

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія»
Українська Академія наук національного прогресу

Проблеми екології та медицини

Том 20 N 3-4 2016

НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Заснований в 1997 році

Виходить 1 раз на 2 місяці

Зміст

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

ВПЛИВ ПОЛІОКСИПРОПІЛЕНПОЛІОЛІВ НА ВОДНІ ОБ'ЄКТИ

***Бабієнко В.В., Аніщенко Л.В., Михайленко В.Л.*3**

ENGLISH VERSION: INFLUENCE OF POLYOXYPROPYLENEPOLYOLS ON WATER OBJECTS

***Babienko V.V., Anishchenko L.V., Mykhaylenko V.L.*8**

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

THE PATHOGENESIS OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN OBESITY

***Nedoborenko V.M., Kaidashev I.P.*13**

ACUTE INTAKE OF A LARGE DOSE OF CARDIAC GLYCOSIDES BY A YOUNG MALE

***Savchenko L., Mormol I., Husar P., Reva N., Borzykh O., Kaydashev I.*16**

НОВІ ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ЩОДО ВСТАНОВЛЕННЯ ПРИРОДИ РЕСПІРАТОРНИХ СИМПТОМІВ
У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

***Перцева Т.О., Конопкіна Л.І., Ботвінікова Л.А.*20**

ENGLISH VERSION: NEW DIAGNOSTIC POSSIBILITIES FOR DETERMINING THE NATURE OF
RESPIRATORY SYMPTOMS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

***Pertseva T.O., Konopkina L.I., Botvinikova L.A.*24**

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

THE REPRODUCTIVE INFLUENCE OF LAPROL-604 ON WISTAR RATS

Ророва Т.М......28

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ33

INFORMATION FOR AUTHORS34

ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ

© Бабієнко В.В., Аніщенко Л.В., Михайленко В.Л.
УДК 614.777:547.3

ВПЛИВ ПОЛІОКСИПРОПІЛЕНПОЛІОЛІВ НА ВОДНІ ОБ'ЄКТИ*

Бабієнко В.В., Аніщенко Л.В., Михайленко В.Л.

Одеський національний медичний університет

В статье рассмотрены результаты проведения токсиколого-гигиенической характеристики новой группы полиоксипропиленполиолов и обоснован прогноза санитарно-эпидемиологического благополучия водных объектов. основе лежит исследование биологического действия полиолов на организм теплокровных животных в условиях острого и подострого экспериментов, влияния полиолов на органолептические показатели воды и санитарный режим водоемов. Исследование показало, что в основе механизма биологического действия полиоксипропиленполиолов лежит стимуляция свободнорадикального перекисного окисления липидов на фоне истощения антиоксидантной системы, нарушение структуры клеточных мембран, снижение активности мембраносвязанных ферментов, нарушение биоэнергетики, окислительного фосфорилирования и окислительно-восстановительных процессов в организме теплокровных животных. Ведущими патогенетическими звеньями формирования структурно-метаболических нарушений в организме являются активация свободнорадикальных процессов перекисного окисления липидов, ингибирование антиоксидантной системы и энергетических процессов, которые лежат в основе развития тканевой гипоксии и снижению восстановительных процессов.

Ключевые слова: гигиена, здоровье, полиоксипропиленполиолы, водоемы.

Швидке зростання промисловості і зміна її структури значно збільшують кількість стічних вод, що спускаються у водойми, змінюють їх хімічний склад. Охорона водойм від цих забруднень стає однією з важливих проблем технічного прогресу до громадської охорони здоров'я [9].

Небезпека забруднення водойм існує майже у всьому світі. З наростаючими темпами розвитку промисловості спостерігається зміна її структури і переважання водомістких технологічних процесів, характерних для галузей хімічної, нафто- і коксохімічної, паперово-целюлозної промисловості, виробництва штучних і синтетичних органічних матеріалів [2].

Розвиток хімічної промисловості, хімізація інших галузей виробництва і сільського господарства супроводжуються не тільки швидким збільшенням обсягу стічних вод, що надходять у водойми, а й все більш інтенсивним і різноманітним їх забрудненням хімічними речовинами і інгредієнтами, багато з яких далеко не байдужі для здоров'я. Вище сказане відноситься і до поліоксипропіленополіолів (ПОПП) [3, 5, 8, 11]. До недостатньо вивчених в гігієнічному відношенні ПОПП, які можуть забруднювати водойми, відносяться: поліоксипропілен-оксидетиленглікольуретан (ПОПП-100), поліоксипропіленамін (ПОПП-294), поліоксипропільована сахароза з поліоксипропілентріолом (ПО-

ПП-504). Відомо, що ці речовини широко використовуються в різноманітних галузях народного господарства в якості основи промислового випуску синтетичної шкіри, емалей, лаків, гідравлічних та тормозних рідин, пластмас, поліуретанів, пінопластів, поверхнево-активних речовин, епоксидних смол. На всіх етапах виробництва ПОПП (синтез, каталіз, окиснення, гідратація, сушка) утворюються стічні води, які можуть бути причиною забруднення водойм і порушення процесів природного самоочищення [9].

На даний час практично відсутня інформація відносно параметрів токсичності, біологічної активності, впливу даної групи поліолів на умови водокористування та здоров'я населення, а також результатів гігієнічної регламентації в воді водних об'єктів [1, 4, 7, 10, 12-15]. Тому, необхідність вивчення цих запитань обумовлює актуальність даного дослідження, метою якого явилось отримання токсиколого-гігієнічної характеристики поліоксипропіленополіолів (ПОПП-100, ПОПП-294, ПОПП-504) та обґрунтування прогнозу санітарно-епідеміологічної безпеки водойм.

Об'єкт дослідження: біологічний вплив ПОПП на організм експериментальних тварин в умовах гострого та підгострого експериментів, вплив ПОПП на органолептичні показники води і санітарний режим водойм.

* Цитування при атестації кадрів: Бабієнко В.В., Аніщенко Л.В., Михайленко В.Л. Вплив поліоксипропіленополіолів на водні об'єкти // Проблеми екології і медицини. – 2016. – Т. 20, № 3-4. – С. 3–7.

Предмет дослідження – стан експериментальних тварин, стан санітарного режиму водойм.

Матеріали і методи дослідження

Були використані наступні методи досліджень: токсиколого-гігієнічні (визначення середньолетальних доз, кумулятивних алергенних властивостей, шкірно-подразнюючої та шкірно-резорбтивної дії), санітарні, імунні спектрофотометричні (визначення активності ферментів і концентрацій сполук), спектрофлуорометричні (визначення швидкості окислення сполук), хроматофотографічні (розподілення на фракції, визначення вмісту метаболітів), хемілюмінесцентні (визначення інтенсивності хемілюмінесценції біологічних об'єктів), уніфіковані клінічні методи з використанням стандартних наборів реактивів, морфофункціональні (визначення патологічних зрушень в органах і тканинах), гістохімічні (визначення активності ферментів), статистичні.

Таким чином, вивчення ступеня небезпеки ПОПП базувалося на великому діапазоні досліджень, серед яких обов'язковим були встановлення летальних ефектів, виявлення кумулятивних, шкірно-подразнюючих, шкірно-резорбтивних, сенсibiliзуючих якостей, вивчення хронічної дії на організм з метою встановлення порогів шкідливої дії. Особливого значення набували токсикокінетичні та метаболічні критерії оцінки токсичності ксенобіотиків, дослідження віддалених ефектів, вплив на репродуктивну функцію організму.

Для цього передбачалась постанова гострого та підгострого експериментів на теплокровних тваринах.

Результати та їх обговорення

Одноразове пероральне введення досліджених поліолів проводили з використанням діапазону доз 5,0-20,0 г/кг маси тварин, який обирався таким чином, щоб визначити дозу летальності в інтервалі ДЛ₀-ДЛ₁₀₀ [6].

Спостереження за тваринами проводили на протязі 15 діб. В першу добу введення речовин приводило тварин до збудження, яке поступово переходило в апатію. Реакція на звукові та больові подразники у тварин суттєво зменшувалась. Відмічали тяжке дихання, блідість шкірних покривів, порушення координації рухів, адинамію, бокове положення, діарею, коматозний стан, в якому гинула частина тварин. Смерть тварин спостерігали в першу добу експерименту в залежності від дози речовин. Середній час смерті тварин у всіх групах відмічався в межах від 16,4 до 24,3 годин від моменту початку гострої дії. Морфологічні дослідження органів тварин, загиблих в найближчу добу після введення поліолів, показали повнокров'я внутрішніх органів, здуття шлунку, тонкого і товстого кишечника.

Внутрішні органи піддавались патоморфологічному дослідженню. У них були виявлені такі зміни: в головному мозку - повнокров'я судин оболонки та речовини мозку, стази в капілярах, периваскулярний та перичелюлярний набряк; в серці – виражене повнокров'я, периваскулярний набряк серцевого м'яза; в легенях – помірне повнокров'я; в печінці – різке повнокров'я, вогнищева дистрофія, місцями крововиливи; в нирках – різке повнокров'я, вогнищева та зерниста дистрофія, білок в просвіті звивистих каналців, місцями крововиливи в кірковому та інтерстиціальному шарі; в шлунку, тонкому та товстому кишечнику – повнокров'я, набряк підслизового шару, місцями некроз.

В клінічній картині гострого отруєння переважали симптоми порушення з боку центральної нервової, серцево-судинної та дихальної систем. Різноманітної видової та статевої чутливості не було встановлено.

Таким чином, поліоли у випадку одноразового перорального потрапляння в організм теплокровних тварин були здатні порушувати гемодинаміку переважно в головному мозку, печінці, нирках, селезінці, серці та визвати паренхіматозну дистрофію органів.

Відомо, що вплив більшості ксенобіотиків на організм здатний призводити до інтенсифікації вільнорадикальних реакцій і реакцій перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), які супроводжуються підвищенням утворенням активних форм кисню, перекисів, гідроперекисів, які здатні надавати пошкоджуючий вплив на клітинні мембрани. В якості критеріїв, що свідчать про зміну активності процесу ПОЛ, використовували реєстрацію рівня спонтанного та індукованого надслабкого світіння – хемілюмінесценцію (ХЛ) у порівнянні з вмістом в біологічних субстратах продуктів перекисного окислення ліпідів – дієнових кон'югатів (ДК) і маленового діальдегіду (МДА). Досліджувані поліоли в дозі 1/100 ДЛ₅₀ призводили до значного підвищення вмісту ДК (в середньому на 78%) і МДА (в середньому на 126%) в сироватці крові щурів у порівнянні з контролем на 30 добу експерименту. Вивчення проникнення досліджуваних речовин через непошкоджену шкіру за допомогою хемілюмінесцентного метода показало, що інтенсивність хемілюмінесценції сироватки крові дослідних тварин збільшувалась, починаючи з першої години аплікації поліолів на шкірі. Це дало можливість зробити висновок про те, що речовини здатні проникати через непошкоджену шкіру експериментальних тварин. Наявність високої чутливості методу дає можливість використовувати його в токсиколого-гігієнічних дослідженнях для експрес-оцінки проникнення речовин через неушкоджену шкіру. Загибелі тварин при оцінці шкірно-резорбтивної дії поліолів не спостерігалось.

Обґрунтування особливостей біологічної дії, встановлення порогових та недіючих доз досліджуваних сполук в організмі щурів проводили в умовах підгострого експерименту. Всі досліджувані поліоли знижували відсоток приросту маси тіла, вміст гемоглобіну, еритроцитів та лейкоцитів. Відзначали зміни активності каталази, пероксидази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, креатинфосфокінази, Ca²⁺ і Mg²⁺-залежної АТФаз, лужної фосфатази, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, α-гідроксибутиратдегідрогенази, глутатіонпероксидази, а також вміст відновленого глутатіону, вітаміну С.

Вивчення віддалених наслідків впливу поліолів показало наявність гонадотоксичної дії, яка проявлялась в зниженні концентрації сперматозоїдів в суспензії придатка, часу рухливості, осмотичної стійкості та збільшенні кількості мертвих форм, кислотної резистентності. Морфологічна оцінка стану сперматогенного епітелію виявила зменшення індексу сперматогенезу, числа каналців з 12-ою стадією мейозу, нормальних форм сперматогоній та ріст числа каналців зі злущеним епітелієм. Речовини в дозах 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ надавали пригнічуючої дії на функціональний стан сперматозоїдів та сперматогенез. Доза 1/1000 ДЛ₅₀ в підгострому досліді була недіючою, тобто залишалась на рівні загальнотоксичної дії. В той же час поліоли в 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ не чинили впливу на кількість живих ембріонів, резорбцій, жовтих тіл вагітності, масу

плацент, постімплантаційну загибель. Але ПОПП-294, та ПОПП-100 в 1/100 ДЛ₅₀ знижували масу плодів, збільшували доімплантаційну та загальну ембріональну загибель. При дослідженні ембріонів відхилень в диференціюванні органів та тканин білих щурів не виявлялось.

Вивчення мутагенної дії ПОПП на клітини червоного мозку білих щурів показало, що речовини в 1/10 та 1/100 ДЛ₅₀ суттєво підвищували відсоток клітин з хромосомними порушеннями та знижували мітотичну активність клітин. В дозі 1/1000 ДЛ₅₀ змін в рівні хромосомних аберацій та мітотичної активності клітин червоного кісткового мозку не було встановлено. Знайдені структурні ушкодження генетичного апарату знаходились на рівні загальнотоксичної дії.

Полііоли не дали позитивної реакції при внутрішньошкірній, наскірній та кон'юнктивальній сенсibiliзації у морських свинок. Реакції специфічного лізису лейкоцитів, агломерації лейкоцитів, пошкодження базофілів, поставлені *in vitro* після 24 годин після введення дозволяючої дози, були негативними. Це дало можливість судити про відсутність алергенних властивостей даної групи сполук. Симптомів проявів алергічної реакції з боку шкірних покривів, слизових та клінічної картини не відзначалося, що дало змогу виключити в даній групі полііолів наявність сенсibiliзуючих та алергізуючих властивостей.

В селезінці та лімфатичних вузлах експериментальних тварин при дії полііолів виявлялись проліферативні зміни, які характеризувались збільшенням клітин плазмоцитарного ряду. Відзначалось також збільшення зрілих клітин плазмоцитарного ряду, плазмобласти зустрічались у вигляді одиночних клітин, незрілі клітини спостерігались в дещо більшій кількості під впливом 1/100 ДЛ₅₀ полііолів. В дозі 1/1000 ДЛ₅₀ речовини не надавали суттєвого впливу на плазмоцитарну реакцію лімфатичних вузлів та селезінки.

Таким чином, досліджувана група полііолів в певних дозах впливу може змінювати імунобіологічну реактивність організму теплокровних тварин.

Вивчення стабільності полііолів показало, що їх вміст в розчинах на 30-ту добу експерименту складав 50-96% від вихідної концентрації. При цьому швидкість розпаду залежала від концентрації речовини. Висока стабільність полііолів підтверджувалась і непрямыми методами. ПОПП-294, ПОПП-504 та ПОПП-100 на рівні практичного порога за запахом та присмаком зберігали специфічний запах та присмак на протязі двох тижнів від початку постановки експерименту. Зберігалися також в цей проміжок часу і піноутворювальні властивості речовин. Все це дозволило судити про високу стабільність полііолів.

У водних розчинах якісно виявлялись вуглеводні (гексан, гептан, октан) оцтовий альдегід, ацетон, метанол, етанол, ізобутанол, метилетилкетон, етилацетат, діоксан та ін. Наявність вихідних продуктів по закінченню шести місяців експозиції також являлась прямим підтвердженням високої стабільності досліджуваних ксенобіотиків. По закінченню експерименту у водних розчинах зберігалось 60-80% від вихідної кількості речовин.

Для багатьох продуктів трансформації встановлені гігієнічні нормативи у воді водойм, атмосферному повітрі, повітрі робочої зони та ґрунті. Більшість виявлених сполук являються більш токсичними, ніж вихідні досліджувані речовини. Аналіз та гігієнічна оцінка продуктів деструкції та трансформації полііолів дозво-

ляє говорити про їх широкий спектр біологічної дії. Вони здатні уражати органи та системи організму, являючись потенційно небезпечними в плані виникнення віддалених наслідків. Деякі продукти трансформації володіють нейротропною дією. Інші у певних концентраціях, чинять вплив на органолептичні властивості води та санітарний режим водойм.

Таким чином, результати досліджень деструкції та трансформації являють великий інтерес при складанні прогнозу несприятливого впливу ксенобіотиків на санітарний стан водойм та здоров'я населення.

Висока стабільність речовин підтверджувалась і непрямыми методами. Піноутворююча здатність речовин, наприклад, з вихідною концентрацією 20,0 мг/л, зберігалась на протязі всього терміну спостереження (15 діб). При цьому на рівні практичного порогу по присмаку - гірко-в'язучий присмак водних розчинів зберігався на протязі десяти і більше діб.

Як прями, так і непрямі методи дозволяють стверджувати, що досліджувані полііоли являються високостабільними та важко піддаються біологічному окисленню та гідролітичній деструкції. Це потребує, в свою чергу, здійснення біологічної очистки стічних вод, які містять ці хімічні речовини, а також обґрунтування випуску стічних вод у водні об'єкти. Хімічні речовини, які надходять в водойми зі стічними водами, можуть змінювати органолептичні показники води: запах, колір, прозорість, присмак, та піноутворення. Погіршення органолептичних показників питної води може негативно впливати на функціональний стан серцево-судинної, центральної нервової, дихальної та травної систем. Полііоли надають воді специфічний запах нафтопродуктів. Поріг сприйняття (інтенсивність - 1 бал) та практичний поріг (інтенсивність - 2 бали) при 20°C знаходиться на наступних рівнях: 2,5; 51,04; 23,2; та 5,0; 105,8; 35,8 мг/л відповідно для ПОПП-504, ПОПП-294, ПОПП-100.

Хлорування водних розчинів полііолів з вихідною концентрацією 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 та 80,0 мг/л не супроводжується посиленням існуючого та проявом сторонніх запахів (дози активного хлору складали 0,5; 1,0; 2,0 мг/л). Нагрівання води до 60°C недостовірно посилює запах. Більш значимий вплив на запах води чинить ПОПП-504. Порогові концентрації по впливу на запах встановлені на рівні 5,6; 106,9 та 35,8 мг/л.

Всі сполуки надають водним розчинам гірко-в'язучий присмак. Поріг сприйняття та практичний поріг визначенні на наступних рівнях 26,3; 24,26 та 30,5; 47,32 мг/л відповідно для ПОПП-504 та ПОПП-100. ПОПП-294 в концентрації до 100,0 мг/л не впливає на присмак водних розчинів. Нагрівання водних розчинів речовин до 60°C не приводить до посилення або появи присмака води.

Досліджувані речовини не впливають на колір та прозорість води в концентраціях до 100,0 мг/л, не виявляється також і опалесценція водних розчинів. Однак слід відзначити, що при струшуванні водних розчинів полііолів з'являється мутність води за рахунок утворення дрібно- та великозернистої піни. Характер піни та її стабільність багато в чому визначається концентрацією вихідних речовин. Порогові концентрації по піноутворенню встановлені на рівнях: 0,1; 0,3 та 2,0 мг/л відповідно для ПОПП-100, ПОПП-504 та ПОПП-294.

Таким чином, досліджувана група полііолів при певних умовах здатна надавати воді специфічний запах нафтопродуктів, гірко-в'язучий присмак та викликати

піноутворення. В концентраціях до 100 мг/л речовини не впливають на колір та прозорість водних розчинів. Лімітуючи органолептична ознака шкідливості – піноутворення.

При розгляді запитань негативного впливу шкідливих речовин промислових стічних вод на водойми, особлива увага приділялась впливу їх на санітарний режим. Численними дослідженнями показано, що в основі цих процесів лежать переважно біохімічні перетворення органічних речовин зв'язані з життєдіяльністю сапрофітної мікрофлори. Показниками інтенсивності процесів самоочищення водойм являються біохімічне споживання кисню, ступінь мінералізації та нітрифікації органічних сполук. Для більш повного розкриття характеру впливу ПОПП на процеси самоочищення водойм додатково досліджувалась динаміка вмісту розчиненого кисню, активна реакція води, розвиток водних організмів (мікро-водоростей, дафній, сапрофітної мікрофлори).

