали у 44 хворих на I - II стадіях під час діагностичних біопсій.

Із отриманого матеріалу за загальноприйнятими методиками виготовляли препарати, які забарвлювались гематоксилін-еозином, а також комбінованим гістохімічним методом забарвлення Шифф-реактивом – альціановим синім з дофарбуванням за способом Бергмана. Крім того, проведені імуногістохімічні дослідження з визначенням ступеня експресії специфічного високомолекулярного цитокератину CK 34 βE 12 (DakoCytomation). В залежності від стадії мітотичного циклу, згідно [5], проведені цитогенетичні дослідження на імерсійному збільшенні мікроскопа із визначенням форм патології мітозів. Для вивчення ультраструктурної організації ракових клітин проведена прицільна електрона мікроскопія.

Результати дослідження

Проведені дослідження показали, що зони ранньої інвазії ПРГ без ороговіння мають краплеподібну або гніздоподібну форму. При краплеподібній формі інва-

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України "УМСА" "Запальні та незапальні хвороби органів і систем людини, що формуються під впливом екологічних, стресових, імунних, метаболічних та інфекційних факторів. Стан гомеостазу, гемодинаміки при застосуванні традиційних та нетрадиційних засобів лікування", номер держреєстрації: 0198V000134.

зії спостерігається відокремлення тяжів ракових клітин, які розшаровують або руйнують базальну мембрану епітелію. При гніздоподібній формі відмічається відшнуровування комплексів ракових клітин. На відміну від високодиференційованого плоскоклітинного раку з ороговінням, при даному гістологічному типі карциноми «ракові перлини» не утворюються. Ракові клітини мають базофільну цитоплазму. Проте іноді серед полігональних клітин зустрічаються клітинні елементи округлої форми з ацидофільною цитоплазмою. Ракові клітини з такими характеристиками мають тенденцію до поступового зроговіння. При цьому вони поступово перетворюються в глибоки із збереженим ядром. В пухлинних тяжках виявляються чисельні глибоки кератогіаліну з явищами паракератозу. Процеси зроговіння в ракових клітинах проходять у вигляді паракератозу або дискератозу, а не звичайного ортокератозу. Ядра атипичних клітин поліморфні, мають невеликі розміри та характеризуються різним ступенем забарвлення. Іноді ядра втрачають структуру хроматину, стають надзвичайно гіперхромними та мають вигляд глибок темно-синього кольору. Іноді зустрічаються бліді безструктурні тіні ядра, а також ядра, фрагментовані на дрібні зерна. Найбільш виражений клітинний та ядерний поліморфізм спостерігається на периферії пухлинних комплексів, де виявляються клітини, що мають витягнуту або веретеноподібну форму, а також багатоядерні атипичні клітини (рис. 1).

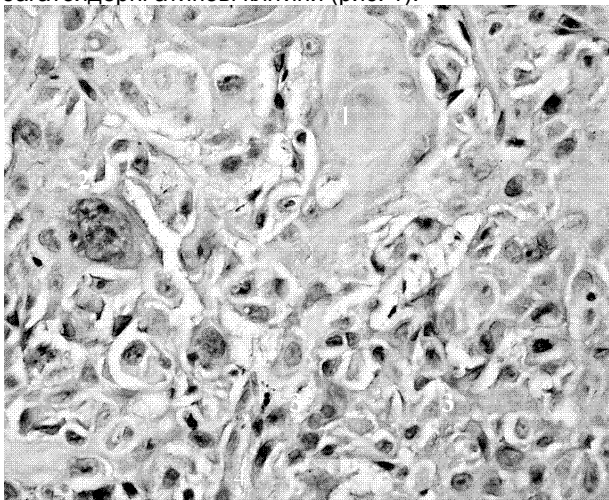


Рисунок 1. Явища паракератозу в ділянці інвазії ПРГ без ороговіння. 1. паракератоз; 2. гіперхромне ядро з комкуватим гетерохроматином; 3. поліморфні ракові клітини; 4. витягнуті ракові клітини. Заб. гематоксилін-еозином. 36. 40×10.

Проведені гістохімічні дослідження з використанням комбінованого забарвлення ШИК-реакція – альціановим синім з дофарбуванням за способом Бергмана показали, що атипичні клітини мають поліморфні Бергман-позитивні ядра, які характеризуються різним ступенем забарвлення. Ядра оточені світлою концентричною цитоплазмою, яка забарвлюється більш інтенсивно в ділянках міжклітинних контактів. Такі тинкторіальні особливості, очевидно, обумовлені десмосомоподібними контактами, а також виходом кератогіаліна за межі клітин. Таким чином при ПРГ без ороговіння спостерігається поетапне порушення процесів зроговіння в цитоплазмі атипичних клітин, що проявля-

ється явищами паракератозу. Проте, очевидно, що за рахунок наявності стратифікаційних десмосомоподібних контактів, частково зберігається пошарова орієнтація ракових клітин. З метою визначення ступеня ультраструктурного диференціювання ракових клітин проведено електронномікроскопічне дослідження. Для ПРГ без ороговіння характерні малодиференційовані атипичні клітини з темною цитоплазмою, що свідчить про її високу електронну щільність. Деякі з них мають цитоплазматичні відростки, за допомогою яких з'єднуються між собою, утворюючи синцитіальний пласт. При більш детальному вивченні встановлено, що цитоплазма темних клітин містить тонкі тонофібрили, розташовані за ходом відростків. Серед тонофібрил в цитоплазмі виявляються чисельні рибосоми та полірибосоми, що знаходяться на мембрані шорсткого ендоплазматичного ретикулуму. Наявність ракових клітин з темною цитоплазмою, згідно [7], свідчить про виражену катаплазію пухлини, а збільшення їх кількості являє собою несприятливу прогностичну ознаку. Крім того, в зонах інвазивних комплексів виявляються ракові клітини з дещо іншими ультраструктурними характеристиками. Такі клітини також характеризуються неповним набором ультраструктурних ознак плоскоклітинного диференціювання. Вони містять одиничні десмосомоподібні контакти, які розташовані між короткими цитоплазматичними виростами. При цьому міжклітинні щілини між ними розширені та містять речовину з низькою електронною щільністю. Навколо пікнотичного ядра та прилягаючих до нього мітохондрій в їх цитоплазмі виявляються тонкі пучки тонофіламентів.

Таким чином при ПРГ без ороговіння атипичні клітини характеризуються досить низьким ступенем диференціювання, оскільки не містять зерна кератогіаліну, контактують за допомогою одиничних десмосомоподібних контактів, а їх тонофібрили не збираються в пучки. При цьому в міжклітинних проміжках виявляється рогова речовина з низькою електронною щільністю. Це свідчить, що в ракових клітинах відбуваються процеси кератинізації за типом паракератозу. Даний процес, на відміну від ортокератозу, супроводжується каріопікнозом та виходом рогової речовини в інтерстицій.

Проведені цитогенетичні дослідження із застосуванням імерсійного збільшення показали, що в зонах інвазії ПРГ без ороговіння спостерігається велика кількість патологічних мітозів, які умовно можна розподілити на дві групи. Першу групу склали наступні форми патології мітозів: фрагментація гетерохроматину в профазу, яка проявляється гіперхромністю ядер, а також конденсація гетерохроматину в метафазу з формуванням в цитоплазмі ракових клітин окремих мікроядер. На фоні таких форм патології мітозів виявляються інтерфазні поліморфноядерні клітини із крупнобрильчатою та середньобрильчатою конденсацією ядерного гетерохроматину. Другу групу цитогенетичних змін склали наступні форми патології мітозів: кон'югація хромосом в профазу, комкувата метафаза та поява апоптичних ядерних тілець в цитоплазмі атипичних клітин. Такі патологічні мітози переважно спостерігаються на фоні інтерфазних ракових клітин, що містять в своїх ядрах середньобрильчатий та дрібнобрильчатий гетерохроматин.

Враховуючи проведені цитогенетичні дослідження можна припустити, що в зонах інвазій ПРГ без ороговіння відбувається два взаємопротилежних процеси [5]. Перший процес характеризується трансформацією ракових клітин, які містять в своїх ядрах крупнобрильчатий та середньобрильчатий гетерохроматин, в поліплоїдні або анаеплоїдні. Цей процес відбувається поетапно за рахунок виникнення наступних форм патології мітозів: фрагментації гетерохроматину в профазу, конденсації гетерохроматину в метафазу та формуванню мікроядер в анафазу. Таким чином в анафазу утворюються поліплоїдні, або анеуплоїдні атипові клітини. Такі цитогенетичні зміни обумовлюють значний клітинний та ядерний поліморфізм, характерний для зон інвазії ПРГ без ороговіння. Другий процес відбувається в інтерфазних атипових клітинах, які містять в ядрах середньобрильчатий та дрібнобрильчатий гетерохроматин. Патологія мітотичного поділу таких клітин характеризується наступними формами: кон'югацією хромосом в профазу, комкуватою метафазою та появою в цитоплазмі апоптичних ядерних тілець. В результаті таких цитогенетичних змін виникають явища паракератозу.

Поруч із ділянками ранньої інвазії, розташовані зони «cancer in situ» із збереженою базальною мембраною, зони дисплазії третього ступеня, а також ділянки із збереженою структурою багат шарового плоского епітелію, в проміжному шарі якого спостерігаються явища паракератозу. Очевидно, що на фоні паракератозу багат шарового плоского епітелію поступово виникають зони дисплазії третього ступеня, які в подальшому трансформуються в «cancer in situ». Таким чином при ПРГ без ороговіння визначаються різні гістотопографічні зони, що характеризуються нечітким розмежуванням. Формування цих зон обумовлено двома процесами: поступовою зміною мітотичного режиму клітинних елементів та порушенням процесів кератинізації в них. При ПРГ без ороговіння не утворюються багатоядерні клітини, внаслідок чого не формуються типові «ракові перлини». Це обумовлено не тільки особливостями патології мітозів, а також незавершеними процесами кератинізації, які спостерігаються лише на периферії цитоплазми ракових клітин. В результаті цього останні в більшості випадків мають світлу цитоплазму, тому даний гістологічний тип карциноми, за термінологією [2], має назву «світлоклітинний рак».

Проведені імуногістохімічні дослідження з визначенням експресії цитокератину СК 34 βЕ 12 в зонах інвазії показали високий та помірний ступінь його експресії. По периферії цитоплазми в більшості ракових клітин визначається темно-брунатне забарвлення у вигляді ореола. Очевидно, що забарвлені даним маркером ділянки цитоплазми відповідають тонофіламентозним структурам, які підходять до напівдесмосом [3]. В той же час на межі ракового комплексу визначаються смужки, забарвлені в темно-брунатний колір, що проростають через базальну мембрану в підлеглу сполучну тканину. Таким чином, очевидно, що інвазивний ріст карциноми обумовлений виникненням атипових проміжних фібрил, до яких відносять тонофіламенти (рис. 2).

