



УДК: 614.715:616-056.3-084:(477.63)

Аеропалінологічний спектр м. Дніпропетровськ як основа профілактики сезонної алергії

В.В. Родінкова

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, Вінниця, Україна

Наведено результати першого для Дніпропетровська спостереження за спектром алергенного пилку у повітрі та змінами його концентрації упродовж сезону. Основні пилкопродуценти у досліджуваному місті – амброзія, рослини роду щиряця та родини лободових, кропива дводомна, рослини роду полин, представники родини складноцвіті, роду тополя, родин злакові, конопляні та роду береза. Перша, весняно-літня палінаційна хвиля, яка зазвичай спостерігається в інших містах України, у Дніпропетровську мало виражена. Результатом роботи стало створення календаря пилкування алергенних рослин для досліджуваного міста. Цей календар потребує постійного оновлення через зміну факторів довкілля, що впливають на розповсюдження природних алергенів.

Ключові слова: аеробіологія, календар пилкування, сезонна алергія, Дніпропетровськ

Airborne pollen spectrum of Dnipropetrovsk city as a basis of hay fever control

V.V. Rodinkova

Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsia, Ukraine

Hay fever is important allergenic complain with number of patients rising year by year. Ukraine holds the leading positions in Europe in accordance with pollinosis morbidity. Therefore, it's important to determine regional pollen spectrum for all five climatic and geographical zones of the country having certain variety of plants' allergens. There are just a few cities with a constant pollen monitoring carried out in Ukraine. They are Vinnitsia, Kyiv, Odessa and Lviv. Palynological range of other Ukrainian cities remains unknown or poorly studied. Dnipropetrovsk – Ukrainian city with location in the Central part of the country in the Steppe zone – isn't exception as well. Thus, the aim of our study was to determine the pattern of airborne pollen distribution and pollen calendar creation for the city of Dnipropetrovsk. Pollen count obtained at Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University (VNMU) by Aerobiology Research Group. Study was held in 2010 from the 17th of March till the 20th of October on daily basis employed volumetric methods using the Burkard trap. It stands on the roof of the Dnipropetrovsk Municipal hospital at 20 meters of a relative height above ground. The air samples were sent by currier mail on weekly basis from Dnipropetrovsk to Vinnitsia for the research term. 51 pollen types were determined during the study period. The aeropalynological research was done for the Dnipropetrovsk at first. Study was conducted in association with the European Aeroallergen Network (EAN). The EAN tools and the software package "Statistica 5.5" were used for data statistical analysis. The study showed prevalence of the airborne herbal pollen types in Dnipropetrovsk. The "weeds : trees" pollen ratio was «88 : 12». Most abundant pollen rain (59% of total annual pollen count) was produced by *Ambrosia*. The second position with 6% was held by *Amaranthus* / Chenopodiaceae pollen group and *Urtica dioica* pollen. *Artemisia* and other representatives of Asteraceae constituted of 5% each. The most abundant tree pollen rain (4% from total annual count) was produced by the *Populus* species. *Betula* pollen was the next having up 2% of annual pollen rain in Dnipropetrovsk. As can be seen, the first arboreal spring-summer pollination wave was not massive in Dnipropetrovsk. It was represented by *Populus*, *Betula*, *Acer*, *Fraxinus*, *Quercus*, *Ulmus*, *Pinus*, *Juglans* pollen spread in the end of March, whole April and the first weeks of May mostly. However, the second wave was intensively seen from the mid of July till the mid of October. Important airborne pollen producing taxa were *Artemisia*, *Ambrosia*, Asteraceae, Chenopodiaceae, *Urtica*, *Plantago*, Polygonaceae pollen at that time. Important airborne pollen allergens of Poaceae family (grasses) held the 7th position in the total annual pollen rain and were recorded between two pollination waves from the mid of May till the end of June mostly. The worst period for the patients was associated with the *Betula*, *Acer* and *Quercus* pollination from 13th of April till the mid of May and with *Ambrosia* and *Artemisia* pollination from 28th of July, till September, 30. The present airborne

*Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна.
Тел.: +38050-549-96-56. E-mail: vikarodi@gmail.com*

*Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University, Pirogov str., 56, Vinnitsa, 21018, Ukraine.
Tel.: +38050-549-96-56. E-mail: vikarodi@gmail.com*

© В.В. Родінкова, 2013

pollen calendar should be considered while diagnosing the hay fever symptoms in sensitive patients. It's important to continue the pollen count and control in Dnipropetrovsk due to constant changing of climatic and anthropogenic conditions impacting the pollen production and release.

Keywords: aerobiology; pollen calendar; hay fever; Dnipropetrovsk

Вступ

Одним із чинників довкілля, що рік за роком справляє все помітніший вплив на здоров'я чутливих до нього верств населення, є пилок алергенних (особливо анемофільних) рослин, який переноситься вітром у великих кількостях і викликає спалахи сезонної алергії у певний період року. Галузь науки, що вивчає розповсюдження пилку та спор грибів у повітрі, визначається як аеробіологія (Kagen et al., 2005). Для контролю за якістю та кількістю перенесеного у повітрі пилку у світі створено ряд систем і моніторингових програм, що об'єднують зусилля науковців цілих континентів (Sofiev and Bergmann, 2013). Наприклад, Європейська аероалергена мережа (European Aeroallergen Network, EAN), метою якої є здійснення пилкового аеромоніторингу, була створена у 1976 році під егідою Медичного університету Відня (Австрія) і наразі включає понад 6000 пунктів спостереження за пилком у всій Європі (Jager et al., 2012). З 2009 року до цієї мережі входить і пункт спостереження Вінницького національного медичного університету (ВНМУ), де аналіз пилкового спектра повітря ведеться з 1999 року.

За час існування мережі у більшості європейських міст встановлено наявність двох хвиль палінації: весняно-літньої, представленої пилком дерев, та літньо-осінньої, представленої пилком трав (Sofiev and Bergmann, 2013). Багатосезонні аеропалінологічні дослідження, проведені європейськими (Myszkowska et al., 2011; Buters et al., 2012; Galan and Dominguez, 2012) та українськими вченими (Prikhodko, 2008; Rodinkova, 2012), також показали з року у рік зростаючу у зв'язку з глобальним потеплінням кількість пилку у повітрі та зміну сезонної динаміки палінації рослин (Deaka et al., 2013). Зокрема, для такого важливого європейського аероалергену як пилок берези (*Betula*) встановлено дворічний цикл пилкування, а також – тенденцію до більш раннього початку палінаційного періоду дерев як у Європі, так і в Україні (Grewling et al., 2012; Rodinkova and Kremenska, 2011). Ці та інші (Melgar et al., 2012; Piotrowska and Kubik-Komar, 2012) отримані дані щодо поступової зміни аеропалінологічного спектра у часі залежно від погодних і кліматичних умов (Kizilpinar et al., 2010) дали змогу говорити про обмежений термін валідності будь-якого календаря пилкування аероалергенів, складеного для певної місцевості (Sofiev and Bergmann, 2013). При цьому доведено регіональність пилкового спектра рослин, викликану як факторами довкілля, так і антропогенними чинниками, що зумовлюють наявність тих чи інших насаджень у межах певного ландшафту, а, отже, формують і видовий склад флори даної місцевості (Bikacsi et al., 2010; Oh et al., 2010; Della Torre et al., 2010; Molina et al., 2013).

Тому для контролю за такими чинниками та для попередження можливих ризиків виникнення спалахів сезонної алергії у багатьох країнах став розвиватись сервіс для пацієнтів щодо прогнозування концентрації пилку в атмосфері, здебільшого – на безкоштовній для пацієнтів основі (Tormo-Molina, 2008; Hilaire et al., 2012;

Piotrowska, 2012; Rapielko and Lipiec, 2012). Важливим також стало питання оцінки алергенності самого пилку та інструментального визначення наявності у ньому факторів, що спричиняють сенсибілізацію, і визначення їх кількості (Fernandes-Gonzalez et al., 2008; Castro et al., 2011; Weger et al., 2011; Buters et al., 2012). Спроби такої оцінки проводяться як за кордоном, так і в Україні (Rodinkova et al., 2012). За показниками захворюваності населення на поліноз Україна посідає одне з чільних місць у Європі. Тому наша країна, що має п'ять клімато-географічних зон із певною відмінністю рослинних алергенів (Puhlik et al., 2012), потребує проведення аеромоніторингу в усіх цих зонах для встановлення регіональних особливостей палінологічного спектра алергенних рослин. На даний час відомі результати багаторічного спостереження за пилком анемофільних рослин у Вінниці, Києві, Запоріжжі та Львові (Rodinkova, 2012). Палінологічний спектр інших українських міст залишається маловивченим або не вивченим взагалі. Не винятком з останньої групи є й Дніпропетровськ, розташований у Центральній частині України, у степовій природній зоні.

Тому мета нашого дослідження – з'ясувати характер розповсюдження алергенного пилку у повітрі Дніпропетровська з установленням часу та інтенсивності палінації рослин і створенням на його основі регіонального календаря пилкування алергенних рослин.

Матеріал і методи досліджень

Робота виконана у лабораторії аероалергенних методів досліджень Вінницького національного медичного університету, на базі сьомої клінічної лікарні м. Дніпропетровськ за підтримки фармацевтичної фірми Merck Sharp and Dohm (MSD) та Імунологічного дослідного інституту Нової Англії IRINE (США) у 2010 році. Проби повітря відбирали стандартним волометричним методом за допомогою пробовідбірника ударного типу «Буркард» (Burkard trap) (Lanzoni, 2009; Kagen et al., 2004).

Прилад розташований на даху міської клінічної лікарні № 7 по вул. Шмідта (рис. 1). Розташування приладу на даху приміщень, не затінених іншими високими будинками поруч, дає змогу зібрати не лише локальні, а й міграційні фракції пилку у даному регіоні (Mozo, 2011).



Рис. 1. Прилад Burkard Sporewatch на даху міської клінічної лікарні № 7 у м. Дніпропетровськ

Дослід проведено 17.03–20.10.2010 р. у цілодобовому режимі. На барабан зі стрічкою «Мелінекс» (Melinex tape), що керувався годинниковим механізмом і робив один оберт у приладі впродовж одного тижня, були відібрані 32 щотижневі зразки повітря. Перед відбором зразків стрічку «Мелінекс» вкривали липкою субстанцією на основі желатин-гліцерину з додаванням фенолу. Після відбору проб барабан зі зразками у герметично закритому металевому боксі разом із протоколом його заміни, де відзначались дата, час, погодні умови впродовж тижня, особливості роботи приладу, надсилали до Вінниці службою кур'єрської доставки. У лабораторії аероалергенних методів дослідження ВНМУ стрічку, зняту з барабана, поділяли на 7 рівних фрагментів, що відповідали одній добі спостереження. Із кожного фрагмента виготовляли один мікроскопічний зразок, який фіксували на предметному склі желатином і фарбували основним фуксином. Використання основного фуксину – індикатора та спеціальної фарби для рослинної сировини, що вибірково забарвлює біологічний матеріал, полегшує ототожнення пилоквих зерен (п. з.) та їх підрахунок.

Дослідження вмісту та концентрації пилку у зразках атмосферного повітря проведене на системі цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) із використанням мікроскопа Axioscop (Zeiss, Німеччина), обладнаного високочутливою мікрофотографічною камерою СОНУ-7922. Для аналізу та підрахунку п. з., в основному, використано збільшення $400\times$. У такий спосіб отримано та проаналізовано 224 зразки. Упродовж сезону палінації ідентифіковано п. з. 51 морфологічного типу, що належали відповідній кількості рослин різних родин, родів та видів. Це дослідження стало першим відомим аеропалінологічним спостереженням, проведеним у Дніпропетровську.

У зв'язку з тим, що підрахунок п. з. на поверхні всього скла забирає багато часу, для того, щоб швидко отримувати актуальну інформацію, зазвичай аналізується тільки певний відсоток площі зразка (Galán et al., 2007). Область, обрана для ідентифікації, становила як мінімум 10% площі всього скельця, згідно з вимогами робочої групи Європейського аеробіологічного товариства (EAS), яка розробляє вимоги до контролю якості проведення аеробіологічних досліджень (Sofiev and Bergmann, 2013). Ідентифікацію п. з. проводили методом трьох горизонтальних трансект (Galán et al., 2007) за визначником аероалергенів, виданим представниками Національного алергологічного бюро Американської академії алергії, астми та імунології (National Allergy Bureau of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology (AAAAI)) (Kagen et al., 2004), а також за програмою Pollen Identification Key (Sulmont, 2008) Французької національної мережі аеробіологічного моніторингу (RNSA), де зазначається також рівень алергенності пилку. В окремих випадках використано атласи пилку та спор Європейської частини ЄСРП (Kuprijanova and Aleshina, 1972; Kuprijanova and Aleshina, 1978). Пилок ідентифікували до таксономічної категорії виду (в окремих випадках), роду (найчастіше) або родини залежно від морфології окремого п. з. (Kagen et al., 2004; Sulmont, 2008). При обробці даних щодо характеру пилювання визначених палінологічних груп рослин використано програмний пакет Statistica 5.5 та потужності Європейської аероалергенної мережі (EAN), побудовані на базі

програмного пакета SPSS. Крім того, для розробки веб-ресурсу використано системи, які перебувають у вільному доступі, як, наприклад, Tapestry – для веб-інтерфейсу, Spring Framework – для з'єднання окремих частин ресурсу в єдине ціле, PostgreSQL – для підтримання баз даних, Apache POI – для читання та збереження файлів електронних таблиць, JFreeChart – для створення графіки та Apache Tomcat – як вмістилище веб-додатків (European Pollen Information, 2012).

Тривалість палінаційного періоду рослин кожного роду та родини визначали вирахуванням відсотка від загальної кількості зібраних за сезон п. з. певної палінологічної категорії. За нормами, прийнятими у EAN (European Pollen Information, 2012), сезон пилювання рослини починається того дня, коли кількість її пилку у повітрі становить 1% загальної суми зібраних упродовж року п. з. Закінченням сезону вважається день, коли кількість зібраного за сезон пилку досягає 95%. Піком пилювання вважається найвище значення концентрації п. з. у кубометрі повітря, зафіксоване для описуваної палінологічної категорії упродовж сезону. Згідно з правилами EAN, визначається лише один пік пилювання для кожної аеропалінологічної категорії упродовж сезону. Він відповідає найвищій зареєстрованій концентрації п. з. даного таксона у повітрі. Пороговим значенням концентрації п. з., що, як припускається, може бути клінічно значущою для пацієнтів, була обрана концентрація у 15 п. з./м^3 для представників трав'янистих рослин, крім полину, де помірно вважається концентрація, вища за 25 п. з./м^3 у зв'язку з відносно невисокою алергенністю пилку представників названого роду. Така ж порогова концентрація (25 п. з./м^3) вважається клінічно значущою для представників деревних рослин, крім тополі, пилок якої розглядається як малоалергенний. Тому межею помірної концентрації п. з. тополі є така, що перевищує 50 п. з./м^3 . Цей поріг концентрації залежить від групи алергенності, до якої належить рослина (Frenz, 1995; Sulmont, 2008). Деревні рослини, як правило, характеризуються у рази масивнішою палінацією, ніж трав'янисті. Тому концентрації п. з., які для них є клінічно значущими, також є підвищеними порівняно з концентраціями, які беруться до уваги при аналізі можливості виникнення полінозу до пилку трав'янистих рослин.

Результати та їх обговорення

Аналіз особливостей пилового спектра Дніпропетровська показав, що у повітрі цього міста переважав пилок трав (табл. 1). Співвідношення внеску арбореальної та трав'янистої палінофлори в інтенсивність пилового дощу складало 88 : 12 на користь трав.

Загальна кількість п. з. усіх пилокотворювачів, зібраних упродовж сезону пилювання, склала 24724. 59% палінологічного спектра Дніпропетровська (табл. 1) припадає на пилок амброзії (*Ambrosia*). Упродовж сезону ідентифікували 14532 п. з. цієї рослини. На другому місці із часткою 6% – рослини групи *Amaranthus spp.* / Chenopodiaceae («рід щириця / родина лободові»), які об'єднуються в одну аеропалінологічну категорію через морфологічну нерозрізненість п. з. (1462 п. з. зібрані упродовж сезону). Так само 6% пилового спектра Дніпропетровська становила частка п. з. кропиви дводо-

мної (*Urtica dioica*). Упродовж сезону ідентифіковано 1377 п. з. цієї рослини. На відсоток менше (5% від загальної масивності пилкування або 1319 п. з.) становила частка пилку полину (*Artemisia* spp.). Решта рослин родини айстрових (*Asteraceae*) також внесли 5% до загальної маси пилкового дощу у Дніпропетровську (1195 п. з.).

Наймасивнішу палінацію серед дерев (1319 п. з., але тільки 4% загальної кількості зерен, зібраних у Дніпропетровську за сезон), мала тополя (*Populus* spp.) – найінтенсивніший серед усіх деревних пилкопродуцентів. Другим наймасовішим за пилкопродукцією представником деревної флори у Дніпропетровську (2% та 483 п. з., зібрані за сезон) була береза (*Betula* spp.). Проте вона посідала лише дев'яту позицію за інтенсивністю формування пилкового дощу у місті. На сьомій позиції, відділяючи березу від лідера палінації тополі, були злакові (*Poaceae*) – 3% і 652 п. з., зібрані упродовж сезону

2010 року. На восьмій сходинці розмістились представники родини конопляні (*Cannabaceae*) – конопля рудеральна (*Cannabis ruderalis*) та хміль (*Humulus lupulus*) – із часткою у 2% та 518 п. з. за рік (див. табл. 1). Нетипово високе десяте місце в аеропалінологічному спектрі Дніпропетровська посіла шовковиця (*Morus* spp.). Її частка становила 2% або 407 п. з., зібраних за сезон. Приблизно однакову із шовковицею кількість зібраних за сезон п. з. (385) і частку (2%) мав подорожник. Решта таксонів, що потрапили до двадцятки рослин із наймасовішим пилкуванням, отримали в аеропалінологічному спектрі лише 1%, або менше від загальної кількості зібраних за сезон п. з. Це (у порядку зменшення внеску в інтенсивність пилкового дощу над Дніпропетровськом) рослини родини гречкових (*Polygonaceae*), клен (*Acer* spp.), ясен (*Fraxinus* spp.), дуб (*Quercus* spp.), сосна (*Pinus* spp.), в'яз (*Ulmus* spp.), волоський горіх (*Juglans regia*), вільха (*Alnus* spp.) та граб (*Carpinus* sp.).

Таблиця 1

Характер пилкування найактивніших представників аероалергенної флори м. Дніпропетровськ (2010 р.)

№	Аеробіологічна категорія	Сума визначених за сезон п. з.	$M \pm \sigma$	% від загальної кількості п. з. за рік	Дата початку сезону	Дата настання піка	Пікова концентрація, п. з./м ³	Дата закінчення сезону	Кількість днів із п. з. у повітрі
1	Амброзія (<i>Ambrosia</i> sp.)	14532,0	59,3 ± 176,7	59	12.08	02.09	1491,0	25.09	102
2	Щириця / Лободові (<i>Amaranthus</i> spp. / <i>Chenopodiaceae</i>)	1462,0	6,0 ± 13,4	6	29.07	24.08	104,0	25.09	115
3	Кропива дводомна (<i>Urtica dioica</i>)	1377,0	5,6 ± 11,9	6	16.06	17.06	84,0	31.08	127
4	Полин (<i>Artemisia</i> spp.)	1319,0	5,4 ± 12,2	5	22.07	01.08	80,0	04.10	99
5	Айстрові (<i>Asteraceae</i>)	1195,0	4,9 ± 16,7	5	13.08	01.09	143,0	26.09	112
6	Тополя (<i>Populus alba</i>)	983,0	4,1 ± 28,5	4	08.04	13/04	402,0	20.04	39
7	Тонконогові (<i>Poaceae</i>)	652,0	2,7 ± 6,1	3	14.05	21.06	45,0	26.09	137
8	Конопляні (<i>Cannabaceae</i>)	518,0	2,1 ± 7,8	2	29.07	13.08	73,0	31.08	67
9	Береза (<i>Betula</i> spp.)	483,0	2,0 ± 6,6	2	18.03	20.04	60,0	12.05	48
10	Шовковиця (<i>Morus</i> spp.)	407,0	1,7 ± 8,5	2	03.05	10.05	74,0	19.05	25
11	Подорожник (<i>Plantago</i> spp.)	385,0	1,3 ± 4,2	2	03.06	17.08	34,0	25.08	93
12	Гречкові (<i>Polygonaceae</i>)	248,0	1,0 ± 2,0	1	03.05	18.06	13,0	12.09	99
13	Клен (<i>Acer</i> spp.)	213,0	0,9 ± 4,3	1	08.04	20.04	44,0	27.04	26
14	Ясен (<i>Fraxinus</i> spp.)	207,0	0,8 ± 3,0	1	14.04	20.04	26,0	05.05	31
15	Дуб (<i>Quercus</i> spp.)	199,0	0,7 ± 3,8	1	28.04	03.05	43,0	12.05	25
16	Сосна (<i>Pinus</i> spp.)	167,0	0,6 ± 2,5	1	09.05	28.05	28,0	01.08	52
17	В'яз (<i>Ulmus</i> spp.)	135,0	0,6 ± 2,6	1	01.04	13.04	24,0	19.04	25
18	Волоський горіх (<i>Juglans regia</i>)	121,0	0,5 ± 2,6	<1	03.05	11.05	22,0	12.05	13
19	Вільха (<i>Alnus</i> spp.)	76,0	0,3 ± 1,0	<1	17.03	13.04	7,0	21.04	30
20	Граб (<i>Carpinus</i> sp.)	45,0	0,2 ± 0,6	<1	17.03	25.03	5,0	08.05	30

Перша, весняна хвиля пилкування, що зазвичай спостерігається в інших містах України та представлена деревами, у Дніпропетровську була мало вираженою (див. табл. 1). Основним весняним пилкопродуцентом у місті була тополя, пік палінації якої досяг високого значення (402 п. з./м³) 13 квітня, але пилок цієї рослини, як уже зазначалось і як установили наші дослідження (Rodinkova et al., 2012), не є алергенним. Концентрації пилку інших представників арбореальної палінофлори жодного разу не перетнули межу у 100 п. з./м³. Наступний після тополі пік (74 п. з./м³) мала шовковиця. Він спостерігався 10 травня. За даними літератури (Sulmont, 2008), алергенність пилку шовковиці є нульовою за п'ятибальною шкалою.

Сезонний максимум пилкування берези з помірною, проте клінічно значущою концентрацією (60 п. з./м³)

спостерігався 20 квітня. П. з. берези мають алергенність «5» за п'ятибальною шкалою.

Наступним за висотою сезонного піка був клен, максимум якого зафіксований в один день із піком берези (44 п. з./м³). Але алергенність пилку цієї рослини становить 0–1 бал. На одиницю менший (43 п. з./м³) пік пилкування дуба. Його максимум зафіксований 3 травня. Алергенність п. з. дуба – 3 з 5 балів (Sulmont et al., 2008). Решта дерев мали піки з низькими концентраціями. Це *Fraxinus* (рослина, що має малоалергенний пилок, із піком у 26 п. з./м³, зафіксованим 20 квітня) та *Pinus* (із піком у 26 п. з./м³ неалергенного пилку, зареєстрованим 28 травня). Пік малоалергенного пилку в'яза (24 п. з./м³) припав на 13 квітня. У той самий день спостерігались піки вільхи з низькою концентрацією (7 п. з./м³) та ліщини звичайної (10 п. з./м³). Ще нижчий сезонний максимум граба (5 п. з./м³) спостерігався 25 березня.

У зв'язку з малою інтенсивністю пилкування дерев у Дніпропетровську клінічно значущими можуть бути лише дні з максимально високими зареєстрованими концентраціями п. з. дерев у атмосфері міста. Це період з 20 квітня по 3 травня (коли зафіксовано максимум для берези та клена) до максимуму пилкування дуба (третя декада квітня та перша декада травня).

Неінтенсивне весняне пилкування деревних рослин збіглося з малоінтенсивною палінацією злакових трав із родини тонконогових (Poaceae). Сезон активності злаків (див. табл. 1, 2) почався 14 травня, а закінчився 29 вересня (тривав 135 діб). Це був найдовший період пилкування, притаманний рослинам Дніпропетровська в описуваному сезоні. П. з. Poaceae ідентифіковано в атмосфері міста 137 діб, тобто сезон був дуже щільним, майже без інтервалів. Пік палінації злаків із помірною концентрацією 45 п. з./м³ зафіксовано 21 червня. Раніше за злакові трави (3 травня) розпочали сезон рослини родини гречкових – 131 доба, до 12 вересня. Проте внесок до інтенсивності пилкового дощу над Дніпропетровськом гречкових малий (див. табл. 1). У свій сезон п. з. гречкових ідентифіковано у повітрі з численними інтервалами упродовж 99 діб, а пік мав низьку концентрацію (13 п. з./м³).

Друга хвиля пилкування (літньо-осіння, представлена п. з. трав'янистих рослин) почалась у Дніпропетровську 16 червня з пилкування кропиви (тривало до 31 серпня – 76 діб). Пилок кропиви ідентифіковано у повітрі міста упродовж 127 діб. Максимум палінації кропиви спостерігався на добу пізніше за початок статистично вирахованого сезону палінації (17 червня). Наступним у літньо-осінню хвилю (22 липня) пилкування почав полин. Його максимум із високою концентрацією (80 п. з./м³) спостерігався 1 серпня (див. табл. 1), а закінчився 4 жовтня. Через тиждень після полину (29 липня) почався сезон реєстрації п. з. групи «рід щириця / родина лободові» (*Amaranthus spp.* / Chenopodiaceae). Річний максимум цієї групи, палінація якої у місті була другою за масивністю після амброзії, спостерігався 24 серпня.

Він мав високу концентрацію (104 п. з./м³). Закінчився сезон 25 вересня (див. табл. 1) і тривав 58 діб. Сезон був нещільним: п. з. шириці та лободових реєструвались у повітрі Дніпропетровська упродовж 115 діб. В один день із полином (29 липня) зафіксовано початок пилкування рослин родини конопліні. Їх палінація була доволі інтенсивною, адже у загальній структурі активності аероалергенів конопліні посіли восьме місце. Проте, за даними Sulmont (2008), пилок представників родини не є алергенним. Високим (73 п. з./м³) був і пік, що спостерігався 13 серпня. Усього п. з. родини спостерігалися у повітрі Дніпропетровська з інтервалами упродовж 67 діб, а статистично визначений сезон тривав 33 доби. Ще одним аероалергеном, який у місті на Дніпрі посідав незвично для нього високу, п'яту сходинку у загальній структурі основних пилкопродуктивів, були представники родини айстрових (Asteraceae), за винятком п. з. амброзії та полину. Сезон активності цих трав, що мають помірну алергенність (3 бали за п'ятибальною шкалою) (Buters et al., 2012), почався 13 серпня та тривав до 26 вересня (44 доби). Пікова концентрація п. з. цього аероалергену з високим показником (143 п. з./м³) спостерігалась 1 вересня. У цілому п. з. айстрових реєструвались у повітрі Дніпропетровська упродовж 112 діб.

Незважаючи на присутність у повітрі п. з. інших пилкопродуктивів, з 12 серпня до 29 вересня основною складовою повітряного контенту та головним алергеном для жителів Дніпропетровська стала амброзія. Її пилкування було найінтенсивнішим серед усіх представників аеропалінофлори цього пункту спостереження. Воно тривало з 20-х чисел липня до кінця часу спостереження у жовтні (див. табл. 1), хоча сезон, разом із клінічно значущими концентраціями, почався 12 серпня і тривав до 25 вересня (див. табл. 2). Сезонний максимум із надвисокою та найбільшою для українських міст концентрацією пилку амброзії (1491 п. з./м³) спостерігався 2 вересня. Статистично визначений сезон пилкування становив 44 доби, а всього п. з. амброзії реєстрували у повітрі міста упродовж 102 діб.