Найбільш суттєвий вплив на динаміку біохімічного споживання кисню в досліджених дозах чинили ПОПП-294 та ПОПП-100, які повністю приводили до зникнення кисню на п'яту добу експерименту в концентраціях 80,0 мг/л. Порогові концентрації встановлені на рівнях 20,0 мг/л для ПОПП-294 та ПОПП-100 та 40,0 мг/л для ПОПП-504. У всіх випадках концентрація 10,0 мг/л являлась недіючою.

Збільшення споживання кисню в концентраціях 20,0; 40,0 та 80,0 мг/л починалось з першої доби експерименту та досягало максимуму на п'яту добу спостереження. Досліджувані речовини не знижували швидкості цих процесів, а в залежності від дози впливу, навпаки, підвищували їх, що свідчить про біохімічне окислення органічних сполук.

Досліджувані полііоли в концентраціях 5,0; 10,0; та 20,0 мг/л не змінювали кисневий режим водойм. В великих дозах спостерігалось зниження розчиненого в воді кисню порівняно з контролем більш ніж на 20%. Більш чіткий вплив на вміст розчиненого в воді кисню надавали ПОПП-294 та ПОПП-100. Пороговими концентраціями являлись 20,0 та 40,0 мг/л відповідно для ПОПП-294 та ПОПП-504.

Відомо, що перетворення хімічних сполук у водному середовищі може змінювати активну реакцію води (рН), що в свою чергу буде сприяти погіршенню загального санітарного стану водойм. При концентраціях полііолів: 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 та 80,0 мг/л не спостерігалось перевищення меж рН: 6,5-8,5.

Досліджувані полііоли пригнічують в залежності від концентрації в воді модельних водойм процеси мінералізації органічних речовин. Полііоли не надають впливу на динаміку накопичення аміаку у всі терміни спостереження в досліджуваних концентраціях. При вивченні процесів мінералізації другої стадії виявляється, що динаміка утворення азоту нітритів подібна з такою в контрольних водоймах. Всі речовини приводять до підвищення накопичення азоту нітратів. У більшій мірі це відзначається в модельних водоймах з концентраціями речовин 40,0 та 80,0 мг/л.

Аналіз отриманих результатів дозволяє визначити, що ПОПП-294 надає дещо більш суттєвий вплив на кінцеву стадію мінералізації органічних речовин.

Результати експериментів свідчать про те, що спостерігається як збільшення вмісту азоту нітратів, так і гальмування окислення органічних сполук, які містяться в модельних водоймах. Максимальний вміст азоту нітратів відзначається на 18-20 добу, а в

контрольних водоймах – на 10-15 добу спостереження. Такі результати вказують на гальмування процесів мінералізації органічних речовин. Порогова концентрація встановлена на рівні 10,0 мг/л для всіх сполук.

Дослідження впливу речовин на водні організми (*Daphnia magna*) показало, що всі сполуки надавали токсичного впливу на цей вид найпростіших. Порогові концентрації визначені на наступних рівнях 5,0; 10,0 та 20,0 мг/л відповідно для ПОПП-294, ПОПП-100 та ПОПП-504.

В розчинах, які містили досліджувані полііоли в концентраціях до 20,0 мг/л, розвиток бактерій не відрізнявся від контролю. При концентрації 40,0 мг/л спостерігався більш інтенсивний ріст сапрофітної мікрофлори, що свідчить про стимулюючу дію речовин на розвиток мікроорганізмів. Пороговою концентрацією для всієї групи речовин являлась концентрація 20,0 мг/л.

Певні концентрації полііолів чинять несприятливий вплив на різні процеси самоочищення водойм: біохімічне споживання кисню, розчинений у воді кисень, мінералізацію органічних речовин, ріст та розмноження сапрофітної мікрофлори. Порогові концентрації встановлені на наступних рівнях: біохімічне споживання кисню – 10,0; 20,0 та 40,0 мг/л відповідно для ПОПП-294, ПОПП-100 та ПОПП-504; розчинений в воді кисень – 20,0 мг/л; процеси мінералізації – 10,0 мг/л; сапрофітна мікрофлора – 20,0 мг/л для всіх речовин.

Експериментальне вивчення впливу на органолептичні показники води та санітарний режим водойм дозволило визначити потенційну небезпеку полііолів для умов водокористування. Збіг отриманих результатів показав, що лімітуючою ознакою шкідливості в даних дослідженнях являється органолептична – піноутворення.

Висновки

Узагальнення результатів по гігієнічному нормуванню досліджуваної групи ПОПП у воді водойм показує, що:

- всі досліджувані полііоли відносяться до категорії високостабільних і в зв'язку з цим потрібний високо-ефективний ступінь очистки стічних вод, які містять дані сполуки;

- полііоли в певних концентраціях можуть змінювати органолептичні властивості води, надаючи їй специфічних запах та присмак миючих засобів, а деякі з них надають вплив на прозорість та мутність;

- досліджувані сполуки володіють здатністю до піноутворення, по цьому показнику порогові концентрації складають 0,1; 0,3 та 2,0 мг/л відповідно для ПОПП-100, ПОПП-504 та ПОПП-294;

- при концентраціях більше 10,0 мг/л речовини здатні порушувати процеси природного самоочищення водойм, а саме, підвищувати біохімічне споживання кисню, знижувати вміст розчиненого в воді кисню, гальмувати процеси мінералізації органічних сполук. Порогові концентрації для всіх полііолів по впливу на дафній коливаються від 5,0 до 10,0 мг/л. В залежності від концентрації вони здатні стимулювати або пригнічувати ріст та розмноження мікрофлори. Порогові концентрації по впливу на санітарний режим водойми складають 10,0 мг/л;

- на основі параметрів гострої токсичності досліджувані речовини відносяться до малотоксичних (4 клас безпеки);

- в клінічній картині отруєння поліолами переважають симптоми порушень з боку центральної нервової, серцево-судинної та дихальної систем. Відмінностей видової та статевої чутливості не виявлено. Структурні зміни внутрішніх органів характеризувались дистрофічними змінами в печінці, нирках, надниркових залозах, селезінці. Всі сполуки в тій чи іншій мірі володіють шкірно-резорбтивною дією. Оцінка кумулятивних властивостей виявила, що поліоли відносяться до слабкокумулятивних сполук;

- досліджувані сполуки надають суттєвий вплив на показники крові, окисно-відновні процеси, активність оксидантно-антиоксидантної системи в організмі теплокровних тварин. Недіючою дозою в підгострому експерименті являється 1/1000 ДЛ₅₀;

- віддалені наслідки впливу поліолів проявляються на одному рівні з загальнотоксичною дією. Це речовини, які пригнічуючи діють на функціональний стан сперматозоїдів та сперматогенез. Ембріотоксична дія проявляється в збільшенні до- та постімплантаційної загибелі, а також загальної ембріональної загибелі. Дії поліолів на генетичний апарат не виявлено. Сенсибілізуючими властивостями речовини не володіють;

- поліоли на рівні загальнотоксичних доз проявляють інгібувальну дію на стан клітинного та гуморального імунітету;

- лімітуючий показник шкідливості для всіх сполук – органолептичний (піноутворення);

- гранично-допустимі концентрації знаходяться на рівнях: 0,1; 0,3 та 2,0 мг/л відповідно для ПОПП-100, ПОПП-504 та ПОПП-294.

Таким чином, досліджувані поліоксипропіленполіоли, являючись біологічно активними сполуками, стимулюють процеси вільнорадикального перекисного окислення ліпідів, викликаючи при цьому накопичення в організмі перекисів, гідроперекисів, вільних радикалів, дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду. Разом з тим, в результаті мікросомального окислення даних речовин утворюються альдегіди, спирти, кетони, тобто речовини, які володіють радіоміметичними ефектами. Продукти перекисного окислення ліпідів та метаболіти біотрансформації поліолів знижують активність антиоксидантної системи, інактивують мембранні ферменти, порушують структуру мембран та стан рецепторного апарату клітини блокуючи нейрогуморальну регуляцію процесів внутрішньоклітинного метаболізму. Ці зміни приводять до порушення біоенергетичних та біосинтетичних процесів. Рідіоміметичні властивості поліолів обумовлюють розвиток в організмі вільнорадикальної патології яка являє собою концептуальну модель механізму їх біологічної дії.

Література

1. Багмут И. Ю. Изучение влияния полиоксипропиленполиолов на иммунологическую реактивность животных в подостром опыте и обоснование наиболее чувствительных показателей диагностики иммуно-
2. Баренбойм Г. М. Оценка биологической опасности органических ксенобиотиков / Г. М. Баренбойм, М. А. Чиганова, А. В. Аксенов // Методы оценки соответствия. – 2011. – № 7. – С. 28–33.
3. Брянцев О. Н. Токсиколого-гигиеническая характеристика полиолов в связи с проблемой охраны водных объектов : автореф. дис. на соискание учен. степ. канд. мед. наук / О. Н. Брянцев. – Ростов-на Дону, 2006. – 24 с.
4. Влияние полиоксипропиленполиолов на метаболические процессы и функцию детоксикации / А. В. Бондарева, Л. И. Артюгина, И. Ю. Багмут // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 3, Т. 2 (111). – С. 110-113.
5. Влияние техногенных химических загрязнителей окружающей среды на основе полипроксипропиленполиолов на генеративную функцию и генетический аппарат теплокровных животных / О. В. Зайцева, В. А. Телегин, В. И. Жуков [и др.] // Проблеми екології та медицини. – 2006. – Т. 10, № 5-6. – С. 21-24.
6. Елизарова О. Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении / О. Н. Елизарова. – М. : Медицина, 1971. – 173 с.
7. Жуков В. И. Влияние полиолов на окислительно-восстановительные процессы у теплокровных животных в связи с проблемой охраны водных экосистем / В. И. Жуков, О. В. Зайцева, С. В. Павлычева // Экспериментальна і клінічна медицина. - 2008. - № 2. - С. 107-112.
8. Медико-токсикологическое изучение поверхностно-активных веществ в связи с проблемой санитарной охраны источников питьевой воды / Н. Г. Щербань, В. А. Капустник, В. В. Мясоедов [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2013. - № 2. – С. 116-120.
9. Мокиенко А. В. Вода: к взаимосвязи гигиены и экологии / А. В. Мокиенко // Вода: гігієна та екологія. – 2013. - № 1, Т. 1. – С. 20-34.
10. Резуненко Ю. К. Особенности биологической дії поліолів на основі етилен і пропіленгліколю за умов підгострого експерименту / Ю. К. Резуненко // Довкілля та здоров'я. – 2012. - № 2. – С. 9-12.
11. Сиренко Е. В. Влияние новых групп полиолов на санитарный режим водоемов и эстетические показатели воды / Е. В. Сиренко // Экология и промышленность. - 2006. - № 1. - С. 39-43.
12. Antirritant properties of polyols and aminoacids / S. Korponyai, R. K. Kovács, G. Erős [et al.] // Dermatitis. – 2011. - Vol. 22. - P. 141-146.
13. Effect of polyols P-5003-AC, P-373-2-20, P-294-2-35on the sanitary regime of water reservoirs and organoleptic properties of water in connection with the water reservoirs protection / V. Zhukov, O. Zaytseva, Y. K. Rezenenko // Am. J. Clin. Exp. Med. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 16-19.
14. Kumar V. Effect of polyols on polyethylene glycol (PEG)-induced precipitation of proteins: Impact on solubility, stability and conformation / V. Kumar, V. K. Sharma, D. S. Kalonia // Int. J. Pharm. – 2009. – Vol. 366, № 1-2. – P. 38-43.
15. Politi R. The impact of polyols on water structure in solution: a computational study / R. Politi, L. Sapir, D. Harries // J. Phys. Chem. A. – 2009. – Vol. 113, № 26. – P. 7548-7555.

ENGLISH VERSION: INFLUENCE OF POLYOXYPROPYLENEPOLYOLS ON WATER OBJECTS*

Babienko V.V., Anishchenko L.V., Mykhaylenko V.L.

Odessa National Medical University

The article describes the results of toxicological and epidemiological characteristics of the new group and polyoxypropylene substantiated forecast of sanitary and epidemiological welfare of the water bodies. The study is based on research of biological action of polyols on the body of warm-blooded animals in the conditions of acute and subacute experiments, the effect of polyols on the organoleptic properties of water and sanitary water reservoirs regime. The study showed that the basis of the mechanism of biological action is polyoxypropylene stimulation of lipid peroxidation on the background of the depletion of the antioxidant system, violation of the structure of cell membranes, decrease of activity of membrane-bound enzymes, a violation of bioenergy, oxidative phosphorylation and redox processes in the body of warm-blooded animals. Leading pathogenetic link the formation of structural and metabolic disorders in the body are activated free radical lipid peroxidation, inhibition of antioxidant systems and energy processes that underlie the development of tissue hypoxia and reduced recovery processes.

Key words: hygiene, health, polyoxypropylenepolyols, water bodies.

Rapid industrial growth and changing of its structure significantly increase the amount of wastes going down into the water, changing their chemical composition. Protection of water from pollution is one of the important challenges and technological progress in public health [9].

The risk of water pollution exists almost everywhere. With the increasing pace of industrial development, there is a change of its structure and prevalence of slurry processes specific to the chemical industries, oil and coke, paper-pulp industry, production of artificial and synthetic organic materials [2].

The development of chemical industry, the use of chemicals and other industries of agriculture are accompanied not only by the rapid increase in the volume of waste water entering the reservoir, but more intense and diverse contamination of chemicals and ingredients, many of which are not indifferent to health. This applies to polyoxypropylenepolyols (POPP) [3, 5, 8, 11]. Insufficiently studied in relation to hygienic POPP that can pollute water objects are: polyoxypropyleneoxyethylenglicolurethane (POPP-100) polyoxypropylenamine (POPP-294), polyoxypropylated polyoxypropylenetriol sucrose (POPP-504). It is known that these substances are widely used in various sectors of the economy as the basis for industrial production of synthetic leather, enamels, varnishes, hydraulic and brake fluids, plastics, polyurethane foams, surfactants, epoxy resins. At all stages of POPP production (synthesis, catalysis, oxidation, hydration, drying) wastewater is generated, which can cause water pollution and disturbance of natural self-cleaning [9].

At present, there is almost no information regarding the parameters of toxicity, biological activity, the impact of the conditions of polyols water and population's health and hygiene regulations results of water in water objects [1, 4, 7, 10, 12-15]. Therefore, the need to explore these questions determines the relevance of this study whose purpose is to obtain toxicological and hygienic characteristics of polyoxypropylenepolyols (POPP-100, POPP-294, POPP-504) and justification of the forecast for sanitary and epidemiological risk of water reservoirs.

Object of study: biological effects of POPP on the organism of experimental animals in acute and subacute

experiments The impact of POPP on the organoleptic properties of water and sanitary water mode.

Subject of research: condition of experimental animals, condition of sanitary water mode.

Methods of research

The following methods of research were used: toxicological and hygienic (determining the average lethal doses, cumulative allergenic properties, skin-irritating and skin-resorptive action), health, immune spectrophotometric (determination of enzyme activity and concentrations of compounds) spectrofluorometric (determining the rate of oxidation compounds), chromatographic (separation into fractions, determination content metabolites), chemiluminescent (determining the intensity of chemiluminescence biological objects), standardized clinical methods using a standard set of reagents, morphological (definition of pathological changes in organs and tissues), histochemical (determination of enzyme activity), statistics.

Thus, the degree of danger in POPP study was based on a large range of research, including the definition of lethal effects, cumulative detection, skin-irritating, skin-resorptive, sensitizing properties, the study of chronic effects on the body to determine the thresholds of harmful effects. Of particular importance are the acquired toxicokinetic and metabolic criteria for assessing the toxicity of xenobiotics, study the long-term effects, impact on reproductive function of the body.

For this purpose, acute and subacute experiments on warm-blooded animals were conducted.

Results and discussion

A single oral administration of investigated polyols was performed using dose 5.0-20.0 g/kg of animal, who was elected so as to determine the dose mortality in the range LD₀-LD₁₀₀ [6]. Observations of animals were carried out within 15 days. First day the administration of substances in animals led to excitement, which gradually turned into apathy. The reaction to sound stimulation and pain in animals significantly reduced. Heavy breathing, pale skin, loss of coordination of movements, weakness, lateral position, diarrhea, and coma were observed. The death of animals occurred during the first day of the experiment, depending on the dose. Average time of death

* To cite this English version: Babienko V.V., Anishchenko L.V., Mykhaylenko V.L. Influence of polyoxypropylenepolyols on water objects // *Problemy ekologii ta medytsyny*. - 2016. - Vol 20, № 3-4. - P. 8-12.

of animals in all groups was marked in the range of 16.4 to 24.3 hours from the start of acute action. Morphological examination of animals killed in the next day after the introduction of polyols showed plethora of internal organs, bloating, stomach, small and large intestines.

Internal organs were subjected to pathological investigation. They were identified as follows: in the brain - plethora of vessels and membranes of brain substance, stasis in the capillaries, perivascular and pericellular edema; heart - expressed hyperemia, perivascular edema of the heart muscle; in the lungs - moderate hyperemia; liver - acute hyperemia, focal degeneration, sometimes bleeding; kidney - acute hyperemia, focal and granular dystrophy protein in the lumen of the convoluted tubules, sometimes in the cortical hemorrhage and interstitial layer; stomach, small and large intestine - hyperemia, swelling of the submucosa, sometimes necrosis.

The clinical presentation included acute poisoning with prevailing symptoms of the central nervous, cardiovascular and respiratory systems. Various species and gender sensitivity has not been established.

Thus, polyols in the case of single ingestion into the body of warm-blooded animals were able to break hemodynamics mainly in the brain, liver, kidney, spleen, heart and cause of parenchymal degeneration.

It is known that most of the impact of xenobiotics in the body can lead to intensification of free radical reactions and reactions of lipid peroxidation (LPO), accompanied by increased formation of reactive oxygen, peroxides, hydroperoxides which can provide damaging effect on cell membranes. The criteria that indicate a change in the activity of LPO, used the registration of spontaneous and induced superweak light - chemiluminescence (CL) compared with the content in biological substrates of lipid peroxidation products - diene conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA). Polyols investigated in a dose 1/100 DL₅₀ led to a significant increase in GC content (average 78%) and MDA (average 126%) in the blood serum of the rats compared with the control on day 30 of the experiment. The study investigated the penetration of substances through intact skin using chemiluminescence method showed that the intensity of chemiluminescence serum of experimental animals increased from the first hour polyols application on the skin. This made it possible to conclude that the substances are able to penetrate intact skin of experimental animals. Such a high sensitivity makes it possible to use it in toxicological and hygienic studies for the rapid assessment of the penetration of substances through intact skin. Animal deaths in assessing skin-resorptive action polyols were observed.

Justification for characteristics of biological effects, setting thresholds and inactive doses of the compounds in rats conducted under conditions subacute experiment. All studied polyols reduced rate of increase in body weight, hemoglobin, red blood cells and white blood cells. The changes in the activity of catalase, peroxidase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, malate dehydrogenase, creatine, Ca²⁺ iMg²⁺ + + - dependent ATPase, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, α-hydroxybutyrate dehydrogenase, glutathione peroxidase and content of reduced glutathione, and vitamin C were observed.

The study of remote effects of polyols showed the presence of gonadotoxic action which is manifested in the reduction of the concentration of sperm in the epididymis suspension, time, mobility, osmotic resistance and

increase the number of dead forms of acid resistance. Morphological assessment spermatogenic epithelium revealed a decrease spermatogenesis index, the number of tubules of the 12th stage of meiosis, normal form of spermatogones and growth in the number of desquamated tubular epithelium. Substances in doses 1/10 and 1/100 DL₅₀ gave depressing effect on functional status and sperm spermatogenesis. Dose 1/1000 DL₅₀ in subacute experiment was ineffective, that remained at general toxic action. At the same time polyols in 1/10 and 1/100 DL₅₀ did not influence the number of live embryos resorption, corpora lutea of pregnancy, placenta weight, postimplantation death. POPP-294, and POPP-100 in 1/100 DL₅₀ reduced the weight of the fetus, and overall increased preimplantation fetal death. In the study of embryonic differentiation of abnormalities in organs and tissues of white rats not found.

