

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(6)

2011 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень
научных изданий Респуб-
лики Беларусь для опубликова-
ния диссертационных иссле-
дований по медицинской и
биологической отраслям науки
(31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Компьютерная верстка
А.А. Гурин

Подписано в печать 22.09.11.
Формат 60×90/8. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 155 экз.
Усл. печ. л. 16,75. Уч.-изд. л. 11,9.
Зак. 938.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 0230/0131895 от 3.01.2007 г.

Отпечатано в Филиале БОРБИЦ
РНИУП «Институт радиологии».
220112, г. Минск,
ул. Шпилевского, 59, помещение 7Н

ISSN 2074-2088

Главный редактор

В.П. Сытый (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Ю.В. Висенберг (к.б.н., отв. секретарь), Н.Г. Власова (к.б.н., доцент), А.В. Величко (к.м.н., доцент), В.М. Дорофеев (к.м.н., доцент), В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), А.В. Коротаев А.В. (к.м.н.), Н.Б. Кривелевич (к.м.н.), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макарович (к.м.н.), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), А.В. Рожко (к.м.н., доцент), Г.Н. Романов (к.м.н.), А.М. Скрябин (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), О.В. Черныш (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.), А.Н. Цуканов (к.м.н.)

Редакционный совет

С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), Я.Э. Кенигсберг (д.б.н., профессор, Минск), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), И.А. Новикова (д.м.н., профессор, Гомель), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), В.П. Ситников (д.м.н., профессор, Гомель), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.П. Филонов (д.м.н., профессор), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), А.Ф. Цыб (д.м.н., академик РАМН, Обнинск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.rcrm.by>
e-mail: mbpr@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр радиационной
медицины и экологии человека», 2011

№ 2(6)

2011

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© *Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology*

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

- Ю.И. Ефремова, Л. Навратил
Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на продукцию цитокинов 6

Медико-биологические проблемы

- А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Э.А. Надыров, Е.В. Пестриков, О.М. Либуркин, А.А. Задорожнюк, Э.А. Повелица, С.М. Мартыненко, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, А.В. Воропаева Статус метилирования промоторных областей 11 генов-супрессоров при злокачественном новообразовании предстательной железы 14

- А.М. Скрябин, Н.Н. Савва, Ю.А. Бельский, А.Н. Матарас Ретроспективная оценка уровня облучения детей в ранние сроки после чернобыльской аварии на примере реальных случаев врожденного лейкоза 20

- А.В. Тарасова, Т.В. Шман Определение репарации двунитевых разрывов ДНК в лимфоцитах крови по накоплению фосфорилированной формы гистона H2AX 28

- В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Т.С. Студеничник, Г.И. Эрм, Н.А. Щурская, А.В. Буйницкая, Е.В. Чернышова, Т.В. Козловская Новый комплексный биологический препарат «Гулливер»: особенности вредного действия на организм 34

Клиническая медицина

- Т.В. Бобр Применение чрескожной электростимуляции в лечении частичной атрофии зрительного нерва сосудистого генеза 42

- А.В. Богданович, В.Н. Шиленок, Л.Н. Кирпиченок Энтеральная дезин-

Reviews and problem articles

- Yul. Efremova, L. Navrátil Effects of low level laser irradiation on cytokine production

Medical-biological problems

- A. Silin, V. Martinkov, E. Nadyrov, E. Pestrikov, O. Liburkin, A. Zadorozhnyuk, E. Povilitsa, S. Martynenko, A. Silina, I. Tropashko, A. Voropayeva DNA methylation status of promoter regions of 11 suppressor genes in malignant neoplasm of prostate

- A.M. Skryabin, N.N. Savva, Yu.A. Belsky, A.N. Mataras Retrospective population-based study of irradiation exposure in infant leukemia cases registered within the early period after Chernobyl accident (reconstruction of the individualized accumulated doses)

- A. Tarasova, T. Shman DNA double-strand breaks repair detection in lymphocytes based on histone H2AX phosphorylation