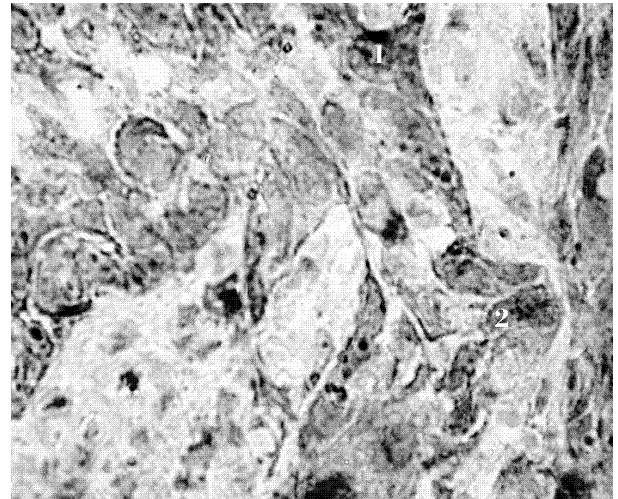


Рисунок. 2. Експресія цитокератину в ракових клітинах в ділянках інвазії ПРГ без ороговіння.

1. високий ступінь експресії на периферії цитоплазми; 2. високий ступінь експресії на межі ракового комплексу з інвазією підлеглої сполучної тканини. ІГХ метод, забарвлення на цитокератин СК 34 βЕ 12. 36. 100×10.

Висновки

1. При ПРГ без ороговіння зони ранньої інвазії мають краплеподібну або гніздоподібну форму та, в яких «ракові перлини» не формуються. В пухлинних комплексах спостерігається поетапне порушення процесів зроговіння в ракових клітинах, що проявляється явищами паракератозу.

2. В ділянках інвазивних комплексів виявляються ракові клітини з неповним набором ультраструктурних ознак плоскоклітинного диференціювання, оскільки не містять зерна кератогіаліну, контактують за допомогою одиничних десмосомоподібних контактів, а їх тонофібрили не збираються в пучки. В міжклітинних проміжках виявляється рогова речовина, що свідчить про процеси кератинізації в них за типом паракератозу.

3. В зонах інвазії визначається багато патологічних мітозів. За рахунок фрагментації гетерохроматину в профазу, конденсації гетерохроматину в метафазу та формуванню мікроядер в анафазу ракові клітини поетапно трансформуються в поліплоїдні або анаеплоїдні, завдяки чому виникає виражений клітинний та ядерний поліморфізм. З іншої сторони, кон'югація хромосом в профазу, комкувата метафаза та поява в цитоплазмі апоптичних ядерних тілець обумовлює розвиток паракератозу.

4. Високий та помірний ступінь експресії цитокератину СК 34 βЕ 12 на периферії цитоплазми ракових клітин очевидно відповідає їх тонофіламентозним структурам. Виражена експресія даного маркера на межі ракового комплексу з пенетрацією базальної мембрани та проростанням в підлеглу сполучну тканину свідчить, що інвазивний ріст карциноми обумовлений виникненням атипових проміжних фібрил, до яких відносять тонофіламенти.

Література

1. Абизов Р.А. Онкоотоларингологія. Лекції / Р.А. Абизов. - К.: Книга плюс, 2001. - 272 с.
2. Апатенко А.К. Эпителиальные опухоли и пороки развития кожи / А.К. Апатенко. - М.: Медицина, 1973. - 239с.

3. Гриценко П.А. Плоскоклеточный рак гортани: иммуногистохимический профиль цитокератинов и значение их в диагностике / П.А. Гриценко // Патология. – 2006. – №3. – С.37–40.
4. Заболотний Д.І. Новоутворення гортані: клініка, діагностика, лікування (аналітично-синтетичний огляд авторефератів дисертацій) / Д.І. Заболотний // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 1997. – №5. – С. 1–24.
5. Казанцева И.А. Патология митоза в опухолях человека / И.А. Казанцева. – М.: Медицина, 1981. – 260 с.
6. Пачес А.И. Опухоли головы и шеи / А.И. Пачес. – М.: Медицина, 2000. – 467 с.
7. Райхлин Н.Т. Ультраструктура опухолей человека / Н.Т. Райхлин, А.Г. Перовщиков, В.И. Ротенберг – М.: Медицина. – 1991. – 256с.
8. Ушаков В.С. Рак гортани: современные возможности и перспективы / В.С.Ушаков, С.В. Иванов // Практическая онкология. – 2003. – Т.4, №1. – С.56–60.

Summary

MORPHOLOGICAL FEATURES OF SQUAMOUS CELL CANCER OF LARYNX WITHOUT CORNIFICATION

Gasyuk Y.A.

Key words: squamous cell cancer of larynx, differentiation.

It is set that the areas of early invasion of squamous cell cancer of larynx without cornification have drop-similar or nest-similar form. In tumour complexes there is stage-by-stage violation of processes of cornification in cancer cells, which shows up the phenomena of parakeratosis. Thus cancer cells have an incomplete set of ultrastructural signs of squamous-cell differentiation. Due to pathological mitoses which show up fragmentation of chromatine during prophase, by condensation of chromatine during metaphase and forming of micronucleuses in anaphase, cancer cells are stage-by-stage transformed in polyploidal or anaeploidal, That is why appears the expressed cellular and nuclear polymorphism. The expression of cytokeratine CK34 β E12 on periphery of cytoplasm of cells corresponds to them tonofilamentosis structures.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,
Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 12.10.09

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

УДК: 616.1-084

ПРИНЦИПЫ И МЕРЫ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ БОЛЕЗНЕЙ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Ищейкина Ю.А.

Высшее государственное учреждение Украины

«Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

Робота присвячена науковому обґрунтуванню принципів і заходів первинної профілактики хвороб системи кровообігу. Вперше сформульовано чотири медико-екологічних принципи попередження виникнення кардіоваскулярної патології серед населення: вдосконалення правового регулювання використання екологічного середовища, науковий моніторинг екологічного середовища, створення умов для активного самоочищення природного середовища, програмно-комп'ютерне керування процесом накопичення та видалення виробничих відходів; а також вісім медико-соціальних принципів: оздоровлення макро-і мікроекологічних середовищ проживання населення, ефективна пропаганда серед населення медичних знань про хвороби системи кровообігу, систематичний лікарський і функціонально-діагностичний контроль за здоров'ям здорових людей і людей з факторами ризику по формуванню хвороб органів кровообігу, систематичне проходження кардіологічно здоровими і практично здоровими пацієнтами фізичного тренінгу, профілактичне аліментарне оздоровлення, систематичне бальнеологічне оздоровлення, систематичний медичний нагляд за режимом життєдіяльності, формування здорового способу життя у кардіологічно здорових і практично здорових пацієнтів.

Ключові слова: гігієна, профілактика, хвороби системи кровообігу.

В настоящее время большинство ученых подразумевают под первичной профилактикой предупреждение возникновения заболеваний [1,2,3,4]. Важнейшим её критерием является первичная заболеваемость, или частота возникновения болезней [3,5]. Патология системы кровообращения относится к наиболее важным проблемам современной медицины из-за её глобальной медико-социальной значимости, обусловленной доминированием данных заболеваний в структуре смертности и распространенности болезней, особенно среди населения пожилого и старческого возраста [6]. В связи с этим, актуальной представляется цель настоящей работы – формулирование научно обоснованных принципов и мер первичной профилактики болезней системы кровообращения.

Материалы и методы исследования

Для научного обоснования принципов и мер первичной профилактики болезней системы кровообращения были использованы гигиенические, эпидемиологические, социологические и математико-статистические методы [6,7]. В качестве модели исследования была выбрана популяция Донецкой области. Показатели техногенного загрязнения окружающей среды (атмосферный воздух, питьевая вода, почва, пищевые продукты), а также уровни первичной кардиоваскулярной патологии рассчитывались за период с 1989 по 2008 года, с вычислением средних

величин (М), их ошибок (m), критерия (t) и степени (p) достоверности.

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов качественной и количественной характеристики экологической среды обитания населения Донецкой области, страдающего болезнями системы кровообращения, показал зависимость сердечно-сосудистой заболеваемости от отдельных факторов экологической среды. Все эти данные свидетельствуют о том, что основу современной первичной профилактики болезней системы кровообращения, особенно среди населения урбанизированного региона, должны составлять меры оздоровления экологической среды обитания населения, то есть медико-экологической профилактики. Отсюда вытекает первый принцип первичной профилактики болезней системы кровообращения среди населения урбанизированного региона – оздоровление макро- и микро-экологической среды обитания населения.

Принципы и меры оздоровления экологической среды, как основы медико-экологической профилактики, истекают из результатов изучения характера, интенсивности, уровня и источников её загрязнения [1,2]. Так, характер и степень загрязнения экологической среды предопределяется, прежде всего, безвозмездностью её использования обществом в процессе производственной деятельности человека. Экономическая и юридическая безответственность использо-

вания экологической среды ведет к интенсификации этого процесса и дальнейшего загрязнения. Поэтому правовое регулирование использования природной среды выступает одновременно и как причина неограниченного загрязнения и как фундаментальное средство оздоровления природной среды. Отсюда первый принцип оздоровления экологической среды – совершенствование правового регулирования использования экологической среды. Этот принцип предполагает разработку правовых мер по следующим ключевым направлениям:

- введение правовой ответственности администрации местных органов государственного управления, предприятий и учреждений, юридических и физических лиц за загрязнение экологической среды;
- введение платы за использование воздушной, водной, почвенной и растительной среды;
- введение механизма экономического стимулирования пользователей, по вкладыванию финансовых средств в природоохранные мероприятия;
- разработка специального закона по восстановлению нарушенной природной среды.

В настоящее время фактически отсутствует система долговременного накопления и анализа информации о процессах загрязнения и очищения экологической среды в территориальных и промышленно-аграрных зонах, что не позволяет, не только управлять этими процессами, но и контролировать их.

Отсюда второй принцип оздоровления экологической среды – научный мониторинг экологической среды.

Этот принцип требует реализации следующих мер:

- введение систематического научного изучения и анализа состояния экологической среды;
- проведение научного картографирования качества (по спектру и степени загрязнения на различных территориях) экологической среды;
- создание эталонов природной среды;
- создание эталонов чистой экологической среды;
- -создание ПДН (предельно допустимых норм) для отходов производства и коммунального хозяйства, которые утилизируются в экологической среде;
- создание долговременного компьютерного банка данных о состоянии экологической среды различных территорий;
- создание программы восстановления нарушенной экологической среды.