Таблиця 2

Календар пилкування основних представників алергенної аеропалінофлори м. Дніпропетровськ (2010 р.)

№	Назва	Березень		Квітень			Травень			Червень			Липень			Серпень			Вересень		Жовтень	
		II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II		
1	Клен	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	В'яз	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	Береза	-	-	-	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Дуб	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Кропива	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	+	+	-	-	-	-	-
6	Айстрові (без <i>Ambrosia</i> та <i>Artemisia</i>)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	++	+	-	-	-
7	Злакові трави	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+++	++	+++	+	-	++	+	-	-	-	-
8	Полін	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+	++	+	++	+	+	-
9	Амброзія	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
10	Лобода	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	++	++	-	-	-

Примітка: «-» – слабка палінація, «+» – понижена активність, «++» – помірна активність, «+++» – висока активність, «++++» – найвища активність (піковий період).

За наведеними результатами аеропалінологічного моніторингу складено сучасний календар пилкування аероалергенних рослин м. Дніпропетровськ (див. табл. 2). У ньому представлено 10 аеропалінологічних категорій рослин, п. з. яких найчастіше реєструються в атмосфері

Дніпропетровська та мають виражену алергенність, доведена клінічно для української популяції (Rodinkova and Kremenska, 2011). Узагальнюючи результати дослідження, бачимо, що найгіршими для пацієнтів є II та III декади квітня, асоційовані з пилкуванням берези, та

I декада травня, коли інтенсивно пилює дуб. Улітку клінічно важливими для пацієнтів, чутливих до пилюк злаків, є III декада червня, I та II декади липня. Пацієнти, чутливі до п. з. полину та амброзії (пилюк цих рослин відомий здатністю викликати перехресні реакції (Sofiev and Bergmann, 2013)), потерпають від полінозу, викликаного здебільшого п. з. *Artemisia spp.* з III декади липня, а з II декади серпня й до кінця вересня превалюючим алергичним чинником атмосфери Дніпропетровська можуть бути п. з. амброзії. У цей же період, як зазначено вище, сезонну алергію можуть зумовлювати також п. з. інших представників родини айстрових. Наведений календар пилювання алергичних рослин рекомендується до уваги лікарів-алергологів та їх пацієнтів як основа коректної діагностики та профілактики сезонної алергії у певний період року. За його допомогою можна не лише корегувати діагностику та лікування алергологічних станів поза сезоном активності рослин, а й попереджувати настання алергійної симптоматики у сенсibilізованих осіб перед цвітінням того чи іншого продуцента алергійного пилюку.

Висновки

Таким чином, у Дніпропетровську не спостерігаються класичні весняна та літньо-осіння хвилі пилювання, виражені в інших містах України. У місті добре виражена літньо-осіння хвиля з превалюючим інтенсивним пилюванням амброзії з надвисокими піками та загальною масивністю, що перевищує 60% загальної кількості пилюку, зібраного у місті упродовж сезону.

Найгіршими для пацієнтів є II та III декади квітня, асоційовані з пилюванням берези, та I декада травня, коли інтенсивно пилює дуб. Улітку клінічно важливими для пацієнтів, чутливих до пилюк злаків, є III декада червня, I та II декади липня. Пацієнти, чутливі до п. з. полину та амброзії, потерпають від полінозу, викликаного здебільшого п. з. *Artemisia*, у III декаду липня та I декаду серпня, а з початком серпня й до кінця вересня превалюючим алергичним чинником атмосфери Дніпропетровська є пилюк амброзії: у цей період концентрації її п. з. перевищують поріг у 15 п. з./м³.

Найінтенсивнішу палінацію у Дніпропетровську, крім амброзії, мають рід щиряця / родина лободові, кропива дводомна, полин і рослини родини айстрових.

Наведений календар пилювання алергичних рослин рекомендовано до уваги лікарів-алергологів та їх пацієнтів для діагностики та профілактики сезонної алергії. Календар, через поступову зміну факторів довкілля, що впливають на розповсюдження природних алергенів, потребує подальшого оновлення.

Бібліографічні посилання

Bicakci, A., Altunogu, M., Aybeke, M., Sapan, N., Erkan, P., 2010. The concentration of atmospheric pollen of *Edrine*, Turkey. *Allergy* 65 (Suppl. 92), 422–423.

Buters, J., Galán, C., Thibaudon, M., Smith, M., 2012. Hialine project: Allergen release from pollen across Europe. *Alergologia Immunologia* 9(2–3), 147.

Castro, L., Barber, D., Lombardero, M., 2011. Isoallergen profile recognition by the mAb used an ELISA for Bet v 1 quantitation. *Allergy* 66(Suppl. 94), 331–332.

Deaka, A., Makrab, L., Matyasovszkyc, I., Csepeb, Z., Muladia, B., 2013. Climate sensitivity of allergenic taxa in Central Europe associated with new climate change related forces. *Science of The Total Environment* 442(1), 36–47.

Della Torre, E., Limonta, A., Della Torre, F., 2010. Which ornamental plants would be better? *Allergy* 65(Suppl. 92), 423–424.

EAN. European Pollen Information, 2012. Retrieved from URL: <https://ean.polleninfo.eu/Ean/en/home>.

Fernández-González, D., Rodrigues-Rajo, F., González-Parrado, Z., Arias, S., Valencia-Barrera, R., Moreno-Grau, S., Asturias, J., Suárez-Cervera, M., 2008. Relationship between Poaceae pollen counts and the quantification of the Lol p 1 allergen atmospheric content. *Allergy* 63(Suppl. 88), 548–549.

Frenz, D.A., 1995. Making sense of the numbers: What to do with a pollen count once you have one. *A The Pollen Monitor: Newsletter of multidata, Inc* 1(11), 3.

Galán, C.S., Cariñanos, P.G., Purificación, A.T., Domínguez, E.V., 2007. Spanish Aerobiology Network (REA): Management and quality manual. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Galán, C., Domingues, V.E., 2012. Effect of climate change on plant distribution and phenology in the Iberian Peninsula. *Alergologia Immunologia* 9(2–3), 101–103.

Grewling, L., Jackowiak, B., Nowak, M., Uruska, A., Smith, M., 2012. Variations and trends of birch pollen seasons during 15 years (1996–2010) in relation to weather conditions in Poznań (western Poland). *Grana* 51(4), 280–292.

Hilaire, D., Rotach, M., Clot, B., 2012. Building models for daily pollen concentrations. *Aerobiologia* 28(4), 499–513.

Jager, S., Berger, U., Smith, M., 2012. European Network, new challenges. *Alergologia Immunologia* 9(2–3), 69–71.

Kagen, S., Lewis, H., Walter, L.E., 2004. Aeroallergen Photo Library of North America Transcribed, DePass Media Productions, Appleton, Wisconsin.

Kizilpinar, I., Dogan, C., Artac, H., Gokturk, B., Keles, S., Reisli, I., 2010. The effects of meteorological parameters on the pollen amounts of Poaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae / Amaranthaceae, *Rumex* and *Plantago* taxa determined in Konya city atmosphere in 2009. *Allergy* 65(Suppl. 92), 429–430.

Kuprijanova, L.A., Aleshina, L.A., 1972. Pyl'ca i spory rastenij flory Evropejskoj chasti SSSR. Tom 1 (Pollen and spores of plants Flora of the European part of the USSR. Vol. 1). Moscow, Nauka (in Russian).

Kuprijanova, L.A., Aleshina, L.A., 1978. Pyl'ca dvudol'nyh rastenij flory Evropejskoj chasti SSSR. 2. (Pollen of Dicot plants Flora of the European part of the USSR. 2). Leningrad, Nauka (in Russian).

Lanzoni, C., 2009. Since 1932. Practical Materials of the 9th European Course on Basic Aerobiology, 2–9th September 2009, Evora, Portugal, p. 6.

Melgar, M., Trigo, M., Recio, M., Docampo, S., García-Sánchez, J., Cabezudo, B., 2012. Atmospheric pollen dynamics in Münster, north-western Germany: A three-year study (2004–2006). *Aerobiologia* 28(4), 423–434.

Molina, R., Manzano, J., Rodríguez, S., Garijo, A., Palacios, I., 2013. Influence of environmental factors on measurements with Hirst spore traps. *Grana*, Jan, DOI:10.1080/00173134.2012.718359

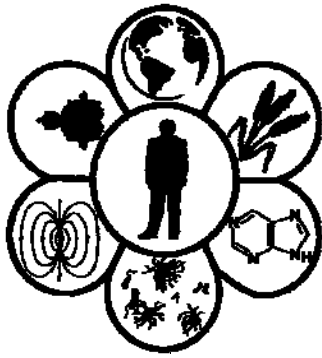
Mozo, H.G. (ed.), 2011. Minimum requirements to manage aerobiological monitoring stations included in a national network involved in the EAN. *International Aerobiology Newsletter* 71, 1–2.

Myszkowska, D., Jenner, B., Stępańska, D., Czarnobilska, E., 2011. The pollen season dynamics and the relationship among some season parameters (start, end, annual total, season phases) in Kraków, Poland, 1991–2008. *Aeribiologia* 27(3), 229–238.

Oh, J., Lee, H., Kang, I., Cheong, J., Kim, S., Park, K., Kook, M., Kim, B., 2010. The development of pollen calendar and

- map of Korea Allergy 65(Suppl. 92), 423.
- Piotrowska, K., 2012. Forecasting the Poaceae pollen season in eastern Poland. *Grana* 51(4), 263–269.
- Piotrowska, K., Kubik-Komar, A., 2012. The effect of meteorological factors on airborne *Betula* pollen concentrations in Lublin (Poland). *Aerobiologia* 28, 467–479.
- Prikhodko, O., 2012. Aeropalynological situation in regional centers of Zaporizhska oblast during ragweed pollen season [Aeropalinologichna sytuacija po rajcentrah Zaporiz'koi' oblasti v period cvitinnja ambrozii']. *Visn. Zaporizhzhya Nac. Univ.* 2, 169–171 (in Ukrainian).
- Puhlik, B.M., Ditjatks'ka, Y.M., Goguns'ka, I.V., Holodenko, T.J., 2012. Issues of prevalence and cost-effectiveness of treatment of allergic respiratory diseases in Ukraine [Pitannja poshirenosti ta ekonomichnoï efektyvnosti likuvannja alergijnih zahvorjuvan' organiv dihannja v Ukraïni]. *Klinichna Immunologija, Alergologija, Infektologija (Clinical Immunology, Allergology, Infectology)* 2, 5–7 (in Ukrainian).
- Rapiejko, P., Lipiec, A., 2012. Pollen information systems for patients. *Alergologia Immunologia* 9(2–3), 123–124.
- Rodinkova, V.V., Kremenska, L.V., 2011. The patterns of trees pollination in Vinnitsa: Trends of 1999–2000 and 2009–2010, as markers of climate change impacting public health [Harakter pilkuvannja derev u Vinnici: tendencii 1999–2000 ta 2009–2010 rokiv jak markeri klimatichnih zmin, shho majut' vpliv na zdorov'ja naselelnja]. *Biomedical and Biosocial Anthropology* 16, 59–64 (in Ukrainian).
- Rodinkova, V., 2012. Pollen calendar of major allergens of Vinnitsa city: What you need to know to protect yourself from hay fever [Kalendar pilkuvannja osnovnih alergeniv u Vinnici: Shho treba znati, shhob sebe vid polinozu zahishhati]. *Novyny Medycyny ta Farmacii' (News of Medicine and Pharmacy)* 15(425), 18–20 (in Ukrainian).
- Rodinkova, V., Stremedlovsky, B., Kremenska, L., Palamarchuk, O., Bilous, O., DuBuske, L., Helman, E., 2012. Correlation between the airborne pollen counts and symptoms of allergic patients in Vinnitsa, Ukraine. *Allergy* 67 (Suppl. 96), 243.
- Sofiev, M., Bergmann, K-C. (eds.), 2013. *Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts*. Springer Science + Business Media Dordrecht.
- Sulmont, G., 2008. The pollen content of the air identification key [Electronic Resource]: Reseau National de Surveillance Aerobiologique. 1 CD-ROM. Production: Julie Collet. Studio Bouquet. Saint Etienne (France).
- Tormo-Molina, R., Gonzalo-Garijo, M., Silva-Palacios, I., Moreno-Corchero, A., Muñoz-Rodríguez, A., 2008. Information about airborne pollen concentrations and pollen forecast using SMS (Short Messaging Service). *Allergy* 63(Suppl. 88), 548.
- Weger, de L.A., Beerthuisen, T., Gast-Strookman, J.M., Dirk, T., Van der Plas, Terreehorst, I., Hiemstra, P., Sont, J., 2011. Difference in symptom severity between early and late grass pollen season in patients with seasonal allergic rhinitis. *Clinical and Translational Allergy* 1, 18.

Надійшла до редколегії 21.02.2013



УДК 616.31

Антагоністична активність пробіотиків із бацил до ізолятів бактерій ротової порожнини пацієнтів із пародонтитом

О.Ю. Рівіс, М.В. Кривцова, В.І. Ніколайчук

Ужгородський національний університет, Ужгород, Україна

Значна поширеність запальних захворювань тканин пародонта свідчить про необхідність проведення профілактичних і лікувальних заходів. Наші попередні дослідження показали високу резистентність штамів, виділених із ротової порожнини пацієнтів із пародонтитом, до антибіотиків, що свідчить про необхідність пошуку альтернативних методів лікування цього захворювання. Останніми роками велика увага приділяється вивченню можливості використання пробіотиків із метою корекції мікрофлори ротової порожнини. У статті описано сучасні дані про потенційні переваги та основні властивості спорових пробіотиків роду *Bacillus*, що показують перспективність і актуальність їх використання у стоматологічній практиці. Наведено результати досліджень *in vitro* антагоністичних властивостей бацилярних біопрепаратів («Біоспорин», «Субалін», «Нормофлора», «Ентерожерміна») на клінічні штами мікроорганізмів, виділених із ротової порожнини пацієнтів із запальними захворюваннями тканин пародонта. Найбільшою антагоністичною активністю володіє препарат «Біоспорин». Це може бути пов'язано з наявністю двох пробіотичних штамів у його складі. Тому актуальним залишається проведення подальших досліджень із метою корекції мікробіоценозу ротової порожнини пацієнтів із пародонтитом за допомогою пробіотиків.

Ключові слова: мікрофлора; пародонти; пробіотики роду *Bacillus*; мікробний антагонізм

Antagonistic activity of *Bacillus* probiotics against bacteria isolates of oral cavity of patients with periodontitis

O. Rivis, M. Kryvtsova, V. Nikolajchuk

Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

It is admitted that the normal human microflora plays an important role in supporting homeostasis, forming immune mechanisms and metabolism. Nowadays, there is a constant growth of different diseases due to microbiological imbalance in a human organism. Preparations containing "good bacteria" have been used for therapeutic purposes since ancient times. The mechanism of probiotics influence comprises their ability to compete for adhesion sites with the pathogens, to exhibit antagonistic activity and stimulate the immune system of a host. Most of probiotics commonly used are the spores of *Bacillus*. Initially the main focus of their use was the prevention of gastrointestinal disorders. So, the use of probiotics in dental practice is a poorly studied area. In recent years, probiotics have been investigated to provide the oral health. Therefore the study of using probiotics for correction of the oral microflora in people with inflammatory diseases of the periodontal tissues is promising. Our previous studies have shown changes in microbial community of an oral cavity in patients with periodontitis. In particular, the reducing number of obligate microorganisms and increasing number of pathogens was demonstrated. The paper describes the current data on the potential benefits and basic properties of the *Bacillus* spore probiotics, which demonstrate the viability and relevance in dental practice. The study tested antagonistic activity of commercial *Bacillus* probiotics "Biosporin" ("Biopharma", Ukraine), "Subalinum" ("Biopharma", Ukraine), "Normaflore" ("Sanofi-Aventis Zrt.", Hungary) and "Enterogermina" ("Sanofi-Synthelabo SpA", Italy) against clinical strains of microorganisms isolated from the oral cavity of patients with periodontitis. Thus, further studies on the role of spore probiotics in correction of the oral cavity microflora as a part of complex treatment of periodontitis should be carried out.

Keywords: microflora; periodontitis; *Bacillus* probiotics; microbial antagonism

*Ужгородський національний університет, вул. А. Волошина, 32, Ужгород, 88000, Україна.
Тел.: +38031-223-20-15. E-mail: bio@univ.uzhgorod.ua*

*Uzhgorod National University, A. Voloshin str., 32, Uzhgorod, 88000, Ukraine.
Tel.: +38031-223-20-15. E-mail: bio@univ.uzhgorod.ua*

© О.Ю. Рівіс, М.В. Кривцова, В.І. Ніколайчук, 2013

Introduction

All local microbe ecosystems by close interaction between themselves and the organism of a human create the unified symbiotic system which sustainable function due to the complicated and diversified mechanisms of regulation (Simonova and Ponomareva, 2008). However, the dynamic balance between the normal and pathogenic microflora in the oral cavity may change under influence of local and / or general factors what may cause some diseases. One of the most common diseases affected the oral cavity are caries and inflammation of periodontal tissue.

Application of the antiseptics and antibacterial drugs for treatment of periodontitis quite often results in the complication of the microbial imbalance of oral cavity. Another point of concern is resistance of microorganism to the antibiotics. Our recent studies demonstrated the high resistance of strains isolated from the periodontal pocket of the individuals affected by periodontitis to antibiotics what testifies to the fact that it is necessary to develop alternative methods for correction of microflora in the oral cavity of the human suffering this disease (Rivis, 2012). Gasula and Cutting (2002) by genetic-engineering chimeric gene *fts H-lacZ* which is expressed only in the vegetative cells established that the spore *B. subtilis* is able to sprout in the stomach of a mice and proved its ability to have probiotic effect.

Employment of the bacillary probiotics for the correction of the microbial community is considered very instrumental for the following reasons: antagonistic effect on the pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms caused by dipicolinic acid of spores and the antibiotics, bacteriocins and ferments which are synthesized by vegetative forms; stimulation of immunocompetent cells, activation of production of interferons (Hong et al., 2004; Skrypnik and Maslova, 2009).

The recent investigations have already proved the efficiency of application in dentistry of probiotic strains of *Lactobacillus* for the correction of the microflora of the oral cavity (Marsh, 2000; Reddy et al., 2011). In particular, Krasse et al. by application of *L. reuteri* in the oral cavity noted reduction of bleeding in the gums of the patients suffering gingivitis and inhibition of its further development (Vaseva, 2010; Narang et al., 2011; Agarwal et al., 2011). Koll-Klais and others discovered that the resident lactobacilli flora is able to inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* correspondingly by 82 and 65% (Narang et al., 2011; Agarwal et al., 2011; Mohanty et al., 2012). Probiotic strains included into the periodontal bandage in the optimal concentration 10^8 CFU/ml are able to oppress the amount of periodontal pathogenes such as *Bacteroides sp.*, *Actynomices sp.*, *S. intermedius* and *C. albicans* (Agarwal et al., 2011; Narang et al., 2011; Mohanty et al., 2012). The above authors established that the period of remission following the treatment of periodontitis by application of bandages contained *L. casei* lasts 10–12 months. It was observed that the patients who consumed the chewing gum containing probiotics had improved their periodontal status (Mohanty et al., 2012). Elahi et al., testing the character of colonization of *L. acidophilus* and *L. fermentum*, showed rapid decrease of *C. albicans* in the oral cavity of a mouse after taking of probiotic strains (Narang et al., 2011).

The application of *Bacillus* probiotics is considered very prospective in the dentistry. In particular, the alternative method was tested *in vitro* for the prevention of purulent complications occurred after extraction of a tooth by application of *Bacillus* based biopreparations (Rusyn et al., 2012). So far, it is very important to proceed the investigations focused on correction of the microflora of the oral cavity of the people who suffer periodontitis by application of *Bacillus* probiotics.

The purpose of the article is to demonstrate the antagonistic effect of the probiotic products of the genus *Bacillus* (“Biosporin”, “Subalinum”, “Normoflore”, “Enterogermina”) as to the clinical strains of the microorganisms isolated from the oral cavity of the people suffering of inflammation of periodontal tissue.

Materials and methods

The subject of investigation are probiotic preparations produced of the microorganisms of the genus *Bacillus*, namely “Biosporin”, “Subalinum”, “Normaflore”, “Enterogermina”. “Subalinum” dry (producer “Biopharma”, Ukraine) is the microbic mass of live antagonistic active culture *Bacillus subtilis* B-5020, freeze dried by adding sucrose-gelatin medium. “Biosporin” (producer “Biopharma”, Ukraine) contains the dry strains of *Bacillus*: *B. subtilis* B-5007 and *B. licheniformis* B-5514. “Enterogermina” (producer “Sanofi-Synthelabo S.p.A.”, Italy) is the suspension for per oral application which contains spores of polyresistant strains *Bacillus clausii*. “Normaflore” (producer “Sanofi-aventis Zrt.”, Hungary) is the suspension for per oral application which contains spores of polyresistant strains *Bacillus clausii*.

The subject of investigation are the cultures of clinical strains of microorganisms isolated from the periodontal pocket of the people with periodontitis, namely *Neisseria sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Enterobacter aerogenes* № 1, *Enterobacter aerogenes* № 2, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans*. Intermicrobe interrelations were investigated by application of the method of deferred antagonism (perpendicular streak) as to their ability to oppress the vital activity of various quantity of test-cultures and values of the zones of deferred growth (Ryzhkova et al., 2009). The suspension of cultures of probiotic microorganisms in the concentration equal to one dose of preparation was sown along the diameter of the dried Petri dish with the Gause’s medium № 1. The crops were incubated 24 hours in the thermostat under $+37 \pm 1$ °C and 24 hours at room temperature. After that by perpendicular streak 1–2 mm back from the line of growth the suspensions of one day cultures of clinical test strains of the microorganisms were sown. The tests were conducted 3 times. The results of investigations were approved after 18 hours of incubation with reference to the zones of inhibition of growth of test-strains by measuring these zones by a ruler in mm. The simultaneous sowing by streak on the dish with the same medium without investigated probiotics was used for the control of growth of test-cultures. The test strains were considered insensitive when the zone of deferred growth was 0–4 mm, a bit sensitive with the zone of deferred growth 5–10 mm and highly sensitive with the zone of deferred growth 10 mm. In every case for every test-strain it

was calculated the average arithmetic value of deferred growth and its error ($M \pm m$).

Results

By investigation of the antagonistic activity of probiotics it was established that bacteria being the background of the biopreparations, have demonstrated different level of oppression effect to various strains of test-cultures. As you see at the table probiotic “Biosporin” demonstrated the highest antagonistic effect. The highly sensitive to the effect of this preparation were such bacterial strains as *Neisseria sp.*, *S.*

aureus, *C. albicans*, *E. coli*, what is testified by significant zone (s) of deferred growth of these cultures (Table).

“Biosporin” was the only one among the studied probiotics that inhibited the growth of *C. albicans* (competitive inhibition zone was 10 mm). Very low antagonistic effect of this preparation was marked on the clinical strains of *Enterobacter*. Perhaps high antagonistic activity of the “Biosporin” provided by the presence of two *Bacillus* strains (Fig.). The preparation “Subalinum” suppresses the growth of clinical strains of genus *Neisseria* and *Staphylococcus*. Its sizes of inhibition growth were 20.3 and 16.7 mm respectively. It turned out that the rest of the strains were either not sensitive or low sensitive to that probiotics.

Table

Antagonistic activity of probiotics based strains genus *Bacillus*

№	Test strain	Zone of inhibition ($M \pm m$, mm)			
		Subalinum <i>B. subtilis</i> B-5020	Biosporin <i>B. subtilis</i> B-5007, <i>B. licheniformis</i> B-5514	Normaflore <i>B. clausii</i>	Enterogermina <i>B. clausii</i>
1	<i>Neisseria sp.</i>	20,30 ± 0,33	21,00 ± 1,00	2,33 ± 0,33	1,33 ± 0,67
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	16,70 ± 0,33	15,70 ± 0,90	1,67 ± 0,33	1,67 ± 0,33
3	<i>Candida albicans</i>	3,33 ± 0,67	10,00 ± 0,10	2,00 ± 0,10	2,33 ± 0,33
4	<i>Enterobacter cloacae</i> № 1	1,33 ± 0,33	1,00 ± 0,10	0,33 ± 0,33	0
5	<i>Enterobacter cloacae</i> № 2	1,67 ± 0,33	2,67 ± 0,33	0,67 ± 0,67	1,33 ± 0,33
6	<i>Escherichia coli</i>	4,00 ± 0,58	13,00 ± 1,00	3,00 ± 1,00	1,67 ± 0,33
7	<i>Streptococcus mutans</i>	0	0	0	0

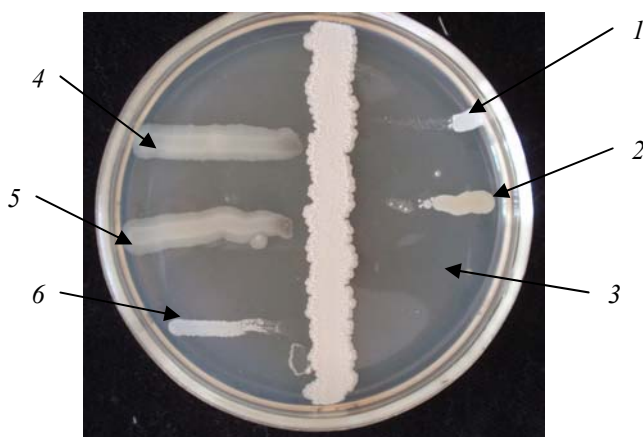


Fig. Bacteriostatic effect of probiotic “Biosporin” on strains of microorganisms isolated from the oral cavity of patients with periodontitis: 1 – *Neisseria sp.*, 2 – *S. aureus*, 3 – *C. albicans*, 4 – *E. cloacae* № 1, 5 – *E. cloacae* № 2, 6 – *E. coli*

Probiotics “Normaflore” and “Enterogermina” demonstrated low antagonistic effect to all the studied clinical strains. The sizes of inhibition zones vary from 0 to 3 mm.

All investigated biologics demonstrated very low antagonistic effect to the clinical strains of genus *Enterobacter*. The investigation of antagonistic effect of the spore (bacillary) probiotics as to the clinical strains of *Streptococcus* of the oral cavity (in particular *S. mutans*) showed no growth oppression of the above culture.

Discussion

Nowadays widespread use of antibiotics provokes the development and proliferation of the antibiotic resistant strains. The aftermath of that tendency is a microbial imbalance in human organs and systems, and impact on the whole human body. For instance, imbalance of the oral cavity mi-

croflora may entail the changes in stomach microflora. The application of probiotics is considered to be the most prospective and effective way for dysbiosis treatment. The majority of the probiotics are designated for treatment and prevention of the microbial imbalance of alimentary canals, while separate probiotics are designated for sanitation of an oral cavity and urogenital system.

The most common probiotic strains belong to the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Currently used probiotic microorganisms in oral treatment are: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *B. bifidum*, *B. longum* and others (Jain and Sharma, 2012; Vishnu, 2012). Some authors consider that there is the interconnection between daily consumption of food and development of periodontitis (Narang et al., 2011; Mohanty et al., 2012). Milk, milk products and yoghurt are the most popular carriers of probiotics. Milk contains calcium, calcium lactate and other organic and inorganic compounds with known anti-cariogenic properties.

Thus, they prevent the colonization of oral cavity by pathogens (Jain and Sharma, 2012).

The results obtained *in vitro* testify that some industrial strains of spore-forming bacteria used in probiotic preparations demonstrate high antagonistic effect to the clinical strains of pathogenic microorganisms isolated from the periodontal pocket. Thereby, continuation of the research of probiotics of the spore-forming bacteria is promising for the rising capabilities for the microbiological balance correction in the oral cavity of people with periodontitis.