The study of mutagenic effect of POPP on red cells of cord of white rats showed that the substance in 1/10 and 1/100 DL₅₀ significantly increased the percentage of cells with chromosomal disorders and decreased mitotic activity of cells. In a dose 1/1000 DL₅₀ changes in the level of chromosomal aberrations and mitotic activity of red cells of bone marrow has not been established. The identified structural damage to the genetic apparatus was at the level of general toxic action.

Polyols do not give a positive reaction with intradermal, skin and conjunctival sensitization in guinea pigs. Specific lysis reactions of leukocytes, agglomeration of leukocytes, basophils damage posed in vitro after 24 hours after administration allowing doses were negative. This made it possible to suggest the absence of allergic properties of this group of compounds. The symptoms of an allergic reaction of the skin, mucous membranes and the clinical picture were not observed, which allowed the group to exclude the presence of polyols and allergic sensitizing properties.

In the spleen and lymph nodes of experimental animals under the influence of polyols proliferative changes were identified, characterized by an increase in plasmacyte cell number. The increasing number of mature plasmacyte cells was also noted, plasmablasts as single cells, immature cells were observed slightly more often under the influence of 1/100 DL₅₀ of polyols. In dose 1/1000 DL₅₀ substance does not provide any significant effect on plasmacytic reaction of lymph nodes and spleen.

Thus, the studied group of polyols in certain exposure doses can alter the immunological reactivity of warm-blooded animals.

Study of polyols stability showed that the content in solution at 30th day of the experiment was 50-96% of the original concentration. The rate of decay depended on the concentration of the substance. High polyols stability confirmed and indirect methods. POPP-294, POPP-100 and POPP-504 at the practical threshold for odor and taste retain odor and flavor within two weeks from the start of the experiment setting. Foam creating properties of substances are kept well in this period. All this has to indicate the high stability of polyols.

In aqueous solutions were identified qualitatively hydrocarbons (hexane, heptane, octane) acetaldehyde, acetone, methanol, ethanol, isobutanol, methyl ethyl ketone, ethyl acetate, dioxane and others. Availability of source products at the end of six months of exposure was also a direct confirmation of high studied the stability of xenobiotics. At the end of the experiment in aqueous

solutions of 60-80% of the original number of substances were stored.

For many products of transformation, hygienic standards were set in water reservoirs, the air of the working area and the soil. Most of the identified compounds are more toxic than the original material studied. Analysis and hygienic assessment of degradation products and polyols transformation allows us to talk about a wide range of biological effects. They can affect organs and systems of the body, being potentially dangerous in terms of the emergence of long-term effects. Some transformation products have neurotropic action. Others in certain concentrations influence the organoleptic properties of water and sanitary water mode.

Thus, studies of destruction and transformation are of great interest in the preparation of the forecast adverse for effects of xenobiotics on the sanitary condition of water and public health.

High stability of matters was confirmed by indirect methods. Foaming ability of agents, at the initial concentration of 20.0 mg/l, was kept throughout the observation period (15 days). At practical level, the threshold for bitter and astringent taste of aqueous solutions maintained for ten more days.

Both direct and indirect methods suggest that investigated polyols are highly stable and difficult for biological oxidation and hydrolytic degradation. This requires, in turn, the implementation of biological treatment of wastewater containing these chemicals, as well as justification release of sewage into the water. Chemical substances that enter the body of water with sewage, can change the organoleptic properties of water: odor, color, clarity, taste and foaming. The deterioration of organoleptic characteristics of drinking water can adversely affect the functional state of the cardiovascular, central nervous, respiratory and digestive systems. Polyols give the water an odor of petroleum products. The threshold of perception (intensity - 1 point) and practical threshold (intensity - 2 points) at 20°C are at the following levels: 2.5; 51.04; 23.2; and 5.0; 105.8; 35.8 mg/l according to POPP-504, POPP-294, POPP-100.

Chlorination of water solutions of polyols with a starting concentration of 5.0; 10.0; 20.0; 40.0 and 80.0 mg/l is not accompanied by increased expression of existing and odors (chlorine dose was 0.5, 1.0, 2.0 mg/l). Heating water to 60°C does not significant increase the odor. A more significant impact on odor is exerted by POPP-504. Threshold concentration of exposure to the smell is set at 5.6; 106.9 and 35.8 mg/l.

All compounds provide water solutions with bitter and astringent taste. The threshold of perception and practical threshold determination on these levels is 26.3; 30.5 and 24.26; 47.32 mg/l according to POPP-504 and POPP-100. POPP-294 at a concentration of up to 100.0 mg/l does not affect the taste of water solutions. Heating water solutions of substances to 60°C does not lead to increased flavor or appearance of the water.

The substance does not affect the color and transparency of the water at concentrations up to 100,0 mg/l; opalescence and aqueous solutions are not detected. However, it should be noted that in shaking of aqueous solutions of polyols turbidity appears due to the formation of small and big grain foam. The nature of the foam and its stability is largely determined by the concentration of precursors. Threshold concentration of foaming is set at levels: 0.1; 0.3 and 2.0 mg/l, respectively for POPP-100, POPP-504 and POPP-294.

Thus, the studied group of polyols in certain conditions can give water the odor of oil, bitter, astringent flavor and cause foaming. At concentrations up to 100 mg/l, substances do not affect the color and clarity of aqueous solutions. Limiting organoleptic characteristics hazard is foaming.

In considering the question of the negative impact of harmful industrial waste water on water, special attention was paid to the impact on their health regime. Numerous studies have shown that these processes are based predominantly on biochemical conversion of organic matter connected with the life of saprophyte microflora. Indicators for the intensity of self-cleaning water are biochemical oxygen demand, the extent of mineralization and nitrification of organic compounds. For more complete disclosure of the POPP nature impact on water self-purification processes are additionally studied the dynamics of dissolved oxygen, the active reaction of water, developing water organisms (micro-algae, Daphnia, saprophyte microflora).

The most significant impact on the dynamics of biochemical oxygen demand in the investigated doses was exerted by POPP-294 and POPP-100, which are fully led to the disappearance of oxygen on the fifth day of the experiment at concentrations of 80.0 mg/l. Concentration thresholds set at 20.0 mg/l for POPP-294 and POPP-100 and 40.0 mg/l for POPP-504. In all cases, the concentrations of 10.0 mg/l of exposure were inactive.

Increased consumption of oxygen concentrations in 20.0; 40.0 and 80.0 mg/l began from the first day of the experiment and reached the maximum on the fifth day of observation. The substances did not reduce the rate of these processes, and in a dose-dependent effect, rather increased them, indicating the biochemical oxidation of organic compounds.

Investigated polyols in concentrations 5.0; 10.0; and 20.0 mg/l did not change the oxygen regime of water objects. In large doses dissolved oxygen decreased in the water compared to control by more than 20%. A clear influence on the content of dissolved oxygen in water was provided by POPP-294 and POPP-100. Threshold concentration appeared at 20.0 and 40.0 mg/l, respectively, for POPP-294 and POPP-504.

It is known that the transformation of chemicals in the aquatic environment can change the active reaction of water (pH), which in turn will contribute to the deterioration of the overall sanitary condition of water objects. At concentrations of polyols: 5.0; 10.0; 20.0; 40.0 and 80.0 mg/l, excess of pH: 6.5-8.5 was observed.

Investigated polyols inhibit the processes of mineralization of organic substances depending on the concentration in water reservoirs modeling. Polyols do not have an impact on the dynamics of accumulation of ammonia in all periods of observation in the studied concentrations. In studying the processes of mineralization second stage it appears that the dynamics of the formation of nitrite nitrogen is similar with that in the control ponds. All substances lead to increased accumulation of nitrate nitrogen. To a greater extent it is detected in model waters with concentrations of substances 40.0 and 80.0 mg/l.

Analysis of the results to determine which POPP-294 provides a somewhat more significant impact on the final stage of mineralization of organic substances.

The experimental results indicate that the observed increase in nitrogen as nitrate and inhibition of oxidation of organic compounds found in model waters. Maximum observed nitrate nitrogen by 18-20 days, and in the con-

tol ponds - 10-15 day follow-up. These results indicate mineralization inhibition processes of organic matter. The threshold concentration set at 10.0 mg/l for all compounds.

The influence of substances on aquatic organisms (*Daphnia magna*) showed that all compounds provided toxic effects of this type of protozoa. Concentration thresholds defined at these levels were 5.0; 10.0 and 20.0 mg/l for POPP-294, POPP-100 and POPP-504, respectively.

In solutions containing polyols studied at concentrations up to 20.0 mg/l, the growth of bacteria did not differ from controls. At the concentration of 40.0 mg/l more intensive growth of saprophyte microflora was observed, indicating that the stimulatory effect of substances on the growth of microorganisms. Threshold concentration for the whole group of substances was concentration of 20.0 mg/l.

Certain polyols concentration exert adverse effects on the different processes of self-purification of water, biochemical oxygen demand, dissolved oxygen, organic matter mineralization, growth and reproduction saprophyte microflora. Concentration thresholds are set at the following levels: biochemical oxygen demand - 10.0; 20.0 and 40.0 mg/l according to POPP-294, POPP-100 and POPP-504; dissolved oxygen in water - 20.0 mg/l; mineralization processes - 10.0 mg/l; saprophytic microflora - 20.0 mg/l for all substances.

Experimental study of influence on organoleptic properties of water and sanitary treatment of water allowed us to determine the potential danger of polyols for the conditions of water use. The coincidence of the results showed that limiting feature of harm in these studies is organoleptic, in particular, foaming.

Conclusions

Summary of hygienic rationing in the study group of POPP in water reservoirs shows that:

- All studied polyols include the category of high and in this regard highly desired degree of wastewater containing compound data;

- Polyols in certain concentrations can alter the organoleptic properties of water, giving it specific taste and smell of detergents, and some of them have an impact on the transparency and turbidity;

- The compounds have the ability to foam, by this indicator threshold concentration is 0.1; 0.3 and 2.0 mg/l respectively for POPP-100, POPP-504 and POPP-294;

- At concentrations of more than 10.0 mg/l substances are able to disrupt natural processes of self-purification of water objects, namely, the increase biochemical oxygen demand, reducing dissolved oxygen in the water, slow down the processes of mineralization of organic compounds. Threshold concentration of polyols in effect on *Daphnia* ranged from 5.0 to 10.0 mg/l. Depending on the concentration, they can stimulate or inhibit the growth and reproduction of microorganisms. Threshold concentration of exposure to medical treatment is 10.0 mg/l;

- Based on the parameters of acute toxicity of the substance, they are attributed to low-toxic (hazard class 4);

- The clinical picture is dominated by symptoms of poisoning polyols disorders of the central nervous, cardiovascular and respiratory systems. Differences species and gender sensitivity were found. Structural changes of internal organs are characterized by degenerative changes in the liver, kidneys, adrenal glands, spleen. All

compounds in varying degrees, have skin-resorptive effect. Assessment of cumulative properties found that polyols relating to weakly cumulative compounds;

- The compounds provide significant impact on blood redox processes, activity oxidant-antioxidant system in the body of warm-blooded animals. Dormant dose in subacute experiment is 1/1000 DL₅₀;

- Long-term effects of polyols appear at the same level with general toxic action. This substance inhibits the functional state of spermatogenesis and sperm. Embryotoxic effect is to increase pre- and postimplant death and total fetal death. Actions on the genetic apparatus polyols were not found. Sensitizing properties were not revealed;

- Polyols at general toxic doses exhibit inhibitory effect on cellular and humoral immunity;

- Limiting hazard rate for all connections - organoleptic (foaming);

- Maximum permissible concentrations are at levels: 0.1; 0.3 and 2.0 mg/l for POPP-100, POPP-504 and POPP-294, respectively.

Thus, polyoxypropylenpolyols which were studied, being biologically active compounds that stimulate the processes of free radical lipid peroxidation, cause the accumulation of peroxides, hydroperoxides, free radicals, diene conjugates malondialdehyde. However, as a result of microsomal oxidation of these substances are formed aldehydes, alcohols, ketones, i.e., substances that have radiomimetic effects. The products of lipid peroxidation and metabolites biotransformation polyols reduce the activity of antioxidant systems, inactivate enzymes break the membrane structure and the state apparatus of the cell receptor blocking neurohumoral regulation of intracellular metabolism. These changes lead to disruption of bioenergetic and biosynthetic processes. Radiomimetic properties of polyols cause the development of free radical pathology in the body which is a conceptual model of the mechanism of biological effects.

References

1. Bagmut I. Yu. Izuchenie vliyaniya polioksiipropilenpoliolov na immunologicheskuyu reaktivnost zhivotnykh v podostrom opyite i obosnovanie naibolee chuvstvitelnykh pokazateley diagnostiki immunologicheskikh narusheniy / I. Yu. Bagmut // Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. – 2010. – № 2. – P.24–25.
2. Barenboym G. M. Otsenka biologicheskoy opasnosti organicheskikh ksenobiotikov / G. M. Barenboym, M. A. Chiganova, A. V. Aksenov // Metodyi otsenki sootvetstviya. – 2011. – № 7. – P. 28–33.
3. Bryantsev O. N. Toksikologo-gigienicheskaya charakteristika poliokol v svyazi s problemoy ohranyi vodnykh ob'ektov : avtoref. dis. na soiskanie uchen. step. kand. med. nauk / O. N. Bryantsev. – Rostov-na Donu, 2006. – 24 p.
4. Vliyanie polioksiipropilenpoliolov na metabolicheskie protsessy i funktsiyu detoksikatsii / A. V. Bondareva, L. I. Artyugina, I. Yu. Bagmut // Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. – 2014. – Вип. 3, Т. 2 (111). – P. 110-113.
5. Vliyanie tehnogennykh himicheskikh zagryazniteley okruzhayushey sredy na osnove poliproksiipropilenpoliolov na generativnuyu funktsiyu i geneticheskyy apparat teplokrovnykh zhivotnykh / O. V. Zaytseva, V. A. Telegin, V. I. Zhukov [i dr.] // Problemy ekolohiyi ta medytsyny. – 2006. – Т. 10, № 5-6. – P. 21-24.
6. Elizarova O. N. Opredelenie porogovykh doz promyshlennyykh yadov pri peroralnom vvedenii / O. N. Elizarova. – M. : Meditsina, 1971. – 173 p.
7. Zhukov V. I. Vliyanie poliokol na oksislitelno-vosstanovitelnyye protsessy i teplokrovnykh zhivotnykh v svyazi s problemoy ohranyi vodnykh ekosistem / V. I. Zhukov, O. V. Zaytseva, S. V. Pavlyicheva // Ekspery-

- mental'na i klinichna medytsyna. - 2008. - № 2. - P. 107-112.
8. Mediko-toksikologicheskoe izuchenie poverhnostno-aktivnyih veschestv v svyazi s problemoy sanitarnoy ohranyi istochnikov pitevoy vody / N. G. Scherban, V. A. Kapustnik, V. V. Myasoedov [i dr.] // Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal. - 2013. - № 2. - P. 116-120.
 9. Mokienko A. V. Voda: k vzaimosvyazi gigiyeni i ekologii / A. V. Mokienko // Voda: hihiyena ta ekolohiya. - 2013. - № 1, T. 1. - P. 20-34.
 10. Rezunenko Yu. K. Osoblyvosti biolohichnoyi diyi polioliiv na osnovi etylen i propilenhlikolyu za umov pidhos-troho eksperymentu / Yu. K. Rezunenko // Dovkillya ta zdorov'ya. - 2012. - № 2. - P. 9-12.
 11. Sirenko E. V. Vliyanie novyih grupp polioliolov na sani-tarnyy rezhim vodoemov i esteticheskie pokazateli vody / E. V. Sirenko // Ekologiya i promyshlennost. - 2006. - № 1. - P. 39-43.
 12. Antiirritant properties of polyols and aminoacids / C. Korponyai, R. K. Kovács, G. Erős [et al.] // Dermatitis. - 2011. - Vol. 22. - P. 141-146.
 13. Effect of polyols P-5003-AC, P-373-2-20, P-294-2-35 on the sanitary regime of water reservoirs and organolep-tic properties of water in connection with the water res-ervoirs protection / V. Zhukov, O. Zaytseva, Y. K. Re-zunenko // Am. J. Clin. Exp. Med. - 2013. - Vol. 1, № 1. - P. 16-19.
 14. Kumar V. Effect of polyols on polyethylene glycol (PEG)-induced precipitation of proteins: Impact on solubility, stability and conformation / V. Kumar, V. K. Sharma, D. S. Kalonia // Int. J. Pharm. - 2009. - Vol. 366, № 1-2. - P. 38-43.
 15. Politi R. The impact of polyols on water structure in solution: a computational study / R. Politi, L. Sapir, D. Harries // J. Phys. Chem. A. - 2009. - Vol. 113, № 26. - P. 7548-7555.

Матеріал надійшов до редакції 01.12.2016

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

© Nedoborenko V.M., Kaidashev I.P.
UDK 616.155.194.8-056.52

THE PATHOGENESIS OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN OBESITY*

Nedoborenko V.M., Kaidashev I.P.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy"

Залізодефіцитна анемія та ожиріння стали глобальними проблемами, які стосуються не тільки країн з високим рівнем якості життя, але й країн, що розвиваються. Експериментальні та клінічні дослідження вказують на те, що існує взаємозв'язок між метаболізмом мікроелемента заліза та надмірним накопиченням білої жирової тканини. Ожиріння пов'язане з низько інтенсивним хронічним запаленням та збільшеним рівнем концентрації гепсидину в крові. Гепсидин є ключовим регулятором системного гомеостазу мікроелемента заліза. У цьому огляді узагальнено сучасні уявлення про зміни гомеостазу заліза при ожирінні та наведено припущення щодо лікування.

Ключові слова: ожиріння, низько інтенсивне хронічне запалення, гепсидин, залізодефіцитна анемія.

Introduction

Iron deficiency anemia and obesity are global health problems that occur in everyday activities of various medical practices. They affect not only medical aspects but also social - economic aspects and disrupt the quality of life of these patients.

Iron deficiency anemia is the leading cause of anemia and is found in more than 2 billion people around the world. This statistic was confirmed by analyzing a large number of reports from 187 countries from 1990 to 2010[1] and showed a decrease in quality of life, low productivity, difficulty concentrating, decreased cognitive functions, weakness and fatigue.

Obesity is a common metabolic disease and is characterized by excessive accumulation of white adipose tissue due to increased food intake and lifestyle changes. [2] As of 2014 more than 1.9 billion people aged 18 and older are overweight and 600 million are clinically obese; [3] this puts them at risk of many diseases including metabolic syndrome, diabetes, cardiovascular disease and cancer.

There is a standing close relationship between the metabolism of iron and obesity due to immunological abnormalities in molecular - biological level.

Unfortunately, there are still unanswered questions about the prognosis and treatment of obesity in combination with iron deficiency anemia and the effects on the common pathogenetic links of these diseases.

Hypotheses of hypoferrremia in obesity

Wenzel et al (1962) first reported on the link between the iron metabolism and obesity. They found lower concentrations of iron in the blood serum in adolescents with

obesity compared to individuals who had normal weight. These findings were confirmed by subsequent studies.

In recent decades, formed three main hypotheses of hypoferrremia obesity have been suggested:

– Nutritional hypothesis, which establishes iron deficiency as comorbidity obesity in different age groups, irrespective of its consumption.[4]

– The blood volume hypothesis to increase blood volume in patients with obesity due to weight gain, which was confirmed only in experiments. [5]

– The inflammatory hypothesis [6] is based on the participation of systemic inflammation in violation disruption of the iron metabolism in obesity. This hypothesis is the most reasonable and is logically combined with previous research on low-grade systemic inflammation as a new model of the pathological process.

Revealing the essence of this hypothesis is in the should pay attention to two key components: low-grade systemic inflammation and dysregulation of iron metabolism involving hepcidin - a peptide hormone that is the primary regulator of systemic iron metabolism protein, mediated immune defense and inflammation. [7]

One of the definitions of "inflammation" is a series of cellular and humoral responses aimed at protecting the body from various injuries, including infection and eventually leads to the restoration of functional and morphological integrity of the affected tissue; [8] it is generally characterized by increased local and systemic cytokine levels, with increasing numbers of immune cells (primarily neutrophils) that enter the site of inflammation, dominating mainly in the acute phases and macrophages in more chronic conditions. [9] Chronic systemic inflammation is characterized by increased cytokines by 3-5 times, but remains consistently high. [10]

* To cite this English version: Nedoborenko V.M., Kaidashev I.P. The Pathogenesis of Iron Deficiency Anemia in Obesity // Problemy ekologii ta medytsyny. 2016. - Vol 20, № 3-4. - P. 13-15.