В настоящее время в экологической среде промышленных регионов наблюдается либо прогрессивное увеличение, либо длительное сохранение на высоком уровне вредных химических веществ. Такая ситуация свидетельствует о неспособности природной среды к самоочищению в силу перегрузки ее вредными веществами. Отсюда третий принцип оздоровления экологической среды – создание условий для активного самоочищения природной среды.

Этот принцип диктует реализацию следующих мер:

- введение полного запрета на сброс сточных, промышленных и коммунально-бытовых вод во внешнюю среду без очистки;
- замена фильтрационных накопителей промышленных отходов энергетических и горных предприятий на нефилтрующие накопители;
- введение программы технологической утилизации шлама энергетических предприятий как сырьевого продукта;
- введение программы полной утилизации коммунально-бытовых отходов на основе современных промышленных технологий;
- запрет на создание новых могильников, свалок отходов производства и жизнедеятельности общества;
- введение программы модернизации общегородских очистных сооружений;
- введение новых нормативов ПДВ (предельно допустимых выбросов) для каждого предприятия, как динамической нормы выбросов отходов производства, которая способна постоянно обеспечивать ПДК вредных веществ в экологических средах и своевременное их естественное исчезновение;
- разработка и введение в действие новых ПДВ для почвы с учетом остаточного количества вредных веществ в ней и почвенно-климатических эффектов;
- создание для каждого предприятия таблиц (номограмм) допустимых суточных выбросов в экологическую среду вредных веществ с учетом территориальных особенностей окружающей природной среды и способности ее к самоочищению;
- введение перспективной территориально-дифференцированной программы прогрессивного расширения массивов зеленых насаждений с учетом их возможностей очищать внешнюю среду;
- проведение работ по активизации естественных процессов детоксикации почвы.

Одной из ключевых причин накопления в экологической среде вредных веществ в количествах выше ПДК является наличие систематических и спонтанных несанкционированных и неорганизованных промышленных выбросов в окружающую природную среду. Это происходит в связи с неуправляемостью процессов формирования, накопления и удаления производственных отходов на промышленных предприятиях.

Отсюда четвертый принцип оздоровления экологической среды – программно-компьютерное управление процессом накопления и удаления производственных отходов.

В основу программно-компьютерной системы должны быть положены следующие меры:

- введение прогрессивных безотходных или малоотходных технологических режимов производства продукции;
- максимальная внутрипроизводственная утилизация отходов по технологии сырьевых ресурсов;

- введение технологии оборотного водоснабжения по замкнутому циклу с полным или преимущественным использованием технической воды;
- введение минимальных норм расхода свежей воды в технологии производства;
- введение технологий предварительной очистки или обогащения сырья для уменьшения в нем вредных примесей, особенно в энергетике;
- систематическое увлажнение пылевидных компонентов шихты и отходов производства;
- внедрение эффективных аппаратов и способов пылеулавливания на предприятиях;
- внедрение технологий доставки и хранения сырья в герметических системах;
- введение автоматизированной системы контроля за формированием и предупреждением неорганизованных промышленных выбросов;
- введение автоматизированной системы индикации выбросов по массе, спектру и концентрации веществ.

Проведенные нами социологические исследования свидетельствуют о том, что от 80% до 90% первичных сердечно-сосудистых больных почти полностью не знакомы с мерами предупреждения болезней системы кровообращения, около 65% этих пациентов не осведомлены о роли экологической среды, 72% - о значении питания, 55% - о профессионально-производственной деятельности и 62% - о социально-бытовых условиях жизни, как факторов, участвующих в формировании болезней системы кровообращения.

Отсюда второй принцип первичной профилактики – эффективная пропаганда среди населения медицинских знаний о болезнях системы кровообращения, мерах их профилактики и здоровом образе жизни.

Реализуется этот принцип на основе социального медицинского маркетинга, который способен обеспечивать поток медицинских знаний, навыков и умений от системы здравоохранения к населению, исходя из уровня их потребности.

Для этого создаются при отделениях профилактики или как самостоятельные структуры при поликлиниках маркетинговые службы, которые решают задачи медицинской пропаганды, как на коммерческой и страховой, так и на бюджетной основе.

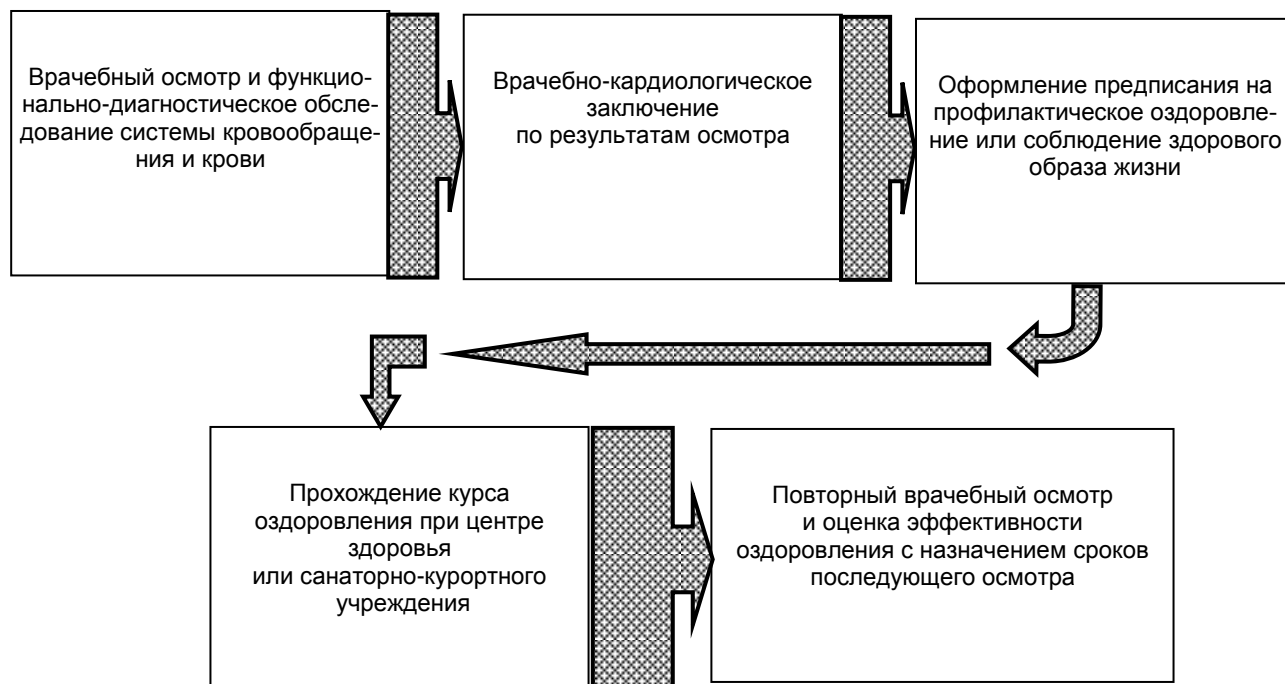
В настоящее время от 55% до 87% первичных больных до появления болезни не проходили в течение 5-8 лет кардиологического обследования, то есть мониторинг кардиологического здоровья фактически отсутствует.

Отсюда третий принцип первичной профилактики – систематический врачебный и функционально-диагностический контроль, за здоровьем здоровых людей и людей с факторами риска, по формированию болезней органов кровообращения.

Для эффективной реализации этого принципа необходимо введение всеобщей кардиологической диспансеризации населения. Задачи этого вида диспансеризации решают отделения профилактики поликлиник.

Основной формой контроля за здоровьем людей являются функционально-диагностические осмотры с целью оценки состояния органов системы кровообращения. Кратность осмотров дифференцируется по степени риска возникновения болезней органов кровообращения: по возрастным группам и наличию факторов риска.

Диспансеризацию проводят по следующей организационной схеме:



Минимальная кратность осмотров по возрастным группам населения определяется степенью вероят-

ности возникновения болезни. Она должна составлять: до 30 лет 1 раз в год; с 30 до 40 лет – 1-2 раза в

год; с 40 до 50 лет – 2 раза в год; свыше 50 лет – 2-3 раза в год.

Для населения с наличием постоянно действующих факторов риска (высокий вес, вредные привычки, специфичные социальные, экологические и производственные вредности, постоянное психоэмоциональное напряжение) минимальная кратность функционально-диагностических осмотров должна составлять: до 25 лет – 2 раза в год; после 25 лет – 3-4 раза в год.

Наши наблюдения показывают, что при функционально-диагностических обследованиях должны выполняться следующие обязательные исследования:

- электрокардиография в покое и при физической нагрузке;
- эхокардиография;
- Холтеровское мониторирование;
- Артериальное давление (АД) в покое и при физической нагрузке на обеих руках;
- восстановление АД и частоты пульса (ЧП) после нагрузки;
- общий анализ крови и мочи;
- концентрация холестерина в крови;
- ультразвуковое исследование внутренних органов;
- офтальмоскопия.

После врачебных и функционально-диагностических обследований все пациенты по состоянию системы кровообращения должны делиться на 5 групп, критерии которых уточнены по нашим данным и выглядят так:

1-я группа – здоровые, у которых морфо-функциональные параметры органов кровообращения находятся в пределах возрастных норм;

2-я группа – практически здоровые, у которых имеются морфо-функциональные отклонения параметров органов кровообращения от возрастных норм на величины, не нарушающие трудоспособности человека;

3-я группа – хронические больные болезнями органов кровообращения в стадии компенсации;

4-я группа – хронические больные болезнями органов кровообращения в стадии субкомпенсации;

5-я группа – хронические больные болезнями органов кровообращения в стадии декомпенсации.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о большой роли в профилактике сердечно-сосудистых болезней физического состояния организма. Отсюда четвертый принцип первичной профилактики – систематическое прохождение кардиологически здоровыми и практически здоровыми пациентами физического тренинга.

Этот принцип направлен на повышение функциональных возможностей организма и сердечно-сосудистой системы. Достигается это на основе управляемого физического тренинга посредством велоэргометрических тестов.

Для реализации этого тренинга каждый пациент, относящийся к группе кардиологически здоровых и практически здоровых получает врачебные направления в специализированные тренажерные залы для прохождения курса управляемого (нормированного) физического тренинга. Частота оздоровительных курсов определяется функциональными возможностями организма и колеблется от 2 раз в неделю в течение

1 месяца 3 раза в год, до 5-6 раз в неделю в течение месяца 2 раза в год.

В ходе проведенных исследований нами было показано значение отдельных групп продуктов питания в профилактике болезней системы кровообращения. Отсюда пятый принцип первичной профилактики – систематическое прохождение кардиологически здоровыми и практически здоровыми пациентами профилактического алиментарного оздоровления.