Conclusion

The antagonistic effect of the modern probiotic preparations based on the strains of the spore-forming microorganisms is under research. It is established that probiotic preparations “Biosporin” and “Subalinum” are characterized by pronounced antagonistic effect to clinical strains of pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms such as *Neisseria sp.* and *S. aureus*. The antagonistic effect to the strains of genus *Enterobacter* and *Streptococcus* isolated from the oral cavity is less pronounced. Probiotic “Biosporin” inhibits growth of *C. albicans* and *E. coli*. Due to the our research the modern biologics may be recommended as one of the remedies for the microflora correction of oral cavity.

References

- Agarwal, E., Bajaj, P., Guruprasad, C.N., Naik, S., Pradeep, A.R., 2011. Probiotics: A novel step towards oral health. Archives of Oral Sciences & Research 1(2), 108–115.
- Casula, G., Cutting, S.M., 2002. *Bacillus* probiotics: Spore germination in the gastrointestinal tract. Applied and Environmental Microbiology 68(5), 2344–2352.
- Duc, L.H., Hong, H.A., Barbosa, T.M., Henriques, A.O., Cutting, S.M., 2004. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. Applied and Environmental Microbiology 70(4), 2161–2171.
- Jain, P., Sharma, P., 2012. Probiotics and their efficacy in improving oral health: A review. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2(11), 151–163.
- Hong, H.A., Duc, L.H., Cutting, S.M., 2005. The use of bacterial spore forms as probiotics. FEMS Microbiology Reviews 29, 813–835.
- Marsh, P.D., 2000. Role of the oral microflora in health. Microbial Ecology in Health and Diseases 12, 130–137.
- Meurman, J.H., 2005. Probiotics: Do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur. J. Oral. Sci. 113, 188–196.
- Mohanty, R., Nazareth, B., Shrivastava, N., 2012. The potential role of probiotics in periodontal health. RSBO 9(1), 85–88.
- Narang, S., Gupta, R., Narang, A., 2011. Probiotics in oral healthcare – A review. International Journal of Scientific & Engineering Research 2(1), 1–5.
- Reddy, R.S., Swapna, L.A., Ramesh, T., Rajesh Singh, T., Vijayalaxmi, N., Lavanya, R., 2011. Bacteria in oral health – probiotics and prebiotics. A review. International Journal of Biological & Medical Research 2(4), 1226–1233.
- Rivis, O.J., Kryvcova, M.V., Nikolajchuk, V.I., Semenova, G.M., Barani, J.A., 2012. The microflora of the oral cavity of the people with inflammatory diseases of periodontal tissue in Uzhgorod area [Mikroflora rotovoi' porozhnyny ljudej z zapal'nymy zahvorjuvannjamy tkanyny parodontu v Uzhgorods'komu rajoni]. Visnyk Problem Biologii i Medycyny 3(1), 121–124 (in Ukrainian).
- Rusyn, V.V., Potapchuk, A.M., Petrov, V.O., Belej, O.L., Bojko, N.V., 2012. Prospects of the bacilli based biopreparations implementation in the dental practice [Perspektyvy vykorystannja bacyljarnyh biopreparativ u stomatologijani praktyci]. Biomedical and Biosocial Anthropology 15, 134–139 (in Ukrainian).
- Ryzhkova, T.A., Babych, J.M., Kalinichenko, S.V., Skljjar, N.I., Shkodov'ska, N.J., Dubova, L.M., Danylina, S.S., Matjunina, D.M., 2009. Manifestation of antagonistic properties of bacteria under aerobic and microaerophilic growth conditions [Projav antagonistychnyh vlastyvostej mikroorganizmiv pry aerobnyh i mikroaerofil'nyh umovah i'h kul'tyvuвання]. Eksperymental'na i Klinichna Medycyna 1, 47–52 (in Ukrainian).
- Simonova, E.V., Ponomareva, O.A., 2008. The role of normal microflora in supporting human health [Rol' normal'noj mikroflory v podderzhanii zdorov'ja cheloveka]. Sibirskij Medicinskij Zhurnal 8, 20–25 (in Russian).
- Skrypnyk, I.N., Maslova, A.S., 2009. Modern spore-creating probiotics in clinical practice [Sovremennye sporoobrazujushhie probiotiki v klinicheskoy parktike]. Suchasna Gastroenterologija 47(3), 81–90 (in Russian).
- Stamatova, I.V., 2010. Probiotics activity of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in the oral cavity: Academic dissertation. Helsinki, 82 p.
- Twetman, S., Steckslen-Blicks, C., 2008. Probiotics and oral health effects in children. Int. J. of Pead. Dent. 18, 3–10.
- Vishnu, H.P., 2012. Probiotics and oral health. Oral health care – pediatric, research, epidemiology and clinical practices 11, 195–204.

Надійшла до редколегії 17.03.2013



УДК 575.155:616.697

Хромосомні аномалії у чоловіків із різним ступенем порушення сперматогенезу

Л.Я. Пилип¹, Л.О. Спіненко¹, В.Д. Зукін¹, Н.М. Білько²

¹Клініка репродуктивної медицини «Надія», Київ, Україна

²Центр молекулярних та клітинних досліджень

Національного університету «Києво-Могилянська академія», Київ, Україна

Проведено аналіз частот і типів хромосомних аномалій у 724 чоловіків із безпліддям. Аномалії каріотипу виявлено у 48 (6,6%) пацієнтів. Аномалії аутосом склали 67%, гоносом – 33%. Аномалії аутосом представлено структурними перебудовами. Реципрокні транслокації виявлено у 19 пацієнтів (2,6%), робертсонівські транслокації – у 9 (1,2%), інверсії – у 4 (0,6%). Аномалії гоносом включали 14 випадків анеуплоїдії статевих хромосом та 2 випадки термінальної делеції хромосоми Y. Синдром Клайнфельтера виявлено у 67% пацієнтів з азооспермією. Зареєстровано достовірне підвищення частоти кількісних хромосомних аномалій у групі пацієнтів з азооспермією ($P < 0,001$). Різниця у частотах структурних аномалій у підгрупах пацієнтів не виявлено. Зареєстровано підвищення частоти хромосомних аномалій у підгрупах пацієнтів зі зниженням концентрації сперматозоїдів. Хромосомні аномалії виявлено з частотою 1,1% у пацієнтів із нормозооспермією, 4,3% – у пацієнтів з астенозооспермією, 6,5% – у пацієнтів з олігоастенозооспермією, 11,6% – у пацієнтів з олігоастенотератозооспермією та 35,0% – у пацієнтів з азооспермією. Виявлено достовірне підвищення частоти хромосомних аномалій у пацієнтів з азооспермією ($P < 0,001$) та олігозооспермією ($P < 0,001$), порівняно з чоловіками без відхилень показників спермограми. Отримані результати розглянуто в контексті їх застосування для визначення групи пацієнтів, дослідження каріотипу яких необхідне перед проведенням циклів допоміжних репродуктивних технологій.

Ключові слова: хромосомні аномалії; безпліддя; каріотип; азооспермія; олігозооспермія

Chromosomal abnormalities in patients with sperm disorders

L.Y. Pylyp¹, L.A. Spinenko¹, V.D. Zukin¹, N.M. Bilko²

¹Clinic of Reproductive Medicine “Nadiia”, Kyiv, Ukraine

²Centre of Molecular and Cell Research, National University of “Kyiv-Mohyla Academy”, Kyiv, Ukraine

Chromosomal abnormalities are among the most common genetic causes of spermatogenic disruptions. Carriers of chromosomal abnormalities are at increased risk of infertility, miscarriage or birth of a child with unbalanced karyotype due to the production of unbalanced gametes. The natural selection against chromosomally abnormal sperm usually prevents fertilization with sperm barring in cases of serious chromosomal abnormalities. However, assisted reproductive technologies in general and intracytoplasmic sperm injection in particular, enable the transmission of chromosomal abnormalities to the progeny. Therefore, cytogenetic studies are important in patients with male factor infertility before assisted reproduction treatment. The purpose of the current study was to investigate the types and frequencies of chromosomal abnormalities in 724 patients with infertility and to estimate the risk of chromosomal abnormalities detection in subgroups of patients depending on the severity of spermatogenic disruption, aiming at identifying groups of patients in need of cytogenetic studies. Karyotype analysis was performed in 724 blood samples of men attending infertility clinic. Chromosomal preparation was performed by standard techniques. At least 20 GTG-banded metaphase plates with the resolution from 450 to 750 bands per haploid set were analysed in each case.

¹Клініка репродуктивної медицини «Надія», вул. М. Кривоноса, 19а, м. Київ, 03037, Україна.

Тел.: +38044-537-75-97, факс: +38044-537-75-99. E-mail: l.pylyp@ivf.com.ua, l.emelyanenko@ivf.com.ua, v.zukin@ivf.com.ua

²Національний університет «Києво-Могилянська академія», вул. Г. Сковороди, 2, м. Київ, 04655, Україна.

Тел./факс: +38044-425-60-57. E-mail: nbilko@ukma.kiev.ua

¹Clinic of Reproductive Medicine “Nadiya”, Kyiv, Ukraine, vul. M. Kryvonosa, 19a, Kyiv, 03037, Ukraine.

Tel.: +38044-537-75-97, Fax: +38044-537-75-99. E-mail: l.pylyp@ivf.com.ua, l.emelyanenko@ivf.com.ua, v.zukin@ivf.com.ua

²National University of “Kyiv-Mohyla Academy”, vul. G. Skovorody, Kyiv, 04655, Ukraine.

Tel./Fax: +38044-425-60-57. E-mail: nbilko@ukma.kiev.ua

When chromosomal mosaicism was suspected, this number was increased to 50. Abnormal karyotypes were observed in 48 (6.6%) patients, including 67% of autosomal abnormalities and 33% of gonosomal abnormalities. Autosomal abnormalities were represented by structural rearrangements. Reciprocal translocations were the most common type of structural chromosomal abnormalities in the studied group, detected with the frequency of 2.6% ($n = 19$), followed by Robertsonian translocation, observed with the frequency of 1.2% ($n = 9$). The frequency of inversions was 0.6% ($n = 4$). Gonosomal abnormalities included 14 cases of sex chromosome aneuploidy and 2 cases of terminal deletion of Y chromosome. Klinefelter syndrome was detected in 67% of patients with azoospermia. A significant increase in the frequency of numerical chromosomal abnormalities was observed in a group of patients with azoospermia ($P < 0.001$). No differences were detected in the frequency of structural abnormalities in subgroups of patients. An increase in the frequency of chromosomal abnormalities with the decrease of sperm count was observed. Chromosomal abnormalities were detected with frequency 1.1% in a group of patients with normospermia, 1.9% in a group of patients with asthenozoospermia, 4.3% in patients with asthenoteratozoospermia, 6.5% in patients with oligoasthenozoospermia, 11.6% in patients with oligoasthenoteratozoospermia and 35% in a group of patients with azoospermia. Significant increase of the prevalence of chromosomal abnormalities was detected in subgroups of patients with azoospermia ($P < 0.001$) and oligozoospermia ($P = 0.001$) as compared to patients with normozoospermia. These results are considered to be criteria for selection of patients in need of cytogenetic studies before *in vitro* fertilization cycles because of the highest risk of chromosomal abnormalities detection.

Keywords: chromosomal abnormalities; infertility; karyotype; azoospermia; oligozoospermia

Вступ

Репродуктивні проблеми виникають у 15% подружніх пар (deKrester, 1997). Приблизно у половині випадків причина безпліддя полягає у чоловічому факторі. У 30% пацієнтів після обстеження не вдається з'ясувати етіологію безпліддя та чоловіче безпліддя визначають як ідіопатичне. Значна варіабельність порушень сперматогенезу у пацієнтів із безпліддям, а також різниця протоколів обстеження у репродуктивних клініках унеможливають чітке визначення ідіопатичного безпліддя. Ймовірно, у більшості випадків ідіопатичного безпліддя етіологічним чинником є генетичні порушення (Huynh et al., 2002). Хромосомні аномалії можуть бути однією з причин порушення сперматогенезу у пацієнтів із безпліддям (Harton and Tempest, 2012; Giwersman, 2012). Серед хромосомних аномалій виявляють зміни кількості статевих хромосом і структурні перебудови аутосом (реципрокні, робертсонівські транслокації, інверсії, інсерції, маркерні хромосоми), частота яких залежить від особливостей досліджуваної групи (Martin, 2008; O'Flynn O'Brien et al., 2010; Wang et al., 2010; Yatsenko et al., 2010; Dul et al., 2012). Через високу ймовірність утворення незбалансованих гамет у носіїв хромосомних аномалій підвищується ризик невиношування та народження дітей із хромосомною патологією (Stephenson and Sierra, 2006). У нормі гамети із хромосомними аномаліями мають низький потенціал до запліднення.

Природна селекція сперматозоїдів із нормальним хромосомним набором, як правило, запобігає утворенню зигот із хромосомними аномаліями. Однак допоміжні репродуктивні технології (ДРТ), зокрема інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда (ICSI), забезпечують подолання даного ефективного природного бар'єру і, як наслідок, уможливають передачу хромосомної патології нащадкам, що підвищує ризик виникнення в них аномалій генетичної природи (Georgiou et al., 2006; Lipshultz and Lamb, 2007). Тому перед використанням ДРТ рекомендовано дослідження каріотипу чоловіків із відхиленнями показників спермограми. Однак рекомендації щодо каріотипування відрізняються у різних країнах та не завжди збігаються з практикою. Зокрема, Американська асоціація репродуктивної медицини рекомендує проведення цитогенетичного дослідження у пацієнтів із необструктивною азооспермією та тяжкою олігозооспермією (концентрація сперматозоїдів $< 5-10 \times 10^6$ мл⁻¹)

до проведення ICSI (ASRM, 2006). Британський національний інститут здоров'я та якості медичної допомоги рекомендує досліджувати каріотип перед ICSI у пацієнтів із «тяжким дефіцитом сперматозоїдів» без чіткого визначення даного поняття (NICE, 2004). Враховуючи розбіжності у рекомендаціях щодо каріотипування пацієнтів перед ICSI, метою даної роботи було оцінити частоту виявлення хромосомних аномалій у пацієнтів із різним ступенем тяжкості порушень сперматогенезу та визначити групу пацієнтів із найвищим ризиком хромосомних аномалій, дослідження каріотипу яких є найдоцільнішим перед проведенням циклів ДРТ.

Матеріал і методи досліджень

Проведено цитогенетичне дослідження лімфоцитів периферичної крові 724 чоловіків, що проходили первинне обстеження у зв'язку з безпліддям у Клініці репродуктивної медицини «Надія» із січня 2009 по серпень 2012 року. Середній вік пацієнтів становив $35,2 \pm 6,0$ років. Хромосомними аномаліями вважали кількісні та структурні перебудови хромосом; поліморфні варіанти розглядали як варіант норми. Цитогенетичний аналіз проводили на GTG-фарбованих метафазних пластинах лімфоцитів периферичної крові з роздільною здатністю 550 та більше дисків на гаплоїдний геном відповідно до Міжнародної номенклатури хромосом людини (ISCN 2009). У кожному випадку аналізували 20 метафазних пластин; при підозрі на мозаїцизм кількість проаналізованих пластин збільшували до 50.

Оцінку еякуляту проводили згідно із критеріями Всесвітньої організації охорони здоров'я (WHO, 2010). Висновок «олігозооспермія» ставили при концентрації сперматозоїдів нижчій, ніж 15×10^6 мл⁻¹; морфологічні особливості оцінювали за Kruger et al. (1986). Для порівняння частот хромосомних аномалій у підгрупах пацієнтів використовували критерій χ^2 . Для оцінки ризиків застосовували показник співвідношення ризиків OR (odds ratio).

Результати та їх обговорення

Частота хромосомних аномалій у досліджуваній групі пацієнтів склала 6,6% (табл. 1). Аномалії аутосом виявлено у 67% ($n = 32$) випадків, гоносом – у 33% ($n = 16$) пацієнтів. Аномалії гоносом – найчастіша хромосомна патологія пацієнтів із тяжким порушенням сперматогенезу.

незу. Пацієнти з аномаліями гоносом, як правило, характеризуються азооспермією. Аномалії статевих хромосом зареєстровано у 16 пацієнтів: дисомію хромосоми Y (каріотип 47, XY_Y) виявлено у двох випадках (одну повну та одну мозаїчну); ще у двох пацієнтів зареєстровано термінальну делецію хромосоми Yq11.2-qter, що включає локус, який кодує гени сперматогенезу (Reynolds and Cook, 2005; Giwersman et al., 2012), у дев'яти чоловіків виявлено повну дисомію хромосоми X (каріотип 47, XX_Y, синдром Клайнфельтера), мозаїчну форму – у трьох пацієнтів.

Таблиця 1

Частота окремих типів хромосомних аномалій у пацієнтів із безпліддям

Тип аномалії	Кількість пацієнтів	Частота, %
Реципрокні транслокації	19	2,6
Анеуплоїдії статевих хромосом	14	1,9
Робертсонівські транслокації	9	1,2
Термінальні делеції хромосоми Y	2	0,3
Інверсії	4	0,6
Разом	48	6,6

Синдром Клайнфельтера – найчастіша аномалія гоносом, яку виявляють у пацієнтів із безпліддям. Її частота складає 0,1–0,2% серед новонароджених і зростає до 0,5% у пацієнтів з олігозооспермією та 11–23% – у пацієнтів з азооспермією (Nielsen and Wohler, 1991; Kleiman et al., 1996; Huynh et al., 2002). Синдром Клайнфельтера становить 67% аномалій каріотипу у пацієнтів з азооспермією та 19% – у пацієнтів з олігозооспермією (Mau-Holzmann, 2005); у досліджуваній групі – 75% та 15% відповідно. Приблизно у 80% випадків синдрому Клайнфельтера виявляють немозаїчний каріотип 47, XX_Y (рис. 1), фенотипічним проявом якого є азооспермія (Lanfranco et al., 2004).

У 20% пацієнтів із синдромом Клайнфельтера виявляють мозаїчний каріотип, найчастіше – 47, XX_Y / 46, XY. Мозаїчний каріотип легко діагностувати за наявності в лімфоцитах пацієнтів декількох клітинних ліній, однак неможливо виключити гонадний мозаїцизм за наявності немозаїчного каріотипу крові, що ускладнює медико-генетичне консультування таких пацієнтів. Наявність мозаїчного каріотипу з нормальним клоном клітин є прогностично сприятливішою, оскільки, як правило, не спричинює азооспермію, а зумовлює менші порушення сперматогенезу (Maiburg et al., 2012; Oates, 2012). У досліджуваній групі всі три пацієнти з мозаїчним синдромом Клайнфельтера характеризувались не повною відсутністю сперматозоїдів в еякуляті, а олігоастенозооспермією з концентрацією сперматозоїдів, що не перевищувала 5×10^6 мл⁻¹. Більше того, імовірність виявлення сперматозоїдів у матеріалі тестикулярної біопсії у пацієнтів із мозаїчним каріотипом і азооспермією значно вища. За літературними даними (Schiff et al., 2005), у половині випадків тестикулярної біопсії у пацієнтів із синдромом Клайнфельтера вдається отримати сперматозоїди. Використання ICSI у таких пацієнтів підвищує ризик передачі хромосомних аномалій потомству.

У низці досліджень виявлено здатність чоловічих гермінальних клітин із набором XX_Y проходити мейоз і утворювати гіпергаплоїдні гамети XX та XY (Huynh et al., 2002). Однак у більшості робіт із використанням

флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH) на деконденсованих ядрах сперматозоїдів пацієнтів із синдромом Клайнфельтера виявлено значно нижчі частоти сперматозоїдів із дисоміями статевих хромосом, ніж теоретично очікувані 50% (Ferlin et al., 2005). Ймовірно, XX_Y клітини не здатні проходити мейоз, а сперматозоїди пацієнтів із синдромом Клайнфельтера походять від гермінальних клітин із нормальним каріотипом. Наявність сперматозоїдів із дисоміями статевих хромосом – результат порушення сегрегації хромосом гермінальних клітин із нормальним каріотипом через несприятливий вплив мікрооточення, як показано для мишей із набором статевих хромосом XX_Y (Mroz et al., 1999). Крім підвищення частоти нерозходження статевих хромосом у пацієнтів із синдромом Клайнфельтера існує ризик підвищення частоти нерозходження аутосом, зокрема хромосоми 21 (Lanfranco et al., 2004). Тому пацієнтам із синдромом Клайнфельтера у циклах ДРТ без донації сперми рекомендовано проведення передімплантаційної генетичної діагностики (ПГД).

Другою за частотою кількісною аномалією гоносом у досліджуваній групі пацієнтів була дисомія хромосоми Y – каріотип 47, XY_Y. Більшість пацієнтів із каріотипом 47, XY_Y не мають зниження фертильності, однак частота даної аномалії у групі пацієнтів із репродуктивними розладами підвищена удвічі – втричі порівняно із загальнопопуляційною (0,2–0,3% порівняно з 0,05% у новонароджених) (Yoshida et al., 1997). Частота дисомії Y (47, XY_Y) у досліджуваній групі становила 0,27%. Зміни у показниках спермограми таких пацієнтів різняться від нормозооспермії до тяжкої олігозооспермії. Така варіабельність порушень сперматогенезу зумовлена різницею у частотах мейотичних конфігурацій додаткової хромосоми Y з іншими статевими хромосомами, оскільки деякі з можливих конфігурацій можуть блокувати мейоз та порушувати сперматогенез (Blanco et al., 2001).

Серед аномалій аутосом у пацієнтів із безпліддям найчастіше виявляють структурні перебудови. У досліджуваній групі зареєстровано 19 реципрокних і 9 робертсонівських транслокацій, а також 4 інверсії. Робертсонівські транслокації виникають у результаті центромерного злиття довгих плечей акроцентричних хромосом 13, 14, 15, 21, 22. Утрата коротких плечей акроцентричних хромосом не має фенотипічного прояву, оскільки гени, локалізовані в їх районах, високоповторювані та закодовані в коротких плечах інших акроцентричних хромосом. Тому каріотип носіїв робертсонівських транслокацій залишається збалансованим. Із можливих комбінацій 5 акроцентричних хромосом, найчастіше виявляють транслокації із залученням хромосом 13/14 та 14/21 – der(13;14) та der(14;21). Із 9 робертсонівських транслокацій, зареєстрованих у досліджуваній групі, у 78% ($n = 7$) випадків виявляли der(13;14) (рис. 2).

Частота робертсонівських транслокацій становить 0,001% у новонароджених (Nielsen and Wohler, 1991), 0,2% – у пацієнтів з азооспермією та 1,5% – у пацієнтів з олігозооспермією. За даними Ravel et al. (2006), частота der(13;14) у донорів сперми з нормальними показниками еякуляту не відрізняється від частоти даної перебудови у групі новонароджених. Тобто у носіїв робертсонівських транслокацій не обов'язково розвиваються порушення сперматогенезу та не всі вони мають репродуктивні проблеми.

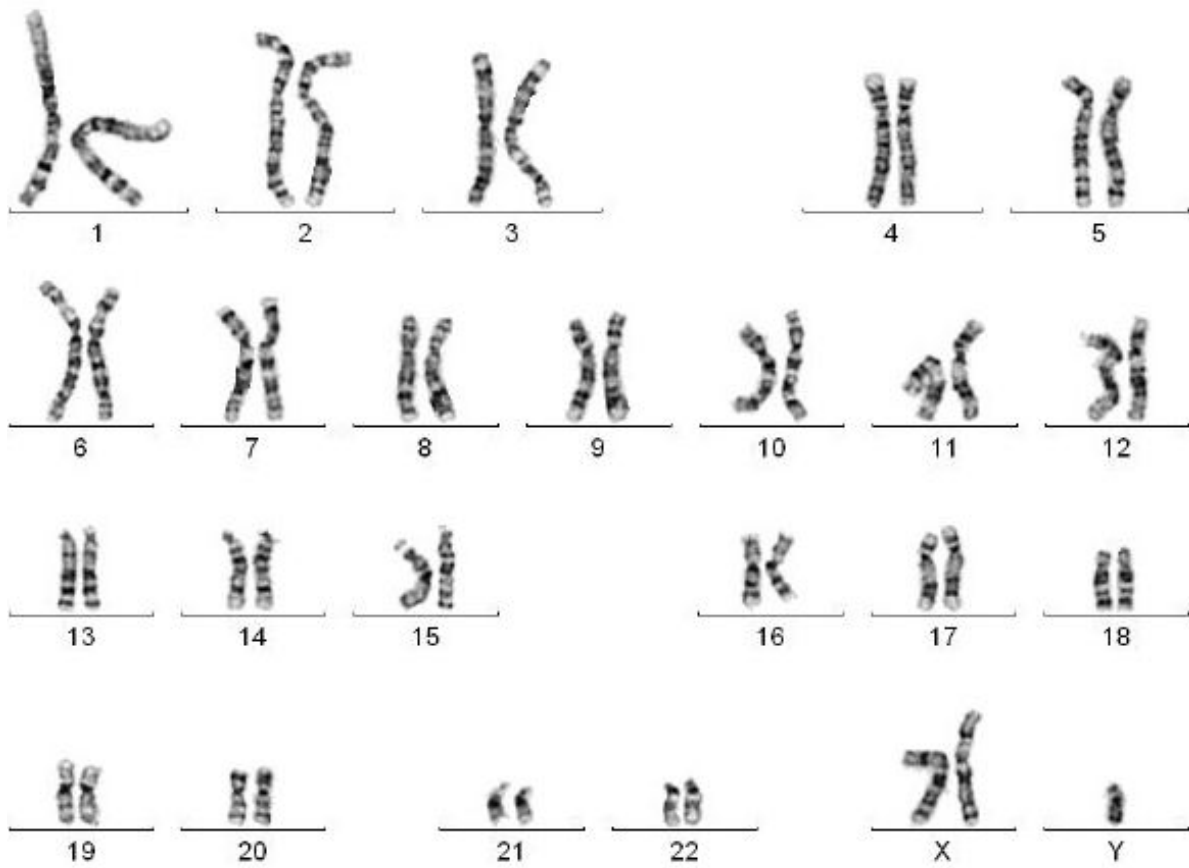


Рис. 1. Каріотип пацієнта із синдромом Клайнфельтера

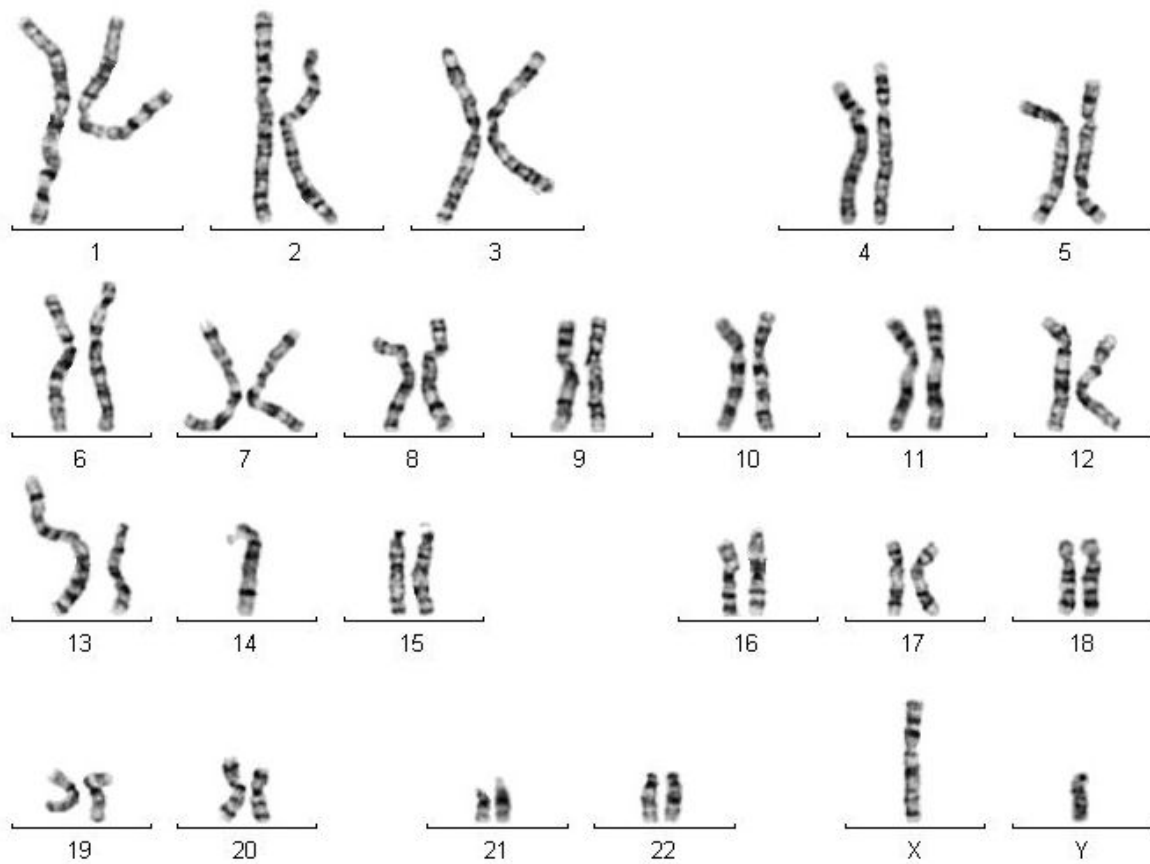


Рис. 2. Каріотип пацієнта з робертсонівською транслокацією – 45, XY, der(13;14)(q10;q10)

Однак у дослідженій групі в усіх гетерозиготних носіїв робертсонівських транслокацій виявлено відхилення показників спермограми: у 2 (22%) пацієнтів зареєстровано азооспермію, у 2 (22%) олігоастенозооспермію, ще у 2 (22%) олігоастенотератозооспермію, та у 3 (34%) астенотератозооспермію. Механізм, за яким, імовірно, робертсонівські транслокації зумовлюють порушення сперматогенезу, полягає у блоку мейозу частини гамет із хромосомними аномаліями. Транслоковані хромосоми у мейозі утворюють триваленти, тип анафазного розходження яких зумовлює утворення збалансованих або незбалансованих (із трисоміями та моносоміями) гамет. Частина гамет із незбалансованим каріотипом елімінується під час дозрівання сперматозоїдів, наприклад, через апоптичний шлях, як це показано для мишей-носіїв робертсонівських транслокацій (Eaker et al., 2001), у результаті чого знижуються показники концентрації сперматозоїдів.