- V. Shevlaykov, V. Filanyuk, T. Studenichnik, G. Erm, N. Stchurskaya, A. Buinitskaya, E. Chernyshova, T. Kozlovskaya New complex biological product «Gulliver»: peculiar features of harmful effects on the organism

Clinical medicine

- T. Bobr Estimation of transcutaneous electrostimulation application in patients with partial optic nerve atrophy of vascular origin

- A.V. Bogdanovich, V.N. Shilenok, I.N. Kirpichenok Enteral dezintoxica-

токсикация в раннем послеоперационном периоде у больных острой спаечной кишечной непроходимостью	47	tion in early postoperative period in treatment patients with acute adhesive intestinal obstruction	
<i>Н.В. Галиновская, Н.Н. Усова, О.В. Лыщенко, Е.В. Иванашко, В.Я. Латышева</i> Особенности биохимического спектра у лиц с преходящими нарушениями мозгового кровообращения	53	<i>N.V. Galinovskaya, N.N. Usova, O.V. Lyshchenko, E.V. Ivanashko, V.Ja. Latysheva</i> Features of a biochemical spectrum in persons with transient ischaemic attack	
<i>В.И. Григорьев, С.А. Игумнов, И.В. Григорьева</i> Применение ароматихотерапии в системе реабилитации пациентов с артериальной гипертензией	59	<i>V. Grigoryev, S. Igumnov, I. Grigoryeva</i> Application of aromatherapy in rehabilitation of the patients suffering arterial hypertension	
<i>И.А. Давыдова, М.Г. Русаленко</i> Психоэмоциональное состояние и качество жизни пациентов с сахарным диабетом 1 типа	65	<i>I. Davydova, M. Rusalenko</i> Psychoemotional state and quality of life in patients with type 1 diabetes	
<i>И.Г. Деменкова, В.И. Ковалева</i> Генетическая характеристика детей, родители которых подверглись радиационному воздействию в детском и подростковом возрасте вследствие аварии на ЧАЭС	74	<i>I.G. Demenkova, V.I. Kovaleva</i> Genetic characteristic of children whose parents were subject to radiation impact in their childhood or at puberty as a result of the Chernobyl accident	
<i>Н.В. Николаева</i> Прогнозирование возникновения ИБС с помощью математической модели, построенной по результатам дискриминантного анализа	80	<i>N.V. Nikolaeva</i> Prediction of coronary heart disease using a mathematical model, constructed from the results discriminant analysis	
<i>В.М. Мицура</i> Оценка выраженности фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С, роль непрямых маркеров фиброза	87	<i>V.M. Mitsura</i> Assessment of liver fibrosis extent in patients with chronic hepatitis C, role of indirect markers of liver fibrosis	
<i>Г.К. Молдабек</i> Влияние эмоционального фона на качество жизни у больных гипотиреозом	93	<i>G.K. Moldabek</i> Influence of an emotional background on quality of life at patients with hypothyroidism	
<i>Г.Н. Романов, Н.Ф. Чернова, Э.В. Руденко</i> Факторы риска в развитии низкотравматичных переломов у пациентов с нарушением минеральной плотности костной ткани	98	<i>G.N. Romanov, N.F. Chernova, E.V. Rudenko</i> Risk factors in development of fragility fractures at patients with deficit of bone mineral density	
<i>Г.Н. Хованская, Т.А. Новицкая, Н.А. Филина</i> Практическая реализация методики медицинской реабили-		<i>G.N. Hovanskaya, T.A. Novitskaya, N.A. Filina</i> Practical realization of the technique of medical aftertreatment	