Этот принцип реализуется на основе использования пациентами специального антиатеросклеротического и антихолестеринового питания. Для этого пациенты должны получить врачебные предписания с рецептами специальных диет. Частота использования диет организуется по непрерывному щадящему варианту.

Беспрерывный щадящий вариант использования диет означает ежемесячный курс в течение одной недели. Этот вариант снижает частоту рецидивирования отдельных видов сердечно-сосудистых болезней ишемической болезни сердца (ИБС) в 1,6 раза.

Нами были получены результаты, свидетельствующие о большой роли закаливания организма через бальнеологические процедуры в профилактике сердечно-сосудистых болезней. Отсюда шестой принцип первичной профилактики – систематическое бальнеологическое оздоровление кардиологически здоровых и практически здоровых пациентов.

Этот принцип реализуется на основе двух форм – естественно-природной и искусственной. Лучшим вариантом бальнеологического оздоровления в естественно-природной среде является ежегодное оздоровление в учреждениях санаторно-курортного или физкультурно-оздоровительного типа под врачебным контролем. При этом климат оздоровительного учреждения должен соответствовать или быть близким к климату сезона в месте проживания пациента для быстрой и безвредной адаптации и реадaptации его организма. Искусственная форма бальнеологического оздоровления реализуется индивидуально на основе предписанного врачом режима водных процедур.

Анализ показал большое значение в формировании и профилактике болезней системы кровообращения условий образа жизни человека. Отсюда седьмой принцип первичной профилактики – систематическое врачебное наблюдение за режимом жизнедеятельности кардиологически здоровых и практически здоровых пациентов.

Этот принцип реализуется в полной мере только на основе действующей семейной медицины.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о преимущественной роли образа и условий жизни человека, как в формировании, так и в профилактике болезней системы кровообращения. Отсюда восьмой принцип первичной профилактики – формирование здорового образа жизни кардиологически здоровых и практически здоровых пациентов.

Этот принцип реализуется на основе усвоения здоровыми и практически здоровыми пациентами формулы здорового образа жизни (ЗОЖ).

Ключевые параметры ЗОЖ:

1. Установка сознания на здоровую и долгую жизнь.
2. Движение.
3. Закаливание.

4. Рациональное питание и поддержание веса на нормальном уровне.
5. Рациональный режим жизнедеятельности и его соответствие биологическим ритмам.
6. Психологический (индивидуальный, семейный, коллективный) оптимум.
7. Отсутствие вредных привычек и увлечений.
8. Личная гигиена.
9. Гигиена жилища.
10. Гигиена одежды.
11. Эффективный отдых.
12. Здоровый ночной сон.

Формирование ЗОЖ у здоровых пациентов осуществляется на основе врачебных предписаний о формах и способах выполнения формулы ЗОЖ с последующим контролем о выполнении этих предписаний.

Информация для установления медицинской полноценности образа жизни человека, диагностики наличия и полноты ЗОЖ собирается с помощью социологической анкеты "Медицинская опросная анкета образа жизни пациента".

Вывод

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили научно обосновать и сформулировать меры первичной профилактики болезней системы кровообращения, базирующиеся на четырех медико-экологических и семи медико-социальных

принципах. Эти принципы и меры в дальнейшем станут основой методических рекомендаций для учреждений практического здравоохранения «Критерии, организационные принципы и формы реализации первичной, вторичной и третичной профилактики болезни системы кровообращения».

Литература

1. Агарков В.И. Атлас гигиенических характеристик экологической среды Донецкой области / В.И. Агарков, С.В. Грищенко, В.П. Грищенко – Донецк: Донеччина, 2001. – 140с.
2. Агарков В.И. Болезни системы кровообращения среди населения урбанизированного региона / В.И. Агарков, С.В. Грищенко, В.П. Коровина – Донецк: Норд-Пресс, 2004. – 166с.
3. Басюк В.Г. Состояние окружающей среды и уровень здоровья населения Украины до и после аварии на Чернобыльской АЭС / В.Г. Басюк, Б.П. Сучков // Гигиена и санитария. – 1997. – № 5. – С. 22-25.
4. Сердюк А.М. Екологічна безпека як стратегія розвитку медицини / А.М. Сердюк, М.П. Вашкуллат // Журнал практичного лікаря. – 2005. – №4. – С. 7-9.
5. Голубев И.Р. О мониторинге "здоровье-окружающая среда" / И.Р. Голубев // Гигиена и санитария. – 2001. – № 4. – С. 66-68.
6. Денисов Л. А. Значение социально-гигиенического мониторинга в управлении качеством окружающей среды и здоровья населения / Л.А. Денисов // Гигиена и санитария. – 2000. – № 5. – С. 3-5.
7. Гигиена экологической среды Донбасса / В.И. Агарков, С.В. Грищенко, В.Я. Уманский [и др.]. – Донецк, 2004. – 170с.

Summary

THE PRINCIPLES AND MEASURES OF PRIMARY PREVENTION OF DISEASES OF THE CIRCULATORY SYSTEM
Ishejkina J.A.

Key words: hygiene, prevention, and diseases of the circulatory system.

The work is devoted to the scientific substantiation of the principles and ways of primary prevention of diseases of the blood circulatory system. Here, for the first time, are formulated four medical-ecological principles on the prevention of cardiovascular disease among the population: mastering the legislation regulation of the use of the environment, scientific monitoring of the environment, creating the conditions for the active self-cleaning of the natural environment, computerized management of organization of accumulation and removing the industrial waste; as well as eight medical-social principles: recovering the macro and microecological environment of the population, effective propaganda of the medical knowledge about cardiovascular diseases among the population, system medical and functional diagnostic control of healthy people's health and of people with risk factors of forming the cardiovascular diseases, system physical exercise for cardio healthy and practically healthy patients, preventive elementary treatment, system medical monitoring the lifestyle activities, system balnological treatment, formation of healthy lifestyle for cardio healthy and practically healthy patients.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,
Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 18.09.09

УДК 616.24-053.4-084:613.22

ВИКОРИСТАННЯ КИСНЕВИХ КОКТЕЙЛІВ ЯК ЗАСОБУ ПРОФІЛАКТИКИ ХВОРОБ ОРГАНІВ ДИХАННЯ У ДІТЕЙ

Саргош О.Д., Лисак В.П., Четверикова О.П., Римар М.П., Катрушов О.В.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, управління охорони здоров'я при Полтавській облдержадміністрації, Полтавська обласна СЕС

Данные литературы свидетельствуют о том, что в начале 70-х годов возникла тенденция к ухудшению здоровья школьников, которая в последние годы приобрела стойкий характер, а ее темпы значительно выросли. В конце 90-х годов в школу пришло больных первоклассников почти в 2 раза больше, чем в 1980 г. Только третья часть (30-33 %) учеников первых классов практически здоровые. За годы учебы в школе наблюдается постепенное уменьшение числа здоровых школьников - с 33 % в 1 классе до 6 - 9 % среди старшеклассников. Хроническая патология начинает формироваться в более раннем возрасте, чем в предыдущие годы. Особенно значительный рост общего количества (>20%) и темпов прироста отмечается в группе болезней органов дыхания. В развитии частой респираторной заболеваемости у детей существенную роль играют разные факторы, которые содействуют развитию хронической гипоксии: экологические, социально-бытовые и др. Респираторная составляющая хронической гипоксии также обусловлена длительным пребыванием детей в закрытых помещениях, где наблюдается денатурация воздушной среды, и выраженной гиподинамией. Гемическая составляющая гипоксии связана со снижением количества эритроцитов и гемоглобина. В целом это приводит к ухудшению микроциркуляции и проницаемости клеточных мембран, ослаблению окислительно-восстановительных процессов, снижению энергоресурсов организма, ухудшению его функциональных и защитных возможностей. С целью профилактики хронической тканевой гипоксии применение кислородных коктейлей, которое основано на способности кислорода достаточно интенсивно всасываться в кровь через слизистую оболочку желудка и нивелировать респираторную составляющую хронической гипоксии, может рассматриваться как одно из перспективных мероприятий. Группу наблюдения составили дети возрастом 3 – 6 лет, которые посещали детские дошкольные учреждения. Всего под наблюдением пребывали 126 детей. Из них 60 детей случайной выборки составили основную группу, которая получала кислородные коктейли по 1 приему в день (150 мл) в течение 1 месяца. Кислородные коктейли готовили по запатентованной рецептуре. На основании проведенных исследований обнаружено благоприятное влияние кислородных коктейлей. Уже после первых процедур большинство детей отмечали улучшение общего самочувствия, повышение физической активности, нормализацию сна. До конца курса значительно уменьшилось количество жалоб от родителей на повышенную утомляемость, раздражительность, эмоциональную лабильность детей. Обнаружено значительное улучшение психоэмоционального статуса под воздействием кислородных коктейлей у 90,0% обследованных детей (улучшилось настроение, аппетит, повысилась физическая активность, умственная работоспособность). У детей с начальными признаками респираторного заболевания (ринорея, гиперемия зева, затруднение носового дыхания) на фоне применения кислородных коктейлей наблюдалось более быстрое купирование симптомов, легкое протекание ОРВИ, отсутствие осложнений. По данным мониторинга артериального давления и частоты сердечных сокращений кислородные коктейли не влияли на функциональное состояние сердечнососудистой системы. До конца курса проявилась тенденция к уменьшению частоты пульса у 59,1% детей со склонностью к тахикардии, у 65,0% показатели находились в пределах возрастной нормы.

Ключевые слова: профилактика заболеваний органов дыхания у детей, кислородные коктейли.

Здоров'я дитини - інтегральний показник його фізичного, психічного і соціального благополуччя, гармонійності розвитку. Воно залежить від великого числа медико-біологічних і соціально-гігієнічних чинників. З останніх найбільш виражених вплив на формування здоров'я школярів роблять стан навколишнього середовища, умови життя і виховання в сім'ї, організація учбової діяльності, поширеність шкідливих звичок та нехтування нормами здорового способу життя [2,6].

Результати проведених досліджень і дані літератури свідчать про те, що на початку 70-х років виникла тенденція до погіршення здоров'я школярів, яка останніми роками набула стійкого характеру, а її темпи значно зросли. Неприятливі зміни в стані здоров'я сучасних школярів є віддзеркаленням комплексного впливу і взаємодії перерахованих чинників.

За даними комплексних медичних оглядів, патологічна ураженість дітей шкільного віку і підлітків перевищує поширеність захворювань, реєстрованих по зверненням за медичною допомогою, в 1,5 - 2,5 рази.