Low-grade systemic inflammation transforms abnormal external and internal stimuli to disrupt intracellular metabolism; this leads to chronic internal diseases. The effect of it in the hyperactivation of the immune system is caused by the disruption of the normal human biology. [11]

Although, in many ways, obesity resembles the immune inflammation in its classical form, the difference is that this low intensity inflammation produces lower levels of circulating cytokines, such as C-reactive protein (CRP) and interleukin -6 (IL-6), and absent of clinical signs of inflammation. [12] In addition, it is believed that this chronic inflammation requires a relatively longer period of treatment (> 8 weeks in animal models) before there are noticeable changes in adipose tissue. [13]

A potential basis for the initiation of inflammation in obesity is endoplasmic reticulum (ER) stress, mainly in the liver and adipose tissue due to excess lipid accumulation and a disturbed energy metabolism. ER stress activates a stress response signaling network - "unfolded protein response" (UPR) that drives protective but also apoptotic and, particularly, inflammatory reactions. During ER stress, activated transmembrane protein, including protein kinase/endoribonuclease IRE1, which induces inflammatory signaling cascade by activating IKK, MAPKs p38 and JNK, and finally the main inflammatory transcription factor NF-KB, [14] which is a central integrator of pro-inflammatory signals and the main regulator of genes involved in inflammation, innate and adaptive immunity and apoptosis. [15]

Adipose tissue is infiltrated many immune cells, especially macrophages, which make up 40% of the fat cells, [13] which is a major source of inflammatory mediators in adipose tissue of mice and humans. Inflammatory cytokines affect intracellular pathways that regulate inflammation by activating nuclear transcription factors.

Hepcidin as the second part of the hypothesis was found by Krause et al (2000-2001) by ultrafiltration of

blood. This peptide is composed of 25 amino acids with antimicrobial activity was called LEAP-1 (antimicrobial peptide - 1 expressed by the liver). In the same period, Pigeon et al. (2001) identified the gene (HAMP), which regulates the metabolism of iron and encodes for the LEAP-1 high expression from the liver, and significantly lower expression in the kidney, adipose tissue, heart, brain, calling it hepcidin (hep - liver and cidin - bactericidal protein). [16]

The action of hepcidin on cellular iron homeostasis is detected by binding to the only known exporter of iron, protein ferroportin that leads to its internalization and degradation. [17] As a result of this interaction, the absorption of iron from food is reduced due to reduction hepcidin - mediated expression ferroportin enterocytes, which leads to lower circulating levels of iron, with it increases the inhibition of macrophage iron export by the same mechanism. [18]

This regulatory peptide can be synthesized in response to inflammatory stimuli in quantitative terms the liver to a lesser extent, other tissues and cells, heart, kidney, adipose tissue, spinal cord, myeloid cells, alveolar macrophages and monocytes. [19]

Bekri et al (2006) provided the assumptions that hepcidin is synthesised not only in the liver but also in adipose tissue. This research demonstrated the increased content of mRNA hepcidin in the adipose tissue of patients suffering from obesity. The level of mRNA positively correlated with markers of inflammation (IL-6, CRP) and body mass index. In contrast, HAMP expression in the liver was not related to CRP; however, liver HAMP was positively correlated with serum transferrin saturation. Also, results showed that in obese patients, 68% had a low ratio of transferrin saturation and 24% had anemia. [20]

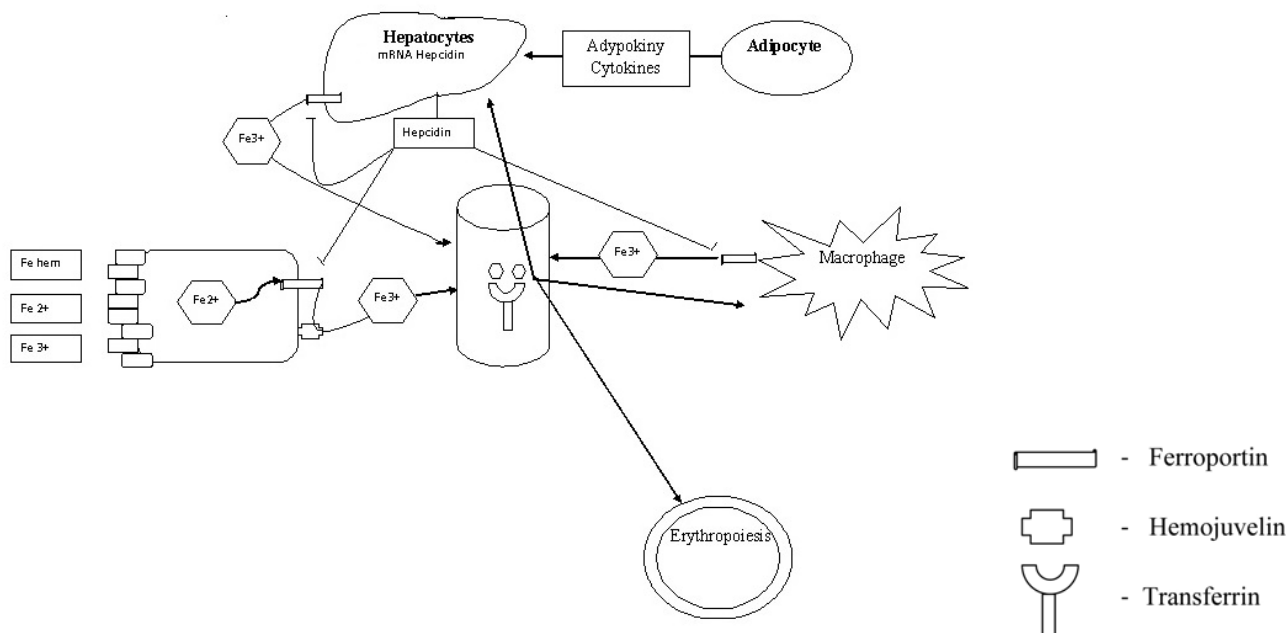


Figure 1. The pathogenesis of hypoferremia in obesity

In this regard, it is believed that adipose tissue can make a significant contribution to circulating levels of hepcidin. This assumption is confirmed by the presence of a significant direct relationship between the level of hepcidin and the degree of obesity. [21]

In recent years, studies have shown a link between hepcidin, chronic inflammation and a low concentration of iron in patients with obesity, with the possible emergence of hypoferremia determination mechanism. But despite

the large number of studies clearly defined impact adipose tissue on levels hepcidin not fully understood.

There are assumptions that in obesity chronic inflammation leads to real iron deficiency as a result of long-term decreased iron absorption and unregulated iron loss. [22] The qualifiers for iron deficiency in obese individuals may therefore be similar to those seen in anemia of chronic disease coexisting with real iron deficiency. However, this definition of iron deficiency has not always been the case in studies measuring iron status in obese populations, and further research is needed.

Conclusions

Thus, the traditional treatment of iron deficiency anemia, which consists of adding foods with increased iron content, and giving iron supplementation, cannot be fully effective for obesity because it changes the absorption of iron and its metabolism associated with low-grade systemic inflammation.

The complex treatment of iron deficiency anemia is significantly associated with inflammation and requires pharmacological modulation of inflammatory activity aimed at the central molecular basis of systemic inflammation, such as cascade reactions associated with NF- κ B.

References

1. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood* 2014;123:615-24.
2. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* (2000) 404:635-43.
3. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
4. Dao MC, Meydani SN (2013) Iron biology, immunology, aging, and obesity: four fields connected by the small peptide hormone hepcidin. *Adv Nutr* 4:602-617
5. Bertinato J, Aroche C, Plouffe LJ, Lee M, Murtaza Z, Kenney L, Lavergne C, Aziz A. Diet-induced obese rats have higher iron requirements and are more vulnerable to iron deficiency. *Eur J Nutr.*, 2013. 6.
6. Dvoretzky L.I., Ivleva L.I., Obesity and iron deficiency. One more comorbidity? *Archive of internal medicine*. 2015; (5):9-16. (In Russ.)
7. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3):783-8.
8. Cildir G, Akincilar SC & Tergaonkar V 2013 Chronic adipose tissue inflammation: all immune cells on the stage. *Trends in Molecular Medicine* 19 487-500.
9. Mraz M, Haluzik M (2014) The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol* 222: R113-127
10. Herder C., Schneitler S., Rathmann W. et al.(2007) Low-grade inflammation, obesity, and insulin resistance in adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 92(12): 4569-4574.
11. Rasin M.S., Kajdashev I.P. (2014) The role of nuclear transcription factors in modern syntropy internal pathology (review). *Ukrainian Medical Journal.*, № 1 (99) – I/II: 17-21
12. Medzhitov R 2008 Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454 428-435.
13. Lee, B.-C., & Lee, J. (2014). Cellular and Molecular Players in Adipose Tissue Inflammation in the Development of Obesity-induced Insulin Resistance. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(3), 446-462.
14. Zeyda M, Stulnig TM. Obesity, inflammation and insulin resistance-a mini-review. *Gerontology* 2009; 55:379-386.
15. J. Lee. Adipose tissue macrophages in the development of obesity-induced inflammation, insulin resistance and Type 2 Diabetes Arch. Pharmacol Res., 36 (2013), pp. 208-222
16. Poli M, Asperti M, Ruzzenenti P, Regoni M, Arosio P (2014) Hepcidin antagonists for potential treatments of disorders with hepcidin excess. *Front Pharmacol* 5(86):1-13
17. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004;306:2090-3
18. Nairz M, Haschka D, Demetz E, et al Iron at the interface of immunity and infection. *Front Pharmacol* 2014;5:152
19. Collins JF, Wessling-Resnick M, Knutson MD. Hepcidin regulation of iron transport. *J Nutr.* 2008 Nov;138(11):2284-8.
20. Bekri S., Gual P., Anty R., Luciani N., Dahman M., Ramesh B., Iannelli A., Staccini-Myx A., Casanova D., Ben Amor I. et al.(2006) Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology* 131: 788-796.
21. Nikonorov A.A., Tinkov A.A., Popova E.V., Nemereshina O.N., Gatiatulina E.R., Skalnaya M.G., Skalny A.V. (2015) Iron in obesity: a victim or suspect. *Treće elements in medicine (Moscow).*, 16(2): 3-9
22. Tussing-Humphreys L, Pusatcioglu C, Nemeth E, Braunschweig C. Rethinking iron regulation and assessment in iron deficiency, anemia of chronic disease, and obesity: introducing hepcidin. *J Acad Nutr Diet.* 2012;112:391-400

Summary

Iron deficiency anemia and obesity have become a global problem affecting not only high income countries but also developing countries. Experimental and clinical studies indicate that there is a relationship between iron metabolism and weight status. Obesity is associated with low-grade systemic inflammation and elevated hepcidin concentrations. Hepcidin is the key regulator of systemic iron homeostasis. This review summarizes the current understanding of the dysregulation of iron homeostasis in obesity and leads assumptions about treatment.

Key Words: obesity, low-grade systemic inflammation, hepcidin, iron deficiency anemia

Матеріал надійшов до редакції 15.11.2016

© Savchenko L., Mormol I., Husar P., Reva N., Borzykh O., Kaydashev I.
UDK:616-053.5:615.916'918

ACUTE INTAKE OF A LARGE DOSE OF CARDIAC GLYCOSIDES BY A YOUNG MALE*

Savchenko L¹., Mormol I¹., Husar P²., Reva N²., Borzykh O¹., Kaydashev I¹.

¹Department of Internal Medicine № 3 with Phthysiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, 23 Shevchenko Str., 36011 Poltava, Ukraine.

² 1-st City Clinical Hospital, Intensive Care Department, 27 Engelsa Str., 36011 Poltava, Ukraine.

Одними з найбільш токсичних препаратів є група серцевих глікозидів. Маючи вузьку широту терапевтичної дії, серцеві глікозиди здатні викликати серйозну інтоксикацію з ускладненнями, включаючи аритмії і порушення провідності, які часто призводять до смерті. Беручи до уваги показники смертності в разі отруєння ліками, важливо приділяти особливу увагу профілактиці, діагностиці та лікуванню таких станів. У даній статті представлений клінічний випадок розвитку гострої глікозидної інтоксикації у пацієнта 28 років з ускладненнями у вигляді порушень ритму і провідності, внаслідок помилкового прийому дигоксину. Своєчасне звернення за медичною допомогою і відповідне лікування допомогло уникнути серйозних наслідків глікозидної інтоксикації.

Ключові слова: гостра глікозидна інтоксикація, ускладнення, аритмія.

Introduction

As a result of development of chemical and pharmaceutical industry the rate of the cases of acute poisoning tend to increase, which is a significant problem for both health and toxicological science in general. One of the most toxic drugs is a group of cardiac glycosides. Having a very narrow spectrum of therapeutic action, cardiac glycosides are able to cause serious intoxication with complications including arrhythmias and conduction disorder, which often lead to death [1,2]. Considering the mortality rates in cases of medication poisoning it is important to pay special attention and care to prevent, diagnose and treat such medical conditions.

Case report

The 28-year-old Ukrainian male accidentally took digoxin instead of calcium. The patient arrived at the hospital around 16 hours after the accident. He complained on general weakness, palpitation and dyspnea.

The patient said that he took some tablets of «calcium» (approximately 30) in evening before sleep and next morning the symptoms of weakness, palpitation and dyspnea appeared. He found out that instead of calcium he took digoxin, which was often used by his grandmother. The patient approached emergency unit of the local hospital to receive medical help. The dose of taken digoxin was calculated as 0.0075G.

The patient considered himself to be generally healthy. He said that he had no chronic diseases and allergic reactions. The patient reported occasional (once or twice a year) viral diseases.

On admission, the patient was fully conscious (Glasgow Coma Scale: 15). His vital signs were: temperature 36.8°C, respiratory rate 17 breaths/minute, pulse 56

beats/minute; blood pressure 140/70 mm Hg, saturation O₂ 98%. On physical examination the patient's skin was pale, rash absent. Pupils were normally dilated. Peripheral lymph nodes were not enlarged. Peripheral edema was absent. Bones and muscle system were normal. Freely breathing through the nose. Ribcage was symmetrical, palpation was painless. Percussion of the lungs was normal, on auscultation - vesicular breathing. The heart auscultation revealed irregular rhythm. There were no murmurs or gallops. The tongue was wet and clean. There was no hepatosplenomegaly.

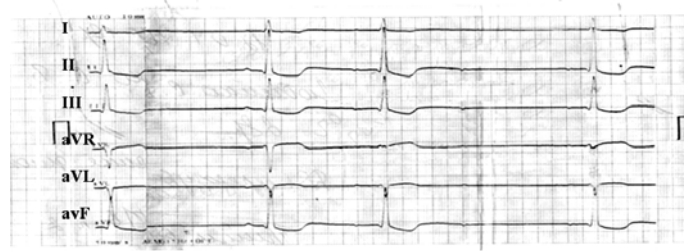
Laboratory tests results were within the normal range.

Blood test results: haemoglobin (HBG) 148 g/l; red blood cell (RBC) count $4.7 \cdot 10^{12}$ / l; color indicator 0.93; white blood cell (WBC) count $10.1 \cdot 10^9$ / l; eosinophils 1%; lymphocytes 16%, monocytes 3%; hematocrit (Hct) 0.45. Chemistry: total bilirubin – 17.0 mcmol/l, blood glucose – 5.0 mmol/l, urea 4.6 mmol/l, creatinine 123.0 mcmol/l, fibrinogen 4.4 g / l, electrolytes: K⁺ - 5.53 mmol/l, Na⁺ -137 mmol/l, Cl⁻ - 97.4 mmol/l; total protein 79.0 g/l. Urine test – unremarkable.

Chest X – ray detected no abnormalities.

On admission, an electrocardiogram (ECG) demonstrated atrial rhythm. The heart frequency: 57 beats per min. Atrioventricular (AV) block – II degree, and type I 3: 2, 5: 4, 5: 3. We observed transitional abnormality in repolarization (Figure 1).

* To cite this English version: Savchenko L., Mormol I., Husar P., Reva N., Borzykh O., Kaydashev I. .Acute intake of a large dose of cardiac glycosides by a young male // Problemy ekologii ta medytsyny.- 2016. - Vol 20, № 3-4. - P. 16–19.

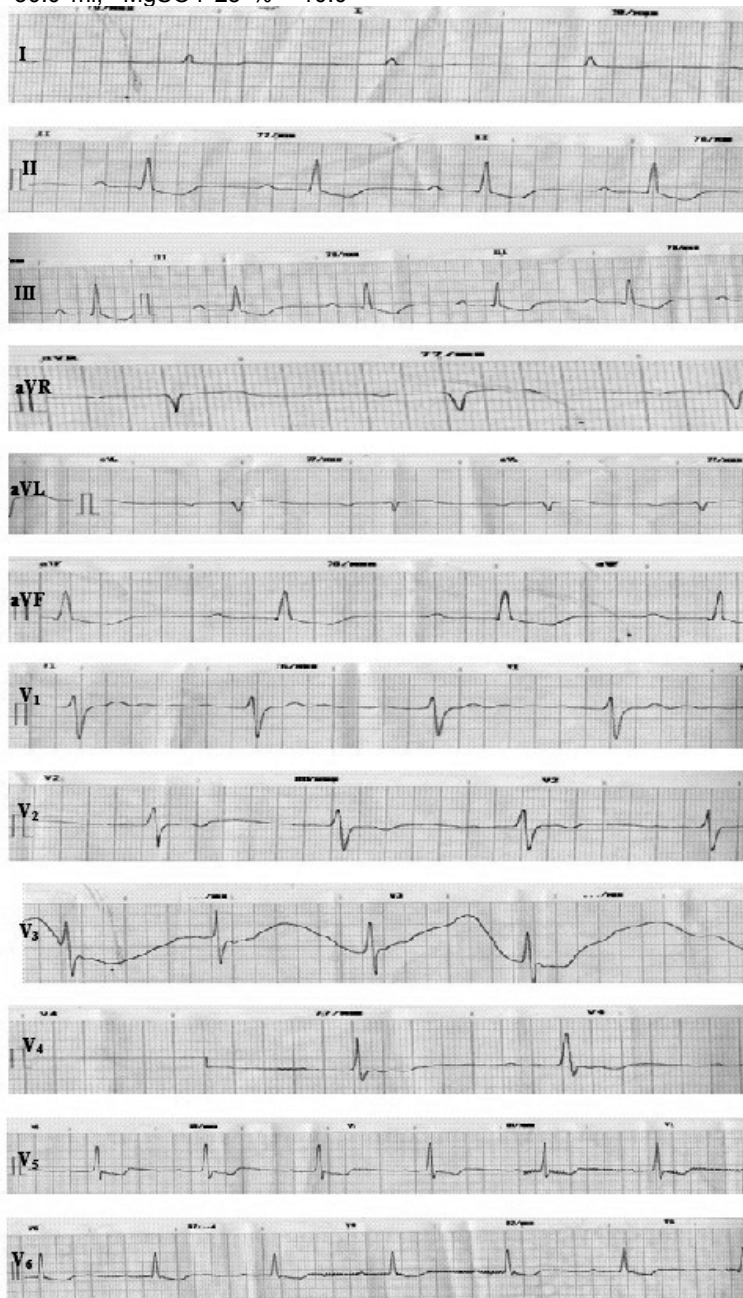


After admission the patient was transferred to the Intensive Care Department for monitoring of ECG, pulse rate, arterial pressure, body temperature, percentage of oxygen-haemoglobin saturation, urine output, etc.