тации пациентов с периферическими невропатиями верхних и нижних конечностей	103	of patients with peripheric neuropathies of the upper and lower extremities
<i>Н.П. Шилова, И.А. Байкова, О.В.Курс</i> Психоэмоциональные особенности пациентов с рецидивирующим простым герпесом	108	<i>N.P. Shilova, I.A. Baikova, O.V. Kurs</i> Personal features of patients with recurrent herpes simplex
Обмен опытом		Experience exchange
<i>М.Г. Зубрицкий, М.К. Недзведь</i> Морфологическая диагностика герпетических инфекций при хроническом гастрите у взрослых	114	<i>M.G. Zubritsky, M.K. Nedzvedz</i> Morphological diagnostics of the herpetic infections at chronic gastritis in adults
<i>А.В. Рожко, В.Б. Масыкин, Э.А. Надыров, А.В. Башилов, В.К. Иванов, М.А. Максютков</i> История создания, структура и функции Единого чернобыльского регистра России и Беларуси	122	<i>A.V. Rozhko, V.B. Masyakin, E.A. Nadyrov, A.V. Bashylau, V.K. Ivanov, M.A. Maksutov</i> History of creation, structure and functions of the Common Chernobyl Register of Russia and Belarus

УДК 613.64:612.014.46

В.В. Шевляков¹, В.А. Филонюк²,
Т.С. Студеничник³, Г.И. Эрм³,
Н.А. Щурская³, А.В. Буйницкая³,
Е.В. Чернышова³, Т.В. Козловская³

НОВЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ «ГУЛЛИВЕР»: ОСОБЕННОСТИ ВРЕДНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ

¹ЧУО «Минский институт управления», г. Минск, Беларусь

²Министерство здравоохранения Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь

³ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», г. Минск, Беларусь

Новый комплексный биологический препарат «Гулливвер» на основе смеси культуральной жидкости штамма бактерий *Pseudomonas aureofaciens* А 8-6 и гидрогумата торфа не обладает существенной острой токсичностью при различных путях поступления, раздражающим и ирритативным действием, но проявляет в экспериментах выраженные аллергенные, антигенные и гемотоксические свойства.

Ключевые слова: биологический препарат «Гулливвер», токсические, раздражающие, сенсibiliзирующие, иммуномодулирующие и гемотоксические свойства

Введение

Биологический препарат «Гулливвер» (далее – БПГ) разработан в научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики Белорусского государственного университета на основе смеси культуральной жидкости штамма бактерий *Pseudomonas aureofaciens* (*Ps.a.*) А 8-6 (КМБУ 5498) и гидрогумата торфа. БПГ предназначен для биологической защиты растений от фитопатогенных грибов и бактерий, стимулирования роста и развития сельскохозяйственных культур. Используется путем обработки вегетативных растений и полива под корни растений с нормой расхода до 40 дм³/га.

Препарат представляет собой смесь в соотношении 95:5 культуральной жидкости с содержанием не менее 1×10^9 КОЕ/см³ бактериальных клеток *Ps.a.* и стимулятора роста растений гидрогумата торфа.

Штамм *Ps.a.* является природным почвенным микроорганизмом, депонирован в коллекции научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики Белорусского государственного университета под номером КМБУ 5498. Представлен бактериальными грамтрицательными палоч-

ками с округленными концами, размером 0,6×2-3 мкм, микробные клетки обладают 2-4 монополярно расположенными жгутиками, спор и капсул не образуют. Облигатный аэроб, оптимум рН среды культивирования 6,8-7,3 при температуре 28-30°C.

На минеральной среде штамм продуцирует желто-оранжевый пигмент. Колонии на агаризованных питательных средах (М9, МПА) желтовато-оранжевого цвета, однородные, гладкие, круглые, плоские с ровными краями, размером 2-3 мм.

В качестве источников азота бактерии *Ps.a.* способны утилизировать соли аммония, мочевины и нитраты, колонизировать ризосферу и вегетативные органы растения, что определяет их выраженную способность стимулировать рост и развитие сельскохозяйственных растений. Штамм бактерий синтезирует антибиотические вещества различной природы (фенозиновых и др.).

Гидрогумат торфа – регулятор роста растений – производится согласно ТУ РБ 03535026.285-97. Представляет собой продукт двухступенчатого кислотно-щелочного гидролиза торфа низменной травяно-древесной и верховой травяно-моховой групп со степенью разложения не ниже 20% и зольности не более 12%.