Дослідження, проведені вченими України та інших країн СНД, показали, що в кінці 90-х років в школу прийшло хворих першокласників майже в 2 рази більше, ніж в 1980 р. Тільки третя частина (30-33 %) учнів перших класів практично здорові. За роки навчання в школі спостерігається поступове зменшення числа здорових школярів - з 33 % у 1 класі до 6 - 9 % серед старшокласників. Хронічна патологія починає формуватися в більш ранньому віці, ніж в попередні роки. Особливо значний ріст загальної кількості (>20%) та темпів приросту відмічається в групі хвороб органів дихання.

Таблиця 1
Структура загальної захворюваності дитячого населення Полтавської області

	2007	2006	2005	2004	2003	2002	2001	2000
--	------	------	------	------	------	------	------	------

Хвороби органів дихання	897,9	794,4	877,7	825,1	731,2	756,3	781,7	748,0
Хвороби органів травлення	229,2	228,5	234,8	227,2	202,7	204,2	192,5	183,4
В т.ч. гастрити та дуоденіти	34,0	35,7	26,8	27,4	24,8	25,3	23,7	21,3
Хвороби ока	105,1	84,6	76,9	73,7	67,4	75,4	77,7	75,0
В т.ч. міопії	35,6	25,6	18,9	18,6	15,1	16,4	17,4	17,8
Інфекційні та паразитарні хвороби	62,6	65,5	75,6	67,5	63,7	82,3	74,5	70,2
Хвороби шкіри	24,7	24,1	79,5	68,1	69,2	66,6	67,8	78,2
Хвороби кістково-м'язової системи	75,5	80,0	53,2	59,5	51,8	57,9	41,9	43,7
Хвороби крові та кровотворних органів	39,6	39,5	46	43,5	38,5	440,0	34,4	29,7
В т.ч. анемії	35,8	35,8	41,8	39,6	37,5	36,5	31,7	27,7
Хвороби сечостатевої системи	81,2	77,5	54,6	47,9	41,1	41	35,4	33,3

У виникненні частоті респіраторної захворюваності у дітей суттєву роль відіграють різні фактори, які сприяють розвитку хронічної гіпоксії: екологічні, соціально-побутові та ін. [2,6,7]. Респіраторна складова хронічної гіпоксії також обумовлена тривалим перебуванням дітей в закритих приміщеннях, де спостерігається денатурація повітряного середовища, та вираженою гіподинамією. Гемічна складова гіпоксії пов'язана зі зниженням кількості еритроцитів та гемоглобіну. Загалом це призводить до погіршення мікроциркуляції і проникності клітинних мембран, ослаблення окисно-відновних процесів, зниження енергосурсів організму, погіршення його функціональних та захисних можливостей [1,2,7].

З метою профілактики хронічної тканинної гіпоксії застосування кисневих коктейлів, що ґрунтоване на здатності кисню достатньо інтенсивно всмоктуватись в кров через слизову оболонку шлунку та нівелювати респіраторну складову хронічної гіпоксії, може розглядатися як один з перспективних заходів [2,5,7].

Матеріал та методи дослідження

Групу спостереження склали діти віком 3 – 6 років, які відвідували дитячі дошкільні заклади № 61, № 63, № 64 та № 79 м. Кременчука. Всього під спостереженням знаходились 126 дітей. З них 60 дітей випадкової вибірки склали основну групу, яка отримувала кисневі коктейлі по 1 прийому в день (150 мл) на протязі 1 місяця. Діти контрольної групи знаходились на звичайному раціоні. Розподіл дітей по групах здоров'я був рівнозначний як в основній, так і в контрольній групах спостереження.

Кисневі коктейлі готували по запатентованій рецептурі [3]. Для отримання кисню використовували кисневий концентратор 7F-3L, який генерує кисень в концентрації 95% з оточуючого повітря. Доза коктейлю, періодичність, показання, протипоказання узгоджені з лікарем педіатром. Контроль стану здоров'я дітей, огляди під час спостереження проводились педіатрами дитячих дошкільних закладів сумісно з середнім медперсоналом цих дитячих садків [4]. Під час комплексної оцінки стану здоров'я дитини враховували наступні ознаки:

- а) функціональний стан органів та систем;
- б) резистентність та реактивність організму;
- в) рівень та гармонійність фізичного та психоневрологічного розвитку;
- г) наявність хронічної (в т.ч. вродженої) патології.

Робота узгоджена з відділом гігієни дітей та підлітків (ГДП) Полтавської обласної СЕС, а також з батьками (письмова згода).

Матеріально-технічне забезпечення

Концентратор кисневий, модель 7F-3L, коктейлер кисневий, фруктовий сік (виноградно-яблучний), сироп кореня солодки, сироп шипшини.

Приготування коктейлю:

В якості основи використовували фруктовий (виноградно-яблучний) сік, в якості піноутворювача – сироп кореня солодки. В коктейлер наливали 1 літр соку та додавали 25-30 мл сиропу кореня солодки, 5 мл сиропу шипшини. Ретельно перемішували. Підключали коктейлер до концентратора кисню. Включали концентратор, подача кисню здійснювалась до утворення щільної піни в необхідному об'ємі. Для стійкості піни та швидкого її утворення температура суміші не перевищувала 20-22°C. Для прийому коктейлю використовували одноразові пластикові стакани та ложки.

Методика застосування кисневого коктейлю.

Діти приймали кисневий коктейль за 1-1,5 години до прийому їжі (перед обідом) чи через 2 години після їжі. Діти з пониженим апетитом отримували коктейль до прийому їжі, що сприяло підвищенню апетиту. Коктейль повільно вживали за допомогою ложки (на протязі 3-5 хв.).

Результати та їх обговорення

Процедура переносилась дітьми добре, побічних реакцій не відмічено. Діти з задоволенням вживали коктейль, що сприятливо позначалося на їх психоемоційному стані.

На підставі проведених досліджень виявлений сприятливий вплив кисневих коктейлів. Вже після перших процедур більшість дітей відзначали поліпшення загального самопочуття, підвищення фізичної активності, нормалізацію сну. До кінця курсу значно зменшилася кількість скарг на підвищену стомлюваність, дратівливість, емоційну лабільність від батьків. Натурними спостереженнями виявлено значне поліпшення психоемоційного статусу під впливом кисневих коктейлів у 90,0% обстежених дітей (покращився настрій, апетит, підвищилась фізична активність, розумова працездатність).

У дітей з початковими ознаками респіраторного захворювання (ринорея, гіперемія зіву, утруднення носового дихання) на фоні застосування кисневих коктейлів спостерігалось більш швидке зникнення симптомів, легкий перебіг ГРВІ, відсутність ускладнень.

За даними моніторингу артеріального тиску і частоти серцевих скорочень, кисневі коктейлі не впливали на функціональний стан серцево-судинної системи. До кінця курсу з'явилась тенденція до зменшення частоти пульсу у 59,1% дітей зі схильністю до тахікардії.

рдії, у 65,0% показники знаходились в межах вікової норми.

Висновки

Кисневі коктейлі добре переносилися дітьми, відмов від їх приймання не було.

При використанні кисневих коктейлів у дітей не спостерігалось алергічних, парадоксальних реакцій, диспепсичних явищ.

Спостерігалось поліпшення загального стану як практично здорових дітей, так і дітей з різною хронічною патологією та їх психоемоційного статусу.

Підвищилась фізична активність, нормалізувався сон як у практично здорових дітей, так і у дітей з різною хронічною патологією

Література

1. Жилин Ю.Н. Кислородо-аэрозольтерапия в повседневной медицинской практике. Методическое пособие. – ООО «Интер-Этон». – Москва. - 2006. -38 с.

2. Коровина Н.А. Лечение бронхитов у детей. /Коровина Н.А., Захарова И.Н., Овсянникова Е.М.// Методические рекомендации для практикующего врача. – Москва.- 2004.- 46 с.
3. Патент 32297 А Україна, МПК А61Р43/00. „Суміш для кисневого коктейлю“, /Перепелиця І.В.(Україна). -№ U 200800108, заявл. 14.10.98, опубл. 12.05.2008, Бюл. № 9. С. 7-8.
4. Примірне положення про комплексну оцінку здоров'я дітей. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 29 листопада 2002 р. № 434.
5. Разумов А.Н. Физиотерапия /Разумов А.Н., Хан М.А., Кривцова Л.А., Демченко В.И.// Учебное пособие - Москва – Омск. - 2002.-36 с.
6. Середа Е.В. Бронхиты у детей: современные принципы терапевтической тактики. // Фарматека – М., 2002. - №11 – С. 38-44.
7. Червинская А.В. Применение галоингаляционной терапии в комплексном лечении и реабилитации больных с заболеваниями органов дыхания. /Червинская А.В., Пономаренко Г.Н., Орлов А.В. //Пособие для врачей. – Санкт-Петербург.- 2000.-278 с.

Summary

USE OF OXYGEN COCKTAILS AS METHOD OF PROPHYLAXIS OF ILLNESSES OF BREATHING ORGANS FOR CHILDREN

Sargosh J.D., Lysak V.P., Chetverikova O.P., Rimar N.P., Katrushov A.V.

Keywords: prophylaxis of diseases of breathing organs for children, oxygen cocktails.

These literatures testify that at the beginning of 70th there was a tendency to worsening of health of schoolboys, which purchased proof character the last years, and its rates grew considerably. At the end of 90th in school came sick first-class boys almost in 2 times more than in 1980 Only the third part (30-33 %) of students of A-ones practically healthy. For years studies there is the gradual diminishing of number of healthy schoolboys at school - from 33 % in a 1 class to 6 - 9 % among senior pupils. Chronic pathology begins to be formed in more early age, than in previous years. Especially considerable growth of general amount (>20%) and growth rates registers in the group of illnesses of breathing organs. In development of frequent respirator morbidity for children a substantial role is played by different factors which assist development of chronic hypoxia: ecological, Social domestic but other The respirator constituent of chronic hypoxia is also conditioned the protracted stay of children in the closed apartments, where denaturizing of air environment is, and by the expressed hemodynamic. Bloody the constituent of hypoxia is related to the decline of amount of red corpuscles and colored index of blood. On the whole it results in worsening of micro circulation and permeability of cellular membranes, weakening oxidation of restoration processes, decline of energy is resources of organism, worsening of his functional and protective possibilities. With the purpose of prophylaxis of chronic tissue hypoxia application of oxygen cocktails, which is based on ability of oxygen it is enough intensively sucked in blood through the mucous membrane of stomach and levels the respirator constituent of chronic hypoxia, can be examined as one of perspective measures. The group of supervision was made by children by age 3 – 6 years which visited child's preschool establishments. In all under a supervision there were 126 children. From them 60 children of random sample made a basic group which got oxygen cocktails for to a 1 reception in a day (150 ml) during 1 month. Oxygen cocktails were prepared on the patented compounding. On the basis of the conducted researches found out favorable influence of oxygen cocktails. Already after the first procedures most children marked the improvement of general feel, increase of physical activity, normalization of sleep. To the end of course considerably the amount of complaints diminished from parents on enhance able fatigue ability, crabbiness, emotional instability of children. Found out the considerable improvement of psychical-emotional status under act of oxygen cocktails for 90,0% inspected children (a mood, appetite, was improved, physical activity, mental capacity, rose). Children with the initial signs of respirator disease (hyperemia of pharynx, difficulty of the nasal breathing) on a background application of oxygen cocktails had more rapid suppression of symptoms, easy flowing of sharp respirator infections, absence of complications. From data of monitoring of arteries pressure and frequency of heart-throbs oxygen cocktails did not influence on the functional state of the cardiac vascular system. To the end of course a tendency showed up to diminishing of frequency of pulse for 59,1% children with propensity to frequent reductions of heart, in 65,0% indexes were within the limits of age-dependent norm.