Treatment consisted an activated charcoal administration, fluid infusion 1000 ml (solution glucose 5% - 400.0 ml, rheosorbilact - 200.0 ml, sorbilact - 200.0 ml, electrolytes (NaCl 10% - 30.0 ml, MgSO4 25 % - 10.0

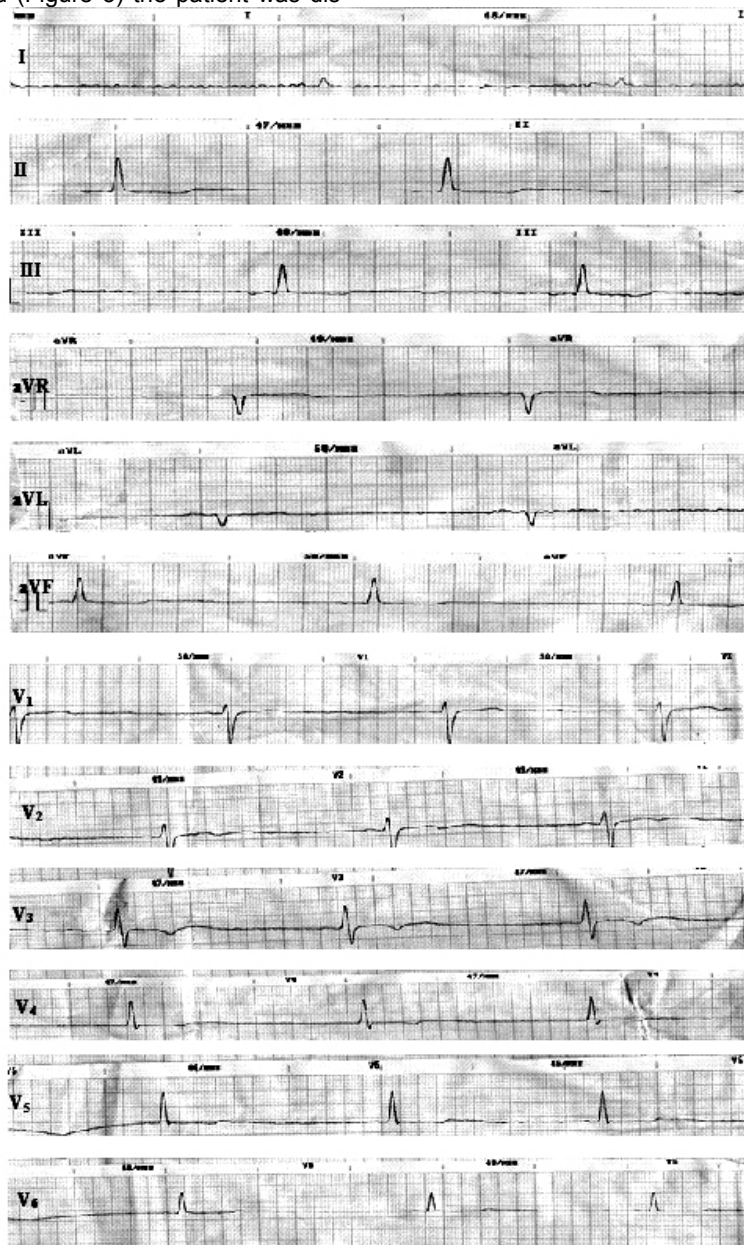
ml), omeprazole 40 mg intravenously, diluted in 200.0 ml of physiological solution, furosemide 2.0 ml.

Six hours after admission the ECG showed a positive change. Right sinus rhythm. Heart rate 71 beat per min. Electrical axis of the heart - vertical. There was subendocardial ischemia on myocardium of posterior-lateral walls (digitalis intoxication) (Figure 2).



The patient remained in hospital for three days. When the ECG had normalized (Figure 3) the patient was dis-

charged from hospital.



Discussion

Acute digoxin poisoning is a life-threatening condition. The clinical characteristics of intoxication are mainly cardiac (bradycardia, heart block, dysrhythmias), gastrointestinal (nausea, vomiting, abdominal pain, diarrhea) and weakness. Vision changes, including green/yellow discolouration and electrolyte abnormalities (hyperkalemia) may be noted in patients with chronic poisoning.

ECG changes include flattening or inversion of the T wave and depression of the ST segment. Dysrhythmias often associated with cardiac glycoside toxicity include bradydysrhythmias, sinus bradycardia with all types of AV nodal block, junctional rhythms, and sinus arrest [3, 4, 5, 6].

The intoxication mechanism of cardiac glycosides is that toxic concentrations of the substance significantly reduce the membrane ATP-ase activity, disrupt the function of sodium-potassium pump. Inhibition of enzyme activity leads to disruption of the return of potassium ions

into the cell, and the accumulation of sodium thereby increasing the excitability of cells and the development of arrhythmia [7].

Treatment of cardiac glycosides intoxication should consider the gastro-intestinal decontamination, treatment of all kinds of dysrhythmia, antidote (anti-digoxin Fab) administration or temporary cardiac pacing [2, 6].

In the case we are reporting, there was a one-time overdose of digoxin by the subject, whom did not have cardiovascular disease or other problems with health. The patient complained on general weakness, palpitation and dyspnea. On ECG was observed arrhythmia and atrioventricular block, deep trough decline in segment ST. Furthermore, the digoxin's effect appeared within a few hours after acute poisoning. The initial serum digoxin concentration in our patient was very high and did not reflect the total body burden, probably because full distribution has not occurred. This reflects the time for distribution to a peripheral compartment and/or time-dependent binding to the Na⁺-K⁺-ATPase [6]. After

treatment the patient's state significantly improved, symptoms of weakness, palpitation and dyspnea disappeared. We were unable to use antidote therapy due to limited resources of medication in the hospital, especially digoxin-specific antibody fragments.

Conclusions

A timely appeal for medical help and appropriate treatment avoided the serious consequences of glycoside intoxication.

Special attention should be paid to the fact the patient asked for medical help. This is a very important feature in the «internal diseases clinic», that reflects the severity of underlying disease.

From the start to the patient's request for help, the doctor should carefully complete all complaints, the medical history of disease and predict possible complications.

This case confirms the importance of careful usage of medications.

Summary

One of the most toxic drugs is a group of cardiac glycosides. Having a very narrow spectrum of therapeutic action, cardiac glycosides are able to cause serious intoxication with complications including arrhythmias and conduction disorder, which often lead to death. Considering the mortality rates in cases of medication poisoning, it is important to pay special attention and care to prevent, diagnose and treat such medical conditions. The 28-year-old male presents with intoxication and arrhythmia after he unintentionally took a wrong medication. A timely appeal for medical help and appropriate treatment helped to avoid serious consequences of glycoside intoxication.

Key words: acute glycoside intoxication, complications, arrhythmias

References

1. Bauman JL, DiDomenico RJ, Galanter WL. Mechanisms, manifestations, and management of digoxin toxicity in the modern era. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2006;6:77–86. [PubMed] [Cross Ref]
2. Patel V. Digitalis Toxicity. Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/154336-treatment>.
3. Kanji S, MacLean RD. Cardiac glycoside toxicity: more than 200 years and counting. *Crit Care Clin*. 2012;28:527–35. [PubMed] [Cross Ref]
4. Pincus M. Management of digoxin toxicity. *AustPrescr*. 2016 Feb;39(1):18–20. [PubMed]
5. Radenkova-Saeva J, Atanasov P. Cardiac glycoside plants self-poisoning. *ActaMedicaBulgarica*. 2014;1:99–104.
6. Roberts DM, Gallapathy G, Dunuwille A, Chan BS. Pharmacological treatment of cardiac glycoside poisoning. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2016;81:488–95.
7. Botha C. Cardiac glycoside intoxication. Mode of access: http://www.afrivip.org/sites/default/files/cardiac_glycoside_intoxication_complete_2.pdf.

Матеріал надійшов до редакції 02.12.2016

© Перцева Т.О., Конопкіна Л.І., Ботвінікова Л.А.
УДК 616.24-002-007.272-036.1-037.-07

НОВІ ДІАГНОСТИЧНІ МОЖЛИВОСТІ ЩОДО ВСТАНОВЛЕННЯ ПРИРОДИ РЕСПІРАТОРНИХ СИМПТОМІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ*

Перцева Т.О., Конопкіна Л.І., Ботвінікова Л.А.

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпропетровськ

На сьогоднішній день остаточно неизвестно, почему у некоторых больных хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ) в стабильную фазу патологического процесса в периферической крови появляется большое количество эозинофилов: не исключено, что это свидетельствует об ошибочно выставленном диагнозе ХОЗЛ вместо бронхиальной астмы (БА); возможно, респираторные симптомы у таких больных обусловлены не только действием аэрополлютантов, но и гиперчувствительностью к бытовым, эпидермальным, плевневым аллергенам; возможно, это случаи оверлап-синдрома. В последние годы для решения некоторых вышеуказанных вопросов появляются новые диагностические возможности, среди которых – метод молекулярной аллергодиагностики Phadiator, который позволяет на молекулярном уровне определить структуру аллергенных белков, «виновных» в сенсибилизации организма к тем или иным респираторным аллергенам. Если результат проб теста Phadiator положительный, необходимо определить группу ингаляционных аллергенов, а затем – и конкретные аллергены в группах с положительным результатом. Отрицательный результат проб теста Phadiator означает, что причина, которая вызвала аллергоподобные симптомы, не является респираторной аллергией, поэтому необходимо провести исследования других органов и систем (пищеварительной, иммунной, эндокринной и др.). Нами было проведено пилотное исследование у 12 больных (средний возраст – 65,0±3,8 лет, мужчин – 7) с давно (более 5 лет назад) верифицированным диагнозом ХОЗЛ III стадии. Определение уровня эозинофилов и общего IgE в крови, изучение теста Phadiator проводились в динамике на фоне плановой терапии больных – при включении их в исследование, через 6 и 12 месяцев. Результаты показали, что наличие признаков респираторного аллергоза у больного ХОЗЛ (по данным теста Phadiator) наиболее часто сопровождается повышением уровня эозинофилов и/или уровня общего IgE в крови. Однако, у определенной части больных с лабораторными признаками респираторного аллергоза эти показатели могут быть и нормальными. Повышение уровня общего IgE в крови больного ХОЗЛ без подтверждения наличия у него признаков респираторного аллергоза (по данным теста Phadiator) сужает рамки дальнейшего диагностического поиска в сторону другой (не респираторной) патологии. Беря во внимание полученные данные о том, что показатели теста Phadiator могут изменяться в динамике наблюдения больных, можно думать, что проявления респираторного аллергоза могут изменяться во времени. Поскольку тест Phadiator является более чувствительным и специфичным для выявления симптомов респираторного аллергоза, именно он (а не уровень эозинофилов крови и/или общего IgE) должен более широко использоваться как при скрининге, так и на этапах наблюдения больных ХОЗЛ.

Ключевые слова: хроническое обструктивное заболевание легких, респираторные аллергены

Багатьма науковцями-пульмонологами вже досить давно визнаний той факт, що у деяких хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) під час інфекційного загострення посилюються ознаки еозинофільного запалення, а у периферичній крові з'являється його маркер – підвищений рівень еозинофілів. Чому ж насправді відбуваються такі зміни і чому саме у цих конкретних пацієнтів – достеменно не відомо. Стосовно ж стабільної фази ХОЗЛ запитань ще більше: чи зустрічаються взагалі хворі на ХОЗЛ з підвищеним рівнем еозинофілів; якщо «так», то який ступінь підвищення для них найбільш характерний; чи не є це випадки з помилково встановленим діагнозом ХОЗЛ замість діагнозу бронхіальної астми (БА); чи не обумовлені респіраторні симптоми у хворого на ХОЗЛ не лише дією аерополлютантів (тютюновий дим, промислові фактори), а й гіперчутливістю до побутових,

епідермальних та пліснявих алергенів (то ж, може, це є оверлап-синдром) тощо?

Останнім часом для вирішення деяких вищезазначених питань з'являються нові діагностичні можливості. Однією з таких можливостей є застосування методу молекулярної аллергодиагностики, а саме тесту Phadiator, – нового рівня верифікації алергічних захворювань [2, 5, 6]. Цей метод дозволяє на молекулярному рівні визначити структуру алергенних білків, «винних» у сенсибілізації організму до тих чи інших алергенів.

Тест Phadiator, розроблений компанією Pharmacia Diagnostics. Це комплексне скринінгове дослідження, за допомогою якого можна визначити схильність до алергічної реакції на основні інгаляційних алергенів, уточнити природу еозинофільного запалення та підтвердити (або виключити) ознаки алергічної природи

* Цитування при атестації кадрів: Перцева Т.О., Конопкіна Л.І., Ботвінікова Л.А. Нові діагностичні можливості щодо встановлення природи респіраторних симптомів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень // Проблеми екології і медицини. – 2016. – Т. 20, № 3-4. – С. 20-23.

респіраторних симптомів, насамперед у хворих з бронхообструктивною патологією. Він дозволяє визначити підвищення рівня специфічних імуноглобулінів Е (IgE) одночасно до алергенів різних груп, таких як пилкові, плісняві, кліщові алергени, алергени тварин, тараканів тощо. З результату дослідження не буде відомо, до якого саме алергену виявлено підвищення рівня антитіл, але при отриманні негативного результату можливі алергічні реакції на найбільш часті інгаляційні алергени будуть виключені. Під час аналізу перевіряється наявність atopії – особистої або сімейної схильності до виробки специфічних IgE у відповідь на нормальну дію алергенів. Чим вищий рівень IgE-антитіл, тобто ступінь atopії, тим вищий ризик розвитку симптоматичної алергії.

Методика є інноваційною, ґрунтується на імунофлюоресцентному методі, забезпечує у 300 разів вищу чутливість, ніж імуноферментний аналіз (ІФА) та є більш специфічним. Для діагностики алергічних захворювань за цим методом досліджується сироватка крові без гемолізу та хільозу, застосовується аналізатор Phadia 100 з використанням тест-системи ImmunoCAP (Phadia AB).

Якщо результат проб тесту Phadiator виявляється позитивним, необхідно виконати наступне дослідження з певними групами алергенів (домашній пил, домашні тварини, плісняви, злакові трави, бур'яни, яєчний білок, молоко, риба, пшениця, соя та ін.). На останньому етапі, за необхідності, проводиться визначення конкретних алергенів у групах з позитивним результатом. Якщо ж результат проб тесту Phadiator виявляється негативним, вірогідність виникнення алергічних симптомів або захворювання є мінімальною, практично дорівнює нулю. Це означає, що причина, яка викликала алергоподібні симптоми у хворого, не є алергією, а отже необхідно провести обстеження інших органів і систем (травної, імунної, ендокринної та ін.).

Тест Phadiator є безпечним для пацієнта і може проводитись без обмежень – незалежно від стану шкіри, медикаментозного лікування (у тому числі антигістамінними препаратами), активності захворювання, наявності вагітності; він може проводитись як у дітей, навіть грудного віку, так і у літніх людей.

Слід нагадати, що рівень загального IgE підвищується лише у 50% людей, чутливих до інгаляційних алергенів.

Таким чином, метою нашого дослідження було визначити діагностичну значущість тесту Phadiator у встановленні природи респіраторних симптомів при ХОЗЛ в рамках пілотного дослідження.

Матеріали та методи дослідження

У дослідження було включено 12 хворих на ХОЗЛ III стадії (середній вік – $65,0 \pm 3,8$ років; чоловіків – 7, жінок – 5). Діагноз ХОЗЛ усім хворим було верифіковано понад 5 років тому, а за результатами тривалого динамічного спостереження за пацієнтами він не викликав сумніву (усі хворі були активними або екскурціями з тривалістю тютюнопаління понад 10 років; за даними спірометричного моніторингу усі хворі мали виражену незворотну або частково зворотну бронхообструкцію; у жодного хворого не було в анамнезі нападів ядухи як основної клінічної ознаки можливої іншої бронхообструктивної хвороби – БА).

Формулювання діагнозу ХОЗЛ та його стадії проводилось згідно з Наказом МОЗ України № 555 від 27.06.2013 р. [1].

Усі обстежені хворі були комплаєнтними та тривалий час (більш як протягом року) приймали планову терапію, що включала інгаляційний глюкокортикостероїд (ІГКС) і β_2 -агоніст тривалої дії (комбінований препарат сальметерол/флутиказону пропіонат (25/250 мкг) по 2 інгаляційні дози 2 рази на добу), а також за потребою – β_2 -агоніст короткої дії сальбутамол (по 2 інгаляційні дози на прийом).

На етапі включення хворих у дослідження (на візиті 1) усім проводили оцінку клінічної симптоматики, досліджували ступінь вентиляційних порушень, встановлювали рівні еозинофілів крові та загального IgE, а також визначали показник тесту Phadiator. Через 6 та 12 місяців (відповідно на візитах 2 і 3) хворим повторно проводили клініко-функціональні дослідження, а також визначали сироватковий рівень загального IgE та показник тесту Phadiator.

Протягом усього дослідження хворі отримували планову терапію.

Клінічна симптоматика оцінювалась за виразністю симптомів ХОЗЛ в цілому з використанням Тесту оцінки ХОЗЛ (*англ.* – COPD Assessment Test (CAT)) [4]. Сума балів за CAT, менша за 10, трактувалась як «мала кількість симптомів ХОЗЛ», а більша за 10 – як «велика кількість симптомів ХОЗЛ».

Дослідження вентиляційної функції легень з визначенням рівнів показників (форсована життєва ємність легень (ФЖЄЛ), об'єм форсованого видиху за першу секунду (ОФВ₁) та їх співвідношення ОФВ₁/ФЖЄЛ) проводилось методом комп'ютерної спірометрії з вимірюванням петлі «потік-об'єм» за допомогою апарату «Master Screen Body/Diff» («Jager», Німеччина). Усі показники обчислювались у відсотках належних величин, які розраховувались за Knudson (1983). Спірометрія проводилась вранці натще.

Тест на зворотність бронхообструкції проводився з 400 мкг сальбутамолу; при цьому визначався рівень ОФВ₁ до вдиху сальбутамолу (у пре-дозі) та через 15–20 хвилин після його вдиху (у пост-дозі).

Загальний аналіз крові з визначенням лейкоцитарної формули проводився вранці натще. Кількість еозинофілів визначалась як у абсолютному (референсні значення – 0,00–0,56 Г/л), так і у відносному (референсні значення – 0,0–6,0%) показниках.

Кількісний рівень загального IgE у сироватці крові хворих на ХОЗЛ визначався імунофлюоресцентним методом (референсні значення – 0,0–113,0 МО/мл).

Тест Phadiator виконувався за імунофлюоресцентним методом з використанням тест-системи ImmunoCAP. При референсних значеннях 0–0,35 кОдА/л результат вважався негативним, при значеннях, вищих за 0,35 кОдА/л, – позитивним.

Статистична обробка отриманих результатів виконана за допомогою стандартного пакету функцій «MS Excel».

Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих результатів показав, що на момент включення хворих у дослідження усі вони мали досить високу виразність клінічної симптоматики (за CAT) та досить виражену бронхіальну обструкцію (за рівнем ОФВ₁; при цьому у всіх хворих співвідношення ОФВ₁/ФЖЄЛ було меншим за 0,7) (табл. 1).

Середні рівні клініко-функціональних та лабораторних показників у обстежених хворих на ХОЗЛ на візиті 1

№ з/п	Показники	Значення показників
1.	САТ, бали (M±m)	15,91±0,80
2.	Рівень ОФВ ₁ , % належної величини (M±m): у пре-дозі у пост-дозі	42,53±3,18 45,30±2,80
3.	Рівень еозинофілів крові: абс. (M±m) % (M±m)	0,39±0,08 5,63±1,13
4.	IgE, МО/мл	273,5±101,2

Привернуло увагу те, що у жодного хворого на візиті 1 не було суми балів за САТ, меншої за 13; при цьому у одного з них показник склав навіть 24, у решти ж коливався від 13 до 17. Таким чином, усі хворі мали «велику кількість симптомів ХОЗЛ», незважаючи на те, що, здавалося б, на тлі тривалого прийому ІГКС та бронходилататорів подовженої дії вони повинні були б мати значно менше проявів захворювання.