Обладает ростостимулирующими, адаптогенными и протекторными свойствами, усиливает иммунитет растений к неблагоприятным факторам окружающей среды, обеспечивает питание растений азотом в течение всего периода вегетации. Безвреден для человека, животных, водной фауны, полезных насекомых и почвенных микроорганизмов, не фитопатогенен. ПДК в воздухе рабочей зоны 5 мг/м³, аэрозоль, IV класс опасности.

Целью настоящих исследований явилось изучение токсических, сенсибилизирующих, иммунотоксических и гемотоксических свойств штамма *Ps.a.* и оценка степени вредности нового комплексного биологического препарата «Гулливер», обоснование необходимых мер профилактики его вредного действия на организм работников при производстве и применении.

Общепринятые в токсиколого-гигиенической практике токсикологические, гематологические, биохимические, иммуноаллергологические исследования, статистическая обработка данных, полученных в эксперименте с использованием 102 белых крыс, 132 белых мышей, выполнены в соответствии с [1-12].

Материал и методы исследования

Согласно санитарному законодательству, все новые вещества, в том числе биологической природы, перед опытно-

промышленным производством и применением должны подвергаться токсиколого-гигиеническим исследованиям в объеме первичной токсикологической оценки для обоснования мер безопасности для здоровья работающих [1].

Результаты исследования

Однократное интраназальное, внутрибрюшинное и внутрижелудочное введение белым крысам и мышам бактериального штамма *Ps.a.* в максимально возможных дозах и концентрациях не приводило к гибели опытных животных и существенным клиническим проявлениям интоксикации. Среднесмертельная доза (DL₅₀) при внутрижелудочном введении бактерий белым крысам составила более 1,51×10¹⁰ м.кл./кг, а при внутрибрюшинном введении белым мышам – более 2,3×10¹⁰ м.кл./кг, что определяет отнесение данного штамма к IV классу опасности (таблица 1).

В условиях однократного интраназального и внутрижелудочного введения нативного препарата БПГ белым крысам и мышам в максимально возможных дозах также не установлено гибели животных опытных групп (таблица 2), они оставались активными, охотно поедали корм и имели гладкий шерстяной покров, поведение, реакция на внешние раздражители их не отличались от таковых у животных контрольных групп. Ориентировочная средне-

Таблица 1 – Параметры вирулентности, токсигенности и токсичности штамма бактерий *Ps.a.*

Вид и количество животных (средняя масса животных опытной группы)	Способ введения	Доза, кл./жив.	Критерии эффектов		Оценка действия, DL ₅₀ , м.кл./кг
			Гибель	Клиника	
Бел. крысы – 6 оп.+6 к.	Интран. по 0,1 см ³	1×10 ⁸	0/6	н.о.	Отсутствует
Бел. мыши – 6 оп.+6 к.	Интран. по 0,02 см ³	2×10 ⁷	0/6	н.о.	Отсутствует
Бел. крысы – 6 оп.+6 к. (198,7 г)	В/ж по 3 см ³	3×10 ⁹	0/6	н.о.	>1,51 × 10 ¹⁰
Бел. мыши – 8 оп.+6 к. (21,75 г)	В/бр. по 0,5 см ³	5×10 ⁸	0/8	адинамия	>2,3 × 10 ¹⁰
Бел. мыши – 6 оп.+6 к. (22,45 г)	П/к. по 0,5 см ³ в заднюю лапу фильтра	5×10 ⁸	0/6	н.о.	Токсигенность – отсутствует
Бел. мыши – 6 оп.+6 к. (23,1 г)	В/бр. по 0,5 см ³ убитой культуры	5×10 ⁸	0/6	н.о.	Токсичность – отсутствует

Примечание: н.о. – не обнаружено.