У досліджуваній групі пацієнтів реципрокні транслокації виявлено з частотою 2,6%. Реципрокні транслокації виникають у результаті обміну ділянками між хромосомами без змін кількості генетичного матеріалу (рис. 3). Реципрокні транслокації виявлено у 19 пацієнтів із порушенням сперматогенезу від азооспермії до астенозооспермії. Наявність збалансованих транслокацій може мати фенотипічний прояв від астенозооспермії до олігоастенотератозооспермії, рідше викликаючи азооспермію (табл. 2). У пацієнтів з азооспермією транслокації становили лише 25% ($n = 3$) усієї патології, з олігоастено-

олігоастенотератозооспермією – 80% ($n = 4$) та 70% ($n = 7$), відповідно. У пацієнтів з астенотератозооспермією транслокації були єдиним типом хромосомних аномалій.

Як правило, реципрокні транслокації унікальні, тобто виникають через утворення випадкових точок розриву та сполучення у залучених хромосомах. У досліджуваній групі не виявлено жодної реципрокної транслокації між хромосомами 4, 10, 11, 13, 20, 21. Решта хромосом були залучені до перебудов із випадковими точками розриву та сполучення.

Репродуктивні ризики для носіїв транслокації зумовлені утворенням незбалансованих гамет із частковими трисоміями та моносоміями за районами хромосом, що залучені до перебудови. Частота незбалансованих гамет може коливатись від 19 до 81%, залежно від типу транслокації, хромосом і районів, включених до перебудови (Escudero et al., 2003; Anton et al., 2007). Тому носіям транслокації показано проведення циклів ДРТ із ПГД для зниження ризику невиношування та народження дитини з незбалансованим хромосомним набором.

Інверсії аутосом – другий за частотою тип структурних перебудов після транслокацій. Інверсії хромосом – структурні перебудови, що утворюються у результаті виникнення двох точок розриву в одній хромосомі з подальшим поворотом сегмента, що утворився, на 180° . Залежно від розташування центромери, інверсії поділяють на пери- (із залученням центромери) та парацентричні (без залучення центромери).

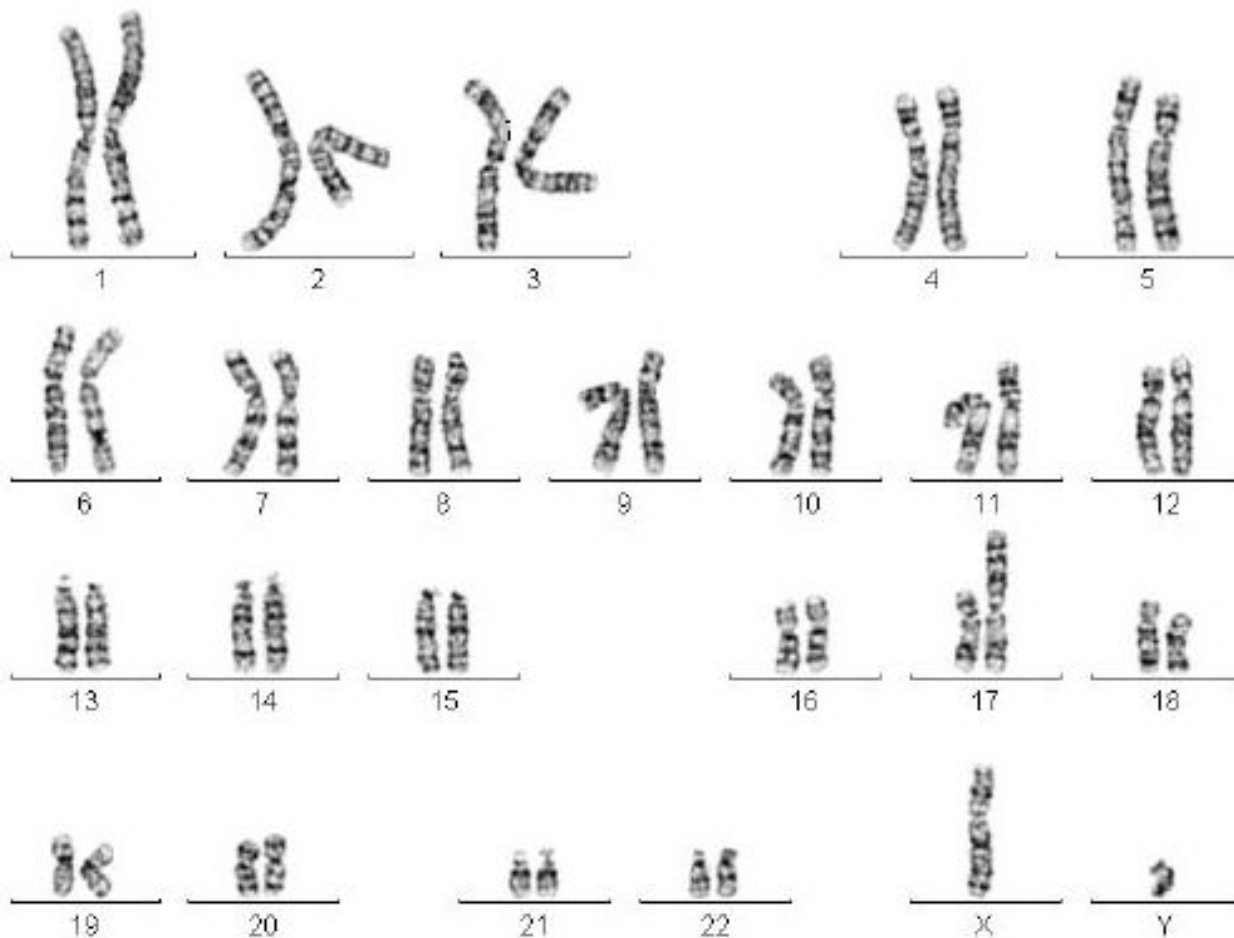


Рис. 3. Каріотип пацієнта з реципрокною транслокацією між хромосомами 2 та 17 із точками розриву та сполучення в районах q31 та p13 – 46, XY, t(2;17)(q31;p13)

Реципрокні транслокації, виявлені у пацієнтів із безпліддям

№	Каріотип	Фенотипічний прояв
1	46, XY, t(1;5)(p13;q11.2)	астенотератозооспермія
2	46, XY, t(1;10)(p36.1;p11.2)	астенотератозооспермія
3	46, XY, t(2;15)(q21.2;q25)	олігоастенотератозооспермія
4	46, XY, t(2;17)(q31;p13)	олігоастенотератозооспермія
5	46, XY, t(2;18)(p10;q10)	олігоастенозооспермія
6	46, XY, t(3;8)(q13.2;p23.1)	олігоастенотератозооспермія
7	46, XY, t(13;17)(q11.1;p13)	олігоастенотератозооспермія
8	45, XY, t(5;15)(q35;q11),-15	олігоастенотератозооспермія
9	46, XY, t(5;19)(p13;q13.1)	астенотератозооспермія
10	46, XY, t(5;19)(q11.1;q12)	астенотератозооспермія
11	46, XY, t(6;7)(q12;p15)	олігоастенотератозооспермія
12	46, XY, t(6;13)(q25.1;q21.2)	олігоастенотератозооспермія
13	46, XY, t(6;14)(p12;q31)	астенотератозооспермія
14	46, XY, t(9;13)(p10;p12)	азооспермія
15	46, XY, t(9;13)(q11;p11)	олігоастенозооспермія
16	46, XY, t(9;15)(q32;p11.2)	астенотератозооспермія
17	46, XY, t(9;16)(q22;p11)	астенотератозооспермія
18	46, XY, t(10;19)(p14;p12)	олігоастенотератозооспермія
19	46, XY, t(15;22)(q24;q13)	олігоастенотератозооспермія

У досліджуваній групі частота інверсій складала 0,6%. Інверсії виявляють із частотою 0,022% у новонароджених (Nielsen and Wohlert, 1991), 0,088% у донорів сперми (Ravel et al., 2006). У мейозі інвертовані хромосоми утворюють петлю, розмір якої залежить від величини інвертованого сегмента. Кросинговер між ділянками петлі викликає утворення незбалансованих гамет із дуплікаціями або делеціями сегментів, дистальних до інвертованих районів. Частота утворення незбалансованих гамет корелює із розміром інвертованого сегмента та коливається від 0,2 до 29% (Perrin et al., 2009). Деякі з інверсій асоційовані з безпліддям та порушенням сперматогенезу, однак більшість із них не мають фенотипічного прояву (Mau-Holzmann, 2005; Chantot-Bastaraud et al., 2007). У досліджуваній групі в одного пацієнта з інверсією inv(10)(p12q21) не було виявлено жодних відхилень у показниках спермограми, три інші пацієнти характеризувались астенозооспермією.

Аналіз частот кількісних і структурних перебудов у підгрупах пацієнтів залежно від ступеня тяжкості порушення сперматогенезу виявив достовірне ($P < 0,001$) підвищення частоти кількісних аномалій у пацієнтів з азооспермією. Наші результати узгоджуються з попередніми даними про те, що кількісні аномалії гоносом частіше виявляють у пацієнтів з азооспермією, у той час як структурні перебудови реєструють, в основному, у пацієнтів з оліго- та астенозооспермією (Elghezal et al., 2006; Rao et al., 2006; Vijayalakshmi et al., 2011).

У пацієнтів із відхиленнями показників спермограми частота хромосомних аномалій вища, ніж у загальній популяції. У досліджуваній групі загальна частота хромосомних аномалій складала 6,6%. За даними мета-аналізу результатів каріотипування 3087 пацієнтів із безпліддям, середня частота хромосомних аномалій у групі чоловіків із відхиленнями показників спермограми складає 7,7% (Martin, 2008) та перевищує популяційну в 10–12 разів (Nielsen and Wohlert, 1991). Частота хромосомних аномалій у пацієнтів із безпліддям варіює у межах 3–19% і залежить від критеріїв включення пацієнтів у дослідження та співвідношення підгруп пацієнтів із різним ступенем тяжкості порушення сперматогенезу (Rao et

al., 2005; Bertini et al., 2006; Chantot-Bastaraud et al., 2008; Kumtepe et al., 2009; Alkalaf and Al-Shoumer, 2010; Dul et al., 2010; Hofherr et al., 2011). Найнижчу частоту хромосомних аномалій у пацієнтів із безпліддям виявлено Dul et al. (2012) у групі з 1223 пацієнтів із безпліддям (3,1%), у яку було включено пацієнтів із нормозооспермією та невдалими попередніми спробами ДРТ. Вищу частоту (19–23%) хромосомних аномалій зареєстровано у досліджених чоловіків із тяжкими формами порушення сперматогенезу: олігозооспермією та азооспермією (Baschat et al., 1996; Kleiman et al., 1999; Foresta et al., 2005). Нами виявлено підвищення частоти хромосомних аномалій зі зростанням відхилень показників спермограми – від 1,1% у підгрупі пацієнтів із нормозооспермією до 11,6% у підгрупі з олігоастенотератозооспермією та 35,0% у підгрупі із азооспермією (рис. 4).

Серед пацієнтів із відсутністю відхилень показників спермограми виявлено лише одну хромосомну аномалію – перичентричну інверсію хромосоми 10 inv(10)(p12q21). Частота хромосомних аномалій у пацієнтів без відхилень у показниках спермограми, наприклад, донорів сперми, становить 0,37% (Ravel et al., 2006) і майже не відрізняється від частоти у новонароджених (Nielsen and Wohlert, 1991). Тобто значна частка збалансованих хромосомних перебудов, які не порушують сперматогенез, залишається не діагностованою. Однак навіть за відсутності фенотипічного прояву носії збалансованих перебудов мають підвищений ризик утворення гамет із незбалансованим набором та, відповідно, безпліддя, невиношування або народження дітей із хромосомною патологією. Тому частота хромосомних аномалій у пацієнтів із нормозооспермією та безпліддям в анамнезі є дещо вищою і складає 2,0–2,6% (Gekas et al., 2001; Yatsenko et al., 2010).

У пацієнтів з астенозоо- та астенотератозооспермією не виявлено підвищення частоти хромосомних аномалій. Наші дані узгоджуються з результатами інших дослідників (Clementini et al., 2005; Dul et al., 2012) та свідчать, що пацієнти зі зниженою рухливістю сперматозоїдів, а також зниженою рухливістю та відхиленнями морфоло-

гічних показників сперматозоїдів не належать до групи ризику виявлення хромосомних аномалій.

Частота хромосомних аномалій достовірно зростає зі зниженням концентрації сперматозоїдів: у групах пацієнтів з олігоастенозооспермією, олігоастенотератозооспермією та азооспермією виявлено достовірне підвищення частоти хромосомних аномалій (табл. 2).

За літературними даними, частота хромосомних аномалій у групах пацієнтів з азооспермією коливається в межах 11–24% (Elghezal et al., 2006; Wang et al., 2010), а у пацієнтів з олігозооспермією – в межах 2–16% (Ferlin et al., 2005; Martin, 2008; Yatsenko et al., 2010). Висока частота хромосомних аномалій у пацієнтів з азооспермією (35,0%) та олігозооспермією (10,3%) у нашому дослідженні зумовлена особливостями групи пацієнтів:

частина з них були направлені до Клініки репродуктивної медицини «Надія» для проведення ПГД у зв'язку з невдалими попередніми спробами ДРТ або самовільними викиднями в анамнезі.

Для визначення критичної концентрації сперматозоїдів, за якої зростає ризик виявлення хромосомних аномалій, вважали за доцільне розділити пацієнтів з олігозооспермією на тяжку олігозооспермію (концентрація сперматозоїдів $\leq 5 \times 10^6$ мл⁻¹) та помірну олігозооспермію (концентрація сперматозоїдів $>5 \times 10^6$ мл⁻¹). Виявлено достовірне підвищення частоти хромосомних аномалій у пацієнтів із тяжкою олігозооспермією ($P < 0,05$) та азооспермією ($P < 0,0001$) порівняно з нормальною концентрацією сперматозоїдів.

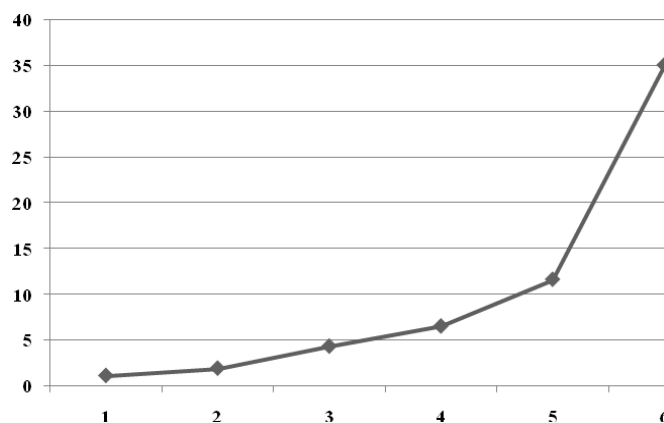


Рис. 4. Частота хромосомних аномалій у підгрупах пацієнтів із різним ступенем порушення сперматогенезу: 1 – нормозооспермією, 2 – астенозооспермією, 3 – астенотератозооспермією, 4 – олігоастенозооспермією, 5 – олігоастенотератозооспермією, 6 – азооспермією

Таблиця 2

Частота типів хромосомних аномалій у пацієнтів залежно від тяжкості порушення сперматогенезу

Тип порушення	Кількість пацієнтів	Частота кількісних хромосомних аномалій, %	Частота структурних хромосомних аномалій, %	Загальна частота хромосомних аномалій, %
Нормозооспермія	87	0	1,1	1,1
Астенозооспермія	156	0,6	1,3	1,9
Астенотератозооспермія	257	0,4	3,9	4,3
Олігоастенозооспермія	46	2,2	4,3	6,5*
Олігоастенотератозооспермія	138	0,7	10,9	11,6*
Азооспермія	40	25	10	35*

Примітка: * – $P \leq 0,05$.

Таблиця 3

Частота хромосомних аномалій у пацієнтів із різною концентрацією сперматозоїдів

Концентрація сперматозоїдів, мл ⁻¹	Кількість пацієнтів	Кількість пацієнтів із хромосомними аномаліями	Частота хромосомних аномалій	OR	CI	P
$>15 \times 10^6$	500	15	3,0	–	–	–
$5-15 \times 10^6$	80	7	8,8	3,1	1,22–7,86	$<0,01$
$<5 \times 10^6$	104	12	11,5*	4,21	1,91–9,30	$<0,001$
Азооспермія	40	14	35,0**	17,41	7,60–39,86	$<0,001$

Примітки: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,001$.

Рекомендації щодо дослідження каріотипу чоловіків з олігозооспермією базуються на тому, що чоловіки зі зниженою концентрацією сперматозоїдів мають підвищений ризик хромосомних аномалій. Так, ризик виявлення хромосомних аномалій зростає у групі пацієнтів із помірною олігозооспермією у 3,1 раза, із тяжкою олігозооспермією – у 4,2 раза, з азооспермією – у 17,4 раза. Тобто зниження концентрації сперматозоїдів є інформа-

тивним критерієм для селекції пацієнтів із підвищеним ризиком хромосомних аномалій.

Висновки

Установлено підвищену частоту кількісних і структурних перебудов хромосом у лімфоцитах периферичної

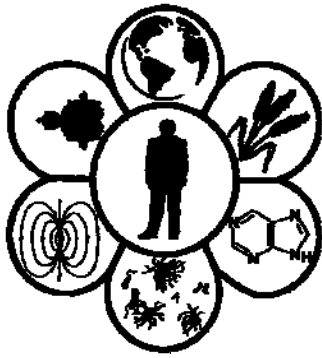
крові чоловіків із відхиленнями показників спермограми, які проходили лікування безпліддя з використанням методів ДРТ. Частота хромосомних аномалій зростала зі зниженням концентрації сперматозоїдів і була найвищою в осіб з олігозооспермією та азооспермією, що вказує на необхідність дослідження каріотипу у таких пацієнтів перед проведенням циклів ДРТ.

Бібліографічні посилання

- Alkhalaf, M., Al-Shoumer, K., 2010. Cytogenetic abnormalities and azoospermia factor (AZF) microdeletions in infertile men from Kuwait. *Journal of Molecular and Genetic Medicine* 4, 232–234.
- AUA and ASRM: American Urological Association and American Society for Reproductive Medicine, 2006. Report on optimal evaluation of the infertile male. *Fertility and Sterility* 86, 202–209.
- Baschat, A.A., Kupker, W., al Hasani, S., Diedrich, K., Schwinger, E., 1996. Results of cytogenetic analysis in men with severe subfertility prior to intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction* 11, 330–333.
- Bertini, V., Simi, P., Valetto, A., 2006. Cytogenetic study of 435 subfertile men: Incidence and clinical features. *Journal of Reproductive Medicine* 51, 15–20.
- Blanco, J., Egozcue, J., Vidal, F., 2001. Meiotic behavior of sex chromosomes in three patients with sex chromosome anomalies (47,XXY, mosaic 46,XY/47,XXY and 47,YYY) assessed by fluorescence in situ hybridization. *Human Reproduction* 16, 887–892.
- Chantot-Bastarud, S., Ravel, S., Siffroi, J.P., 2008. Underlying karyotype abnormalities in IVF/ICSI patients. *Reproductive Biomedicine Online* 16, 514–522.
- De Kretser, D.M., 1997. Male infertility. *Lancet* 349, 787–790.
- Dul, E.C., Groen, H., van Ravenswaaij-Arts, C.M.A., Dijkhuizen, T., van Echten-Arends, J., Land, J.A., 2012. The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men. *Human Reproduction* 27, 36–43.
- Dul, E.C., van Ravenswaaij-Arts, C.M., Groen, H., van Echten-Arends, J., Land, J.A., 2010. Who should be screened for chromosomal abnormalities before ICSI treatment? *Human Reproduction* 25, 2673–2677.
- Eaker, S., Pyle, A., Cobb, J., Handel, M.A., 2001. Evidence of meiotic spindle checkpoint from analysis of spermatocytes from Robertsonian-chromosome heterozygous mice. *Journal of Cell Science* 114, 2953–2965.
- Elghezal, H., Hidar, S., Braham, R., Denguezli, W., Ajina, M., Saad, A., 2006. Chromosome abnormalities in one thousand infertile males with nonobstructive sperm disorders. *Fertility and Sterility* 86, 1792–1795.
- Escudero, T., Abdelhadi, I., Sandalinas, M., Munne, S., 2003. Predictive value of sperm fluorescence in situ analysis on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for translocations. *Fertility and Sterility* 79, 1528–1534.
- Ferlin, A., Garolla, A., Foresta, C., 2005. Chromosome abnormalities in sperm of individuals with constitutional sex chromosomal abnormalities. *Cytogenetics and Genome Research* 111, 310–316.
- Foresta, C., Garolla, A., Bartoloni, L., Bettella, A., Ferlin, A., 2005. Genetic abnormalities among severely oligospermic men who are candidates for intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 90, 152–156.
- Gekas, J., Thépot, F., Turleau, C., Siffroi, J.P., Dadoune, J.P., Briault, S., Rio, M., Bourrouillou, G., Carre-Pigeon, F., Walsels, R., Benzacken, B., 2001. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: An equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Human Reproduction* 16, 82–90.
- Georgiou, I., Syrrou, M., Pardalidis, N., Karakitsios, K., 2006. Genetic and epigenetic risks of intracytoplasmic sperm injection method. *Asian Journal of Andrology* 8, 643–673.
- Giwersman, A., Tournay, H., Diemer, T., 2012. European Association of Urology Guidelines on Male Infertility: The 2012 Update. *European Urology* 62, 324–332.
- Harton, G.L., Tempest, G., 2012. Chromosomal disorders and male infertility. *Asian Journal of Andrology* 14, 32–39.
- Hoffher, S.E., Wiktor, A.E., Kipp, B.R., Dawson, D.B., Van Dyke, D.L., 2011. Clinical diagnostic testing for the cytogenetic and molecular causes of male infertility: The Mayo Clinic experience. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 12, 1–8.
- Huynh, T., Mollard, R., Trounson, A., 2002. Selected genetic factors associated with male infertility. *Human Reproduction Update* 8, 183–198.
- Kleiman, S.E., Yogev, L., Gamzu, R., Hauser, R., Botchan, A., Lessing, J.B., 1999. Genetic evaluation of infertile men. *Human Reproduction* 14, 33–38.
- Kruger, T.F., Menkyeld, R., Stander, F.S., Lombard, C.J., Van der Merwe, J.P., van Zyl, J.A., Smith, K., 1986. Sperm morphologic features as a prognostic factor in *in vitro* fertilization. *Fertility and Sterility* 46, 1118–1123.
- Kumtepe, E., Beyazyurek, C., Cinar, C., Ozbey, I., Oskan, S., Cetinkaya, K., Karlikaya, G., Karagozdoglu, H., Kahraman, S., 2009. A genetic survey of 1935 Turkish men with severe male factor infertility. *Reproductive Biomedicine Online* 18, 465–474.
- Janfranco, F., Kamischke, A., Zitzmann, M., Nieschlag, E., 2004. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 364, 273–283.
- Lipshultz, L.I., Lamb, D.J., 2007. Risk of transmission of genetic diseases by assisted reproduction. *Nature Clinical Practice Urology* 4, 460–466.
- Maiburg, M., Repping, S., Giltay, J., 2012. The genetic origin of Klinefelter syndrome and its effect on spermatogenesis. *Fertility and Sterility* 98, 253–260.
- Martin, R.H., 2008. Cytogenetic determinants of male fertility. *Human Reproduction Update* 14, 379–390.
- Mau-Holzmann, U.A., 2005. Somatic chromosomal abnormalities in infertile men and women. *Cytogenetic and Genome Research* 111, 317–336.
- Mroz, K., Hassold, T.J., Hunt, P.A., 1999. Meiotic aneuploidy in the XXY mouse: Evidence that a compromised testicular environment increases the incidence of meiotic errors. *Human Reproduction* 14, 1151–1156.
- NICE: National Institute for Clinical Excellence, 2004. *Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems*. London, RCOG Press.
- Nielsen, J., Wohlert, M., 1991. Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: Results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Human Genetics* 87, 81–83.
- Oates, R.D., 2012. The natural history of endocrine function and spermatogenesis in Klinefelter syndrome: What the data show. *Fertility and Sterility* 98, 266–273.
- O'Flynn O'Brien, K.L., Varghese, A.C., Agarwal, A., 2010. The genetic causes of male factor infertility: A review. *Fertility and Sterility* 93, 1–12.
- Perrin, A., Caer, E., Oliver-Bonet, M., Navarro, J., Benet, J., Amice, V., de Braekeleer, M., Morel, F., 2009. DNA fragmentation and meiotic segregation in sperm of carriers of a chromosomal structural abnormality. *Fertility and Sterility* 92, 583–589.
- Rao, K.L., Babu, K.A., Kanakavalli, M.K., Padmalatha, V.V., Deenadayal, M., Singh, L., 2005. Prevalence of chromosome defects in azoospermic and oligoasthenoteratozoospermic South Indian infertile men attending an in-

- fertility clinic. *Reproductive Biomedicine Online* 10, 467–472.
- Reynolds, N., Cooke, H.J., 2005. Role of the DAZ genes in male fertility. *Reproductive Biomedicine Online* 10, 72–80.
- Schiff, J.D., Palermo, G.D., Veeck, L.L., Goldstein, M., Rosenwaks, Z., Schlege, P.N., 2005. Success of testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 90, 6263–6267.
- Shaffer, L.G., Slovak, L.M., Campbell, L.G., 2009. *ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Karger.
- Stephenson, M., Sierra, S., 2006. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Human Reproduction* 21, 1076–1082.
- Vijayalakshmi, J., Venkatchalam, P., Paul, S., Rani, G., Ky-marasamy, P., Kannan, J., 2011. Chromosomal anomalies in patients with azoospermia and oligoasthenoteratozoospermia. *International Journal of Human Genetics* 11, 117–121.
- Wang, R.X., Fu, C., Yang, Y.P., Han, R.R., Dong, Y., Dai, R.L., Liu, R.Z., 2010. Male infertility in China: Laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 27, 391–396.
- WHO. World Health Organization, 2010. *Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*. Geneva.
- Yatsenko, A.N., Yatsenko, S.A., Weedin, J.W., Lawrence, A.E., Patel, A., Peacock, S., Matzuk, M.M., Lamd, D.J., Cheung, S.W., Lipshultz, L.I., 2010. Comprehensive 5-year study of cytogenetic aberrations in 668 infertile men. *Journal of Urology* 183, 1636–1642.
- Yoshida, A., Miura, K., Shirai, M., 1997. Cytogenetic survey of 1,007 infertile males. *Urologia Internationalis* 58, 166–176.