Останнє свідчить про те, що лікарські засоби, які рекомендуються на сьогодні хворим на ХОЗЛ (згідно як з національними, так і з європейськими стандартами [1, 5]), все ще не в змозі усунути усю клінічну симптоматику захворювання навіть у випадку, коли хворий абсолютно комплаєнтний та прихильний до призначеної лікарем терапії. Виникають підстави до необхідності з'ясування причин пролонгації патологічного процесу з окресленням нових патогенетичних ланок формування ХОЗЛ, а також до обґрунтування нових підходів щодо планової терапії хворих з розробкою у майбутньому нових груп ефективних лікарських засобів. Одним з таких напрямів може бути виявлення питань стосовно внеску еозинофільного запалення та/або респіраторного алергозу (сенсibiliзація до найбільш частих інгаляційних алергенів) у патогенез ХОЗЛ, а отже і впливу цих процесів на певну нестабільність стану пацієнтів.

Щодо еозинофілії крові, нами було встановлено, що у певній категорії хворих на ХОЗЛ вона може спостерігатись не лише у фазу загострення (на що вказується у літературних джерелах [1, 3]), а й у стабільну фазу патологічного процесу, причому на фоні тривалого прийому пацієнтами планової терапії, включаючи ІГКС. Так, у 4 із 12 (33,3%) обстежених нами пацієнтів було виявлено підвищення відсоткового рівня еозинофілів крові, у двох з них – ще й підвищення абсолютної їх кількості. Індивідуальний аналіз показав, що у хворих з підвищеним лише відсотковим рівнем еозинофілів крові рівень загального IgE був нормальним (7,1 та 29,2 МО/мл), а показник тесту Phadiator – негативним, в той час як при підвищенні і відсоткового, і абсолютного рівня еозинофілів крові рівень загального IgE був значно вищим за норму (304,3 та 1039,3 МО/мл), а показник тесту Phadiator був позитивним.

Цікавим виявився той факт, що у подальшому (на візитах 2 і 3) у одного хворого з початково нормальним рівнем загального IgE та негативним тестом Phadiator показники змінилися (IgE досяг рівня 188,1 МО/мл на візиті 2 та 324,1 МО/мл на візиті 3, а тест Phadiator став позитивним; не виключено, що у нього відбувся контакт з алергеном), у другого хворого показники лишилися без суттєвих змін. При початково підвищеному рівні загального IgE та позитивному тесті Phadiator у подальшому (на візитах 2 і 3) у одного хворого показники не змінилися, тоді як у другого

хворого при рівні загального IgE, вищому за норму майже у 10 разів, тест Phadiator став негативним (найбільш вірогідно, у нього контакт з алергеном припинився).

У хворих з початково нормальним рівнем еозинофілів крові і у відсотковому, і у абсолютному значенні (у 8 з 12 (66,6%) обстежених) рівні загального IgE та показники тесту Phadiator також були різними. У половині з них (4 з 8 (50%)) рівень загального IgE виявився нормальним, а показник тесту Phadiator був негативним. У іншій половині хворих результати були наступними: у одного пацієнта при нормальному рівні загального IgE (41,1 МО/мл) показник тесту Phadiator був позитивним; у другого, навпаки, при підвищеному рівні загального IgE (488,9 МО/мл) показник тесту Phadiator був негативним; ще у двох осіб і рівні загального IgE були підвищеними (426,8 та 804,7 МО/мл), і показники тесту Phadiator були позитивними.

На етапах спостереження усіх вищезазначених 8 хворих (на візитах 2 і 3) показники загального IgE та тесту Phadiator не змінювались.

Слід додати, що клінічна симптоматика ХОЗЛ у обстежених хворих у динаміці спостереження (на візитах 2 і 3) залишалась досить виразною – у всіх пацієнтів сума балів за САТ залишалась вищою за 10.

Отримані нами результати, хоча й на досить скромній вибірці пацієнтів, навели нас на цілу низку наукових роздумів, з якими вважаємо за необхідне поділитись.

1. За виразністю клінічної симптоматики у хворого на ХОЗЛ (за даними САТ) лікар не може ані підтвердити, ані спростувати наявність у нього респіраторного алергозу; для вирішення цього питання необхідне проведення спеціального діагностичного пошуку. Не виключено, що пацієнти з вираженою бронхіальною обструкцією, відсутністю клінічної симптоматики респіраторного алергозу та наявністю лабораторних його ознак є хворими з оверлап-синдромом.

2. Підвищені рівні еозинофілів та загального IgE у крові хворого на ХОЗЛ не завжди відображають наявність респіраторного алергозу; ці зміни можуть мати іншу причину системної алергічної реакції, наприклад, гельмінтоз кишечника (відомо, що IgE приймає участь у формуванні захисного протигельмінтного імунітету).

3. Наявність лабораторних ознак респіраторного алергозу у хворого на ХОЗЛ (за даними тесту Phadiator) все ж таки найчастіше супроводжується підвищенням рівня еозинофілів та/або рівня загального IgE у крові. Втім, слід пам'ятати, що у певній частині пацієнтів з лабораторними ознаками респіраторного алергозу як рівень еозинофілів крові, так і рівень загального IgE може бути нормальним. Останнє вказує на наявність у хворого респіраторного алергозу з превалюванням локальних ознак над системними та не виключає необхідності проведення подальшого діаг-

ностичного пошуку причини респіраторного алергозу (у тому числі з визначенням рівнів алергенспецифічних IgE), а також обґрунтовує вибір саме інгаляційного шляху подачі лікарського засобу задля усунення відповідних патологічних змін.

5. Підвищення рівня загального IgE у крові хворого на ХОЗЛ без підтвердження наявності у нього ознак респіраторного алергозу (за даними тесту Phadiatop) звужує рамки подальшого діагностичного пошуку у бік іншої (не респіраторної) патології.

6. Оскільки тест Phadiatop є більш чутливим та специфічним для виявлення респіраторного алергозу, саме він повинен якомога ширше використовуватись на етапі скринінгу пацієнтів (у тому числі й пацієнтів з ХОЗЛ), а не рівень еозинофілів крові та/або загального IgE.

7. Беручи до уваги дані щодо можливої зміни показників тесту Phadiatop у динаміці спостереження хворих, можна думати, що прояви респіраторного алергозу можуть змінюватись у часі (не виключено, й у залежності від пори року).

Таким чином, усе вищезазначене дозволило нам дійти висновків, що:

1. проведене пілотне дослідження продемонструвало, що тест Phadiatop є цінним інструментом для діагностики респіраторного алергозу (респіраторної алергічної сенсibiliзації) у хворих на ХОЗЛ та дозволяє розкрити природу респіраторних симптомів у багатьох з них;

2. отримані нами результати привертають увагу до необхідності більш глибокого вивчення цієї проблеми та обґрунтовують необхідність проведення досліджень із залученням значно більшої кількості хворих.

Література

1. Наказ МОЗ України № 555 від 27.06.2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при хронічному обструктивному захворюванні легень» / Київ, 2013. – 146 с.
2. Fattahi, F. Atopy is a risk factor for respiratory symptoms in COPD patients: results from the EUROSCOP study / Fattahi F. et al. // *Resp. Res.* – 2013. – Vol. 14. – P. 10.
3. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Update 2016. [Електронний ресурс] – Режим доступу: [http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/WatermarkedGlobal%20Strategy%202016\(1\).pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/WatermarkedGlobal%20Strategy%202016(1).pdf).
4. Jones, P.W. Development and first validation of the COPD Assessment Test. / Jones P.W. et al. // *Eur. Respir. J.* – 2009. – Vol. 34. – P. 648–654.
5. Raheison, C. IgE level and Phadiatop® in an elderly population from the PAQUID cohort: relationship to respiratory symptoms and smoking / Raheison C. et al. // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59 (9). – P. 940–945.
6. Vidal, C. Evaluation of the phadiatop test in the diagnosis of allergic sensitization in a general adult population / Vidal C. et al. // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 15 (2). – P. 124–130.

© Pertseva T.O., Konopkina L.I., Botvinikova L.A.
UDC 616.24-002-007.272-036.1-037.-07

ENGLISH VERSION: NEW DIAGNOSTIC POSSIBILITIES FOR DETERMINING THE NATURE OF RESPIRATORY SYMPTOMS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE*

Pertseva T.O., Konopkina L.I., Botvinikova L.A.

State Establishment «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Public Health of Ukraine»,
Department of Internal Medicine No. 1

As of today, it is not completely known why there is a large number of eosinophils in the peripheral blood of some patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in the stable phase of the pathological process: it possibly evidences of the mistaken diagnosis of COPD instead of bronchial asthma (BA); possible respiratory symptoms in these patients due not only to the action of air pollutants, and hypersensitivity to household, epidermal, mold allergens; perhaps these are the cases of overlap syndrome. Recently, in order to address some of the issues mentioned above, new diagnostic possibilities have appeared, among them – the method of molecular allergy diagnosis Phadiatop, which allows to determine the molecular structure of allergenic proteins, "guilty" of the body's sensitization to certain allergens. If the Phadiatop test sample results are positive, it is necessary to define a group of inhaled allergens, and then – the specific allergens in groups with the positive result. The negative Phadiatop test result means that the allergic-like symptoms are not caused by respiratory allergies, therefore, it is necessary to carry out studies of other organs and systems (digestive, immune, endocrine, etc.). We conducted a pilot study in 12 patients (average age – 65.0 ± 3.8 years, 7 men, and 5 women) with a long verified diagnosis (more than 5 years ago) of COPD stage III. Determining the level of eosinophil and total IgE in the blood, as well as the study of the Phadiatop test were conducted in the dynamics on the background of the planned treatment of patients – at their inclusion in the study, after 6 and 12 months. The results showed that the presence of signs of respiratory allergosis in COPD patient (according to Phadiatop test) are most often accompanied by increased levels of eosinophils and / or total IgE level in blood. However, in a certain proportion of patients with laboratory evidence of respiratory allergosis these indicators can be normal. Increased total IgE levels in the blood of COPD patient without the confirmed presence of signs of respiratory allergosis (according to the Phadiatop test) narrows the scope for further diagnostic search in the direction of another (non-respiratory) disease. Taking into account the data that the Phadiatop test results may change in the dynamics of patients' follow-up, it can be assumed that the manifestations of respiratory allergosis may change over time. Since the Phadiatop test is more sensitive and specific for the detection of symptoms of respiratory allergosis, it should be more widely used at the stages of screening and follow-up of patients with COPD (instead of determining the level of blood eosinophils and / or total IgE).

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, inhaled allergens

Numerous pulmonologists have long ago admitted the fact that in some patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) during infectious exacerbation, the signs of eosinophilic inflammation are increased, and its marker appears in the peripheral blood, namely, the elevated levels of eosinophils. It is not known, why these changes actually occur and why in these particular patients. As for the stable phase of COPD, even more questions arise: are there COPD patients with increased levels of eosinophils? If the answer is "yes", what rate of increase is the most characteristic for them? Is this not the case of wrongly diagnosed COPD instead of bronchial asthma (BA)? Are the respiratory symptoms in patients with COPD due to not only influence of air pollutants (tobacco smoke, industrial factors), but also to household hypersensitivity, epidermal and mold allergens (that is, maybe it is the overlap syndrome?), etc.

Recently, in order to address some of the issues mentioned above, new diagnostic possibilities have appeared. One such possibility is the use of molecular method of allergy diagnosis, namely the Phadiatop test, – the new level of verification of allergic diseases [2, 5, 6]. This method allows us to determine the molecular struc-

ture of allergenic proteins, "guilty" of the body's sensitization to certain allergens.

The Phadiatop test is developed by Pharmacia Diagnostics. This is the comprehensive screening study, by means of which one can determine predisposition of allergic reaction to key inhaled allergens and thus clarify the nature of eosinophilic inflammation and confirm (or rule out) the signs of the allergic nature of respiratory symptoms, especially in patients with broncho-obstructive pathology. It allows us to determine the increase of specific immunoglobulin E (IgE) to both allergens of different groups, such as pollen, mold, mites, animal allergens, cockroaches and others. From the results of the study it will not be known, to which allergen the antibodies increase was found, but in the negative result, the possible allergic reactions to most frequently inhaled will be excluded. The analysis verifies the presence of atopy – personal or family predisposition to production of specific IgE in response to allergens' normal action. The higher the level of IgE-antibodies is, i.e. the degree of atopy, the higher the risk of symptomatic allergy is.

This method is innovative, based on immunofluorescence technique, and it provides 300 times more sensi-

* To cite this English version: Pertseva T.O., Konopkina L.I., Botvinikova L.A. New diagnostic possibilities for determining the nature of respiratory symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Problemy ekologii ta medytsyny.* - 2016. - Vol 20, № 3-4. - P. 24–27.

tiveness than enzyme multiplied immunoassay (ELISA) and is more specific. For the diagnosis of allergic diseases, the serum is studied via this method without hemolysis and chyle, Phadia 100 analyzer is applied using ImmunoCAR test system (Phadia AB).

If the result of the Phadiatop test samples turns positive, it is necessary to conduct the following studies with certain groups of allergens (house dust, pets, mold, grass, weeds, egg white, milk, fish, wheat, soybeans, etc.). At the last stage, if necessary, it is needed to determine specific allergens in groups with the positive result. If the result of the Phadiatop test samples is negative, the likelihood of allergic symptoms or disease is minimal, amounting to almost zero. This means that the reason that caused symptoms similar to allergic in patient is not allergy, and therefore one should conduct the study of other organs and systems (digestive, immune, endocrine, etc.).

The Phadiatop test is safe for patients and can be carried out without restrictions - regardless of skin condition, medication (including antihistamines), disease activity, the presence of pregnancy; it can be conducted in children, even infants, as well as in elderly people.

It should be recalled that the level of total IgE is increased only in 50% of people sensitive to inhaled allergens.

Thus, the aim of our research was to determine the diagnostic significance of the Phadiatop test in order to establish the nature of respiratory symptoms in COPD within the framework of pilot study.

Materials and methods

The study included 12 patients with COPD of stage III (average age - 65.0 + 3.8 years, 7 men, 5 women). The diagnosis of COPD in all patients had been verified more than 5 years ago, and according to the results of long-term follow-up of patients it is not in doubt (all patients were active or former smokers with duration of smoking habit for over 10 years; according to spirometric monitoring, all patients had pronounced irreversible or partially reversible bronchial obstruction, no patient had history of asthma attacks as the main clinical sign of another possible broncho-obstructive disease - bronchial asthma).

The formulation of the diagnosis of COPD and its stage was performed according to the order of Ministry of Public Health of Ukraine No. 555 as of 27.06.2013 [1].

All examined patients were compliant and received the long-term routine therapy (over one year) that included inhaled corticosteroids (ICC) and long-acting β_2 -agonist (combined salmeterol / fluticasone propionate (25/250 mcg) in 2 inhaled doses 2 times per day), and if necessary - short-acting β_2 -agonist salbutamol (in 2 inhaled doses per administering).

At the stage of patients' inclusion in the study (at visit 1) all patients underwent the assessment of clinical symptoms; the degree of ventilation disorders, the level of blood eosinophils and total IgE, and the Phadiatop test index were determined. After 6 and 12 months (at visits 2 and 3) clinical and functional studies were re-conducted, serum total IgE and the Phadiatop test parameters were determined.

Throughout the study, patients received routine therapy.

Clinical symptoms were assessed for severity of COPD symptoms in general, using the COPD test score (COPD Assessment Test (CAT)) [4]. Total points for CAT, less than 10, were considered as "a small number of COPD symptoms," and more than 10 - as "a large number of COPD symptoms".

The study of ventilatory lung function with determining the level of parameters (forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in the first second (FEV₁), and their ratio - FEV₁ / FVC) was conducted by means of the computer spirometry with measurement of the loop "flow-volume" using the apparatus «Master Screen Body/Diff» («Jager», Germany). All figures were calculated as a percentage of appropriate values calculated by Knudson (1983). Spirometry was performed in the morning on an empty stomach.

Bronchial reversibility test was conducted with 400 mcg salbutamol; thus the level of FEV₁ to inhalation of salbutamol (in pre-dose) and 15-20 minutes after inhalation (post-dose) was determined.

Clinical blood analysis with leukocyte count was conducted in the morning on an empty stomach. Number of eosinophils was defined as the absolute (referential values - 0.00-0.56 g/l) and relative (the referential value - 0.0-6.0%) indices.

Quantitative level of total IgE in serum of patients with COPD was determined by immunofluorescence method (referential values - 0.0-113.0 IU/ml).

The Phadiatop test was performed by immunofluorescence method using the ImmunoCAR test kits. In referential values 0-0.35 kU/l the result was considered negative, in values higher than 0.35 kU/l - positive.

Statistical analysis of the results was performed with the standard package of functions of «MS Excel».

Results and discussion

Analysis of the results showed that at the time of patients' inclusion in the study, all of them had relatively high severity of clinical symptoms (according to CAT) as well as rather manifested bronchial obstruction (by FEV₁ level; in all patients FEV₁ / FVC ratio was lower than 0.7) (Table 1).

*Table 1
Average levels of clinical, functional and laboratory parameters in examined patients with COPD at visit 1*

No.	Parameters	Parameter values
1.	CAT, points (M±m)	15.91±0.80
2.	FEV ₁ level, % of proper value (M ± m): - In pre-dose - In post-dose	42.53±3.18 45.30±2.80
3.	The level of blood eosinophils: - Abs. (M ± m) - % (M ± m)	0.39±0.08 5.63±1.13
4.	IgE, IU / ml	273.5±101.2

The attention has been drawn to the fact that no patient at visit 1 had total CAT points, less than 13; in one

patient, this figure amounted to 24; in the rest, it ranged from 13 to 17. Thus, all patients had "a large number of

COPD symptoms” despite the fact that, apparently, against the long-term use of ICC and bronchodilators of prolonged action they would have to manifest significantly less symptoms of the disease.

The latter suggests that drugs that are recommended today for patients with COPD (according to both national and European standards [1, 5]), are still unable to resolve all the clinical symptoms of the disease even when patients are absolutely compliant and committed to the therapy prescribed by the doctor. There are grounds for the need to ascertain the reasons for the pathological process prolongation with outlining new pathogenetic links of COPD formation, as well as for justification of new approaches to the planned treatment of patients with future development of new groups of effective drugs. One of these areas can be clarification of issues related to the contribution of eosinophilic inflammation and / or respiratory allergies (most frequent sensitization to inhaled allergens) in the pathogenesis of COPD, and therefore the impact of these processes on the certain instability of patients' condition.

Regarding blood eosinophilia, we have found that in some patients with COPD, it can be observed not only in the acute phase (which is indicated in the literature [1, 3]), but in the stable phase of the pathological process, and against the backdrop of long-term use of planned treatment, including ICC. Thus, in 4 out of 12 (33.3%) observed patients, the increased percentage of blood eosinophils was revealed, in two of them – also the increase of their absolute amount. Individual analysis showed that patients with only percentage elevated levels of eosinophils, the blood levels of total IgE was normal (7.1 and 29.2 IU/ml), and the index of Phadiatop test was negative, whereas in higher both percentage and absolute eosinophil blood levels, total IgE was significantly higher than norm (304.3 and 1039.3 IU/ml), and the rate of the Phadiatop test was positive.

Interesting was the fact that during the subsequent visits (2 and 3) in one patient with initially normal level of total IgE and negative Phadiatop test result, the parameters have changed (IgE reached the level of 188.1 IU/ml at visit 2 and 324.1 IU/ml at visit 3 and the Phadiatop test turned positive, it is possible that he contacted with the allergen); in another patient, the figures remained without significant changes. In initially elevated total IgE and positive test Phadiatop (during the subsequent visits 2 and 3) in one patient the parameters did not change, while in another patient with levels of total IgE, higher than norm by almost 10 times, the Phadiatop test turned negative (most probably, he withdrew from the contact with the allergen).

In patients with initially normal levels of eosinophils both in percentage and in absolute terms (in 8 out of 12 (66.6%) observed patients) the levels of total IgE and the Phadiatop test results were different. In half of them (4 out of 8 (50%)) the total serum IgE was normal, and the Phadiatop test was negative. In the other half of patients, the results were as follows: in one patient with normal levels of total IgE (41.1 IU/ml) the Phadiatop test was positive; in another one, on the contrary, with increased levels of total IgE (488.9 IU/ml), the Phadiatop test was negative; in two persons, total IgE levels were elevated (426.8 and 804.7 IU/ml) and the Phadiatop test indicators were positive.

At the stages of observation of all 8 patients, mentioned above (at visits 2 and 3) the Phadiatop test results and total IgE did not change.