Таблица 2 – Параметры вирулентности, токсигенности и токсичности БПГ

Вид и количество животных (средняя масса животных опытной группы)	Способ введения	Доза, м.кл./жив.	Критерии эффектов		Оценка действия, DL ₅₀ , м.кл./кг
			Гибель	Клиника	
Бел. крысы – 6 оп.+6 к. Бел. мыши – 6 оп.+6 к.	Интран. по 0,1 см ³ Интран. по 0,02см ³	1×10 ⁸ 2×10 ⁷	0/6 0/6	н.о. н.о.	Отсутств. Отсутств.
Бел. крысы – 6 оп.+6 к. (187,6 г)	В/ж по 3 см ³	3×10 ⁹	0/6/	н.о.	>1,6 × 10 ¹⁰
Б.м.* – 6 оп.+6 к.(33,75 г) Б.м.– 6 оп.+6 к.(21,25 г) Б.м.– 6 оп.+6 к.(23,75 г)	В/бр. по 0,5 см ³ В/бр. по 1,0 см ³ В/бр. по 1,0 см ³	5×10 ⁸ 5×10 ⁷ 5×10 ⁶	5/8 7/8 0/8	адинамия адинамия н.о.	1,48 × 10 ¹⁰ 2,36 × 10 ⁹ >2,1 × 10 ⁸
Бел. мыши – 6 оп.+6 к. (22,7 г)	П/кож. по 0,5 см ³ в заднюю лапу фильтрага	5×10 ⁸	0/6	н.о.	Токсигенность – отсутствует
Бел. мыши – 6 оп.+6 к. (22,4 г)	В/бр. по 0,5 см ³ убитой культуры	5×10 ⁸	0/6	н.о.	Токсичность – отсутствует

Примечание: н.о. – не обнаружено, * б.м. – белые мыши.

смертельная доза при внутрижелудочном введении нативного БПГ белым крысам – более $1,6 \times 10^{10}$ м.кл./кг (IV класс опасности), что совпадает с таковой на бактериальный штамм.

При внутрибрюшинном введении белым мышам БПГ в максимальной дозе по $5,0 \times 10^8$ м.кл./жив. ($1,48 \times 10^{10}$ м.кл./кг) патогенное действие проявлялось гибелью 5 из 8 животных опытной группы (62,5%). При десятикратном снижении вводимой дозы ($2,36 \times 10^9$ м.кл./кг) в течение первых суток погибло 87,5% опытных мышей, а аналогичное введение нативного препарата БПГ внутрибрюшинно белым мышам в дозе по 5×10^6 м.кл./жив. ($2,1 \times 10^8$ м.кл./кг) сопровождалось только кратковременной (в течение 3-4 ч) клиникой интоксикации (адинамия, отказ от пищи) без летальных исходов. Ориентировочная среднесмертельная доза БПГ при внутрибрюшинном введении для мышей составляет более $2,1 \times 10^8$ м.кл./кг, что позволяет отнести препарат к IV классу опасности.

Следовательно, БПГ проявляет патогенность только в максимально возможных дозах при внутрибрюшинном введении, что, вероятно, обусловлено потенцирующим характером комбинированного вредного действия исходных компонентов препарата.

Подкожное введение в лапу белым мышам фильтрага культуральной жидкости

бактерий *Ps.a.* и БПГ в дозе по 0,5 см³/жив. не приводило к гибели животных опытных групп, величина отека и время его регрессии не отличались от контроля при отсутствии некроза кожи, что свидетельствует об отсутствии как у бактериального штамма *Ps.a.*, так и препарата БПГ существенных способностей выделять экзотоксины, т.е. токсигенных свойств.

Внутрибрюшинное введение белым мышам убитой нагреванием микробной культуры *Ps.a.* и БПГ в дозе по 0,5 см³ (5×10^8 м.кл./см³) не приводило к гибели животных опытных групп, при этом видимых признаков интоксикации не выявлено.

Это свидетельствует об отсутствии у штамма бактерий *Ps.a.* и БПГ существенной вирулентности (IV класс опасности), а также токсигенности (способности выделять экзотоксины) и токсичности (патогенности эндотоксинов).