Ukrainian Ministry of Health Public Service,
Ukrainian Medical Stomatological Academy

Матеріал надійшов до редакції 11.12.09

УДК 613.95:001.8

МЕДИКО-СОЦІАЛЬНІ ТА СОЦІАЛЬНО-ІСТОРИЧНІ ПЕРЕДУМОВИ СТАНОВЛЕННЯ ГІГІЄНИ ВИХОВАННЯ ТА РОЗВИТКУ ШКІЛЬНОЇ ГІГІЄНИ ЯК НАУКИ В УКРАЇНІ НА ПОЧАТКУ ХХ СТОЛІТТЯ

Стельмахівська В.П.

ВНЗ Інститут екології та медицини, м. Київ

Изучены медико-социальные условия реорганизации системы образования в Украине в начале XX столетия, определены социальные и гигиенические предпосылки формирования научно-методических основ гигиенического обеспечения учебной деятельности детей и подростков, выявлены объективные факторы, которые обусловили выделение школьной гигиены в самостоятельную медицинскую науку.

Ключевые слова: школьная гигиена, исторические этапы, медико-социальные условия, состояние здоровья детей и учащейся молодёжи.

Вступ

Найважливішою складовою діяльності кожного нового покоління є навчальна діяльність, яка триває майже все життя людини. Тому сам процес освіти треба розглядати як постійно діючий соціальний фактор, що потребує розв'язання відповідних соціальних завдань. Одним з таких завдань є медико-санітарне забезпечення процесу засвоєння знань на різних етапах освіти. Таке соціальне завдання виконується спеціалізованою галуззю медицини – шкільною гігієною.

Актуальність теми: для розробки концепцій подальшого розвитку шкільної гігієни – гігієни дітей та підлітків, як науки, важливим є дослідження етапів її виникнення та узагальнення багаторічного набутого досвіду.

Мета досліджень: автором ставилось за мету досліджень здійснення аналізу передумов виникнення та розвитку шкільної гігієни, як спеціалізованої медичної науки в Україні на початку ХХ століття.

Матеріали і методи

Методологічною основою досліджень було: теорія наукового пізнання, принципи взаємозумовленості соціальних явищ і необхідність їх вивчення в конкретних умовах розвитку суспільства, на основі чого аналізувалися наукова література, архівні матеріали, періодика.

Результати та їх обговорення

Як відомо, характер освіти в будь-якому суспільстві визначається рівнем соціально-економічного та культурного розвитку. В кінці ХІХ – на початку ХХ століття Україна (як складова частина Російської імперії), як і Росія в цьому були країнами з переважно аграрною економікою. Такий економічний стан населення України обумовлював і рівень освіти. Так, за результатами перепису населення Російської імперії в 1897 р. [5] серед населення губерній України рівень писемності коливався від 15,5-16,8 % (Подільська та Харківська губернії) до 21,5-25,9 % (Катеринославська та Херсонська губернії).

Всього на 8 губерній України (в межах на 1914/1915 навчальний рік) діяло початкових шкіл – 19 361, семирічних шкіл – 356 і середніх шкіл – 480, в яких навчалось 1 728 313 школярів [7]. Крім цього на теренах України в межах того часу навчалось 12 486

учнів 88 середніх спеціальних закладах і 32 204 студента в 27 вищих навчальних закладах.

Така кількість учнівської молоді в Україні вимагала значної уваги за їхнім здоров'ям з боку лікарів різних спеціальностей, зокрема – лікарів обізнаних щодо умов навчання школярів та студентів. Дуже актуальним стало питання щодо організації медико-профілактичного обслуговування навчальних закладів і санітарного нагляду за ними. Але на всі губернії України тоді приходилось всього 91 санітарний лікар.

В цілому, формування основних проблем, зумовлених погіршенням стану здоров'я учнівської молоді в процесі навчання, слід віднести до другої половини ХІХ століття. Підсумки цих наробок було узагальнено на І-му Міжнародному конгресі зі шкільної гігієни (м. Нюрнберг, Німеччина, 1904 рік), участь в роботі якого приймали і представники України [16].

На етапі становлення української державності в 1917-1919 роках урядами Центральної Ради, Гетьманату та Директорії було здійснено спеціальні заходи щодо реформування системи освіти та посилення контролю за формуванням стану здоров'я учнівської молоді.

Так, вже на І-му Всеукраїнському учительському з'їзді (квітень 1917 р.) визнано за необхідне створення Головної української шкільної ради при Українській Центральній Раді з метою «організації рідної школи і освіти в Україні», утримання освітніх закладів за державні кошти, спільне навчання дівчаток і хлопчиків, необхідність їх медичного забезпечення, тощо [3].

Українська Центральна Рада сформувала таку шкільну комісію, яку після створення Генерального Секретаріату освіти під керівництвом Т. Стешенка було у червні 1917 року перепідпорядковано цьому Секретаріату у вигляді Генеральної шкільної ради. Одночасно формується Медико-санітарна Рада України, оскільки профілактика (в тому числі в галузі освіти) була визнана пріоритетним напрямком у вітчизняній медицині і вже в серпні 1917 року ІІ-й Всеукраїнський учительський з'їзд схвалив розроблений Генеральною шкільною радою проект нової структури шкільної освіти в Україні [13], в якому передбачалось:

- діти починають навчатися з 6-8 років, навчання повинно бути впродовж 11 років,
- загальноосвітня повинна бути 7-річна школа,
- враховуючи скрутні соціально-економічні умови в Україні тимчасово обмежитись 4-річною загальноо-

бов'язковою початковою освітою в «Нижчій початковій школі»,

– подальше навчання здійснюється в 3-річній «Вищій початковій школі»,

– загальна освіта завершується в 3-річній «Середній школі»,

– навчання в гімназіях має бути 4-річним.

Таким чином, безплатна повна середня загальна освіта повинна тривати 11 років, з забезпеченням школярів одягом, харчуванням та підручниками. Потім передбачається вища освіта.

В цей важкий період становлення української державності на осінь 1918 року в Україні діяло 8 педагогічних інститутів (Київський, Чернігівський, Полтавський, Вінницький, Глухівський, Катеринославський, Білгородський, Миколаївський) та 39 учительських семінарій [8], 18 листопада 1918 року було сформовано Українську Академію Наук [6].

Медико-санітарне забезпечення учбових закладів під час Директорії в Україні доручалось Міністерству народного здоров'я і піклування, де директором Санітарного департаменту було призначено (1918 р.) професора О.В. Корчак-Чепурківського – відомого соціал-гігієніста – декана медичного факультету Українського державного університету (з 1917 р.), на якому проф. О.В. Корчак-Чепурківський читав лекції, в тому числі і з гігієни виховання школярів.

У вересні 1919 року цей проект було затверджено на Раді міністерства освіти України [12].

Робота над цим проектом вимагала спільних зусиль педагогів, психологів і лікарів, в першу чергу – гігієністів. На долю останніх випало медико-санітарний контроль за проектуванням, шкільним будівництвом, експлуатацією закладів освіти різного рівня, наукове обґрунтування педагогічного навантаження та умов навчання дітей та підлітків. Але на той час жоден з вищих медичних закладів України ще не здійснював підготовки лікарів гігієнічного профілю.

Паралельно з органами влади української держави (Центральна Рада, Гетьманат, Директорія) з грудня 1917 року в Харкові почав діяти тимчасовий уряд радянської влади, який створив Секретаріат народної освіти на чолі з В.П. Затонським та доручив йому реорганізацію системи освіти в Україні по трудовому принципу.

У січні 1918 р. на базі Секретаріату народної освіти було сформовано Народний комісаріат освіти з відповідними відділами на місцях. Основними напрямками перебудови народної освіти передбачалось, що «вся система шкільної організації і шкільної освіти, так само як і шкільні програми, повинна бути спрямована до одної мети – підготувати молоде покоління до трудового та громадського життя...» [4].

Для вирішення питань охорони здоров'я дітей шкільного віку та санітарного нагляду за закладами освіти при Наркоматі освіти УРСР був заснований Шкільно-санітарний відділ по аналогії з Відділом шкільної медицини Наркомпросу РСФРР, який з листопада 1917 року очолила В.М. Бонч-Бруєвич (Величкіна). Обидва відділи тісно співпрацювали в визначенні змісту роботи шкільного лікаря та розробки питань фізичного, гігієнічного та трудового виховання, медико-санітарного забезпечення, проблем гігієни харчування та збереження здоров'я учнівської молоді. Спеціальним Положенням про єдину трудову школу Російської

Соціалістичної Федеративної Радянської Республіки (1918) посаду шкільного лікаря було включено до складу працівників школи.

Перші наукові дослідження з питань здоров'я школярів в Україні проводились у постійному контакті з московським Інститутом фізичної культури (заснований в 1918 р.) та Інститутом соціальної гігієни (заснований в 1919 р.).

Пріоритетними напрямками в ті роки в галузі гігієни дитинства були вивчення фізичного розвитку дитячого населення, гігієнічна освіта, трудове та фізичне виховання, обґрунтування навчального навантаження учнів і розробка питань проектування, будівництва та обладнання навчальних закладів.

25 січня 1919 р. Тимчасовий Робітничо-селянський уряд радянської України видав Декрет «Про передачу всіх учбових закладів у підпорядкування відділу освіти», в якому було вказано, що всі заклади освіти в Україні – дошкільні, позашкільні, початкові, загальноосвітні і спеціальні, середні та вищі, приватні та державні – перепідпорядковуються місцевим відділам освіти Народного комісаріату освіти України [11].

Цей Декрет означав формування навчально-програмової єдності та чіткої послідовності всіх рівнів і видів закладів освіти в Україні, в наслідок чого ліквідувалася багато типів існуючих на той час шкіл.