It should be added that clinical symptoms in examined COPD patients in the dynamics of observation (at visits 2 and 3) remained quite distinct – in all patients the CAT total score remained higher than 10.

The obtained results, although in the rather modest sample group of patients, have provided us with a number of scientific thoughts, which we consider as necessary to be shared.

1. According to the severity of clinical symptoms in patients with COPD (by CAT) the doctor can neither confirm nor deny the presence of respiratory allergies. In order to address this issue, it is necessary to conduct special diagnostic search. It is possible that patients with severe bronchial obstruction, absence of clinical symptoms of respiratory allergies and presence of its laboratory signs have the overlap syndrome.

2. Increased levels of eosinophils and total IgE in the blood of patients with COPD do not always reflect the presence of respiratory allergies. These changes may have another cause of systemic allergic reactions, such as intestinal helminthiasis (it is known as IgE is involved in the formation of protective antihelminth immunity).

3. The presence of laboratory signs of respiratory allergies in COPD patient (according to the Phadiatop test) is still most often accompanied by increased levels of eosinophils and / or total IgE levels in the blood. However, one should remember that in some patients with laboratory signs of respiratory allergies both blood levels of eosinophils and levels of total IgE may be normal. The latter indicates the presence of respiratory allergies in patients with the prevalence of local characteristics over the systemic ones and does not preclude the need for further diagnostic search of causes of respiratory allergies (including the determination of allergen-specific IgE levels), and justifies the choice of inhaled route of administering drug to eliminate relevant pathological changes.

5. Increased total IgE in the blood of patients with COPD without confirmation of signs of respiratory allergies (according to the Phadiatop test) narrows the scope for further diagnostic search toward another (non-respiratory) disease.

6. Since Phadiatop test is more sensitive and specific for detection of respiratory allergies, it should be used as widely as possible at the stage of screening patients (including patients with COPD), instead of determining the level of eosinophils blood and / or total IgE.

7. Taking into account the data on the possible changes of the Phadiatop test result in the dynamics of patients' observation, it can be assumed that the manifestations of respiratory allergies can vary in time (possibly depending on the season).

Thus, all of the above allowed us to conclude that:

1) the conducted pilot study demonstrated that the Phadiatop test is a valuable tool for the diagnosis of respiratory allergies (allergic respiratory sensitization) in patients with COPD and can reveal the nature of respiratory symptoms in many of them;

2) our results draw attention to the need for better understanding of the problem and further research involving a greater number of patients.

References

1. Nakaz MOZ Ukrainy № 555 vid 27.06.2013 r. «Pro zatverdzhennya ta vprovadzhennya medyko-tekhnolohichnykh dokumentiv zi standartyzatsiyi medychnoyi dopomohy pry khronichnomu obstruktyvnomu zakhvoryuvanni lehen» / Kyiv, 2013. – 146 s.

2. Fattahi, F. Atopy is a risk factor for respiratory symptoms in COPD patients: results from the EUROSCOP study / Fattahi F. et al. // *Resp. Res.* – 2013. – Vol. 14. – P. 10.
3. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. Update 2016. [E-source] – Mode of access: [http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/WatermarkedGlobal%20Strategy%202016\(1\).pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/WatermarkedGlobal%20Strategy%202016(1).pdf).
4. Jones, P.W. Development and first validation of the COPD Assessment Test. / Jones P.W. et al. // *Eur. Respir. J.* – 2009. – Vol. 34. – P. 648–654.
5. Raheison, C. IgE level and Phadiatop® in an elderly population from the PAQUID cohort: relationship to respiratory symptoms and smoking / Raheison C. et al. // *Allergy.* – 2004. – Vol. 59 (9). – P. 940–945.
6. Vidal, C. Evaluation of the phadiatop test in the diagnosis of allergic sensitization in a general adult population / Vidal C. et al. // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 15 (2). – P. 124–130.

Матеріал надійшов до редакції 29.11.2016

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Popova T.M.
УДК 615.07:612.64: 504.054

THE REPRODUCTIVE INFLUENCE OF LAPROL-604 ON WISTAR RATS*

Popova T.M.
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

У статті представлені результати досліджень впливу Лапрола-604 на пренатальний та ранній постнатальний розвиток щурів лінії Вістар. Високі обсяги виробництва і широке застосування поверхнево-активних речовин викликало стурбованість екологів з початку 1960-х років. Поверхнево-активні речовини використовуються в промисловості і сільському господарстві, а також представлені в продукції для побутового призначення та особистої гігієни. Присутність поверхнево-активних речовин і продуктів їх розпаду в навколишньому середовищі може викликати негативний вплив на біоту [13]. Токсична дія поверхнево-активних речовин на живі організми опублікована у науковій літературі. Відомі дані з окремих досліджень впливу поверхнево-активних речовин на репродуктивну функцію тварин. Це потрібно мати на увазі, щоб уникнути віддалених негативних наслідків на майбутні покоління людей та навколишнє середовище. Вагітність - це один з найважливіших біологічних періодів життя людини і тварин. Ембріон і плід мають незрілий гематоенцефалічний бар'єр, печінкову детоксикацію, метаболізм і тільки рудиментарні механізми репарації ДНК [17]. Таким чином, ембріон і плід більш уразливі, ніж дорослі до несприятливого впливу ксенобіотиків, таких як поверхнево-активні речовини. Дослідження проведено з метою поглиблення розуміння негативних репродуктивних ефектів Лапролу-604 під час ембріонального, фетального і раннього постнатального розвитку. Вагітним щурам (3 групи по 25 тварин у кожній) вводили Лапрол-604 у дозі 0,125; 1,25 і 12,5 мг/кг один раз на добу за допомогою шлункового зонду з другого до двадцятого дня вагітності. Контрольною групою були 25 вагітних щурів, які перебували на стандартному раціоні віварію без введення Лапролу-604. В постнатальний період кількість живих щурят підраховували, важили, їх стан обстежували. Від самок, що отримували Лапрол-604 у дозі 12,5 мг/кг/добу народитивні щурята, які померли протягом перших 48 годин після народження. Близько 50% щурят, із групи, якій вводили Лапрол-604 1,25 мг/кг/добу, померли протягом перших 10 днів після народження. Інші 50% тварин вижили і досягли статевої зрілості, але вони мали значне уповільнення зростання та розвитку. Щурята, що вижили мали значно більш високу вагу печінки в порівнянні з контрольними тваринами. Виживання щурят в постнатальний період було дозозалежним. Так, більше 80% щурят, мати яких отримували 0,125 мг/кг/добу Лапролу-604, народилися живими, залишалися активними протягом постнатальної життя і досягли статевої зрілості. Результати дослідження показали, що вплив Лапролу-604 на вагітних щурів зумовив зниження постнатального виживання новонароджених, уповільнене зростання та розвиток щурят, що вижили.

Ключові слова: Лапрол-604, полііоли, поверхнево-активна речовина, моделювання, щури, репродуктивна токсичність, негативний вплив на внутрішньоутробний розвиток, постнатальний день.

Introduction

Population exposure to toxic environmental emicals is ubiquitous and adverse health outcomes associated with exposure to such chemicals as surfactants are prevalent and on the rise [17; 24].

Surfactants have widely used all over world. A large number of surfactants containing wastewater are discharged into the environment, resulting in harming aquatic life, polluting the water and endangering human health [12;16;26].

Wildlife and humans are exposed to surfactants in several different ways. Air, water, soil, sediment and food

are sources of polyols for living organisms. With regard of lack of toxicokinetic data, it is known that women may be exposed to lipophilic chemicals from various sources including air, water, food, occupational and household environments. Surfactants can also be transferred from the pregnant woman to the developing fetus through the placenta. The most sensitive time of exposure to surfactants during critical periods of development, such as during fetal development [21].

Laprol-604 is found among non-ionic group of surfactants, including Laproxide-303, methycellosolve, methylcarbitol et cetera [27]. Laprol-604 is a synthetic complex

* To cite this English version: Popova T.M. The reproductive influence of laprol-604 on wistar rats // Problemy ekologii ta medytsyny.- 2016. - Vol 20, № 3-4. - P. 28-32

organic mixture of polyoxypropylene polyols. During Laprol-604 production a xylitol basis is used as the starting point for anionic polymerization propylene oxide. Laprol-604 has been produced industrially for several decades for use primarily as ingredients of manufacturing epoxide resin, enamels, varnishes, plastic, fiber, glues, emulsifiers et cetera [28].

The potentially toxic effects of surfactants are presently being studied with increasing intensity [25]. The relevance of this topic is also clearly reflected by the number of publications that have appeared in recent years [1;2;18]. This increasing interest is the result of reports of toxic effects of different groups of surfactants in connection with the ubiquitous detection of these substances in the environment and in sundry matrices, bodies of water, wild animals, human blood, and breast milk samples, all of which have come to the attention of the public [9;11;15].

Nonionic surfactants have been most intensively studied from a toxicological standpoint [14;19;20;27]. Multiple reports, in a variety of animal models, paint a concerning picture of the potential for surfactants to contribute to negative health effects, including developmental toxicity [4;7;10], immunological suppression [3], in neonatal mortality [8]. Although the toxicity of Laprol-604 has been studied and the findings showed that Laprol-604 was moderately toxic, however the influence of Laprol-604 on reproductive system is still unknown.

Survival of the newborn rats, their body weight as well as their liver status have been examined with the goal of researching the reproductive and developmental toxicities of Laprol-604.

Materials and methods

Laprol-604 was provided from Science and Production Joint Stock Company "Sintez PAV" (Shebekino, Russian). Laprol-604 was reported to be 96% pure by the supplier. For all studies, Laprol-604 was diluted in deionized water and prepared fresh daily.

According to biologic characteristic of Wistar rat, the placenta is considerably more porous. This property may increase the chance of fetal exposure to an administered test material

One hundred pregnant Wistar rats (body weight, 180 ± 20 g at study start) bred within a 4-h period in the afternoon and overnight. Those animals with spermatozoa in a vaginal smear were considered to be at gestation day (GD) 0. They were randomly divided into four groups (25 animals in each group). Laprol-604 was administered to pregnant dams once daily by gavage at doses of 0, 1.25, 1.25 and 12.5 mg/kg, respectively is the 1-st; 2-nd and 3-rd group from GD 2 until GD 21. The 4-th group (controls) consisted of 25 intact animals without Laprol-604 administration. The pregnant dams were kept individually in polypropylene cages with heat-treated pine shavings for bedding and tap water ad libitum. Pelleted diets were presented to the rats in wide mouthed jars with lids. Animal facilities were controlled for temperature (20-22°C) and relative humidity (50-60%) and kept under a 12-hr light/ 12-hr dark cycle.

All the procedures were performed in the Kharkiv Medical Academy Postgraduate Education, according to

Ukrainian and International guidelines for the use of animals in research [5; 6].

Pregnant rats and their pups routinely monitored during study as an assessment of their general health and to effect of Laprol-604 administration.

Pregnant rats were twice daily clinical observed. They have been weighed on the 0, 6, 9, 12, 15, 18, 20-th days of gestation. Pregnant rats have been monitored at hourly intervals, during the 22 GD and later. Time of parturition for each animal, number of live pups and their conditions have been examined. All of live pups were daily counted and tabulated, and they have been weighed on 0, 2, 3, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 28 and 35-th postnatal day (PD). The loss of neonates was within 2nd and 3rd groups. The surviving newborns were distributed randomly to lactating rats into the same group with a litter size of less than 8.

All young rats were weaned on 22-th PD and separated by gender.

Statistical analysis of the data was performed using GraphPad Prism 5. Student's t test was used to detect differences between independent groups of normally distributed variables; difference between groups was considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results

Laprol-604 showed dosage dependent developmental toxicity when the pregnant rats were exposed. It led to reduced statistically significant litter size in the 3-rd group ($5,48 \pm 0,21$), 2-nd ($7,07 \pm 0,15$) and 1-rst ($8,20 \pm 0,12$) groups compared with controls ($9,31 \pm 0,23$) ($p < 0.01$). Laprol-604 administration decreased of body weight of rat newborns and diminished the number of live pups and the viability of the progeny during the first ten days after birth. All live pups have been born by rats of 3-rd group was daily exposed to Laprol-604 12,5 mg/kg were pallid, inactive, became moribund and died within the first 48 hours after birth (Fig. 1). Approximately 50% of the pups of mother animals (2nd group) were daily administrated 1,25 mg/kg died during the first 10 days after birth.

Influence of prenatal exposure to Laprol-604 on postnatal survival in rats. Each data point represented by average of 9-12 pups. The 3-rd group (dose of 12,5 mg/kg) was varied significantly from 2-nd (dose of 1,25 mg/kg), 1-rst groups (dose of 0,125 mg/kg) and controls ($p < 0.001$), whereas the 1-rst group was not significantly different from the controls.

Other 50% of these animals survived and reached puberty. However, offspring that survived showed delays in growth and opening of the eyes. The pups opened their eyes beginning on 14 postnatal day.

Survival improved with lower Laprol-604 exposure and over 80% pups of 1st group have been born alive, stayed active for postnatal life and reached puberty.

The progeny of rats of 4-th group (animals was not exposed by Laprol-604) showed their viability and all control pups survived for the duration of the study. In addition, the mortality was not different between pups of 1st and control groups for the duration of the study.

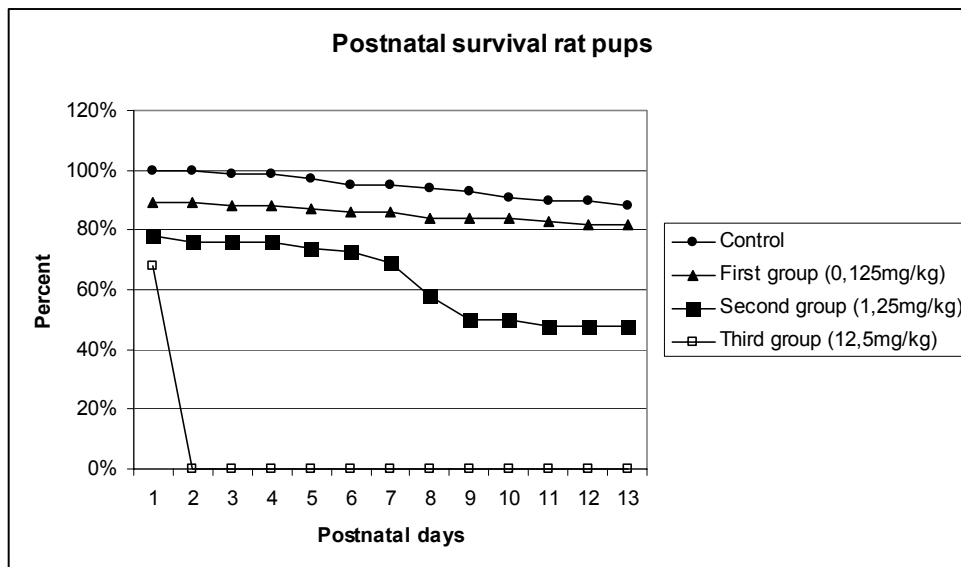


Fig. 1. Postnatal survival rat pups

Altered fertility parameters were found among animals of the 2nd and 3rd groups. The surviving rat pups of these groups were lagging behind in postnatal growth and development. Body weights of pups in the 12,5 mg/kg dosage 3rd group significantly stunted behind control pups. This process has persisted after weaning (Table 1).

No signs of maternal toxicity were observed in the animals at exposures to 0,125 mg/kg dosage (first group). However, there was a tendency, the body weight of the progeny was lower and liver weight was higher than controls.

Table 1
The effects of prenatal exposure to Laprol-604 on body weight of neonatal rat pups (M±m)

Postnatal day	Groups of animals			
	Control group	First group 0.125 mg/kg	Second group 1.25 mg/kg	Third group 12.5 mg/kg
	Body weight, g			
0	5.8±0.1	5.4±0.1	4.9±0.1*	4.7±0.1*
2	7.2±0.1	6.8±0.2	5.9±0.1*	4.9±0.1*
3	8.4±0.2	7.8±0.3	6.5±0.2*	—
7	14.8±0.4	14.1±0.5	10.6±0.2*	—
10	20.8±0.4	19.2±0.8	16.9±0.4*	—
13	23.3±0.8	22.2±0.4	18.8±0.4*	—
16	32.6±0.8	31.3±0.7	23.5±0.1*	—
19	39.2±0.9	38.6±0.9	30.1±0.7*	—
22	51.0±1.2	49.2±1.4	38.1±1.2*	—
28	78.6±2.4	76.4±2.2	68.6±1.4*	—
35	129.7±4.2	128.2±4.6	106.7±2.2*	—

Note. * Significant differences (p < 0.01) from control values.

Table 2
The effects of prenatal exposure to Laprol-604 on liver weight of neonatal rat pups (M±m)

Postnatal day	Groups of animals			
	Control group	First group 0.125 mg/kg	Second group 1.25 mg/kg	Third group 12.5 mg/kg
	Liver weight, g			
0	0.31±0.01	0.33±0.02	0.36±0.01	0.40±0.01*
2	0.36±0.01	0.34±0.01	0.37±0.01	0.39±0.02
7	0.49±0.02	0.48±0.03	0.51±0.02	—
13	0.92±0.06	0.89±0.03	0.96±0.02	—
22	1.89±0.13	1.93±0.03	2.14±0.05	—
28	3.75±0.13	3.98±0.25	3.99±0.11	—
35	5.97±0.31	6.03±0.06	6.55±0.13	—

Note. * Significant differences (p < 0.05) from control values.

Liver weights of the Laprol-604 -exposed pups, except 3-rd group, did not differ from controls appreciably. It

should be noted, while body weight was deficit, the rela-

tive liver weight of all Laprol-604 dosage groups was significantly increased.

According to litter size, all Laprol-604 dose groups were significantly different from controls.

The teratogenic effects such as skeletal abnormalities, craniofacial malformation (cleft palate), cardiac defects (ventricular septal defects, enlargement of the right atrium), and delayed ossification (sternbrae, phalanges) were not detected, during examination of rat pups. Reduced litter size, fetal losses were observed. These adverse outcomes were dose-dependent.

Discussion

This study coupled with increased exposure to daily use of surfactants. The importance of identifying and characterizing the reproductive risks of Laprol-604 intended for using by reproductive age population. These risks broadly divided into two categories, reproductive risks and developmental risks. The reproductive risks are related to impact on processes like fertility (male and female), giving birth and lactation. The developmental risks are related to the fetus and include mortality, alteration in growth and functional deficits.

On the one hand, the teratogenic effects were not detected in pups of pregnant rats exposed to Laprol-604, during gestation, on the other hand, the litter size was reduced in the all Laprol-604 administration group. Furthermore, a full neonatal mortality was observed in 3-rd group (with dosages 12,5 mg/kg) and a significant neonatal mortality was found in the offspring of rats treated with dosages 1,25 mg/kg.

These findings are consistent with the results of other studies of non-ionic surfactants employing a different dose-regimen of surfactant [23; 27]. The mortality of the new-born rats appeared to be related directly to dose-dependent administration. Indeed, although rats from all dosage groups were born alive, neonates exposed to the high dosages of Laprol-604 (12,5 mg/kg,) survived for two days.

Survival rate was better in the first and second groups (lower dosage groups), and the first 5–7 days of postnatal life were critical to the long-term survival of the neonatal rats.

The pathophysiological mechanisms underlying Laprol-604 -induced neonatal mortality are largely unknown at present. However, among the available data, [22] reported a similar pattern of neonatal death that was explained by numerous structural metabolic disorders, as well as possibility to condition remote consequences.

The profile of neonatal mortality induced by Laprol-604 can be explained of the developmental toxicity of Laproxide L-303, polyols P373-2-20 that triggered profound impairment of structural metabolic processes in endocrine system on all the levels of its structural functional organization: hypothalamus – hypophysis – adrenal and other glands of internal secretion, which can manifest in dysfunction of all kinds of metabolic exchange and energy.

In subchronic studies with adult rat and mice, liver enlargement and hepatic toxicity were associated with non-ionic surfactants exposure [23; 27]. Where as significant increases of relative liver weight were detected in rat pups. These findings suggest that the developing liver is another potential target for Laprol-604 action.