При однократных четырехчасовых аппликациях нативного препарата БПГ на выстриженные участки кожи спины белых крыс в объеме 0,32 см³/16 см² (в дозе $3,3 \times 10^8$ м.кл./жив.) не выявлено видимых признаков интоксикации и гибели животных на протяжении всего периода наблюдения. Явления раздражения и воспаления кожных покровов на местах аппликаций (гиперемия, сухость, отек и др.) не обнаружены, что подтверждается данными ин-

струментального исследования толщины кожной складки на опытных участках кожи белых крыс через 16 часов после воздействия, не имевших значимых различий с толщиной кожной складки на контрольных «кошках».

Инстилляцией 50 мкл нативного препарата БПГ в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов сразу после внесения вызывала у отдельных животных кратковременный рефлекторный блефароспазм и слезотечение, проходящие спустя 1 час наблюдения. В последующий период наблюдения изменений со стороны конъюнктивы и других структур глаза не отмечено.

Следовательно, изучаемый БПГ не проявляет раздражающих кожу и слизистые оболочки свойств.

Выявление сенсибилизирующего действия проводилось на шестые сутки опыта интраназального введения белым крысам БПГ в дозе по $0,1 \text{ см}^3$ ($1,0 \times 10^8$ м.кл./жив.) провокационным тестом опухания лапы (ВТОЛ) путем внутрикожного введения опытным и контрольным животным в апоневроз коллатеральных задних лап МПА в дозе по $1,2 \times 10^6$ м.кл./жив. в объеме $0,06 \text{ см}^3$.

Результатами исследований установлено (таблица 3), что БПГ при пятикратном введении вызывал развитие у 5 из 12 опытных животных слабую реакцию гиперчув-

ствительности замедленного типа (ГЗТ), что регистрировалось по полуторократному возрастанию абсолютного показателя и относительной величине ВТОЛ в баллах, которая превышала таковую в контроле в 5,2 раза, разница в опытной и контрольной группах имела статистическую значимость по критерию t Стьюдента ($p < 0,05$), а по критерию « χ » (2,61) существенных различий не установлено.

Частота положительных провокационных кожных реакций у менее половины опытных животных (41,7%) при существенной значимости различий относительного показателя ВТОЛ в контроле и опыте по критерию t Стьюдента и отсутствие по критерию « χ » свидетельствуют об умеренной выраженности сенсибилизирующей способности препарата «Гулливер» (3 класс алергенной активности).

Иммунотоксическое действие может проявляться аллергизацией, иммунизацией и неспецифической иммуномодуляцией организма. Поэтому в хроническом ингаляционном эксперименте (после месячного воздействия в концентрации БПГ на уровне $3,24 \times 10^9$ м.кл./м³) изучены все три возможных иммунотоксических эффекта.

После завершения месячного ингаляционного эксперимента у белых крыс определяли по ВТОЛ возможное развитие ГЗТ (клеточноопосредованный тип) и ГНТ (активная кожная анафилаксия).

Длительное ингаляционное воздействие БПГ сопровождалось индукцией у опытных животных весьма значимой активной кожной анафилаксии (таблица 4), т.к. абсолютные (на 203,6%, $p < 0,001$) и относительные уровни ВТОЛ (на 310,4%, $p < 0,001$) у белых крыс опытной группы были существенно выше, чем у животных контрольной группы.

В то же время, реактивные антитела в сыворотке крови опытных животных

Таблица 3 – Показатели выявления гиперчувствительности замедленного типа у белых крыс после недельного интраназального воздействия препаратом «Гулливер»

Показатель	Ед. изм.	Группы сравнения, $M \pm m$	
		Контроль (n=12)	Опыт – БПГ (n=12)
ВТОЛ через 24 ч после в/к тестирования:			
- абсолютные величины	10^{-2} мм	$5,83 \pm 1,19$	$9,17 \pm 1,17^0$
	тк	–	2,0
	Н	1/12	5/12
- относительные величины	Балл	$0,08 \pm 0,08$	$0,42 \pm 0,15^*$
	тк	–	2,10
	«X»	–	2,61

Примечание: Н – числитель – количество животных с положительными (сверхнормативными) результатами, знаменатель – всего в опыте. * – значимые различия с контролем при $p < 0,05$, ** – значимые различия с контролем при $p < 0,01$, ⁰ – тенденция к различиям с контролем при $p < 0,1$.