Все це поставило перед медиками нові завдання та зорієнтувало їх на розробку наукових засад медико-санітарного забезпечення навчально-виховного процесу в новій системі освіти Радянської України. Але на той час жоден з вищих медичних закладів України ще не здійснював підготовки лікарів гігієнічного профілю, в тому числі не готувались шкільні лікарі.

В 1919 р. відбувся Всеросійський з'їзд з шкільної санітарії, що визнав за необхідність ввести викладання проблем шкільної гігієни в медичних вузах. На думку першого Народного комісара охорони здоров'я РСФРР М.О. Семашка, будівництво нової держави не може бути без міцного фундаменту – здоров'я населення, а населення не може бути здоровим без здорової молоді [10]. За його ініціативою шкільно-гігієнічні відділи Наркомпросів у всіх республіках було переведено до Народних комісаріатів охорони здоров'я (з 1920 р.).

Перебудова нової централізованої радянської держави РСФРР на теренах Російської імперії передбачало і централізацію керівництва освітою. В 1918-1919 рр. Наркомпросом РСФРР було розроблено нову модель системи освіти – «Положення про єдину трудову школу», що почала впроваджуватися і на території Радянської України.

«Положення про єдину трудову школу УРСР» Наркомпрос УРСР опублікував 13 травня 1919 р. [1]. В цих «Положеннях» проголошувалася загальнообов'язковість, загальнодоступність, безкоштовність всіх рівнів освіти для всіх дітей, спільне навчання дівчаток і хлопчиків, в єдиній (в організаційному і програмному відношеннях) загальноосвітній системі від дошкільного навчального закладу до вищого.

Але дуже складні соціально-економічні умови на території України (громадянська війна, інтервенція, бідність населення, епідемії, голод, дефіцит учителів, лікарів, шкіл та дошкільних установ, тощо) дуже суттєво заважали та гальмували здійснення основних

завдань «Положення про єдину трудову школу УРСР».

Таким чином, в умовах перехідного періоду від мирного життя (до війни 1914 р.) в результаті війни 1914-1916 р.р. на території України, революції 1917 р. в Україні та Росії, постійних змін влади (Центральної Ради, Гетьманату, Директорії та Радянської України) внаслідок громадянської війни, окупації більшої частини території України кайзерівськими військами Німеччини, включення земель західної України до складу Австро-Угорщини та Польщі, боротьби за становлення радянської влади, завершення партизанських дій, тощо, вся система освіти в Україні фактично була знищена.

Великі людські жертви супроводжувались великими втратами серед інтелігенції – вчителі, лікарі, науковці, викладачі середніх та вищих навчальних закладів. За ці роки різко скоротилась кількість школярів і студентів, до 1,5 млн. дітей стали сиротами та напівсиротами, серед яких швидко розповсюджувались епідемії та хвороби. Для піклування про безпритульних дітей та сиріт при Народному комісаріаті освіти України були створені відділи соціального виховання.[14]

В таких умовах розвиток народної освіти в Україні фактично призупинився, а значна частина дітей шкільного віку (від 7 до 12 років) опинилась поза школою [17].

Не зважаючи на зусилля окремих лікарів-педіатрів і гігієністів фактично перестала існувати будь-яка система медико-санітарного забезпечення закладів освіти та виховання навчального процесу в них, здоров'я школярів і учнівської молоді [1].

У зв'язку з реорганізацією системи освіти в Україні на трудові школи була проведена Українська нарада з медичної освіти (1920 р.), що рекомендувала вищим медичним закладам поглибити гігієнічну підготовку лікарів [9].

За даними перепису населення в 1920 р. в губерніях України було біля 3 мільйонів дітей шкільного віку, з яких майже 750 тис. дітей не навчалися в школі. Серед дітей у віці від 8 до 11 років освічених було всього 28 %, а серед дітей 12-16 років – трохи більше половини (56 %) (Харківська, Чернігівська, Полтавська, Кременчуцька, Миколаївська).

З 1921 р. всі витрати на утримання закладів освіти були віднесені до місцевого бюджету, що позначилось у значному скороченні кількості навчальних закладів та школярів [15].

У 1923 р. в Київському медичному інституті під керівництвом проф. А.В. Володимирського була організована «Кафедра лікарської педагогіки», в подальшому переіменована в «Кафедру гігієни виховання» (з 1925 р.), а з 1935 р. – «Кафедра шкільної гігієни» [2].

І тільки прийняття в 1922 р. Декрета «О санитарных органах республики» послужило початком встановлення державного санітарного нагляду, в тому числі і за закладами навчання та виховання всіх рівнів.

Висновки

На початку XX століття під час перебування України в складі Російської імперії спеціалізованого медико-санітарного супроводу освітнього процесу в навчальних закладах різного рівня не існувало. Окремі медико-санітарні заходи мали суто практичну спрямованість при повній відсутності науково-методичної основи.

Під час становлення української державності в 1917-1919 рр. неодноразові реформи освіти в Україні не дали можливості сформувати медико-санітарне забезпечення навчального процесу на відповідному науково-методичному рівні.

В період 1919-1922 рр. в Українській РСР почала формуватися державна система медико-санітарного забезпечення організованих дитячих колективів школярів і студентів, що зумовило необхідність створення відповідної науково-методичної бази та формування наукових напрямків гігієни виховання та відокремлення шкільної гігієни як самостійної медичної науки.

Література

1. Боднар А.Г. Народна освіта і педагогічна наука / Боднар А.Г. – К.: Радянська школа, 1967 – 483 с.
2. Берзін В.І. Концептуальні питання розвитку гігієни дітей та підлітків на сучасному етапі / Берзін В.І., Бевз Р.Т., Баранова М.М. та ін. / Матер. XIV з'їзду гігієністів України. – К., 2004, - С. 217-218.
3. Вісник педагогічного з'їзду. – К., 1917. – 109 с.
4. Вісник Української Народної Республіки. – К.: ЦВК робітничих, солдатських та сільських депутатів. – 1918 р. - 22 с.
5. Грищенко М.С. Нариси з історії школи в Українській РСР / Грищенко М.С. - Київ.: Рад. школа, 1966. – 260 с.
6. Історія України / за редакцією Зайцева Ю.М. – Львів.: Світ, 1996. – 487 с.
7. Культурное строительство в СССР / М: Госполитиздат, 1956 – 432 с.
8. Рідна школа. – К. - 2001. - № 11 – С. 53-61.
9. Рідна школа. – К. - 1997. - № 3-4. – С. 76.
10. Семашко М.О. Коммунистическая молодёжь и народное здоровье / Семашко М.О. – М.: «Правда», 26 декабря 1919 г. – 3 с.
11. Собрание Указов и распоряжений Рабоче-Крестьянского Правительства Украины. – 1919. - № 3 – 97 с.
12. Статистичний збірник. Культурне будівництво в Українській РСР. – К.: Статистика - 1956. – с. 432.
13. Строполок С.П. Історія освіти в Україні / Строполок С.П. – К.: Наукова думка, 2001. – 912 с.
14. Центральний державний архів вищих органів влади і управління України.-Ф.116, оп.2, спр.56, арк.2.
15. Центральний державний архів громадських об'єднань України.-Ф.29, оп.1, спр.335, арк.12.
16. Янушевський С.І. Главнейшая задача современной школьной гигиены / Янушевський С.І. - Одесса, «Циркуляр по Одесскому учебному округу». - 1904 г. – 48 с.
17. Ясинський Г.І. Розвиток народної освіти на Україні / Ясинський Г.І.– К.: Київський університет, 1965. – 256 с.

Summary

MEDICAL AND SOCIAL PREREQUISITES AND SOCIAL-HISTORICAL OF HYGIENIC EDUCATION AND SCHOOL HYGIENE AS A SCIENCE IN THE UKRAINE IN THE EARLY TWENTIETH CENTURY
Stelmakhivska V.P.

Key words: school hygiene, state of health, medical and social condition, differente period.

Researched the medico-social and social-historical conditions for the reorganization of the educational system in Ukraine at the beginning of the 20 th century, identified social and hygienic prerequisites of the formation of scientific and methodological foundations for the hygienic accompaniment of educational activities of children and adolescents, set objective reasons which formed the department of hygiene into an independent science.

Institute for ecology and hygiene,

НЕКРОЛОГ

ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА НАТАЛІЇ МИКОЛАЇВНИ ГРИЦАЙ



Професор Наталія Миколаївна Грицай - вагоме ім'я не тільки в Українській медицині. Наталію Миколаївну знають і поважають далеко за межами нашої держави, у неї вчилися і їй наслідують на високих медичних рівнях, із нею зростають цілі покоління висококласних спеціалістів, а ще до неї завжди йшли ті, хто вже втратив віру й підтримку, бо знали велич її безвідмовної душі й тепло серця. Бог дарував їй жіночу вроду, розум, хист, талант, силу духу й визначив життєву дорогу, що стала долею – Бути Лікарем.

Відмінник охорони здоров'я, відмінник освіти України, член експертної комісії ВАК України, голова товариства неврологів Полтавщини, член правління товариства неврологів, психіатрів та наркологів України, член редколегії 5 медичних журналів, лікар-невролог вищої категорії, заслужений діяч науки і техніки України. Високи визнання, але тільки з огляду на пройдений час усвідомлюєш як нелегко вони даються.

Питання «ким бути» перед Наталією Миколаївною не поставало. Вона впродовж п'яти років наполегливо здає вступні іспити до Полтавського медичного стоматологічного інституту і лише в 1974 році стає студенткою першого курсу лікувального факультету. Відразу ж присвячує себе активній участі в науковій роботі під керівництвом професора Міщенко Віталія Петровича, який згодом постає в когорті її головних вчителів і наставників. Його портрет, а ще Калерії Іллівни Гуркіної та Миколи Сергійовича Скрипнікова завжди були на чільному місці в кабінеті Наталії Миколаївни.

Розпочавши трудовий шлях в академії зі старшого лаборанта кафедри нервових хвороб та нормальної фізіології, у 1985 році Наталія Грицай стає асистентом кафедри нервових хвороб, а в 1986 році блискуче здійснює захист кандидатської дисертації; з 1989р. по 1991р. вона очолює ЦНДЛ інституту; 1989р. – доцент кафедри нервових хвороб; 1991р. – проректор з навчальної роботи; з 1992 р. – проректор з наукової роботи.

У 1993 році знаменним подарунком до ювілею стало завершення роботи над докторською дисертацією, яка була захищена в 1994р. І вже наступного року Наталія Миколаївна - професор, завідувач кафедри нервових хвороб з нейрохірургією УМСА.

За цей час сформувалася власна наукова школа професора Н.М.Грицай, якою підготовлено 1 доктор та 7 кандидатів медичних наук, 9 магістрів, 14 клінічних ординаторів, десятки лікарів-неврологів, які пройшли інтернатуру та підвищили фаховий рівень на кафедрі нервових хвороб. Завдяки активній роботі професора Н.М.Грицай на посаді голови товариства неврологів на Полтавщині постійно проводяться наукові семінари із залученням провідних фахівців України та країн СНД.