Надійшла до редколегії 21.02.2013



УДК 579.61:616-092+615.33

Моніторинг умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів у лікарняних відділеннях хірургічного профілю м. Дніпродзержинськ

Н.М. Донець², І.Є. Соколова¹, А.А. Москаленко¹, А.Л. Дробіна¹, А.І. Вінніков¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

²Комунальний заклад «Дніпродзержинська міська лікарня № 7», Дніпродзержинськ, Україна

Проведено моніторинг поширення умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів серед пацієнтів відділень хірургічного профілю Дніпродзержинської міської лікарні № 7 та визначено чутливість до антибіотиків цих мікроорганізмів. Протягом 2012 року отримано 1464 штами мікроорганізмів, виділених із біологічного матеріалу від пацієнтів відділень. Грампозитивні мікроорганізми склали 61% (893 ізоляти), грамнегативні – 39% (571 ізолят). Найрозповсюдженішим збудником інфекцій був *Staphylococcus aureus*, виявлений у 477 (32%) пацієнтів. Аналіз розповсюдження мікроорганізмів у різних відділеннях показав, що домінуючі збудники урологічного відділення – *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. haemolyticus* та *Enterobacter aerogenes*; гнійно-септичного – *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*; гінекологічного – *E. coli*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *S. aureus*. У різних відділеннях лікарні зі зразків біологічного матеріалу від пацієнтів виділяли мікроорганізми з різним рівнем чутливості до певних антибактеріальних препаратів. Поряд зі *S. aureus*, найпоширеніший збудник у всіх відділеннях – *S. haemolyticus*. Він виявив найбільшу чутливість до антибіотиків у гнійно-септичному відділенні. Для елімінації штамів як препарату вибору можна застосувати амікацин, левофлоксацин, доксицилін. Від хворих урологічного та гінекологічного відділень виділені стійкіші штами. До еритроміцину виявили стійкість 70% штамів *S. haemolyticus*.

Ключові слова: збудники інфекцій; моніторинг; чутливість до антибіотиків

Monitoring of opportunistic and pathogenic microorganisms in surgical departments of Dniprodzerzhynsk

N.N. Donets², I.E. Sokolova¹, A.A. Moskalenko¹, A.L. Drobina¹, A.I. Vinnikov¹

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

²Dniprodzerzhynsk City Hospital No 7, Dniprodzerzhynsk, Ukraine

The paper presents monitoring results of the spread of opportunistic and pathogenic microorganisms in patients of surgical departments of the Dniprodzerzhynsk city hospital No 7. 1464 strains of bacteria isolated from biological material of the patients from January to December 2012 were studied. Relevant standard methods of research and data interpretation in accordance with the regulatory guidelines were used. The microorganisms' sensitivity to antibiotics was determined by the disk diffusion method. Assessment of the resistance of isolated microorganisms to antibiotics was made with the software Whonet 5.1. At the first stage of investigation sampling biological material and inoculation in the culture medium were made. The discharges of wounds, throat, nose, ears, vagina and urethra, and also urine from patients of surgical departments were sampled for bacteriological analysis. The main substratum was 5% blood agar. There may additionally be used the selective growth media (yolk-salt agar, Endo, and Saburo). At the second stage we identify microorganisms with bacterioscopic, bacteriological and biochemical methods. Identifying microorganisms of the genus *Staphylococcus* was made by the reaction of lecithinase presence, plasma-coagulation reaction and the mannitol oxidation reaction. For the identification of bacteria of the family Streptococcaceae the growth pattern in 0.5% sugar medium was used. It was differentiated from bacteria of the genus *Enterococcus* by plating onto egg yolk agar base

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна.

²Комунальний заклад «Дніпродзержинська міська лікарня № 7», вул. Скаліка 14-15, м. Дніпродзержинськ, 51900, Україна.
Тел.: +38097-029-63-21. E-mail: natasha77d@i.ua

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Gagarin ave, 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine.

²Dniprodzerzhynsk's City Hospital No 7, vul. Skalika, 14-15, Dniprodzerzhynsk, 51900, Ukraine.
Tel.: +38097-029-63-21. E-mail: natasha77d@i.ua

and milk with 0.1% methylene blue. Identification of bacteria of the Enterobacteriaceae family was made by studying their colonies on dense differential diagnostic media. Suspicious colonies were transferred on a combined medium for primary identification (Olkenitsky's medium). Then the biochemical signs of enterobacteria were studied in the minimum number of tests. The third phase of the study included the determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics. To do that, we use the disc diffusion method. The antibiogram tests of isolated bacterial strains used Mueller-Hinton agar. According to the data obtained we assign of microorganisms to certain category of sensitivity: sensitive, moderately resistant or resistant. Monitoring of prevalent microorganisms showed that 61% (893 of 1464) isolates were gram-positive bacteria, 696 strains of them are staphylococci. 477 of these are identified as *S. aureus*, representing 68.5% of all *Staphylococcus*. We found coagulase negative staphylococci in 192 patients, and the strains of *S. haemolyticus* are dominated. Strains of the family Streptococcaceae isolated from 197 patients. Among them the *E. faecalis* accounted for 66% of the total number of *Streptococcus*. Gram negative bacteria were presented by the families Enterobacteriaceae and Pseudomonaceae. Enterobacteriaceae accounted for 90.7% (518 of 571). *E. coli* plays the leading role and accounted for 42% of all Enterobacteriaceae. The strains of *P. aeruginosa* were identified in 53 patients. *S. haemolyticus* has played an important role as a pathogen as well as *S. aureus*. Its resistance to antibiotics is much higher than that of *S. aureus*. Although *S. haemolyticus* is opportunistic coagulase negative, it can be isolated from patients not only with chronic, but with acute infection. Thus nowadays the strains of *S. haemolyticus* gained high pathogenic and virulent properties.

Keywords: pathogens; monitoring sensitivity to antibiotics

Вступ

Доповіді, представлені на семінарі Всесвітньої організації охорони здоров'я, свідчать, що швидка поява та поширення полірезистентних мікроорганізмів є проблемою світового масштабу (Beartmen et al., 2006; DiSalvo et al., 2006; John, 2006). Метецилінстійкі штами золотистого стафілокока ендемічні в багатьох регіонах. Оскільки більшість ізолятів коагулазанегативних стафілококів були стійкими до метециліну, нині ванкоміцин – єдиний ефективний засіб терапії стафілококових інфекцій у багатьох пацієнтів. У результаті використання ванкоміцину різко збільшилось, що спричинило підвищення вартості лікування та появу стійкості до цього препарату в ентерококів. Лікування інфекцій, викликаних ванкоміцинрезистентними ентерококами, утруднене тому, що більшість цих штамів також стійкі до β-лактамів та аміноглікозидів (Byloborodov and Mitrohin, 2002; McBryde et al., 2004; Bertin et al., 2006; Jonston et al., 2006; DeLeo et al., 2010). Інтенсивне використання антибіотиків широкого спектра дії сприяло виникненню резистентності серед грамнегативних бактерій Enterobacteriaceae, Pseudomonaceae тощо. Вони стають все стійкішими до антибіотиків першого ряду, у тому числі до цефалоспоринов III покоління, монолактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів (Loeffler and Stevens, 2003; McGowan, 2006; Pronovost et al., 2006; Said-Salim et al., 2007; Stewart, 2010).

Нещодавно в Японії встановлено, що штами *Pseudomonas* і *Serratia*, які мають розширений спектр β-лактамаз, здатні інактивувати карбопенемі (Fanci et al., 2006). У штаті Нью-Йорк (США) зіткнулись зі штамми *Acinetobacter*, стійкими до аміноглікозидів. Тоді лікарі цього закладу все частіше стали застосовувати цефалоспоринов III покоління. За цим послідував спалах штамів *Klebsiella*, стійких до цефалоспоринов (Marfin et al., 2007). У Данії досліджували механізми стійкості коагулазанегативних стафілококів до тетрацикліну. Показано, що стійкість до цього препарату зумовлена плазмідом, яка передає множинну стійкість нормальній мікрофлорі пацієнтів (Wongwogawat and Jones, 2007).

Рациональне, науково обґрунтоване призначення антибіотиків відіграє важливу роль у попередженні виникнення та розповсюдження стійких до антибіотиків мікроорганізмів, актуальних для клініцистів: метецилінрезистентних стафілококів, ванкоміцинрезистентних ентерококів, ентеробактерій із розширеним спектром β-лактамаз тощо (Bryskin, 2000; Carrico, 2005; Joon et al.,

2005; Kramer et al., 2006). Мікробіологічний моніторинг збудників інфекцій дозволяє оптимізувати епідеміологічний нагляд у хірургічному стаціонарі (Carrico, 2005; Bertin et al., 2006; John, 2006). Взаємодія госпітального епідеміолога, лікаря-бактеріолога, лікаря-хірурга дозволяє виявити особливості лікувально-діагностичного процесу, оптимізувати лікування хворих і проводити оцінку епідеміологічної ситуації з урахуванням даних мікробіологічного моніторингу (Schelonka et al., 2006; Vonberg and Castmeier, 2006; Mitrohin, 2008). Інформація про спектр та обсяг використовуваних антибіотиків і резистентність дуже важлива. Вона повинна слугувати приводом для емпіричної терапії та лікарських втручань, допоможе формулюванню раціональної локальної політики, яка дозволить мінімізувати несприятливі ефекти еволюції, розповсюдження та персистенції антибіотикорезистентних мікроорганізмів (Simon et al., 2006; Zanetti et al., 2007). Тому дослідження поширеності збудників інфекцій та їх чутливості до антибактеріальних препаратів дуже актуальне в наш час.

Мета цієї роботи – з'ясувати ступінь поширення умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів серед пацієнтів відділень хірургічного профілю Дніпродзержинської міської лікарні № 7 та визначити чутливість до антибіотиків цих мікроорганізмів.

Матеріал і методи досліджень

Проводилось дослідження бакпейзажу відділень хірургічного профілю та визначення чутливості до антибіотиків найпоширеніших збудників інфекцій в урологічному, гнійно-септичному та гінекологічному відділеннях. Висів біологічного матеріалу на живильні середовища, дослідження та інтерпретацію отриманих результатів проводили загальноприйнятими методами (Medinform, 2003). Ідентифікували виділені мікроорганізми бактеріоскопічними, бактеріологічними та біохімічними методами, дотримуючись класифікації Бергі. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків виконували згідно з нормативною документацією (Medinform, 2003), використовуючи диско-дифузійний метод. Аналіз антибіотикорезистентності виділених мікроорганізмів та її профілів проводили за допомогою комп'ютерної програми Whonet 5.1.

На першому етапі дослідження здійснили узяття та висів біологічного матеріалу. У пацієнтів відділень хірургічного профілю для бактеріологічного аналізу відбирали такі зразки біологічного матеріалу: відокремлюване

ран, зіву, носа, вух, жіночих статевих органів, уретри та сечу. Основне живильне середовище для висіву біологічного матеріалу – 5% кров'яний агар. Додатково використані селективні живильні середовища: жовтково-сольовий агар, середовище Сабуро та середовище Ендо.

На другому етапі дослідження для ідентифікації мікроорганізмів використовували бактеріоскопічні, бактеріологічні та біохімічні методи. Для ідентифікації мікроорганізмів роду *Staphylococcus* застосовували реакцію на наявність лецитинази, реакцію плазмокоагуляції та реакцію окислення маніту. Для ідентифікації бактерій родини Streptococcaceae визначали характер росту в 0,5% цукровому бульйоні, а для диференціації їх із бактеріями роду *Enterococcus* висівали на жовтково-лужний агар та в молоко з 0,1% метиленового синього. Ідентифікацію бактерій родини Enterobacteriaceae починали з вивчення їх колоній на щільних середовищах, які володіють диференціально-діагностичними властивостями. Підозрілі колонії знімали на комбіноване середовище для первинної ідентифікації (середовище Олькеницького). Для подальшої диференціації вивчали біохімічні ознаки ентеробактерій у мінімальному ряду тестів.

Третій етап дослідження включав визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Для цього використовували диско-дифузійний метод. В основу методу покладена дифузія антибіотика з носія у щільне живильне середовище, де концентрація препарату перевищує мінімальні інгібувальні концентрації та пригнічує ріст досліджуваної культури в цій зоні. Як носій антибіотика використано паперовий диск. Утворення зони пригнічення росту відбувалося в результаті дифузії антибіотика з носія у живильне середовище. Результатом дослідження було віднесення мікроорганізму до однієї з категорій чутливості: чутливий, помірно-стійкий або резистентний. Для отримання антибіотикограми застосовували агар Мюллер – Хінтона (Medinform, 2003).

Результати та їх обговорення

У відділеннях хірургічного профілю комунального закладу «Дніпродзержинська міська лікарня № 7» Дніпропетровської обласної ради із січня по грудень 2012 року досліджено зразки біологічного матеріалу 1464 пацієнтів різного віку. На першому етапі роботи вивчали загальну картину розповсюдження збудників інфекцій серед пацієнтів усіх відділень хірургічного профілю лікарні. На другому етапі роботи детальніше аналізували бакпейзаж окремих відділень і чутливість виділених мікроорганізмів до антибіотиків.

Загальний моніторинг мікроорганізмів показав, що 61% (893 із 1464) виділених штамів склали грампозитивні мікроорганізми. Усі виділені збудники належали до родин Micrococcaceae та Streptococcaceae. Бактерії Micrococcaceae належали до роду *Staphylococcus* – 696 штамів, 78% усіх грампозитивних мікроорганізмів. Тобто переважну роль у розвитку інфекційних захворювань відігравали стафілококи, з яких 477 ідентифіковано як *S. aureus*, що склало 68,5% усіх стафілококів. Значно менше виділено коагулазонегативних стафілококів. Із них *S. haemolyticus* – 192 штами (27,5%), а *S. sapro-*

phyticus та *S. epidermidis* – 24 та 3 штами відповідно (3,4% та 0,3% загальної кількості стафілококів).

Представники родини Streptococcaceae виділені у 197 пацієнтів, 27% загальної кількості грампозитивних мікроорганізмів. Вони представлені двома родами: *Enterococcus* і *Streptococcus*. Виділені ентерококи належали до *E. faecalis* – 130 штамів, 66% загальної кількості стрептококів. У 34% пацієнтів збудниками інфекцій були бактерії роду *Streptococcus*, представлені *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. mitis*, які склали відповідно 22,3%, 8,1% та 3,5% загальної кількості стрептококів (табл. 1).

Грампозитивні умовно-патогенні мікроорганізми – представники родин Enterobacteriaceae та Pseudomonaceae. Переважну більшість у цій групі склали представники родини Enterobacteriaceae – 90,7% (518 із 571). Ентеробактерії представлені значною кількістю родів та видів. Провідне місце серед них посіли штами *E. coli* – 42% (217 із 518). Інші представники родини Enterobacteriaceae представлені бактеріями родів *Citrobacter* (*C. freundii*), *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*), *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*), *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae*). Серед грампозитивних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів представники роду *Pseudomonas* склали 9,3% (53 із 571). Вони належать до *P. aeruginosa*.

При проведенні детального аналізу умовно-патогенної та патогенної мікрофлори у пацієнтів урологічного відділення встановили, що серед збудників інфекцій частіше зустрічаються *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. haemolyticus*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* (див. табл.). У лабораторію надходив матеріал від хворих із такими діагнозами: доброякісна гіперплазія передміхурової залози та сечового міхура (зразки: випіт із черевної порожнини під час операції, мазок із післяопераційної рани та сеча), сечокам'яна хвороба (мазок із рани, сеча), гострі та хронічні захворювання нирок, сечовивідних шляхів і сечового міхура (сеча).

Пацієнти урологічного відділення – чоловіки та жінки різних вікових категорій. Найпроблемніші – чоловіки віком понад 70 років, які мають слабкий імунітет, декілька хронічних хвороб, що спричинює важкий перебіг хвороб і розвиток постхірургічних інфекцій. Для полегшення стану таких хворих, що страждають на порушення відтоку сечі, застосовують катетеризацію та інші інструментальні втручання ще у доопераційний період, що збільшує можливість інфікування сечовивідних шляхів. Часто мікроорганізми виділялися із сечі хворих на сечокам'яну хворобу, яка має хронічний перебіг із регулярними рецидивами. Бактерії, виявлені при даній хворобі, володіли полірезистентністю. Для лікування всіх хворих застосовували тривалу комплексну антибактеріальну терапію зі зміною антибактеріальних препаратів. Наслідком цього була поява у хворих урологічного відділення полірезистентних штамів.

Розповсюдженішим збудником урологічних інфекцій є *E. coli*. Кишкова паличка виявила стійкість до багатьох антибактеріальних препаратів, і лише до імпіпенему всі штами були чутливі. Штами *K. pneumoniae*, які висівають із біологічного матеріалу в урологічному відділенні, мали один із найширших спектрів резистентності у стаціонарі. Чутливість вони зберегли тільки до імпіпенему. Штами *S. haemolyticus* частіше виділяють із матеріалу

від хронічних хворих з інфекцією нирок і сечовивідних шляхів. Майже всі мікроорганізми зберегли чутливість до ванкоміцину, досить високу чутливість до аміноглікозидів, доксицикліну, фторхінолонів. До оксациліну та цефалоспоринів більшість штамів *S. haemolyticus* виявляли резистентність. Представники роду *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae*) володіли високим ступенем резистентності до багатьох антибактеріальних засобів. 100% цих мікроорганізмів виявили чутливість тільки до імipенему (рис. 1). Поширення антибіотикорезистентності мікроорганізмів, виділених у пацієнтів урологічного відділення, можливо, пов'язане з горизонтальним перенесенням генів між представниками різних видів і родів. Це підтверджується тим, що однаково висока резистентність до певних антибактеріальних препаратів спостерігалася у представників різних бактерій.

У бакпейзажі гнійно-септичного відділення превалюють *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *E. aerogenes* (див. табл.). Зразки біологічного матеріалу, що підлягали бактеріологічному дослідженню, – відокремлені ран і гній. Найпоширенішим збудником інфекцій у відділенні був *S. aureus*, що викликав такі гнійні хірургічні патології як фурункульоз, абсцеси, карбункули, флегмони, гідраденіти, панариції, лімфаденіти. Полірезистентних збудників виявляли у знесилених літніх пацієнтів, хворих на тяжкі хронічні захворювання – цукровий діабет та інші порушення обміну речовин, порушення кровообігу в кінцівках, зумовлені тромбозом і варикозним розширенням вен. У таких хворих виникали важкі гнійні ускладнення, рани, що не загоюються, трофічні виразки та гангрені.

Таблиця

Моніторинг мікроорганізмів, виділених у пацієнтів відділень хірургічного профілю м. Дніпродзержинськ протягом 2012 року

Мікроорганізм	Кількість зразків від пацієнтів відділень хірургічного профілю					
	урологічне	гнійно-септичне	гінекологічне	ЛОР (дитяче)	ЛОР (доросле)	дитяче хірургічне
<i>Citrobacter freundii</i>	6	4	3	1	2	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	37	17	3	5	2	0
<i>E. cloacae</i>	26	15	2	1	0	3
<i>Escherichia coli</i>	107	33	38	2	3	33
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	48	15	3	2	3	0
<i>K. oxytoca</i>	24	13	5	2	2	4
<i>Proteus mirabilis</i>	5	9	5	1	5	0
<i>P. vulgaris</i>	12	10	1	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	12	0	7	8	4
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	249	12	61	23	100
<i>S. haemolyticus</i>	40	56	30	30	10	18
<i>S. saprophyticus</i>	3	15	3	0	0	3
<i>S. epidermidis</i>	0	0	1	1	0	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	25	17	14	23	5	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	9	7	4	18	1	5
<i>S. agalactiae</i>	3	5	1	4	1	2
<i>S. mitis</i>	0	0	0	5	2	0

Головним збудником інфекцій у гнійно-септичному відділенні був *S. aureus* (рис. 2). Проте він відрізнявся високою чутливістю до всіх антибіотиків. *S. haemolyticus* володів значно більшим спектром резистентності. 40–50% цих мікроорганізмів стійкі до оксациліну та цефалоспоринів I–III поколінь. Висока чутливість виявлена до аміноглікозидів і фторхінолонів. Серед представників грамнегативних мікроорганізмів з ізолятів від пацієнтів гнійно-септичного відділення частіше за все виділяють *E. coli* (здебільшого у хворих на парапроктит та кісти куприка). Ці мікроорганізми характеризуються високою стійкістю до антибактеріальних препаратів порівняно з грампозитивними мікроорганізмами (рис. 2). Найбільшу стійкість штами *E. coli* виявили до цефалоспоринів, максимальну чутливість – до аміноглікозидів і фторхінолонів. 100% штамів *E. faecalis* були чутливими до доксицикліну та ванкоміцину, висока чутливість спостерігалася до цефалоспоринів і фторхінолонів.

Бакпейзаж гінекологічного відділення представлений *E. coli*, *S. haemolyticus*, *E. faecalis*, *S. aureus* (див. табл.). До відділень потрапляли жінки для оперативного лікування лейоміоми тіла матки, кісти яєчника, опущення та випадіння статевих органів, позаматкової вагітності, діагностичних вишкробів і гострих гнійних запальних

уражень придатків, а також хворі на гострі та хронічні форми запалень статевих органів, вагітні на маленьких термінах. У таких хворих для мікробіологічного дослідження брали зразок відокремленого піхви та мазок із рани у хворих на бартолініт. Найбільшу проблему в плані стійкості до антибіотиків складали ослаблені літні хворі здебільшого з випадінням статевих органів. Із біологічного матеріалу від цих хворих часто виділяли асоціації полірезистентних мікроорганізмів. Також проблемними були хронічні хворі.

Найчастіше зі зразків біологічного матеріалу у хворих гінекологічного відділення виділяли штами *E. coli*. Вони відрізнялись високою чутливістю до аміноглікозидів і фторхінолонів (60–80% чутливих штамів). Досить чутливі вони також до цефалоспоринів (60–70%) (рис. 3).

80% штамів *S. haemolyticus* стійкі до еритроміцину. 40–50% штамів резистентні до норфлоксацину, цефалоспоринів I–III поколінь та оксациліну. Висока чутливість (80–90%) виявлена до аміноглікозидів. Стійких до ванкоміцину штамів не виявлено. Штами *E. faecalis* часто є збудниками хронічних інфекцій у гінекології та володіють широким спектром природної резистентності до антибактеріальних препаратів. Найбільшу чутливість штами виявили до левофлоксацину (88% чутливих шта-

мів) та гентаміцину (80%), найменшу – до цефалексину (26%), еритроміцину та цефазоліну (28%). Збудником гострих запальних процесів статевих органів у жінок часто був *S. aureus*. Більшість його штамів виявили резистентність до оксациліну (44% стійких штамів), ерит-

роміцину (45%) та норфлоксацину (43%). Були чутливими ці штами до цефалоспоринів (60–80% чутливих штамів), аміноглікозидів (80%), лінкоміцину (82%). Стійких до ванкоміцину штамів не виявлено.