по РДТК выявлялись в довольно низком титре со средним уровнем, одинаковым с контрольным ($p > 0,05$), вероятно, в результате потребления антител а аллергической реакции, что свидетельствует о развитии у опытных животных выраженного аллергического процесса немедленного анафилактического типа (таблица 4). Различий в абсолютном количестве базофилов крови в опыте и контроле не установлено.

О развитии выраженной ГЗТ у опытных животных после месячного воздействия препарата свидетельствуют более высокие уровни абсолютного (на 533,6%, $p < 0,001$) и относительного показателей ВТОЛ, который возрастал в опыте через 24 часа после внутрикожной провокационной пробы в 83 раза по сравнению с контролем ($p < 0,001$).

Подтверждением формирования у животных опытной группы сенсibilизации сме-

шанного типа является возрастание специфической реакции НСТ-теста гранулоцитов: количество образующегося формазана в клетках в результате его восстановления кислородными метаболитами при стимуляции гранулоцитов препаратом увеличилось по сравнению со спонтанным уровнем НСТ-теста (на 111,6%, $p < 0,1$). Это свидетельствует о специфической активации в гранулоцитах кислородного метаболизма и о специфическом гипериммунном ответе гранулоцитов крови.

У белых крыс, подвергшихся ингаляционному воздействию БПГ, уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови незначительно превышал таковой у контрольных животных.

У животных опытной группы отмечались статистическая тенденция к повышению уровня реакции специфического лейколизиса ($p < 0,1$) и незначительное по-

вышение комплементарной активности сыворотки крови ($p > 0,05$) по сравнению с контролем, что свидетельствует о весьма слабой активации механизмов алергизации по комплементзависимому цитотоксическому типу реакции.

Определение антигенности препарата БПГ осуществляли по оценке его влияния на фагоцитарную функциональную активность гранулоцитов крови по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тесту).

Данные таблицы 4 свидетельствуют, что ингаляционное воздействие БПГ вызывало у животных значительное (в 2,6

Таблица 4 – Иммуноаллергологические показатели белых крыс после месячного ингаляционного воздействия БПГ

Показатели	Ед. изм.	Группы сравнения, $M \pm m$	
		Контроль (n=12)	Опыт – БПГ (n=12)
ВТОЛ:			
- Активная кожная анафилаксия (через 1 час)	10^{-2} мм Н Балл	$12,7 \pm 1,69$ 7/12 $0,67 \pm 0,19$	$25,8 \pm 2,54^{***}$ 11/12 $2,08 \pm 0,29^{***}$
- ГЗТ (через 24 часа)	10^{-2} мм Н Балл	$2,83 \pm 0,91$ 0/12 0	$15,1 \pm 2,06^{***}$ 8/12 $0,83 \pm 0,21^{***}$
РСЛЛ	%	$12,7 \pm 0,77$	$14,9 \pm 1,01^0$
РСНСТ:			
- % возраст. к контролю	%	$34,7 \pm 5,70$	$30,8 \pm 7,00$
- индекс стимуляции	усл. ед	$1,03 \pm 0,40$	$1,15 \pm 0,36^0$
РДТК	%	$0,20 \pm 0,02$	$0,20 \pm 0,08$
Абсолютное количество базофилов	в мм ³	$2,80 \pm 1,30$	$2,50 \pm 1,02$
Активность комплемента сыворотки крови	усл. ед.	$98,5 \pm 1,77$	$103,2 \pm 2,35$
ЦИК сыворотки крови	усл. ед.	$57,4 \pm 3,26$	$59,6 \pm 2,79$
НСТ-тест			
- Спонтанный: возр. к контр.	%	$30,6 \pm 6,12$	$13,9 \pm 4,69^*$
- Зн-стимулир.: возр. к контр.	%	$604,8 \pm 47,7$	$300,5 \pm 35,5^{***}$
- индекс стимул.	ед.	$5,40 \pm 0,25$	$3,50 \pm 0,32^{***}$
Величина фагоцитарного резерва	%	$574,2 \pm 43,7$	$286,6 \pm 34,7^{***}$
Лизоцим сыворотки крови	%	$64,2 \pm 1,68$	$66,5 \pm 0,77$
БАСК	%	$76,5 \pm 2,03$	$82,1 \pm 2,15^*$
Т-лимфоциты	%	$21,8 \pm 2,13$	$19,8 \pm 1,72$
	$10^9/л$	$1,75 \pm 0,28$	$1,53 \pm 0,21$