Conclusion

Although the results were limited to the first few days of life, several points can be made concerning the body burden of Laprol-604 in the neonatal rats:

1. Laprol-604 administration reduced litter size in the 3-rd group (5,48±0,21), 2-nd (7,07±0,15) and 1-rst (8,20±0,12) groups compared with controls 9,31±0,23) ($p < 0.01$).
2. Laprol-604 administration decreased postnatal survival.
3. Laprol-604 administration decreased of body weight of rat newborns and diminished the number of live pups and the viability of the progeny during the first ten days after birth, delayed developmental progress.
4. The relative liver weight of all Laprol-604 dosage groups was significantly increased.

References

1. Apelberg B.J. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth./ B.J. Apelberg, F.R. Witter, J.B. Herbstman et al // *Environ Health Perspect.* - 2007. – Vol. 115 (11). – P. 1670 – 1676.
2. Babienko V., Sakharova I., Danilchenko L. Hygienic evaluation of the influence of the nitrogen-containing surfactants under conditions of acute experiment // *Journal of the Grodno State Medical University.* – 2015. –N. 4. – P. 85-87 [in Russian].
3. Bagmut I.Y. The influence of sub-toxic dose xenobiotic on immune response of experimental animals / I.Y. Bagmut, T.M. Popova, A.V. Titkova et al. // *J of Education, Health and Sport.* – 2016. –Vol. 6(11). – P. 629-639.
4. Calvin G, Long P () Ethylenediaminetetra (methylene phosphonic acid Genotoxicity, biodistribution, subchronic and chronic toxicity in rats // *Chemical toxicology.* – 1988. – N. 26. – P. 601-610.
5. Council of Europe [France]. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18.III.1986, <http://conventions.coe.int/treaty/en/Treaties/Word/123.doc>
6. EPA (US Environmental Protection Agency) (1991) Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. Risk Assessment forum, US Environmental Protection Agency, Washington/DC. EPA/600/FR-91-001
7. Grasty R. C. Effects of prenatal perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure on lung maturation in the perinatal rat / R.C. Grasty, J.A. Bjork, K.B. Wallace et al. // *Birth Defect Res B.* - 2005. – N. 74. – P. 405–416.
8. Grasty R.C. Prenatal window of susceptibility to perfluorooctane sulfonate-induced neonatal mortality in the Sprague-Dawley rat / R.C. Grasty, B.E. Grey, C.S. Lau et al. // *Birth Defect Res B.* – 2003. – N. 68. – P. 465–471.
9. Harada K. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan / K. Harada, A. Koizumi, N. Saito et al. // *Chemosphere.* – 2007. – N. 66. – P. 293–30.
10. Harpal S Buttar Embryotoxicity benzalkonium chloride in vaginally treated rats // *Journal of Applied Toxicology.* – 1985. – N. 5(6). – P. 398-401.
11. Hinderliter P.M. Perfluorooctanoate: placental and lactational transport pharmacokinetics in rats / Hinderliter P.M., Mylchreest E., Gannon S.A., et al. // *Toxicology.* – 2005. – N. 211. – P. 139–148.
12. Ivanković T., Hrenović J. Surfactants in the environment // *Arh. Hig. Rad. Toksikol.* - 2010. – N.61(1). –P. - 95-110.
13. Knepper TP, Barcelo D and De Voogt P (2003) Analysis and Fate of Surfactants in the Aquatic Environment. Comprehensive analytical chemistry Volume XL EL-SEVIER: 966

14. Lara-Martin P.A., Gomez-Parra A., and Gonzalez-Mazo E Sources, transport and reactivity of anionic and non-ionic surfactants in several aquatic ecosystems in SW Spain: a comparative study // Environmental Pollution. - 2008. - Vol.156 (1). - P. 36-45.
15. Lau C., Butenhoff J.L., Rogers J.M. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. Toxicol Appl Pharmacol.n - 2004. - Vol. 198(2). - P. 231-4.
16. Murakami M. Occurrence and sources of perfluorinated surfactants in rivers in Japan / M. Murakami, E. Imamura, H. Shinohara, K. Kiri, Y. Muramatsu, A. Harada et al. // Environ Sci Technol. - 2008. - N. 42. - P. 6566-6572.
17. Newbold R., Heindel J. Developmental exposures and implications for early and latent disease. In: Environmental Impacts on Reproductive Health and Fertility Cambridge, UK Cambridge University Press. -2010. - P. 92-102.
18. Olkowska E., Polkowska Z., Namieśnik J. Analytics of surfactants in the environment: problems and challenges // Chem. Rev. - 2011. - Vol. 111 (9). - P. 5667-5700.
19. Olkowska E., Ruman M., Kowalska A. and Polkowska Z. Determination of surfactants in environmental samples. Part III. Non-ionic compounds // Ecological Chemistry and Engineering. - 2013. - S 20 (3). - P. 449-461.
20. Petrovic M. Occurrence and distribution of nonionic surfactants, their degradation products, and linear alkylbenzene sulfonates in coastal waters and sediments in Spain / M. Petrovic, A. R. Fernández-Alba, F. Borrull et al. // Environmental Toxicology and Chemistry. - 2002. - Vol. 21(1). - P. 37-46.
21. Ramesh C Gupta (2011) Reproductive and Developmental Toxicology. Academic press ELSEVIER: 1223
22. RezunenkoYu. The effect of Laproxide L-303 on some hormonal exchange indices in prolonged toxification of white rats / Yu. Rezunenko, V. Zhukov, M. Kucheriavchenko et al. // J Clin Exp Med Res. - 2015. - Vol. 3(1). - P. 44-50 [in Russian].
23. Scherban N. G. Medical toxicological investigation of superficially active substances in connection with the problem of sanitary protection of drinking water sources / N.G. Scherban, V.I. Zhukov, V.A. Kapustnik et al. // International Medical Journal. - 2013. - N. 2. - P. 116-120 [in Russian].
24. World Health Organization and United Nations Environment Programme (2013) State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals-2012. Available: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/> [accessed 6 February 2014].
25. Ying G. G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment // Environ. Int. - 2006. - Vol.32 (3). -P. 417-431.
26. Yuan C. L. Study on characteristics and harm of surfactants / C. L. Yuan, Z. Z.Xu, M. X. Fan et al. // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. - 2014. - Vol. 6(7). - P. 2233-2237.
27. Zhukov V. Toxicologic and hygienic characteristics of P-373-2-20; P-5003-AC; P-294-2-35 polyols an prognosis of their potential danger to environment / V. Zhukov, V. Telegin, O. Zaytseva et al // Science Research. - 2013. - Vol.1(2). - P. 31-34.
28. Zhukov V.I. (2000) Environmentally-hygienically description of superficially-active substances as contaminants of reservoirs. Kharkov Tornado:180 [in Russian].

Summary

This article introduces the results of research the Laprol-604-induced effects on the prenatal and early postnatal development of the Wistar rats. The high production volumes and widespread use of surfactants have been an environmental concern since the early 1960s. Surfactants are used in industry and agriculture and are also found in household and personal care products. The presence of surfactants and their biodegradation products in different environmental compartments can invoke a negative effect on the biota [13]. The toxicity of surfactants to living organisms has been summarized in the scientific literature. Nevertheless, some information is still lacking in relation to the reproductive effects need to be understood in order to avoid unexpected adverse effects on future generations of people and the environment. Reproduction is a critical biological process of human and animal populations. It is known the embryo and fetus have immature blood-brain barrier, hepatic detoxifying, metabolizing properties and only rudimentary DNA repair mechanisms [17]. Therefore, the embryo and fetus are more vulnerable than adults to the adverse effects of xenobiotics such as surfactant exposures. This study has been performed to increase the understanding of the adverse reproductive effects associated with Laprol-604 animals exposed during embryonic, fetal, and early postnatal development. Pregnant Wistar rats were administered 0,125; 1,25 and 12,5 mg/kg Laprol-604 once daily by gavage from the second gestation day (GD) to the twenty first GD. Controls consisted of 25 intact pregnant Wistar rats without Laprol-604 administration. Time of parturition for each animal, number of live pups and their conditions have been examined. All of live pups were daily counted, tabulated and they have been weighed several times during postnatal period. All live pups have been born by rats exposed to Laprol-604 12,5 mg/kg were pallid, inactive and died within the first 48 hours after birth. Approximately 50% of the pups of pregnant rats administrated 1,25 mg/kg died during the first 10 days after birth. Other 50% of these animals survived and reached puberty, but they had significant growth retardation. The surviving young rats had significantly higher liver weight compared to the control animals. Survival has been improved by lower dosage Laprol-604 administration and over 80% pups exposed to 0,125 mg/kg Laprol-604 have been born alive, stayed active for postnatal life and reached puberty. The results of study indicated that exposure of Laprol-604 to the pregnant rats caused decreasing postnatal survival of neonates, stunted growth in the surviving rat pups.

Key words: Laprol- 604, polyols, surfactant, modeling, rats, reproductive toxicity, developmental toxicity, gestation day, postnatal day

Матеріал надійшов до редакції 05.12.2016

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ АВТОРІВ

З метою дотримання міжнародних правил оформлення, авторам рекомендується ознайомитися з "Єдиними Вимогами до Рукописів для Біомедичних Журналів" на www.icmje.org.

У якості невід'ємної частини процесу публікації, автори, рецензенти і редактори повинні повідомити про будь-які конфлікти інтересів і надати детальну інформацію, підписавши форму Заяви про Службову Етику та надіславши її на адресу редакції журналу. Автори рукописів зобов'язані поважати право приватності пацієнта. Перед початком дослідження пацієнт повинен заповнити і розписатися у формі Заяви про Інформовану Згоду. До статті додається акт експертної комісії про відсутність конфіденційної інформації та направлення установи. В направленні засвідчується, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями.

Статті публікуються українською, російською або англійською мовами. Авторський оригінал подається у двох примірниках, що складаються із основного тексту (стаття – 15 сторінок, огляд – 20 сторінок, коротке повідомлення – 7 сторінок); списку літератури (статті – до 20, огляди – до 50, короткі повідомлення – до 15 джерел); таблиць; ілюстрацій (не більше 4); назв рисунків; анотацій українською, російською та англійською мовами (орієнтовно 250 слів), що повинні містити обґрунтування мети, матеріалів та методів, результати дослідження.

На першій сторінці зазначаються: шифр УДК; прізвища авторів, ініціали, наукові ступені та звання; назва статті; установи, де працюють автори, місто; ключові слова – від 5 до 10 слів або словосполучень, що розкривають зміст статті. Назва статті російською, українською та англійською мовами повинна бути стислою і не перевищувати 120 символів. Підзаголовок є прийнятним. Текст статті повинен бути структурований наступним чином: вступ, мета, матеріал і методи, результати та висновок. На останній сторінці тексту власноручні підписи всіх авторів: прізвище, ім'я та по-батькові, поштова адреса, номери телефонів (службовий, домашній), за якими редакція буде контактувати із авторами. Подаючи статтю до редакції, автори тим самим підтверджують оригінальність роботи. Це означає, що авторські права або будь-які інші права власності третіх осіб не порушуються. Підписами автори засвідчують, що жодна частина рукопису не була опублікована і не прийнята до друку іншими виданнями. Текст друкується шрифтом не менше 2,8 мм на білому папері через два інтервали, на аркушах формату А4 (210×297 мм), поля з усіх боків по 20 мм. Крім двох роздрукованих копій, матеріал потрібно надати на компакт-диск, текст статті повинен бути у форматі Microsoft Word. Латинські терміни, іншомовні слова повинні бути надруковані курсивом. Тільки загальноживані скорочення можуть подаватися без пояснення. Скорочення у назві статті не є прийнятними. Всі величини приводяться в одиницях СІ, однак допустимими є й інші загальноживані позначення та одиниці вимірювання (l, min., h, C, Da, cal). Ілюстрації (рисунки, фотографії) повинні бути пронумеровані. Назви рисунків повинні бути надруковані на окремій сторінці. Малюнки повинні бути виконані з використанням інструментів, доступних у текстових редакторах або в Excel. Фотографії повинні бути високоякісними. Таблиці розміщуються на окремих аркушах, нумеруються послідовно, кожна сторінка супроводжується коротким заголовком. Рисунки є доповненням до тексту статті і не повинні повторювати інформації, поданої у рукописі. На звороті рисунків олівцем ставлять їхні порядкові номери, зазначають прізвище першого автора, скорочену назву статті. Список літератури оформлюється на окремих сторінках без скорочень. Автори подаються за абеткою, спочатку джерела кирилицею, потім латиницею. Посилання у тексті позначаються цифрами у [квадратних] дужках. Порядок оформлення списку літератури: для монографій – Прізвище, ініціали. Назва книги. Місце видання: видавництво, рік видання. Кількість сторінок; для журналів – Прізвище, ініціали. Назва статті. Назва журналу. Том, номер. Рік: сторінки, на яких вміщено статтю.

Одночасно, автори надають повний переклад тексту, підписаних підписів і табличних матеріалів англійською мовою. У переліку використаної літератури посилання, наведені кирилицею, транслітеруються із застосуванням програми "Trans 1.02" або подібних програм.

Усі рукописи журналу рецензовані незалежними експертами. Процедура рецензування включає перевірку статті протягом двох тижнів двома спеціалістами, призначеними редакційною радою. Рукопис із рецензією надсилається автору для внесення коректив перед остаточним поданням статті до редакції журналу.

Після публікації статті автори передають авторські права редакції журналу. Редакція залишає за собою право змінювати і виправляти рукопис, однак внесені корективи не повинні змінювати загального змісту та наукового значення статті.

Залучаючи до дослідження пацієнтів, автори несуть відповідальність за виконання етичних стандартів Гельсінкської декларації 1975 із поправками 2005 року. Рукопис повинен містити наступний пункт: "Ми заявляємо, що під час дослідження права пацієнтів були враховані у відповідності до вимог Гельсінкської конвенції". При виникненні сумнівів щодо відповідності рукопису до вимог Гельсінкської декларації, автори будуть зобов'язані відзвітуватися про сумнівні аспекти дослідження і обґрунтувати підстави свого підходу.

Якщо дослідження виконується без залучення лабораторних тварин, рукопис повинен містити наступний пункт: "Ми заявляємо, що ми не проводимо досліджень на тваринах". Дослідження, які проводяться на тваринах, повинні відбуватися у відповідності із встановленими інституціональними нормами використання лабораторних тварин. Науковці повинні керуватися принципами гуманного ставлення до тварин, що використовуються в дослідках. Необхідно подати наступну інформацію: вид тварин, генетичний статус: лінія (згідно правил стандартного позначення ліній лабораторних тварин); категорія лабораторних тварин або їх мікробіологічний статус; маса та вік тварин на початку експерименту; 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 клітки, тип підстилки). Автори повинні підтвердити відповідність нормативам утримання та годування тварин (Європейська конвенція по захисту хребтових тварин, що використовуються з експериментальною або іншою метою. – Страсбург, 1986), наявність сертифікату якості, а також повідомити джерело набуття тварин. Необхідно описати всі процедури, які виконуються на тварині, дози препаратів, що вводилися, хірургічні втручання та інші дії, а також відмітити використання при цьому методів анестезії (див. інформацію про Права Людини і Тварини).

Ці правила поширюються на всі види рукописів, у тому числі статті, короткі доповіді, коментарі до клінічних випробувань. Рукописи, які не відповідають цим вимогам, будуть повернені авторам для корекції.

INFORMATION FOR AUTHORS

In order to comply with the international regulations, the authors are strongly encouraged to consult the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" at www.icmje.org.

As an integral part of the publication process, the authors, reviewers and editors are required to confirm whether they have any conflicts of interest to declare, and to provide details of these in the following Conflict of Interest Statement Form. The authors of the articles will respect the patients' right to privacy. Upon the familiarization with the abovementioned details, the patient must complete the Standard Statement of Informed Consent Form. The lack of confidential data must be certified by the act of expert committee attached to the article. The referral from the corresponding establishment with the statement that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals must be sent with it as well.

Articles in Ukrainian, Russian or English are accepted for publication in The Medical and Ecological Problems. The article is submitted to journal in two copies. The article comprises the text of the research (15 pages for articles, 20 pages for reviews, 7 pages for brief reports); the list of cited literature (20 positions at most for articles; 50 positions at most for reviews; 15 positions at most for brief reports); tables, figures (no more than 4); legends and captions; summaries in Ukrainian, Russian and English (approximately 250 words) providing the arguments in support of the aim of the research, explanation of materials and methods, the results and conclusions.

The first page contains UDC code, author's record (name, initials, scholar degrees, title, the title of the article, institution, city) and keywords – from 5 to 10 words or phrases revealing the content of the article. Title of the paper in Russian, Ukrainian and English should be concise, it must not exceed 120 characters. A subtitle is acceptable. The text of original papers must be divided into paragraphs, including introduction, the aim of the research, materials and methods, results and conclusions. The last page must be manually signed by author(s) of the article, featuring first name, last name and patronymic, address, telephone numbers (office, home) for Editorial office to keep contact with. By submitting a paper to the editor, authors thereby confirm the original form of the articles, which means that the copyright or any other property rights of the third parties are not violated. The author(s) sign the article thereby certifying that neither part of the suggested research has been published or accepted for publication in other journals. The text of the manuscript must be in printing type no less than 2,8 mm, double-spaced, on A4-size sheets (210×297 mm); margins from each side – 20 mm. Along with 2 printed copies, the manuscript is provided in Microsoft Word format on electronic media. Latin notions and foreign words must be typed in italics. Only common abbreviations may be left unexplained. No abbreviations are acceptable in the title. All values are set in SI units; however, other generally used abbreviations and units (l, min., h, C, Da, cal) are also accepted. Figures (drawings, photographs) must be numbered. Figure captions are to be printed on a separate page. Drawings should be prepared using tools available in Word processors or in Excel. Photographs must be of high quality. Tables should be on separate sheets, numbered consecutively and headed by a concise title. Figures are adjuncts to the text and should not repeat material presented therein. On the reverse side of the figures it is necessary to write with a pencil their sequence numbers, name of the first author and the short title of the article. The list of cited literature is provided on a separate page without abbreviations. The authors are stated in alphabetical order, at first the sources in Cyrillic alphabet, then in Roman alphabet. The references in the text are indicated in [square] brackets. The cited works are to be compiled in the following way: for monographies – Name, initials. Book name. Place of publication. Publishing house, year. Total number of pages; for journals – Name, initials. Article name. Abbreviated name of journal. Volume, number: pages containing the article.

At the same time the authors provide full translation of the article's text, picture captions and table materials into English. In the list of references, the Cyrillic positions must be transliterated with the use of "Trans 1.02" or similar programs.

The original papers are peer-reviewed. Usually editorial staff chooses two readers who review papers during two weeks. The manuscript with review is sent to authors and after being corrected is delivered to editorial office for final acceptance.

Upon publication of the paper, the authors transfer the copyright to the Editorial office of the journal. The Editorial office reserves the right to alter and correct the manuscript considered for publication in the way that will not change its overall content and value.

When reporting experiments on human subjects, authors should indicate whether the procedures were performed in accordance with the ethical standards of Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2005. Therefore the manuscript must include the following clause: "We declare that during research the rights of patients were taken into consideration according to Helsinki Convention". If doubts for that matter arise, the authors must account for the doubtful aspects of the study and explain the reasons for their approach.

If the research does not presuppose experiments on laboratory animals, the article must include the following statement: "We declare that we do not perform research on animals". When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guides for care and use of laboratory animals were respected. The authors must follow the principles of humane attitude to animals used in experiments. They must submit the following information: type of animals, genetic status: the line (according to standard rules of defining the lines of laboratory animals); the category of laboratory animals or their microbiological status; weight and age of animals at the beginning of the experiment; quarantine or acclimatization period during transportation over long distances; maintenance conditions during the experiment (microclimate parameters, temperature, humidity, air volume, light conditions, cage type, type of bedding material). The authors must prove the compliance with normative standards on animals maintenance and foddering (European Convention for the Protection of vertebral animals used in experiments or other purposes. – Strasbourg, 1986) and provide the information as to the acquisition source of animals, as well as the quality certificate. It is necessary to describe all procedures performed on animals, introduced doses of medications, surgical interventions and other actions, the use of anesthesia methods (See Statement of Human and Animal Rights).

The abovementioned requirements must apply to all original papers, including original research, brief reports, case reports and also for comments on clinical trials. Manuscripts that do not meet these requirements will be returned to authors for correction.