У медицині немає таких тем, які б не цікавили Наталію Миколаївну, але основними напрямками школи є: діагностика, лікування, профілактика судинної патології головного мозку; проблема болю в нейростоматології; ураження нервової системи під впливом іонізуючої радіації. Підготовлено й видано за редакцією професора Н.М.Грицай більше 30 тематичних збірників наукових робіт, монографія «Проблеми гемостазу в неврології», 4 навчальні посібники, 2 підручника «Нервові хвороби» (для студентів медичного та стоматологічного факультетів), численні методичні рекомендації; отримані 4 авторських свідоцтва та 4 патенти на винахід; опубліковано понад 150 наукових праць. Активно проводиться дослідницька робота. Кафедра входить до науково – дослідних баз Фармкомітету України. Зусиллям Наталії Миколаївни в Полтаві створений Центр по лікуванню хворих на розсіяний склероз і паркінсонізм.

Як член Вищої атестаційної комісії, професор Н.М.Грицай є експертом багатьох кандидатських і докторських дисертацій. Під її керівництвом регулярно відбуваються засідання товариства неврологів області, до участі в яких запрошуються доповідачі з новітніми повідомленнями в сучасній медицині. Наталія Миколаївна виявляє особисту зацікавленість у підвищенні освітнього рівня регіональних колег, їх поінформованості.

Помітними подіями в науковому житті стали організовані та проведені професором Н.М.Грицай два Пленуми неврологів і наркологів України саме на Полтавщині у місті Миргород, куди прибули світила науки України й бдижнього зарубіжжя, чим яскраво підкреслюється вагома роль Наталії Миколаївни серед вчених – колег.

Своєрідним живим пам'ятником цілеспрямованості у досягненні мети є завершення будівництва неврологічного відділення Полтавської обласної клінічної лікарні. До цієї мети вона йшла вісім років і, незважаючи ні на які перешкоди, вона досягла її. Колеги з усієї України приїхали на відкриття клініки, щоб привітати Наталію Миколаївну й підтримати.

Наталія Миколаївна Грицай у своїй діяльності поєднувала унікальний досвід клініциста, педагога, вченого, адміністратора. Мудра й добра людина, вимогливий, але справедливий керівник, спеціаліст найвищого гатунку, вона щедро ділилася своїм досвідом, знаннями, вмінням дбайливого й уважного ставлення до кожної людини. А досягла вона всього в житті лише завдяки власній величезній працездатності, організованості, високій ерудиції і вимогливості до самої себе. При всій специфіці роботи їй вдалося створити на кафедрі домашню атмосферу, бачити всіх і кожного з його радощами і проблемами, налаштувати на діалог і відвертість. Наталія Миколаївна випромінювала іскристу енергію, створюючи навколо себе позитивну ауру, що дозволяла всім, хто з нею працював, натхненно втілювати задуми й досягати вагомих досягнень у науковій діяльності та лікуванні хворих.

Нам дуже пощастило, що поряд з нами була така чудова людина, від енергії якої могли засвічуватися зірки. Ентузіазм, оптимізм і працездатність, притаманні Наталії Миколаївні Грицай, переконували що вести за собою молоде покоління неврологів та науковців – це непростий збіг обставин чи питання часу. Це - її покликання. Як покликання бути лікарем. Воїстину, якщо людина талантлива, то в усьому. І все це – про професора Наталію Миколаївну Грицай.

Такою ми пам'ятатимемо її – талановитого вченого і керівника, мудрого і доброзичливого вчителя, справжнього лікаря, громадського діяча, добру людину, привабливу яскраву жінку, легка і впевнена хода якої завжди змушували оточуючих мрійливо згадувати, що все-таки краса і розум врятовують світ.

До відома авторів

1. Статті публікуються українською, російською або англійською мовою.
2. До статті додається акт експертної комісії про відсутність інформації, що становить державну таємницю та направлення установи. В направленні засвідчується, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.
3. Авторський оригінал складається з двох примірників: – тексту (стаття 15 стор., огляд – 20 стор., коротке повідомлення – 7 стор.);
 - списку літератури (статті до 20, огляди до 50, короткі повідомлення – до 15 джерел);
 - таблиць;
 - малюнків (не більше 4);
 - підписів до рисунків;
 - рефератів українською, російською та англійською мовами обсягом по 0,5 стор.
4. На першій сторінці зазначаються:
 - 1) шифр УДК;
 - 2) прізвища авторів, ініціали, наукові ступені та звання;
 - 3) назва статті;
 - 4) установи, де працюють автори, місто;
 - 5) ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті.

На останній сторінці тексту власноручні підписи всіх авторів: прізвище, ім'я та по-батькові, поштова адреса, номери телефонів (службовий, домашній) автора, з яким редакція має спілкуватися. Підписами автори також засвідчують, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.

Вступ повинен відображати стан проблеми та встановлювати мету дослідження.

5. Текст друкується шрифтом не менше 2,8 мм на білому папері насиченим кольором через два інтервали на одній сторінці аркуша формату А4 (210×297 мм), поля з усіх боків по 20 мм. При підготовці тексту на комп'ютері крім роздрукованого матеріалу **потрібно надавати дискету**, при цьому текст статті повинен бути в форматі **Microsoft WORD**. Це значно прискорить проходження статті в редакції.

6. Всі величини приводяться в одиницях СІ.

7. На звороті рисунків олівцем ставлять їхні порядкові номери, прізвище першого автора скорочена назва статті; на мікрофото – його верх і низ. У рукопису на лівому полі сторінок вказують місця таблиць, які друкуються на окремих аркушах і рисунків.

8. Список літератури оформлюється на окремих сторінках без скорочень. Автори подаються за абеткою, спочатку кирилицею, потім латиницею. Посилання в тексті зазначаються цифрами **у квадратних дужках**.

Порядок оформлення: для монографій – прізвище, ініціали, назва книги, місце видання, видавництво, рік видання, том, номер, сторінки (початкова і остання), на яких вміщують статтю.

9. Редакція залишає за собою право на наукове і літературне редагування статті.

Додаток до правил оформлення статей

Рекомендовано міжнародним комітетом з науки про лабораторних тварин та підтримано ВОЗ

Необхідно подавати наступну інформацію:

- вид тварин;
- генетичний статус: лінія (згідно правил стандартного позначення ліній лабораторних тварин) – медико-біологіческих исследований. – М., 1983. – С. 13-18.;
- категорія лабораторних тварин або їх мікробіологічний статус – Э.Х.Абдрашипова, Т.И.Зайцев, Т.П.Комаров и др. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья. //Ланималогия. – 1993. – №1. С. 7-12.;
- масу або вік тварин на початку експерименту, краще обидва показники;
- карантин або тривалість періоду акліматизації під час перевезення тварин на великі відстані;
- Утримання тварин під час експерименту (параметри мікроклімату, температура, вологість, об'єм повітря, світловий режим, тип клітин, тип підстилки);
- відповідність нормативів утримання тварин загальноприйнятими (Європейська конвенція по захисту хребтових тварин, що використовуються з експериментально або іншою метою. – Страсбург, 1986);
- годування (ГОСТ або фабрична маркировка корму, режиму надання їжі та води);
- джерело набуття тварин та наявність сертифікату якості тварин;
- кількість тварин. Описати всі процедури, які виконуються на тварині протягом часу, дози препаратів, що вводилися, хірургічні втручання та інші дії, що можуть спричинити тварині біль, а також відмітити використання при цьому методів анестезії.

При проведенні експерименту науковці повинні керуватися принципами гуманного відношення до лабораторних тварин, що використовуються в дослідках.

Information for authors

The Medical and Ecological Problem

Review, original and case-reports in Russian, Ukrainian or English are considered for publication in the quarterly *The Medical and Ecological Problem*. The original papers are peer-reviewed. Usually editorial staff choose two readers who review papers during two weeks. Then manuscript with review is sent to authors and after being corrected is delivered to editorial office to final acceptance.

However all review articles are accepted by Editor-in-Chief after taking advice of Editorial Board. A complete manuscript on floppy disc and two print-out copies should be submitted to the journal editor. The editor reserves the right to alter and correct the manuscript considered for publication in a way that will not change its overall value. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to authors for correction. By submitting a paper to the editor, authors thereby confirm the original form of the papers, which means that the copyright or any other rights of property of the third party are not violated nor the paper has been previously published or submitted for publication elsewhere and "We declare we do not workup on animals". After publishing the paper, the authors transfer the copyright to *Editorial Office*. Additionally manuscript must include the clause: "We declare that during research there were all patient's principles observed due to Helsinki Convention". In the case of reprints from other journals the authors are obliged to warrant permission from respective editors. Manuscript in both Polish and English should be prepared in an electronic form. *Title of the paper* in Russian, Ukrainian and English should be concise, it should not exceed 120 characters. A subtitle is acceptable. The title

should be followed by names of authors, including first names, and affiliations. Main author and address for correspondence should be provided. It is indeed necessary to follow the guidelines on the title length.

Summary should be prepared in Russian, Ukrainian and English and not exceed 250 words. It must be structured within introduction, aim, material and methods, results and conclusion parts.

Key words provided in both Russian, Ukrainian and English should not exceed 7 in number.

The paper itself should be written in a concise and clear way; neither medical nor scientific slang words or phrases can be accepted. The text of original papers should be divided into paragraphs, including materials and methods, results and discussion. Latin names, as microorganisms and foreign words should be written in italics.

Abbreviations, symbols and units. Only common abbreviations may be left unexplained. Less known abbreviations and symbols must be explained when used for the first time in the manuscript. No abbreviations are acceptable in the title. SI units are recommended; however, also other generally used units (l, min., h, C, Da, cal) are accepted.

Figures (drawings, photographs) should be numbered. Figure captions should be printed on a separate page. If figures are taken from published sources, the author must get appropriate editor's approval to publish them. Acknowledgment should be given at the end of the caption for such a figure. Color figures can be included for publication, however, in each case this should be agreed with the editor. Drawings should be prepared using tools available in word processors, in *Excel* or specialist editors e.g. *ZsxiDraw*. Figures drawn professionally in black India ink on white paper are also acceptable. Photographs must be of high quality. *Tables* should be on separate sheets, numbered consecutively and headed by a concise title. Put explanatory matter in footnotes. Footnotes are adjuncts to the text and should not repeat material presented therein. *References* should be quoted subsequently in the text in square brackets [1,2]. Unpublished data can be referred to providing the source of information in brackets in the text. Each reference should include: Author's name and initial(s). Article name. Title. Abbreviated name of journal. Year; Volume: pages.