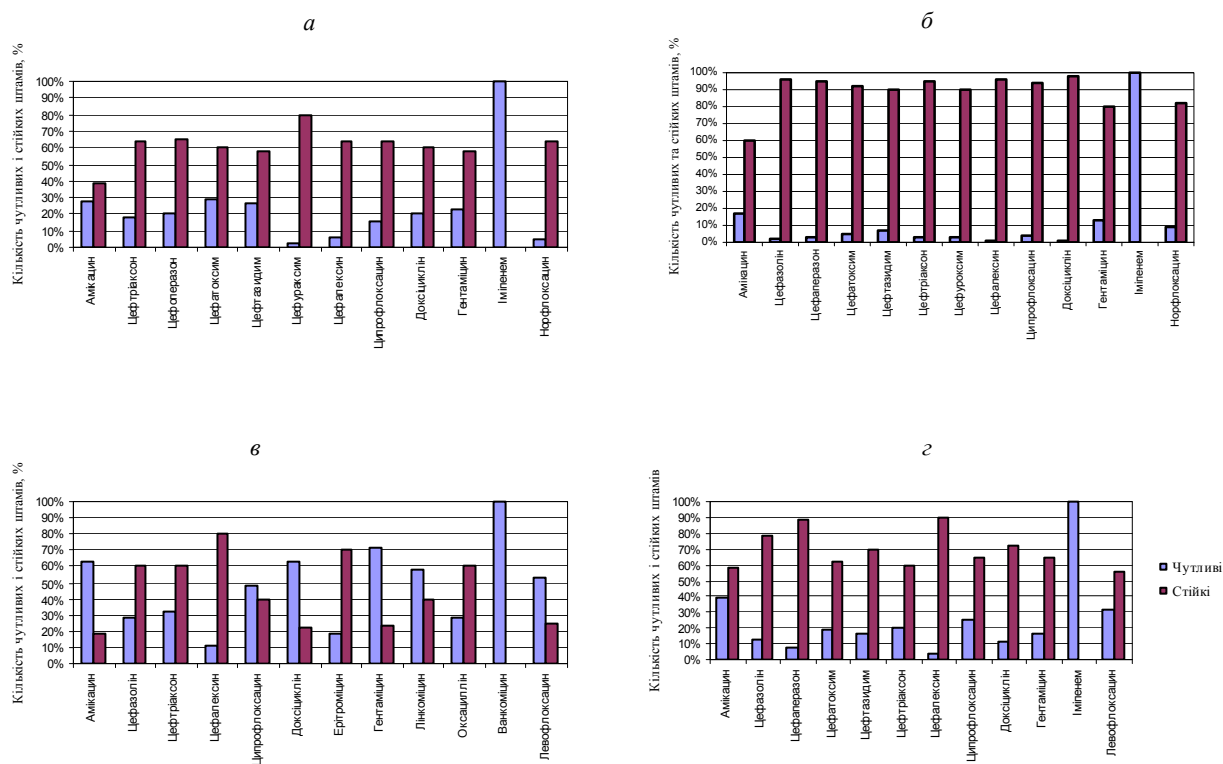


Рис. 1. Чутливість до антибіотиків мікроорганізмів, виділених від пацієнтів урологічного відділення:
а – штамів *E. coli*, б – *K. pneumoniae*, в – *S. haemolyticus*, г – *E. aerogenes*

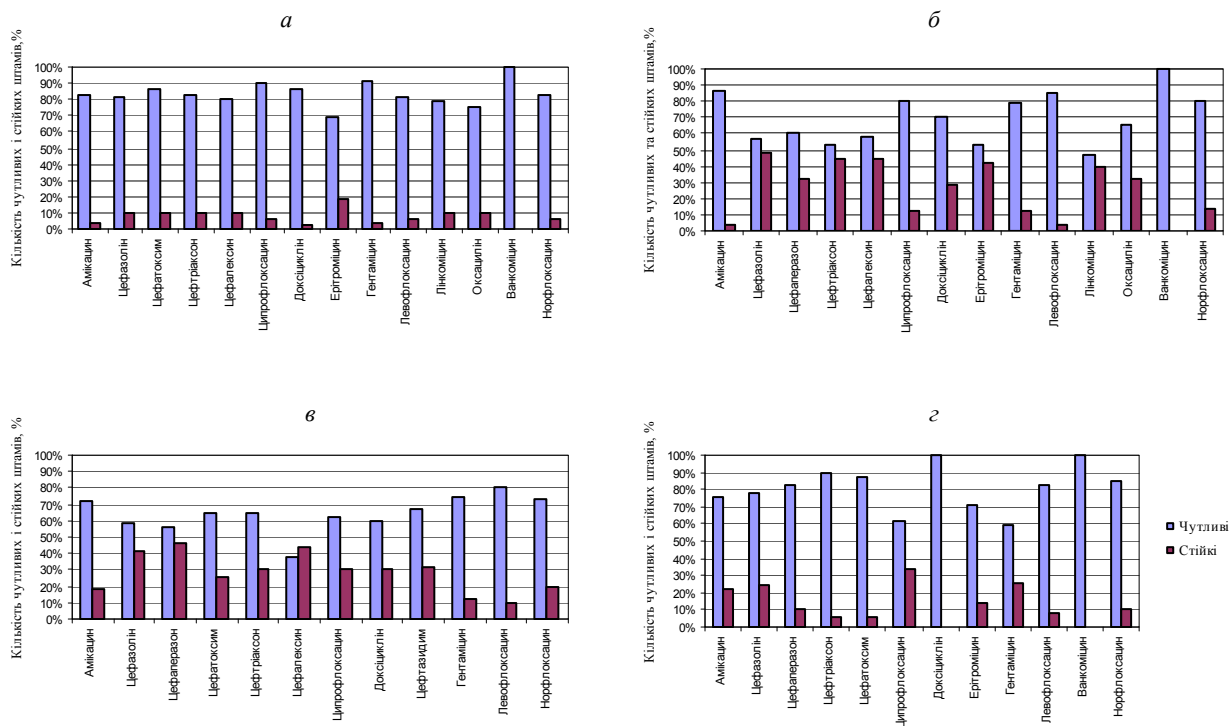


Рис. 2. Чутливість до антибіотиків мікроорганізмів, виділених від пацієнтів гнійно-септичного відділення:
а – *S. aureus*, б – *S. haemolyticus*, в – *E. coli*, г – *E. faecalis*

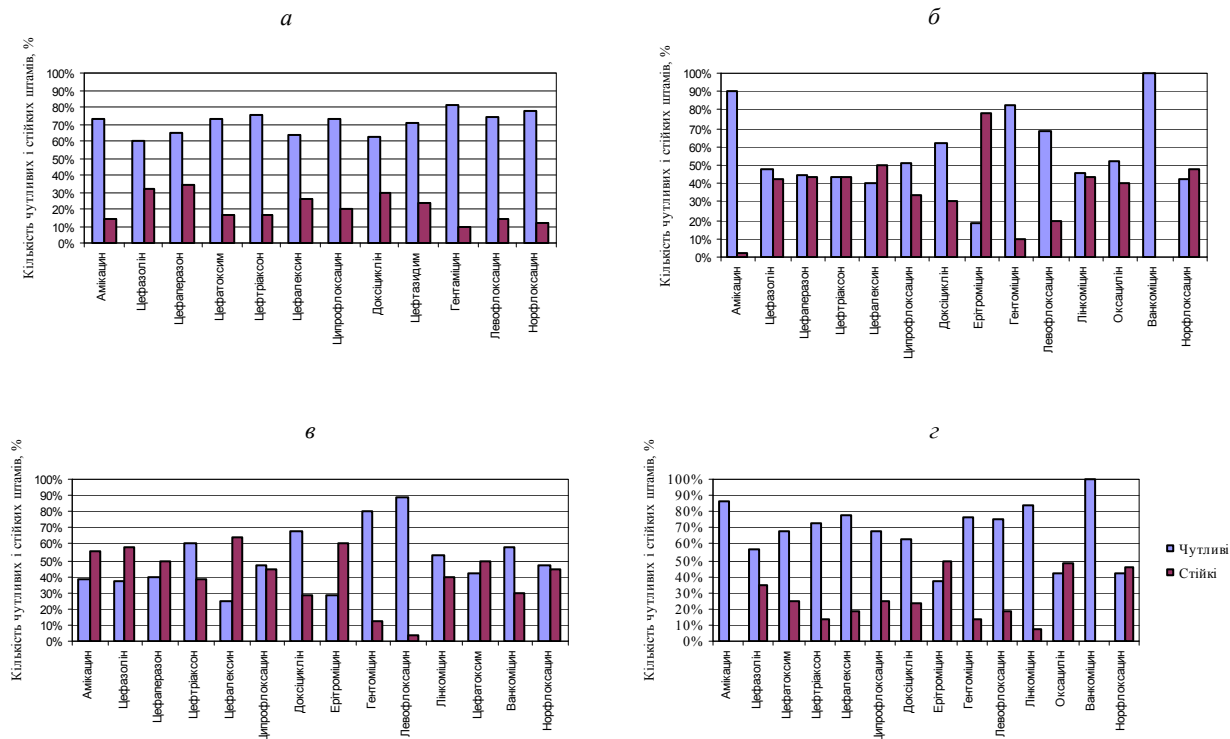


Рис. 3. Чутливість до антибіотиків мікроорганізмів, виділених від пацієнтів гінекологічного відділення:
 а – *E. coli*, б – *S. haemolyticus*, в – *E. faecalis*, г – *S. aureus*

Підбиваючи підсумки, можна сказати, що найчастіше у відділеннях хірургічного профілю стаціонарів зі зразків біологічного матеріалу (у 32% хворих) виділяли штами *S. aureus*. Штами *S. haemolyticus* висівали у 13% хворих, але вони були одними з найпоширеніших збудників інфекцій у всіх відділеннях хірургічного профілю. Резистентність цих штамів до антибіотиків помітно вища, ніж у штамів *S. aureus*. І хоча *S. haemolyticus* – умовно-патогенний коагулазонегативний стафілокок, він висівався зі зразків біологічного матеріалу госпіталізованих хворих не тільки з хронічною, а і гострою інфекцією. Наразі *S. haemolyticus* набув високої патогенності та вірулентності.

Висновки

Із біологічного матеріалу від пацієнтів комунального закладу «Дніпродзержинська міська лікарня № 7» Дніпропетровської обласної ради із січня по грудень 2012 року виділено 1464 штами мікроорганізмів. Грампозитивні мікроорганізми склали 61% (893 ізоляти), грамнегативні – 39% (571 ізолят). Найпоширенішим збудником інфекцій у пацієнтів відділень хірургічного профілю був *Staphylococcus aureus*, виявлений у 477 (32%) пацієнтів.

Аналіз розповсюдження мікроорганізмів у різних відділеннях лікувального закладу показав, що домінуючими збудниками в урологічному відділенні є *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus haemolyticus* та *Enterobacter aerogenes*, у гнійно-септичному – *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, у гінекологічному – *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*.

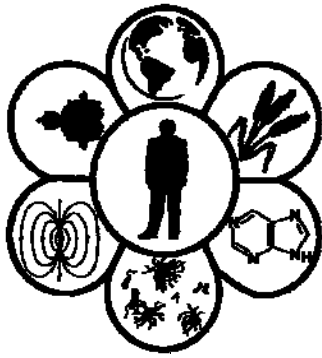
Основна причина появи резистентності – надмірне та неправильне застосування антибіотиків, незважаючи на рекомендації щодо обмеження їх застосування. По-перше – застосування антибіотиків широкого спектра дії як для лікування інфекцій, так і для їх профілактики, а також використання декількох антибіотиків одночасно (комплексна антибіотикотерапія). По-друге – збільшується кількість тяжкохворих і пацієнтів зі слабким імунітетом, сприйнятливих до широкого спектра патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. По-третє – лікарі дуже часто неправильно пояснюють наслідки колонізації. Також важливу роль відіграє порушення санітарно-епідеміологічних правил працівниками стаціонарів.

Бібліографічні посилання

- Aboeela, S.W., Stone, P.W., Larson, E.L., 2007. Effectiveness of bundled behavioural interventions to control healthcare-associated infections: A systematic review of the literature. *J. Hosp. Infect.* 66(2), 101–108.
- Bacteriology. Regulatory, legislative and legal documents, 2003. [Normatyvni, derectyvni, pravovi dokumenti]. Kyiv, Medinform (in Ukrainian).
- Bearman, G.M., Munro, C., Sessler, C.N., Wenzel, R.P., 2006. Infection control and the prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 27(3), 310–324.
- Bertin, M.L., Vinski, J., Schmitt, S., 2006. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a neonatal intensive care unit epidemiologically linked to a healthcare worker with chronic otitis. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 27(6), 581–585.
- Bishop, M.C., 2004. Uncomplicated urinary tract infection. *EAU Update Series.* 2, 143–150.

- Bryskin, B.C., 2000. [Vnutrybolnichnaja infekcija i posleoperacionnije oslozhnenija s pozicii chirurga]. Moscow, Consilium Medicum (in Russian).
- Byloborodov, V. B., Mitrohin, S.D., 2002. *Staphylococcus* infection. Infekcii ta Antybacterialna Terapija 5(1), 45–49 (in Ukrainian).
- Bycov, A.S., Vorobjov, A.A., Pashkov, E.P., 2009. Microbiology and Immunology. Moscow, Academia (in Russian).
- Calzolari, L., Ansoerge, W., Calabrese, E., Denslow, N., Part, P., Lettieri, T., 2007. Transcriptomics and proteomics. Applications to ecotoxicology. Comparative Biochemistry and Physiology 2D(3), 245–249.
- Carrico, R., 2005. APIC Text of Infection Control and Epidemiology. Washington, DC, APIC Press.
- Church, D., Elsayed, S., Reid, O., Winston, B., Lindsay, R., 2006. Burn wound infections. Clin. Microbiol. Rev. 19(2), 403–434.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2003. Update: Outbreak of severe acute respiratory syndrome – worldwide. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 52(13), 269–272.
- DeFranco, D.B., 2002. Navigating steroid hormone receptors through the nuclear compartment. Molecular Endocrinology 16, 1449–1455.
- Deleo, F.R., Otto, M., Kreiswirth, B.N., Chambers, H.F., 2010. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Lancet 375: 1557–1568.
- De Jong, M.D., Tran, T.T., Truong, H.K., Vo, M.H., Smith, G.J., Nguyen, V.C., 2005. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H₅N₁) infection. Engl. J. Med. 353, 2667–2672.
- DiSalvo, H., Haiduven, D., Johnson, N., 2006. Who let the dogs out? Infection control did: Utility of dogs in health care settings and infection control aspects. Am. J. Infect. Control 34(5), 301–307.
- Eertmans, F., Dhooge, W., Stuyvaert, S., Comhaire, F., 2003. Endocrine disruptors: Effects on male fertility and screening tools for their assessment. Toxicology In Vitro 17, 515–524.
- Fanci, R., Pecile, P., Casalone, E., Mengoni, A., Tamburini, E., Guidi, S., 2006. *Pseudomonas aeruginosa* sepsis in stem cell transplantation patients. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 27, 767–770.
- Hien, T.T., de Jong, M., Farrar, J., 2004. Avian influenza – a challenge to global health care structures. N. Engl. J. Med. 351, 2363–2365.
- James, L., Gorwitz, R.J., Jones, R.C., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among healthy full-term newborns. Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed. 93, 40–44.
- John, L.D., 2006. Nosocomial infections and bath water: Any cause for concern? Clin. Nurse Spec. 20, 119–123.
- Johnston, C.P., Cooper, L., Ruby, W., Carroll, K.C., Cosgrove, S.E., Perl, T.M., 2006. Epidemiology of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections among healthcare workers in an outpatient clinic. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 27, 1133–1136.
- Korotaev, A.I., 2008. Medical microbiology. S.Pb, Speclty (in Russian).
- Kramer, A., Schwebke, I., Kampf, G., 2006. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect. Dis. 6, 130.
- Loeffler, J., Stevens, D.A., 2003. Antifungal drug resistance. Clin. Infect. Dis. 36, 31–41.
- Marfin, A.A., Petersen, L.R., Eidson, M., Miller, J., Hadler, J., Farello, C., 2007. ArboNET Cooperative Surveillance Group. Widespread West Nile virus activity, eastern United States. Emerg. Infect. Dis. 7, 730–735.
- McBryde, E.S., Bradley, L.C., Whitby, M., McElwain, D.L., 2004. An investigation of contact transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Hosp. Infect. 58(2), 104–108.
- McGowan, J.E. Jr., 2006. Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum. Am. J. Infect. Control. 34, 29–37.
- Mitrohin, S.N., 2008. [Infekcionnije oslozhnenija v chirurgii: Antibiotikoterapija practica i terapija]. Moscow, Consilium Medicum (in Russian).
- Mitchell, R.J., Gu, M.B., 2004. An *Escherichia coli* biosensor capable of detecting both genotoxic and oxidative damage. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64, 46–52.
- Nadal, A., Alonso-Magdalena, P., Ripoll, C., Fuentes, E., 2005. Disentangling the molecular mechanism of action of natural and environmental estrogens. Pflugers Arch. 449, 335–343.
- NCCLS: Performance standarts antimicrobial susceptibility testing, 2004. Twelfth information supplement. NCCLS document, 100, 14.
- Parvez, S., Venkataraman, C., Mukherji, S., 2006. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. Environmental International 32(2), 265–268.
- Pozdeev, O.K., 2008. Medical Microbiology. Moscow, Geotarmedia (in Russian).
- Pronovost, P., Needham, D., Berenholtz, S., 2006. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. N. Engl. J. Med. 355(26), 272–273.
- Said-Salim, B., Mathema, B., Kreiswirth, B.N., 2007. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging pathogen. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 24, 451–455.
- Schelonka, R.L., Scruggs, S., Nichols, K., Dimmitt, R.A., Carlo, W.A., 2006. Sustained reductions in neonatal nosocomial infection rates following a comprehensive infection control intervention. J. Perinatol. 26(3), 176–179.
- Simon, A., Khurana, K., Wilkesmann, A., 2006. Nosocomial respiratory syncytial virus infection: Impact of prospective surveillance and targeted infection control. Int. J. Hyg. Environ. Health. 209(4), 317–324.
- Stewart, P.S., Costerton, J.W., 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet 358, 135–138.
- Van't Veen, A., van der Zee, A., Nelson, J., Speelberg, B., Kluytmans, J.A., Buiting, A.G., 2005. Outbreak of infection with a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain associated with contaminated roll boards in operating rooms. J. Clin. Microbiol. 43, 4961–4967.
- Vonberg, R.P., Gastmeier, P., 2006. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. J. Hosp. Infect. 63(3), 246–254.
- Warren, J.W., 2010. Catheter-associated urinary tract infection. Int. J. Antimicrob. Agents 45, 299–303.
- Wongworawat, M.D., Jones, S.G., 2007. Influence of rings on the efficacy of hand sanitization and residual bacterial contamination. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 28(3), 351–353.
- Yoon, H.J., Choi, J.Y., Park, Y.S., Kim, C.O., Kim, J.M., Yong, D.E., 2005. Outbreaks of *Serratia marcescens* bacteriuria in a neurosurgical intensive care unit of a tertiary care teaching hospital: A clinical, epidemiologic, and laboratory perspective. Am. J. Infect. Control 33, 595–601.
- Zanetti, G., Blanc, D.S., Federli, I., Raffoul, W., Petignat, C., Maravic, P., 2007. Importation of *Acinetobacter baumannii* into a burn unit: A recurrent outbreak of infection associated with widespread environmental contamination. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 28, 723–725.

Надійшла до редколегії 19.03.2013



УДК 577.115.3+636.92+616.37-036

Вміст неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекції

О.О. Гопаненко, Й.Ф. Рівіс

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН, Львів – Оброшино, Україна

У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту за рахунок насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин ω -7 і ω -9 і поліненасичених жирних кислот родин ω -3 і ω -6 зменшується вміст неестерифікованих жирних кислот. Вміст неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зменшується з боку насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу та мононенасичених жирних кислот родин ω -7 і ω -9. У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, підвищується рівень неестерифікованих поліненасичених жирних кислот (ω -3) та зростає їх відношення до неестерифікованих поліненасичених жирних кислот (ω -6).

Ключові слова: жирнокислотний склад; корекція; плазма крові; печінка; кролі; панкреатит

Content of non-esterified fatty acids in the blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction

O.O. Hopanenko, Y.F. Rivis

Institute of Agriculture in the Carpathian region NAAS, Lviv-Obroshyno, Ukraine

The aim of this work was to study the content of non-esterified fatty acids in plasma and liver of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction by linseed oil. The experiment was carried out on male rabbits breed gray giant with live weight 3.8–4.0 kg. The material for the study was sampled from blood and liver. Lipids from plasma and liver were extracted with a mixture of chloroform and methanol. After that the non-esterified fatty acids were isolated and methylated. Methyl esters of fatty acids were studied by the gas-liquid chromatography with the chromatograph "Chrom 5" (Prague, Czech Republic). We have found that the content of non-esterified fatty acids decreases in the blood plasma and liver of rabbits with the acute arginine pancreatitis. It takes place at the expense of a reduce of saturated fatty acids with odd and even number of carbon atoms in a chain, monounsaturated fatty acids of the families ω -7 and ω -9 and polyunsaturated fatty acids of the families ω -3 and ω -6. That may indicate a greater use of non-esterified fatty acids for energy metabolism and esterification of lipids. We suppose that this is a consequence of the probable increase in content of non-esterified and esterified cholesterol in the rabbits' blood plasma. Those processes provoke the cholesterol deposits in blood vessels and therefore cardiovascular diseases. We tried to influence on the processes by addition of linseed oil to the rabbits diet. We have found that in the linseed oil-fed rabbits the content of non-esterified fatty acids decreases at the expense of saturated fatty acids with odd and even number of carbon atoms in a chain and monounsaturated fatty acids of the families ω -7 and ω -9 in blood plasma and liver of the rabbits with acute arginine pancreatitis. Furthermore the levels of non-esterified polyunsaturated fatty acids of ω -3 family increase in the rabbits' plasma and liver. As this takes place the ratio of non-esterified polyunsaturated fatty acids of ω -3 family to non-esterified polyunsaturated fatty acids of ω -6 family increased. The increase of non-esterified linolenic acid content in the rabbits' blood plasma is apparently a result of a greater intake of linseed oil with food. In turn, the greater intensity of linolenic acid transformation in long-chain and unsaturated derivatives caused the increase of non-esterified docosapentaenoic and docosahexaenoic acids levels. Therefore, feeding with linseed oil led to normalizations of both the effective use of non-esterified fatty acids for energy processes and the level of esterified cholesterol in the blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis.

Keywords: fatty acid composition, blood plasma, liver, rabbits, pancreatitis, correction.

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН, вул. Грушевського, 5, с. Оброшино, 81115, Пустомитівський р-н., Львівська обл., Україна. E-mail: hopanenko@gmail.com

Institute of Agriculture in the Carpathian region NAAS, vul. Grushevskogo, 5, Obroshyno, 81115, Pustomytivs'kyi distr., Lviv region, Ukraine. E-mail: hopanenko@gmail.com

© О.О. Гопаненко, Й.Ф. Рівіс, 2013

Вступ

До факторів захисту підшлункової залози людини та тварин від власного перетравлення відносять: синтез протеолітичних та ліполітичних ензимів у неактивному стані, їх ізоляцію від цитозолу клітини в зимогенних гранулах у процесі дозрівання (Eudoux et al., 2006); специфічність дії активних ліпаз тільки стосовно триацилгліцеролів в емульгованому стані, яких в ацинарних клітинах немає (Homan and Jain, 2001); захист ацинарних клітин від рефлексу панкреатичного соку, можливість його виходу в інтерстиціальний простір і лімфатичні капіляри (Namkung et al., 2004); наявність у крові неспецифічних факторів інактивації протеолітичних ензимів – $\alpha 2$ -макроглобуліну та $\alpha 1$ -антитрипсину (Motta et al., 2011).

Дані літератури вказують на те, що ефекти прозапальних цитокінів в організмі людини та тварин інгібуються певними видами антицитокінів (Rollins et al., 2006). Разом із деякими протизапальними цитокінами згадувані ендогенні антицитокіни складають основу крихкої рівноваги між прозапальними та антизапальними медіаторами.

В основі патогенезу гострого панкреатиту людини та тварин лежить пошкодження підшлункової залози власними ензимами та розвиток синдрому системної запальної відповіді (Singh et al., 2009). Гострий панкреатит у людини та тварин розвивається на тлі жовчнокам'яної хвороби, хронічного отруєння алкоголем (Mayerle et al., 2004), травматичних і опікових ушкоджень (Windsora et al., 1998), хірургічних втручань в органи білопанкреатодуоденальної зони (Büchler et al., 2000), вживання різноманітних ліків і отрут (Eland et al., 2000; Balani and Grendell, 2008), інфекційних і паразитарних захворювань (Economou and Zissis, 2000), пухлинних обструкцій, атеросклеротичних уражень судинної системи (Zhang et al., 2008). Гострий панкреатит у людини та тварин можна змоделювати також хімічно чистими речовинами. Зокрема, L-аргінін, уведений тваринам інтраперитонеально, здатний викликати гострий панкреатит (Naito et al., 2003).

У літературі є лише фрагментарні дані щодо впливу гострого аргінінового панкреатиту на ліпідний обмін в організмі лабораторних тварин. Зокрема, за модельованого гострого аргінінового панкреатиту у крові білих щурів зростає активність ліпази та вміст холестеролу (Pryvosc'ka and Pokotylo, 2011).

Мета цієї роботи – встановити вміст високоактивних у метаболічному відношенні неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекція згодуюваною лляною олією.

Матеріал і методи досліджень

Дослід проведено в умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького на трьох групах (по 5 тварин у кожній) кролів-самців породи Сірий велетень живою масою 3,8–4,0 кг. Кролі контрольної, I та II дослідних груп протягом одного місяця отримували стандартний гранульований комбікорм. Однак за цей період кролі II дослідної групи

щоденно отримували комбікорм із нанесеною на нього лляною олією з розрахунку 1 мл/кг живої маси. Крім того за 5 діб до завершення досліду кролям I та II дослідних груп інтраперитонеально у складі 2 мл фізіологічного розчину одноразово увели L-аргінін у дозі 4 г/кг живої маси. У кінці досліду піддослідні кролі під ефірним наркозом були декапітовані. Матеріалом для досліджень служили зразки крові та печінки.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Ліпіди із плазми крові та печінки виділяли методом екстракції хлороформ-метанольною сумішшю (2 : 1 за об'ємом). Із ліпідів виділяли неетерифіковані жирні кислоти. Останні метилювали метанолом за присутності хлористого ацетилю. Чисті метилові ефіри жирних кислот уводили до випаровувача газорідного хроматографічного апарата (Rivis and Fedoruk, 2010).

Для досліджень метилових ефірів жирних кислот використано газорідний хроматографічний апарат "Chrom-5" (Laboratori pristroye, Praha), який має нержавіючу сталеву колонку довжиною 3700 мм із внутрішнім діаметром 3 мм. Колонку заповнювали Chromaton-N-AW, зернінням 0,120–0,140 мм, силанізованим гексаметилдисилізаном і покритим полідіетиленгліколядіпінатом у кількості 10%.

Ідентифікацію піків на хроматограмі проводили методом розрахунку «вуглецевих чисел», а також використанням хімічно чистих, стандартних гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот. Розрахунок вмісту окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу проводили за формулою, яка включає поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти. Поправкові коефіцієнти знаходили як відношення площ піків (зокрема, висот піків) гептадеканової (внутрішній стандарт) та досліджуваної кислоти за концентрації 1 : 1 та ізотермічного режиму роботи газорідного хроматографічного апарата.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента. Вираховували середні арифметичні величини (M), помилку середнього арифметичного ($\pm m$) та вірогідність різниць між досліджуваними середньоарифметичними величинами (P). Зміни вважали вірогідними за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

У плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, зменшується вміст метаболічно активних неетерифікованих жирних кислот (табл. 1). Це відбувається за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот. Причому вміст насичених жирних кислот у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, зменшується за рахунок жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених – жирних кислот родин $\omega-7$ і $\omega-9$, а поліненасичених – жирних кислот

родин ω -3 та ω -6. При цьому зменшується відношення неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -3 до неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -6 (див. табл. 1). Одночасно у плазмі крові зменшується вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних лінолевої та ліноленової кислот.

Вказані зміни вмісту неетерифікованих насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот у

плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту можуть вказувати на більше їх використання для енергетичних процесів і етерифікації ліпідів. Можна вважати, що це – наслідок вірогідного зростання вмісту неетерифікованого та етерифікованого холестеролу у плазмі їх крові. Такий процес є дуже небажаним, оскільки провокує відкладання холестеролу на стінках кровоносних судин, а отже, і серцево-судинні захворювання.

Таблиця 1

Вміст неетерифікованих жирних кислот у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекція згодовуваною лляною олією (мг/л, $M \pm m$, $n = 5$)

Жирні кислоти та їх код	Інтактні кролі	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом, корегованим згодовуваною лляною олією
Каприлова, 8:0	0,10 ± 0,004	0,07 ± 0,004***	0,07 ± 0,004***
Капринова, 10:0	3,33 ± 3,168	0,12 ± 0,005	0,12 ± 0,005
Лауринова, 12:0	0,29 ± 0,011	0,23 ± 0,009***	0,22 ± 0,009***
Міристинова, 14:0	0,57 ± 0,013	0,49 ± 0,007***	0,50 ± 0,009***
Пентадеканова, 15:0	0,31 ± 0,012	0,30 ± 0,010	0,29 ± 0,009
Пальмітинова, 16:0	5,45 ± 0,128	5,37 ± 0,132	5,33 ± 0,131
Пальмітоолеїнова, 16:1	0,92 ± 0,022	0,81 ± 0,015***	0,82 ± 0,013***
Стеаринова, 18:0	8,66 ± 0,249	8,50 ± 0,250	8,46 ± 0,240
Олеїнова, 18:1	30,33 ± 1,048	25,86 ± 0,378***	26,00 ± 0,379***
Лінолева, 18:2	14,51 ± 0,441	14,06 ± 0,413	14,17 ± 0,429
Ліноленова, 18:3	6,48 ± 0,191	6,38 ± 0,183	7,21 ± 0,059***
Арахінова, 20:0	0,28 ± 0,009	0,26 ± 0,010	0,26 ± 0,012
Ейкозаєнова, 20:1	0,18 ± 0,008	0,14 ± 0,004***	0,14 ± 0,004***
Ейкозациєнова, 20:2	0,26 ± 0,008	0,21 ± 0,007***	0,20 ± 0,007***
Ейкозатриєнова, 20:3	1,82 ± 0,062	1,45 ± 0,060***	1,48 ± 0,035***
Ейкозатетраєнова (арахідонова), 20:4	5,24 ± 0,157	5,26 ± 0,167	5,19 ± 0,154
Ейкозапентаєнова, 20:5	1,60 ± 0,050	1,28 ± 0,056***	1,86 ± 0,020***
Докозациєнова, 22:2	1,10 ± 0,020	1,05 ± 0,009	1,04 ± 0,008*
Докозатриєнова, 22:3	1,18 ± 0,047	1,00 ± 0,013***	1,22 ± 0,046
Докозатетраєнова, 22:4	2,30 ± 0,050	1,97 ± 0,031***	2,01 ± 0,031***
Докозапентаєнова, 22:5	5,24 ± 0,169	4,50 ± 0,059***	5,91 ± 0,056***
Докозагексаєнова, 22:6	5,74 ± 0,092	5,23 ± 0,055***	6,09 ± 0,043***
Загальний вміст жирних кислот	95,91	84,54	88,58
У т. ч. насичені	19,00	15,34	15,24
мононенасичені	31,44	26,81	26,96
поліненасичені	45,47	42,39	46,38
ω -3/ ω -6	0,80	0,77	0,93

Примітка: тут і далі * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$.

За умови згодовування лляної олії в плазмі крові кролів із гострим аргініновим панкреатитом, порівняно з інтактними кролями, також зменшується концентрація неетерифікованих жирних кислот (див. табл. 1). Можна констатувати, що за згодовування лляної олії концентрація неетерифікованих жирних кислот у плазмі крові кролів із гострим аргініновим панкреатитом зменшується за рахунок насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу та мононенасичених жирних кислот родини ω -7 і ω -9. При цьому зростає відношення неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -3 до неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -6 (див. табл. 1). Одночасно у плазмі їх крові не змінюється вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних ліноленової кислоти, але зменшується – лінолевої.

За гострого аргінінового панкреатиту та за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, у печінці кролів, порівняно з інтактними кролями, знижується рівень неетерифікованих жирних

кислот (табл. 2). Із наведеної таблиці видно, що рівень неетерифікованих жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту знижується за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот, а за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, – насичених і мононенасичених жирних кислот.

Рівень неетерифікованих насичених жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, порівняно з інтактними кролями, знижується за рахунок жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених – жирних кислот родини ω -7 і ω -9, а поліненасичених – жирних кислот родини ω -3 і ω -6. При цьому у печінці наведених вище кролів не змінюється відношення неетерифікованих поліненасичених кислот родини ω -3 до неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -6 (див. табл. 2). Одночасно в їх печінці зростає вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних лінолевої та ліноленової кислот.

Вміст неетерифікованих жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекції згодовуваною лляною олією (мг/кг натуральної маси, $M \pm m$, $n = 5$)

Жирні кислоти та їх код	Інтактні кролі	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом	Кролі з гострим аргініновим панкреатитом, корегованим згодовуваною лляною олією
Каприлова, 8:0	2,1 ± 0,09	1,6 ± 0,05***	2,0 ± 0,06
Капринова, 10:0	4,2 ± 0,11	3,7 ± 0,06***	4,1 ± 0,10
Лауринова, 12:0	6,2 ± 0,16	5,5 ± 0,08***	6,1 ± 0,13
Міристинова, 14:0	10,4 ± 0,48	8,7 ± 0,11***	10,1 ± 0,45
Пентадеканова, 15:0	5,2 ± 0,15	4,5 ± 0,10***	5,0 ± 0,09
Пальмітинова, 16:0	57,1 ± 1,76	48,6 ± 0,94***	55,5 ± 1,70
Пальмітоолеїнова, 16:1	9,7 ± 0,19	8,6 ± 0,13***	9,4 ± 0,18
Стеаринова, 18:0	164,6 ± 4,97	142,1 ± 2,42***	140,4 ± 1,92***
Олеїнова, 18:1	316,7 ± 8,81	276,0 ± 4,82***	276,9 ± 4,68***
Лінолева, 18:2	152,3 ± 5,10	131,6 ± 2,52***	145,7 ± 3,42
Ліноленова, 18:3	78,4 ± 2,33	66,3 ± 1,76***	83,1 ± 2,32
Арахінова, 20:0	2,2 ± 0,07	2,0 ± 0,05*	2,0 ± 0,06**
Ейкозаснова, 20:1	1,7 ± 0,04	1,4 ± 0,04***	1,4 ± 0,03***
Ейкозацинова, 20:2	2,2 ± 0,07	2,1 ± 0,07	2,0 ± 0,07
Ейкозатриснова, 20:3	25,4 ± 0,77	22,1 ± 0,36***	21,8 ± 0,36***
Ейкозатетраєнова (арахідонова), 20:4	62,3 ± 1,52	55,9 ± 0,97***	59,7 ± 1,44
Ейкозапентаєнова, 20:5	16,1 ± 0,70	15,6 ± 0,67	17,3 ± 0,68
Докозацинова, 22:2	12,4 ± 0,44	10,1 ± 0,29***	12,0 ± 0,43
Докозатриснова, 22:3	13,7 ± 0,51	13,2 ± 0,37	14,3 ± 0,48
Докозатетраєнова, 22:4	29,5 ± 1,11	28,6 ± 0,95	28,4 ± 0,94
Докозапентаєнова, 22:5	51,4 ± 1,51	45,8 ± 0,56***	52,6 ± 1,62
Докозагексаєнова, 22:6	62,5 ± 1,70	54,2 ± 1,06***	64,1 ± 1,60
Загальний вміст жирних кислот	1086,3	948,1	1013,9
У т. ч. насичені	252,0	216,6	225,2
мононенасичені	328,1	286,0	287,7
поліненасичені	506,2	445,5	501,0
ω -3/ ω -6	0,78	0,78	0,86

Рівень неетерифікованих насичених і мононенасичених жирних кислот у печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, порівняно з інтактними кролями, знижується за рахунок жирних кислот відповідно з парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу та родин ω -7 і ω -9. Одночасно у печінці наведених вище кролів підвищується відношення неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -3 до неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -6 (див. табл. 2). При цьому в їх печінці не змінюється вміст більш довголанцюгових і більш ненасичених похідних лінолевої та ліноленової кислот.

Зменшення концентрації неетерифікованих насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту та за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, може вказувати на більше їх використання на енергетичні потреби та етерифікацію ліпідів. Як відомо, прямо в плазмі крові людини та тварин за допомогою такого ензиму як холестерол-ацилтрансфераза відбувається процес етерифікації холестеролу (Chang et al., 2006). Етерифікований із поліненасиченими жирними кислотами холестерол у печінці, наднирниках і статевих залозах найповніше використовується для синтезу вітаміну D₃, жовчних кислот, кортикостероїдів, андрогенів та естрогенів (Veggechia et al., 2001). У печінці та скелетних м'язах неетерифіковані жирні кислоти ефективно використовуються на енергетичні потреби та етерифікацію ліпідів (Marchetti and Errazu, 2008). У цих відношеннях прояв-

ляється нормалізація згодовуваною лляною олією ліпідного обміну в організмі кролів за гострого аргінінового панкреатиту. Зростання вмісту неетерифікованої ліноленової кислоти у плазмі крові кролів, імовірно, зумовлене більшим її надходженням в організм у складі згодовуваної лляної олії. У свою чергу, збільшення концентрації неетерифікованих докозапентаєнової та докозагексаєнової кислот у плазмі крові кролів за згодовування їм лляної олії викликане більшою інтенсивністю перетворення кормової ліноленової кислоти в її більш довголанцюгові та більш ненасичені похідні.

Висновки

У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту за рахунок насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин ω -7 і ω -9 та поліненасичених жирних кислот родин ω -3 і ω -6 зменшується вміст неетерифікованих жирних кислот.

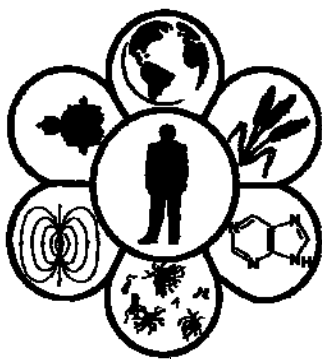
Вміст неетерифікованих жирних кислот у плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною лляною олією, зменшується з боку насичених жирних кислот із парною та непарною кількістю вуглецевих атомів у ланцюгу та мононенасичених жирних кислот родин ω -7 і ω -9. У плазмі крові та печінці цієї групи кролів підвищується рівень неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -3. У плазмі крові та печінці кролів за гострого аргінінового панкреатиту, корегованого згодовуваною

ляною олією, зростає відношення неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -3 до неетерифікованих поліненасичених жирних кислот родини ω -6.

Бібліографічні посилання

- Balani, A.R., Grendell, J.H., 2008. Drug-induced pancreatitis. Incidence, management and prevention. *Drug Safety* 31(10), 823–837.
- Büchler, M.W., Gloor, B., Müller, C.A., Friess, H., Seiler, C.A., Uhl, W., 2000. Acute necrotizing pancreatitis: Treatment strategy according to the status of infection. *Annals of Surgery* 232(5), 619–626.
- Chang, C., Dong, R., Miyazaki, A., Sakashita, N., Zhang, Y., Iu, J., Guo, M., Li, B.L., Chang, T.Y., 2006. Human acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) and its potential as a target for pharmaceutical intervention against atherosclerosis. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* 38(3), 151–156.
- Economou, M., Zissis, M., 2000. Infectious cases of acute pancreatitis. *Annals of Gastroenterology* 13(2), 98–101.
- Eland, I.A., Alvarez, C.H., Stricker, B.H., Rodriguez, L.A., 2000. The risk of acute pancreatitis associated with acid-suppressing drugs. *British Journal of Clinical Pharmacology* 49(5), 473–478.
- Eydoux, C., Aloulou, A., De Caro, J., Grandval, P., Laugier, R., Carrière, F., De Caro, A., 2006. Human pancreatic lipase-related protein 2: Tissue localization along the digestive tract and quantification in pancreatic juice using a specific ELISA. *Biochimica et Biophysica Acta* 1760(10), 1497–1504.
- Homan, R., Jain, M.K., 2001. Biology, pathology, and interfacial enzymology of pancreatic phospholipase A2. Mansbach, C.M. (Eds.), *Intestinal Lipid Metabolism Intestinal Lipid Metabolism*, p. 81–104.
- Marchetti, J.M., Errazu, A.F., 2008. Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. *Biomass and Bioenergy* 32, 892–895.
- Mayerle, J., Simon, P., Lerch, M.M., 2004. Medical treatment of acute pancreatitis. *Gastroenterology Clinics of North America* 33, 855–869.
- Motta, J.-P., Martin, L., Vergnolle, N., 2011. Proteases / antiproteases in inflammatory bowel diseases. Vergnolle, N., Chignard, M. (Eds). *Proteases and Their Receptors in Inflammation*. Springer, 173–215.
- Naito, Z., Ishiwata, T., Lu, Y.P., Teduka, K., Fujii, T., Kawahara, K., Sugisaki, Y., 2003. Transient and ectopic expression of lumican by acinar cells in L-arginine-induced acute pancreatitis. *Experimental and Molecular Pathology* 74(1), 33–39.
- Namkung, W., Han, W., Luo, X., Muallem, S., Cho, K.H., Kim, K.H., Lee, M.G., 2004. Protease-activated receptor 2 exerts local protection and mediates some systemic complications in acute pancreatitis. *Gastroenterology* 126(7), 1844–1859.
- Pryvroc'ka, I.B., Pokotylo, O.S., 2011. Dynamics of pro- and antioxidant balance in acute pancreatitis and its correction [Dynamika pokaznykiv pro- ta antyoksydantnoi' rivnovagy pry gostromu pankreatyti ta i'i' korekcija]. *Eksperymental'na ta Klinichna Fiziologija i Biohimija* 2, 42–47 (in Ukrainian).
- Rivis, J.F., Danylyk, B.B., 1997. Gas chromatographic determination of high molecular weight nonesterified fatty acids in biological material [Gazohromatografichne vyznachennja vysokomolekuljarnyh neeteryfikovanyh zhyrnyh kyslot v biologichnomu materiali]. *Ukrai'ns'kyj Biohimichnyj Zhurnal* 69(1), 79–83 (in Ukrainian).
- Rollins, M.D., Sudarshan, S., Firpo, M.A., Etherington, B.H., Hart, B.J., Jackson, H.H., Jackson, J.D., Emerson, L.L., Yang, D.T., Mulvihill, S.J., Glasgow, R.E., 2006. Anti-inflammatory effects of PPAR- γ agonists directly correlate with PPAR- γ expression during acute pancreatitis. *Journal of Gastrointestinal Surgery* 10(8), 1120–1130.
- Singh, V.K., Wu, B.U., Bollen, T.L., Repas, K., Maurer, R., Morteale, K.J., Banks, P.A., 2009. Early systemic inflammatory response syndrome is associated with severe acute pancreatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 7(11), 1247–1251.
- Verrecchia, F., Sarrouilhe, D., Hervé, J.C., 2001. Nongenomic steroid action: Inhibiting effects on cell-to-cell communication between rat ventricular myocytes. *Experimental and Clinical Cardiology* 6(3), 124–131.
- Windsor, A.C., Kanwara, S., Li, A.G., Barnes, E., Guthrie, J.A., Spark, J.I., Welsh, F., Guillou, P.J., Reynolds, J.V., 1998. Compared with parenteral nutrition, enteral feeding attenuates the acute phase response and improves disease severity in acute pancreatitis. *Gut* 42, 431–435.
- Zhang, X., Qi, R., Xian, X., Wang, Y., Huang, W., Liu, G., 2008. Atherogenesis, pancreatitis and brain dysfunction in LPL deficient mice with severe hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis Suppl.* 9(1), 29.

Надійшла до редколегії 29.01.2013



УДК 577.128

Моделювання деяких біохімічних механізмів розвитку марганцевого гіпермікроелементозу

О.В. Гончаренко, О.О. Коновалова

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна

Розроблено модель оцінки інтегральної реакції організму на екзогенний марганець при рівні впливу, близькому до порогового, що являла собою повторний вплив субтоксичних доз марганцю на організмі, клітинному та мембранному рівнях в організмі білих щурів лінії Вістар. Загальним наслідком дії марганцю є його накопичення в органах за рахунок антагоністичних відношень з усіма двовалентними металами. Марганцевий мікроелементоз спричиняє перерозподіл *Ca*, *Mg*, *Mn*, *Cu*, *Zn*, *Ni*, *Pb* в органах і тканинах, який супроводжується порушенням функціональної активності клітинних мембран: підвищенням сорбційної ємності глікокаліксу до альціанового синього, зростанням спонтанного гемолізу, активацією ПОЛ, порушенням макроергічних властивостей мітохондрій, підвищенням кількості сіалових кислот. Експериментально доведено ефективність корекції порушень елементного обміну в організмі білих щурів, індукованих дією $MnCl_2$ у дозі LD_{50} , за допомогою поліелементного фітокомплексу «Валеотон» і препарату-антагоніста марганцю – «Цинк-пектину», на які отримано патенти.

Ключові слова: марганець; цинк; пектин; мікроелементози; мінеральний обмін

Modeling of some biochemical mechanisms of development of manganese hypermicroelementosis

O.V. Goncharenko, O.O. Konovalova

V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

The aim of this work was to study the mechanisms of action of sub-toxic dose (LD_{50}) of the manganese chloride on cell metabolism in rats' organs and tissues under model conditions. A model of assessment of integral response of an organism to exogenous manganese at exposure levels close to the threshold that was realized as the repeated impact of sub-toxic doses. White Wistar rats aged 3 months were injected intramuscularly with $MnCl_2$ with the metal concentration of 50 mg/kg for 8 days. Effect of exogenous manganese load on the content of macro- and microelements, such as Ca, Mg, Mn, Cu, Zn, and Pb, was studied in liver, heart, spleen, kidneys, muscles and bones of experimental animals the use of C-115-M1 atomic absorption spectrophotometer. Study of enzymes activity and lipid peroxidation products in serum and liver homogenates of experimental animals was conducted on a spectrophotometer Spekord UV/VIS. Hemolysis of red blood cells was determined by the Yacher method. Sorption capacity of the erythrocytes glycoalyx to alcian blue was determined by the Art-sishevsky method. A study of the influence of Mn-load on the functional activity of energy metabolism was performed on a model system of rat liver mitochondria by the polarography. Intake of $MnCl_2$ in a dose of LD_{50} generates weight loss of the rats by 44%, hemoglobin level decrease by 25%, and reduction of the transaminases activity by 40%. That indicates serious disorders in ions homeostasis and metabolic processes. $MnCl_2$ load leads to a significant increase in the content of manganese in all tissues tested: the largest amount was found in the spleen (600% increase), liver (300%) and muscles (240%) as compared with the initial state. Apparently, these organs are depots of manganese. It was established that the introduction of $MnCl_2$ in a dose of LD_{50} causes a redistribution of elements in the body, resulting in a significant reduction in the concentration of magnesium ions in heart, bones, muscles, liver and spleen. It was accompanied by increasing calcium content in liver, heart, muscle, kidneys and bones as well as by disorders of Ca/Mg ratios. $MnCl_2$ causes significant redistribution of the microelements in the rats' organs. It is characterized by a decrease of copper, zinc and nickel contents in almost all studied tissues. The most antagonistic effect of manganese manifested in relation to nickel and copper in heart and spleen. A reduction of zinc content was most pronounced in spleen, while its contents in bones and kidneys almost don't change. The study of the impact of manganese on biochemical parameters of membranes proved for the first time the malfunction of erythrocytes' membranes. It results in increasing sorption capacity of the red blood cells glycoalyx to alcian blue. Using the erythrocyte model we established that manganese cations cause a significant increase in

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, майдан Свободи 4, 61022, Харків, Україна

V.N. Karazin Kharkiv National University, majdan Svobody, 4, 61022, Kharkiv, Ukraine

© О.В. Гончаренко, О.О. Коновалова, 2013

sorption capacity of the red blood cells ($53.4 \pm 1.8\%$) and their osmotic fragility, as evidenced by an increase of spontaneous hemolysis to 42%. The other evidence is the change of surface properties (glycocalyx), which indicated by an increase in the sialic acid content by 60% as compared with the control. The obtained data of the model study of the dynamics of the sorption capacity of erythrocytes glycocalyx to al-cian blue, osmotic resistance of erythrocytes, activation of lipid peroxidation and increased level of sialic acid may be a signal that the primary mechanism of manganese intoxication is a damage of cell (plasma) membranes. The data obtained on a mitochondrial model suggests that $MnCl_2$, acting as an antagonist of magnesium, has the ability to disturb respiration and oxidative phosphorylation that inhibits the energy metabolism of a cell. Mitochondrial oxidation of malate+glutamate was affected by $MnCl_2$ in narrow range concentrations 3–4.5 mM that cause disengagement (3 mM) and complete inhibition (4.5 mM). The effectiveness of manganese intoxicated rats treatment with the poly-elemental phyto-complex "Valeoton" and zinc-pectin (drug-antagonist of manganese) was experimentally proved. Thus, the overall effect of manganese is its accumulation in organs and antagonistic relations to all divalent metals. Experimental results with manganese chloride loading point not only to changes in the concentrations of elements and their redistribution, but also to serious disturbances in regulation of ions homeostasis.

Keywords: manganese; zinc; pectin; microelementosis; mineral metabolism

Вступ

Марганець належить до корисних, життєво необхідних (есенціальних) мікроелементів, активно впливає на процеси обміну білків, жирів, вуглеводів в організмі людини (Avtsyn, 1991; Aghajanian et al., 1998). Як і всі елементи, *Mn* має характерний для нього діапазон безпечної експозиції, який забезпечує оптимальні тканинні концентрації. З іншого боку, у нього є свій токсичний діапазон. В основі біохімічних механізмів елементного обміну в організмі людини лежать властивості синергізму, антагонізму, конкуренції та заміщення, які здійснюються при зміні концентрації елементів навколишнього середовища (Aghajanian et al., 1998; Botle et al., 2004; Skalniy, 2004).

Актуальність даної роботи пов'язана з тим, що попередніми нашими дослідженнями показано існування у ряді областей України підвищеного вмісту цього елемента у воді та ґрунті. Паралельне обстеження дітей, які проживають у цих регіонах, виявило достовірне перевищення ГДК марганцю в їх слині (Goncharenko et al., 2003). Питання про те, як впливає підвищення концентрації *Mn* в організмі людини на стан здоров'я, залишається відкритим. У той же час аналогічні залежності між вмістом *Mn* в навколишньому середовищі та в організмі людей, які проживають у цих регіонах, були виявлені московськими вченими. Відзначено взаємозв'язок між підвищенням концентрації *Mn* у сироватці крові матері та новонародженої дитини (Aghajanian et al., 1998; Skalniy, 2004). У регіонах із підвищеним вмістом *Mn* в навколишньому середовищі спостерігається частіше народження розумово відсталих дітей (Aghajanian et al., 1998; Karowicz-Bilinka et al., 2004). Зазначені дослідження дозволяють висунути припущення, що підвищення вмісту *Mn* у навколишньому середовищі вище ГДК небезпечно для здоров'я людини так само, як і надмірне його отримання з їжею, вітамінами та БАД.

На жаль, у науковій літературі дослідження механізмів токсичної дії підвищених концентрацій *Mn* на організм людини висвітлені недостатньо. Для з'ясування впливу субтоксичних концентрацій марганцю на організм людини проведено модельні дослідження дії субтоксичної дози хлориду марганцю на перерозподіл макро- та мікроелементів в органах і тканинах білих щурів.

Мета роботи полягала в модельному виявленні механізмів дії субтоксичної дози LD_{50} хлориду марганцю на елементний обмін в органах і тканинах білих щурів. Для досягнення цієї мети поставлено такі завдання: з'ясувати вплив хлориду марганцю у дозі LD_{50} на розпо-

діл макро- та мікроелементів в органах і тканинах білих щурів; на еритроцитарній моделі охарактеризувати вплив навантаження $MnCl_2$ у дозі LD_{50} на функціональні особливості клітинних мембран; на мітохондріальній моделі описати вплив навантаження $MnCl_2$ на енергетичний обмін клітин печінки; виявити можливість корекції порушень макро- та мікроелементного обміну в організмі білих щурів, індукованих дією $MnCl_2$ у дозі LD_{50} .

Матеріал і методи досліджень

Досліджували вміст макро- та мікроелементів до та після 8-денного навантаження хлоридом марганцю у дозі LD_{50} у печінці, серці, м'язах, селезінці, нирках, кістках методом атомно-абсорбційної спектроскопії (СП-115-М1 з використанням лампи типу ЛПК). Попередню пробопідготовку зразків органів експериментальних тварин до аналізу проводили за А.А. Єрмаченко та В.М. Єрмаченко. У пробах визначали кількість *Mn*, *Cu*, *Zn*, *Ni*, *Pb*, *Ca* та *Mg* (Tkachuk, 2002).

Біохімічні прояви порушень, індукованих навантаженням хлоридом марганцю, досліджували в крові та печінці (Tkachuk, 2002; Erikson and Aschner, 2003; Ikeda et al., 2000). Вміст гемоглобіну визначали гемоглобінці-амідним методом. У сироватці крові визначали вміст сіалових кислот за реакцією з резорцином, активність ферментів аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ) – методом Райтмана – Френкеля за допомогою стандартних наборів реактивів АТ «Реагент» (Україна). Спонтанний гемоліз реєстрували на ФЕК-3 (543 нм) (Tkachuk, 2002). Інтенсивність ПОЛ у гомогенаті печінки щурів визначали за швидкістю накопичення малонового діальдегіду, вміст ТБК-активних продуктів вимірювали спектрофотометрично. Гемоліз еритроцитів визначали методом Ячера. Вміст білка – методом Лоурі в модифікації Міллера (Tkachuk, 2002). Сорбційну ємність глікокаліксу еритроцитів до альціанового синього визначали методом Арцишевської (Tkachuk, 2002). Дослідження впливу *Mn*-навантаження на функціональну активність енергетичного обміну проводили на модельній системі мітохондрій печінки щурів. Мітохондрії виділяли за допомогою диференційного центрифугування у середовищі 0,3 М сахарози, 2 мМ ЕДТА, 10 мМ Tris-HCl. Дихальні параметри мітохондрій оцінювали за допомогою закритого платинового електрода Кларка в термостатованій кюветі об'ємом 1 мл при +26 °С на полярографі (модель 20, Великобританія).

У таблицях наведено середні значення та середньоквадратичні відхилення. Вибірки порівнювали з контролем із застосуванням критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Вплив навантаження $MnCl_2$ у концентрації ЛД₅₀ на мікроелементний обмін білих щурів

Іонний гомеостаз організму складається з близької взаємодії двох складових: мікроелементів і макроелементів. У даній праці розглядається вплив навантаження $MnCl_2$ у дозі ЛД₅₀ на вміст есенціальних (*Ni, Cu, Zn, Mn*), токсичного мікроелемента (*Pb*) та макроелементів (*Ca* та *Mg*) у різних органах і тканинах білих щурів. При дослідженні навантаження $MnCl_2$ у клітинах і органах щурів спостерігалось збільшення вмісту *Mn* від 120 до 620% (табл. 1). Цей процес супроводжувався значними змінами вмісту міді, цинку, нікелю практично в усіх тканинах і органах. Найменший вміст цинку спостерігався в кістках і нирках.

Спостерігалось достовірне зниження вмісту магнію в усіх органах і тканинах (див. табл. 1). Найменший його вміст відносно вихідного рівня виявлений у м'язах, серці та нирках (1,3, 5,2 та 4,5% відповідно). Концентрація кальцію під впливом марганцевої інтоксикації збільши-

лася в печінці, серці, м'язах, нирках і кістках і зменшилася у селезінці. Узагальнюючи отримані дані, можна зробити висновок, що навантаження хлоридом марганцю індукує антагоністичні відношення до мікроелементів *Zn, Cu, Ni* та макроелемента *Mg* в усіх досліджених тканинах. Щодо макроелемента *Ca*, виявляються як синергетичні відношення (у печінці, серці, нирках, кістках, м'язах), так і антагоністичні (у селезінці). Аналіз отриманих результатів свідчить, що відносно *Mg* марганець є антагоністом, витісняючи його з печінки, селезінки та м'язів. При подальшому надходженні іонів марганцю вміст *Mg* знижується в усіх досліджених тканинах, досягаючи 2–5% вмісту відносно вихідного рівня (див. табл. 1). Порушення вмісту внутрішньоклітинних мікроелементів та їх перерозподіл у зв'язку з явищами синергізму, антагонізму, конкуренції між іонами металів впливає на фізіологічно важливі процеси, може спричинити зрив адаптації та захворювання організму. У цілому, навантаження $MnCl_2$ у дозі ЛД₅₀ викликає перерозподіл мікрота макроелементів у всіх досліджених тканинах і органах щурів.

Таблиця 1

Вміст мікро- та макроелементів (мкг/г) в органах і тканинах щурів після введення $MnCl_2$

Хімічний елемент	Органи	Контроль	$MnCl_2$
Цинк	нирки	7,4 ± 0,09	6,5 ± 0,52
	кістки	15,5 ± 0,32	13,5 ± 0,33
	селезінка	23,9 ± 1,10	2,0 ± 0,00
	м'язи	12,0 ± 0,25	1,5 ± 0,11**
	печінка	22,5 ± 1,56	2,1 ± 0,04
	серце	13,6 ± 0,23	3,4 ± 0,24*
Мідь	нирки	3,7 ± 0,02	1,33 ± 0,046*
	кістки	7,0 ± 0,13	1,03 ± 0,030**
	селезінка	12,1 ± 0,34	5,04 ± 0,008*
	м'язи	4,0 ± 0,09	0,42 ± 0,008**
	печінка	1,2 ± 0,15	0,071 ± 0,060
	серце	7,1 ± 0,03	0,76 ± 0,290*
Нікель	нирки	14,9 ± 0,64	0,75 ± 0,015*
	кістки	19,4 ± 1,43	1,12 ± 0,060
	селезінка	73,5 ± 3,29	1,01 ± 0,023*
	м'язи	12,1 ± 0,48	0,97 ± 0,007*
	печінка	10,2 ± 0,13	1,26 ± 0,081**
	серце	35,0 ± 0,64	0,45 ± 0,013**
Марганець	нирки	5,1 ± 0,39	6,3 ± 0,27*
	кістки	2,8 ± 0,00	5,6 ± 0,10*
	селезінка	0,9 ± 0,09	5,6 ± 0,10*
	м'язи	1,7 ± 0,09	4,1 ± 0,07*
	печінка	1,1 ± 0,01	3,0 ± 0,01**
	серце	3,2 ± 0,03	3,8 ± 0,05*
Кальцій	нирки	3,8 ± 0,2	8,4 ± 0,90**
	кістки	4,7 ± 0,5	249,9 ± 25,8
	селезінка	16,1 ± 6,0	8,0 ± 0,49
	м'язи	3,8 ± 0,4	8,7 ± 0,65**
	печінка	1,4 ± 1,4	7,5 ± 0,85**
	серце	5,5 ± 0,1	7,3 ± 0,66*
Магній	нирки	204 ± 91	9,2 ± 5,0*
	кістки	950 ± 380	41,7 ± 5,0*
	селезінка	1100 ± 360	38,5 ± 37,3*
	м'язи	380 ± 170	4,8 ± 3,0*
	печінка	94 ± 20	13,9 ± 11,8*
	серце	330 ± 64	17,3 ± 9,7**

Примітки: * – значимість розходжень із контролем $P < 0,05$, ** – $P < 0,001$.

Токсичний вплив марганцю на властивості мембранних систем

Вплив марганцевої інтоксикації на мембранні структури клітин оцінювали у модельному дослідженні на еритроцитах щурів, у яких визначали сорбційну ємність глікокаліксу еритроцитів до альціанового синього порівняно з контролем. Інкубація еритроцитів із катіонами

марганцю в концентрації 10^{-7} М $MnCl_2$ викликає достовірне збільшення сорбційної ємності еритроцитів. Цей процес супроводжується збільшенням спонтанного гемолізу, який індукується активацією окислювальних процесів, збільшенням концентрації ТБК активних продуктів, ПОЛ, а також кількості сіалових кислот (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив субтоксичних доз $MnCl_2$ на показники крові щурів

Групи	Сорбційна ємність глікокаліксу еритроцитів, %	Спонтанний гемоліз еритроцитів, %	Вміст сіалових кислот у сироватці крові щурів, ммоль/л	ТБК активні продукти, ммоль МДА/мг білка	Індуковане ПОЛ, ммоль МДА / мг білка
Контроль	47,6 ± 1,9	9,3 ± 2,3	0,117 ± 0,010	0,25 ± 0,04	0,32 ± 0,04
$MnCl_2$	56,7 ± 2,2*	20,0 ± 2,1*	0,193 ± 0,015*	0,51 ± 0,03*	0,59 ± 0,06*

Примітки: * – відмінності між показниками контролю та групи з навантаженням $MnCl_2$, статистично достовірні за $P < 0,05$.

Можна стверджувати, що пошкодження клітинних мембран – результат їх окислювальної деградації, індукованої взаємодією катіонів марганцю з глікокаліксом (гліколіпідами, глікопротеїдами тощо). Це викликає зміни мембранного потенціалу, транспортних можливостей, проникності, порушення рецепторного апарату клітини, а в цілому – порушення її функціональних властивостей. Одержані результати свідчать, що у механізмі токсичної дії катіонів марганцю пошкодження клітинних мембран, а саме їх поверхневих властивостей, відіграє першочергову роль.

Для подальшого вивчення впливу токсичних доз марганцю на стан мембранних систем клітин проведено модельне дослідження впливу катіонів марганцю на функціональну активність ізольованих мітохондрій печінки щурів.

Відомо, що основним місцем утворення енергії в клітині є мітохондрії, в яких здійснюється процес окислювального фосфорилування з утворенням макроергічних фосфатних зв'язків (Ohkawa et al., 1979). Активність цих процесів залежить від роботи ферментів дихальних ланцюгів мітохондрій, в яких іони магнію є активними центрами. Як показано у першому розділі, експериментальне навантаження щурів хлоридом марганцю у дозі LD_{50} зумовлює значне зниження вмісту магнію (див. табл. 1). За нестачі магнію марганець може виконувати цю функцію активації ферментів дихального ланцюга мітохондрій, але комплекс Mn -АДФ має іншу кількість лігандів і якість реакцій фосфорилування (Santamaria, 2008; Miyound et al., 2011).

Для визначення стійкості дихання мітохондрій до $MnCl_2$ проведено титрування та встановлено концентрацію Mn , що інгібує цей процес. Із метою виявлення впливу хлориду марганцю на вільне окислення субстратів мітохондріями, вимірювання проводили за присутності 2,4-ДНФ, тобто в умовах максимальної кінетичної здатності редокс-переносників. Внесення 0,53 мМ $MnCl_2$ після 2,4-ДНФ викликало зміни швидкості поглинання O_2 . Підвищення концентрації $MnCl_2$ до 4 мМ спричинювало різке пригнічення дихання.

Концентрація 1,5 мМ $MnCl_2$ не інгібує фосфорилування АДФ (рис. 1). Максимальний роз'єднувальний ефект досягається при додаванні 3 мМ $MnCl_2$. Концентрація 4,5 мМ $MnCl_2$ супроводжувалась різким зниженням швидкості дихання та повним його інгібуванням після 2–3 хв. Отримані дані свідчать, що хлорид марган-

цю має здатність роз'єднувати дихання й окислювальне фосфорилування. Титрування $MnCl_2$, окислення мітохондріями малату та глутамату показало, що концентрації, які викликають роз'єднання та повне інгібування дихання, знаходяться у вузькому діапазоні – 3,0–4,5 мМ.

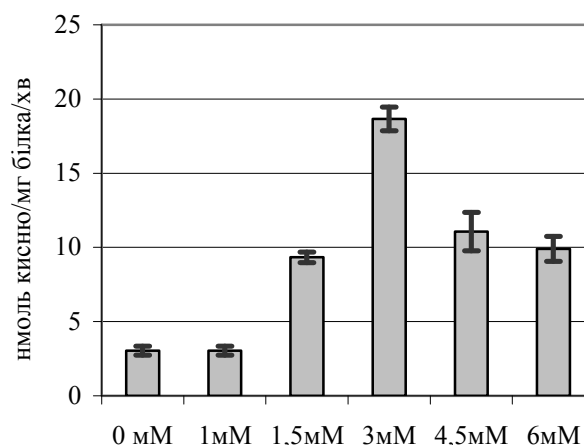


Рис. 1. Вплив різних концентрацій $MnCl_2$ на швидкість дихання ізольованих мітохондрій при окисненні малату та глутамату ($M \pm m$)

Одержані експериментальні результати дозволяють стверджувати, що заміна у ферментах дихальних ланцюгів мітохондрій іонів магнію на іони марганцю знижує ефективність макроенергетичного обміну клітини, що негативно впливає на обмін речовин у цілому. Аналізуючи результати поетапного дослідження впливу $MnCl_2$ на роботу мітохондрій, можна дійти висновку, що поступове підвищення концентрації іонів марганцю в клітині зумовлює порушення активності ферментів дихального ланцюга мітохондрій, зниження ефективності механізмів сполучення процесів окислення та фосфорилування і, відповідно, механізмів накопичення енергії у клітині.

Обговорення

Завдяки механізмам природних і захисних бар'єрів (пониження абсорбції, посилення екстракції) організм підтримує сталість внутрішнього середовища. Іонний гомеостаз є постійно контрольованою складовою

(Skalniy, 2004; Aschner et al., 2005). При цьому важливо враховувати, що концентрація речовин у плазмі крові змінюється тільки при дуже вираженому дефіциті, оскільки цей параметр важливий для виживання та підтримання електролітного балансу.

Надходження хімічних елементів із зовнішнього середовища до внутрішнього за трофічними ланцюгами є системотвірним фактором життєдіяльності та гомеостазу організму. Гостре збільшення концентрації елемента у внутрішньому середовищі організму супроводжується патофізіологічними змінами (Cersosimo and WHO, 2004; Naratake et al., 2005; Koller, 2006; Aschner et al., 2007).

Інтоксикація може настати як унаслідок надлишкового надходження токсичного елемента, так і внаслідок порушення детоксикаційної функції печінки, нирок або шкіри. Тому як об'єкт дослідження марганцевої інтоксикації обрано вміст і перерозподіл іонів у нирках і печінці білих щурів. Оскільки марганець у підвищених концентраціях відповідно до даних (Aghajanian et al., 1998; Skalniy, 2004) знижує *T*-залежну гуморальну імунну відповідь, становить інтерес при *Mn* навантаженні дослідити перерозподіл елементів у селезінці. Вивчення перерозподілу макро- та мікроелементів у серці та м'язах дає відповідь про стан рухової та транспортно-метаболическої систем у реакціях цілісного організму на субтоксичне навантаження хлоридом марганцю, а вмісту в кістках – на стан депонування елементів для збереження іонного гомеостазу (ІОМ, 2001; Zota et al., 2009). Моделювання марганцевого гіперелементозу здійснювали за допомогою системного підходу, із залученням показників, що характеризують функціональний стан реактивності організму білих щурів на органному, клітинному, субклітинному, мембранному рівнях. Досліджували кумуляцію марганцю в нирках, печінці, серці, м'язах, кістках і селезінці.

Згідно з розробками О.В. Скального, макро- та мікроелементи, що беруть участь у регуляції обмінних процесів в організмі людини, поділяються на елементи з низькою, середньою та високою гомеостатичною ємністю (Skalniy, 2004; Whanger, 2004). До накопичення в організмі таких елементів як *Ca*, *Pb*, *As*, тобто елементів із високою гомеостатичною ємністю, слід ставитись як до вторинних станів. На думку О.В. Скального, ці зміни зумовлені дисбалансом елементів із меншою гомеостатичною ємністю (Skalniy, 2004). Базуючись на цьому положенні, можна передбачати, що провідну роль у виявлених порушеннях в експерименті відіграє марганець, а його синергетичні й антагоністичні взаємодії визначають спрямованість розподілів *Ca*, *Mg*, *Zn*, *Cu*, *Ni*, *Pb* у різних органах і тканинах залежно від внутрішньоклітинного його накопичення.

У дослідженні біохімічних механізмів дії надлишку марганцю, уявлялося важливим з'ясування дії даного мікроелемента на структуру та функціональні властивості клітинних мембран. Результати дослідження біохімічних механізмів ушкоджувальної дії субтоксичних концентрацій марганцю спостерігаються через пошкодження (порушення бар'єрно-транспортних властивостей) клітинних мембран. Згідно з отриманими у даній роботі даними, ушкоджувальну дію гіперелементозу марганцю можна навести у вигляді схеми (рис. 2).

Виходячи з отриманих даних, розробили два методи корекції *Mn*-інтоксикації. Першим методом є застосування сиропу «Валеотон», який включає антиоксидантний захист мембранних систем, наявність енергетичних субстратів окиснення та формування нового елементного складу, що блокує прояв антагоністичних властивостей *Mn*. Ефективність дії сиропу «Валеотон» виражалась у зниженні ПОЛ, збільшенні вмісту гемоглобіну, певному збільшенні вмісту *Mg* і *Cu* та ваги тварин порівняно з групами щурів із *Mn*-інтоксикацією (Goncharenko et al., 2003). Другим методом корекції є застосування препарату *Zn*-пектин, який сприяє виведенню надлишку марганцю з організму та нормалізації мінерального обміну. Також *Zn*-пектин здійснює сприятливий вплив на активність трансаміназ та вміст гемоглобіну (Goncharenko et al., 2003).

Висновки

За результатами дослідження вмісту макроелементів (*Ca*, *Mg*) та мікроелементів (*Mn*, *Zn*, *Pb*, *Cu*) виявлено, що при навантаженні хлоридом марганцю у дозі ЛД₅₀ відбулося достовірне підвищення концентрації *Mn* у м'язах, печінці, кістках, нирках, селезінці, серці, зниження вмісту *Mg* та підвищення вмісту *Ca* (у серці, нирках і кістках), а також зниження вмісту мікроелементів (*Cu*, *Zn* та *Ni*).

Виявлено органоспецифічні особливості перерозподілу макро- та мікроелементів, які дозволяють припустити, що селезінка, печінка та м'язи виступають як депо марганцю при марганцевій інтоксикації.

Навантаження хлоридом марганцю у дозі ЛД₅₀ викликає зниження на 44% ваги щурів, на 25% – рівня гемоглобіну, на 40% – активності трансаміназ. Це свідчить про серйозні порушення процесів регуляції іонного гомеостазу та активності метаболічних процесів.

На еритроцитарній моделі встановлено, що катіони марганцю спричинюють достовірне збільшення сорбційної ємності еритроцитів ($53,4 \pm 1,8\%$), їх осмотичної крихкості, про що свідчить збільшення рівня спонтанного гемолізу (до 42%), а також пошкодження поверхневих властивостей (глікокаліксу), про що свідчить збільшення вмісту сіалових кислот (на 60%) порівняно з контролем.

Дані, отримані на мітохондріальній моделі, свідчать, що хлорид марганцю має здатність роз'єднувати дихання та окислювальне фосфорилування, що свідчить про інгібування стану енергетичного обміну клітини. Титрування хлоридом марганцю, окислення мітохондріями малату та глутамату показало, що концентрації, які викликають роз'єднання та повне інгібування, перебувають у вузькому діапазоні (3,0 та 4,5 мМ $MnCl_2$ відповідно).

Експериментально доведено ефективність корекції порушень елементного обміну в організмі білих щурів, індукованих дією $MnCl_2$ у дозі ЛД₅₀, за допомогою поліелементного фітокомплексу «Валеотон» і препарату-антагоніста марганцю – цинк-пектину, на які одержано патенти.

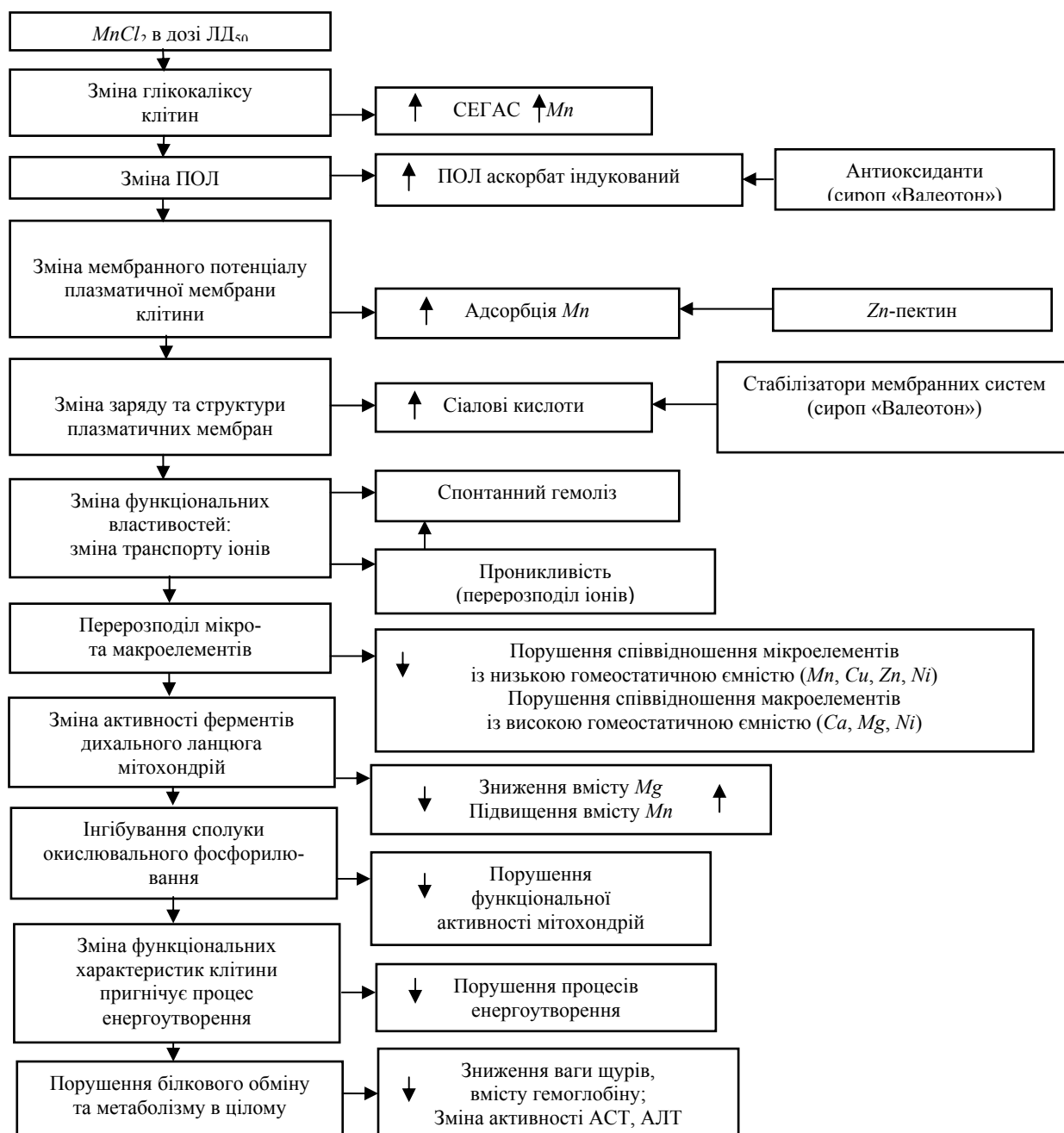


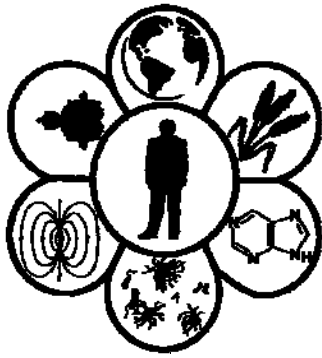
Рис. 2. Послідовність механізмів дії марганцевого гіперелементозу

Бібліографічні посилання

- Aghajanian, N.A., Marachev, A.G., Bobkov, G. A., 1998. Humans environmental physiology [Jekologicheskaja fiziologija cheloveka]. Moscow, Star. (in Russian).
- Aschner, M., Erikson, K.M., Dorman, D.C., 2005. Manganese dosimetry: Species differences and implications for neurotoxicity. *Crit. Rev. Toxicol.* 35, 1–32.
- Aschner, M., Guilarte, T.R., Schneider, J.S., Zheng, W., 2007. Manganese: Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 221, 131–147.
- Avtsyn, A.P., 1991. Humans micronutrients (diagnosis and treatment) [Mikroelementy cheloveka (diagnostika i lechenie)]. Moscow, Medicine (in Russian).
- Botle, S., Normandin, L., Kennedy, G., Zayrd, J., 2004. Human exposure to respirable manganese in outdoor and indoor air in urban and rural areas. *J. Toxicol. Environ. Health* 67, 459–467.
- Cersosimo, M.G., Koller, W.C., 2006. The diagnosis of manganese-induced parkinsonism. *Neurotoxicology* 27(3), 340–346.
- Erikson, K.M., Aschner, M., 2003. Manganese neurotoxicity and glutamate – GABA interaction. *Neurochem. Int.* 43, 475–480.
- Goncharenko, M.S., Konovalova, E.O., Kobzar, N.V., Goncharenko, A.V., 2003. State of mineral metabolism in children from different ecological regions and the ways of its correction [Sostojanie mineral'nogo obmena u detej iz razlichnyh jekologicheskikh rajonov i puti ego korrrekcii]. Collection of scientific works of the XI Intern. Science and tech. Conf. – Berdyansk 2, p. 328–335 (in Russian).
- Haratake, M., Fujimoto, K., Ono, M., Nakayama, M., 2005. Selenium binding to human hemoglobin via selenotrisulfide. *Biochim. Biophys. Acta* 1723, 215–220.
- Ikeda, S., Yamaguchi, Y., Sera, Y., Ohshiro, H., Uchino, S., Yamashita, Y., 2000. Manganese deposition in the globus

- pallidus in patients with biliary atresia. *Transplantation* 69, 2339–2343.
- IOM, 2001. Institute of Medicine. Dietary reference intakes: Vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc. Washington DC, National Academy Press.
- Karowicz-Bilinka, A., Marszalek, M., Kowalska-Koprek, U., Suzin, J., Sieroszewski, P., 2004. Plasma carbonyl group concentration in pregnant women with IUGR treated by L-arginine and acetylsalicylic acid. *Ginekol.* 75(1), 15–20.
- Miyound, Y., Schroeter, J.D., Nong, A., Taylor, M.D., 2011. Physiologically based pharmacokinetic modeling of fetal and neonatal manganese exposure in humans: Describing manganese homeostasis during development. *Life sciences and medicine. Toxicological Sciences* 122, 297–316.
- Ohkawa, H., Ohani, N., Jadi, K., 1979. Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95(2), 351–358.
- Santamaria, A.B., 2008. Manganese exposure, essentiality and toxicity. *Indian J. Med. Res.* 128, 484–500.
- Skalniy, A., 2004. Chemical Elements in the Humans Physiology and Ecology [Himicheskie jelementy v fiziologii i jekologii cheloveka]. Izd. house "Onyx 21" (in Russian).
- Tkachuk, A., 2002. Clinical Biochemistry [Klinicheskaja Biohimija]. Moscow, Geotar-Med (in Russian).
- Whanger, P.D., 2004. Selenium and its relationship to cancer: An update. *Br. J. Nutr.* 91, 11–28.
- WHO, 2004. Manganese and its compounds: Environmental aspect. Geneva, World Health Organization.
- Zota, A.R., Ettinger, A.S., Bouchard, M., 2009. Maternal blood manganese levels and infant birth weight. *Epidemiology* 20(3), 367–373.

Надійшла до редколегії 09.04.2013



Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, medicina

Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, medicine.
2013. 4(1)

ISSN 2310-4155

www.medicine.dp.ua

Зміст

<i>Родінкова В.В.</i> Аеропалінологічний спектр м. Дніпропетровськ як основа профілактики сезонної алергії	3
<i>Рівіс О.Ю., Кривцова М.В., Ніколайчук В.І.</i> Антагоністична активність пробіотиків із бацил до ізолятів бактерій ротової порожнини пацієнтів із пародонтитом	10
<i>Пилип Л.Я., Спіненко Л.О., Зукін В.Д., Білько Н.М.</i> Хромосомні аномалії у чоловіків із різним ступенем порушення сперматогенезу	14
<i>Донець Н.М., Соколова І.Є., Москаленко А.А., Дробіна А.Л., Вінніков А.І.</i> Моніторинг умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів у лікарняних відділеннях хірургічного профілю м. Дніпродзержинськ	23
<i>Гопаненко О.О., Рівіс Й.Ф.</i> Вміст неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові кролів за гострого аргінінового панкреатиту та його корекції	30
<i>Гончаренко О.В., Коновалова О.О.</i> Моделювання деяких біохімічних механізмів розвитку марганцевого гіпермікроелементозу	35

Content

<i>Rodinkova V.V.</i> Airborne pollen spectrum of Dnipropetrovsk city as a basis of hay fever control	3
<i>Rivis O., Kryvtsova M., Nikolajchuk V.</i> Antagonistic activity of <i>Bacillus</i> probiotics against bacteria isolates of oral cavity of patients with periodontitis	10
<i>Pylyp L.Y., Spinenko L.A., Zukin V.D., Bilko N.M.</i> Chromosomal abnormalities in patients with sperm disorders	14
<i>Donets N.N., Sokolova I.E., Moskalenko A.A., Drobina A.L., Vinnikov A.I.</i> Monitoring of opportunistic and pathogenic microorganisms in surgical departments of Dniprodzerzhynsk	23
<i>Hopanenko O.O., Rivis Y.F.</i> Content of non-esterified fatty acids in the blood plasma of rabbits with acute arginine pancreatitis and its correction	30
<i>Goncharenko O.V., Konovalova O.O.</i> Modeling of some biochemical mechanisms of development of manganese hypermicroelementosis	35

Друкується за рішенням вченої ради Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара згідно з планом видань на 2013 рік

Редакційна колегія (Editorial Board)

Голова редакційної колегії (Editor-in-Chief):

Пахомов Олександр Євгенович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, декан ф-ту біології екології та медицини; д-р біол. наук, проф.

Заступники голови редакційної колегії:

McLachlan John A. – Tulane University, School of Medicine, Department of Pharmacology, New Orleans, USA; PhD, Prof.;

Melamed Israel – Soroka University Medical Center, Deputy Chief of Department of Neurosurgery, Beer-Sheva, Israel; MD;

Pierzynowski Stefan G. – Lund University, Dept of Biology, Lund, Sweden; PhD, Prof.

Науковий секретар редакційної колегії:

Бригадиренко Віктор Васильович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, доц. каф. зоології та екології; канд. біол. наук, доц.

Члени редакційної колегії:

Boyko Mathew – Ben Gurion University of the Negev, Faculty of Health Sciences, Beer Sheva, Israel; Dr., Assistant Prof.;

Бачинський Петро Петрович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, проф. каф. клінічної лабораторної діагностики; д-р мед. наук, проф.;

Березницький Яків Соломонович – Дніпропетровська державна медична академія, проф. каф. хірургії № 1; д-р мед. наук, проф.;

Вінніков Альберт Іванович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, завідувач каф. мікробіології, вірусології та біотехнології; д-р біол. наук, проф.;

Гассо Віктор Якович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, завідувач каф. зоології та екології; канд. біол. наук, доц.;

Дюдюк Анатолій Дмитрович – Дніпропетровська державна медична академія, завідувач каф. дерматовенерології; д-р мед. наук, проф.;

Єрошкіна Тетяна Миколаївна – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, проф. каф. клінічної лабораторної діагностики; д-р мед. наук, проф.;

Кременчуцький Геннадій Миколайович – Дніпропетровська державна медична академія, завідувач каф. мікробіології, вірусології, імунології і епідеміології; д-р мед. наук, проф.;

Кулікова Файна Іосифівна – Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова, зав. відділення рентгендіагностики; д-р мед. наук;

Лоскутов Олександр Євгенович – Дніпропетровська державна медична академія, проф. каф. травматології та ортопедії; д-р мед. наук, проф.;

Недзвецкий Віктор Станіславович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, проф. каф. біофізики та біохімії; д-р біол. наук, проф.;

Полішко Тетяна Миколаївна – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, завідувач каф. клінічної лабораторної діагностики; канд. біол. наук, доц.;

Севериновська Олена Вікторівна – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, завідувач каф. фізіології людини та тварин; д-р біол. наук, проф.;

Татаровський Олександр Петрович – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, проф. каф. клінічної лабораторної діагностики; д-р мед. наук, проф.;

Тимчук Сергій Миколайович – Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова, зав. відділення лор-онкології; д-р мед. наук;

Ушакова Галина Олександрівна – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, проф. каф. біофізики та біохімії; д-р біол. наук, проф.;

Штеменко Наталія Іванівна – Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, завідувач каф. біофізики та біохімії; д-р біол. наук, проф.

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія

Заснований у 1993 р.

Випуск 4, том 1

Українською, російською та англійською мовами

Свідоцтво державної реєстрації серія КВ № 7898 від 17.09.2003 р.

Редактор В.Д. Маловик
Оригінал-макет виготовив В.В. Бригадиренко

Підписано до друку 25.04.2013. Формат 60×84 ¹/₈. Папір друкарський. Друк плоский. Ум. друк. арк. 6,3. Ум. фарбовідб. 6,3. Обл.-вид. арк. 13,5. Тираж 100 пр. Вид. № 1547. Замовлене

Свідоцтво державної реєстрації № ДК – 289 від 21.12.2000 р.

Видавництво Дніпропетровського університету,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010