Примечание: Обозначения см. таблицу 3.

раза) снижение спонтанного уровня генерации фагоцитами супероксидных радикалов по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При стимуляции гранулоцитов известным активатором НСТ-теста опсонизированным зимозаном определялось двукратное снижение в клетках уровня кислородного метаболизма ($p < 0,001$), что подтверждает и снижение у опытных животных (в 1,54 раза по отношению к контролю, $p < 0,001$) интегрального показателя индекса стимуляции. При этом на 50,1% по отношению к контрольной группе снижалась и величина фагоцитарного резерва фагоцитов ($p < 0,001$), что свидетельствует о выраженной антигенной активности препарата БПГ, проявляющейся ингибцией кислородного метаболизма в гранулоцитах крови.

Активность комплемента в сыворотке крови белых крыс опытной и контрольной групп существенно не различалась. Содержание лизоцима в сыворотке крови животных опытной группы мало отличалось по сравнению с контролем, однако интегральный показатель антимикробной резистентности крови бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) у белых крыс, подвергшихся воздействию БПГ, имел тенденцию к существенному повышению.

Со стороны относительных и абсолютных показателей содержания в крови Т-лимфоцитов существенных сдвигов у опытных крыс в сравнении с контрольными не установлено.

Следовательно, ингаляционное воздействие препарата БПГ сопровождается слабо стимулирующим иммуномодулирующим действием на организм.

Качественно-количественные показатели красного кровяного тельца в опыте после ингаляционного воздействия препаратом по сравнению с контролем (таблица 5) характеризовались существенным снижением содержания гемоглобина и количества эритроцитов в периферической крови, что отразилось на соответствующем значимом уменьшении показателя гематокрита без существенных изменений других гематологических показателей.

У животных опытной группы в периферической крови по сравнению с белыми крысами контрольной группы определялось несколько повышенное содержание количества лейкоцитов, что отразилось на соответствующем возрастании относительного содержания в крови сегментоядерных и, особенно, молодых палочкоядерных нейтрофилов на фоне значительного возрастания относительного и абсолютного содержания эозинофилов и моноцитов

Таблица 5 – Показатели периферической крови белых крыс после месячного ингаляционного воздействия БПГ

Показатели	Ед. изм.	Группы сравнения, М ± m	
		Контроль	Опыт – БПГ
Эритроциты	10 ¹² /л	8,92 ± 0,30	7,44 ± 0,20***
Средн. объем эритроцитов	усл. ед.	60,0 ± 1,31	67,5 ± 0,73
Гемоглобин	г/л	153,1 ± 4,00	127,7 ± 3,30***
Средн. содерж. Hb в эритроц.	мкг/кл	261,0 ± 3,85	255,0 ± 2,53
Среднеклеточный Hb	усл. ед.	17,2 ± 0,19	17,2 ± 0,28
Гематокрит	усл. ед.	8,8 ± 1,71	50,3 ± 1,50***
Тромбоциты	10 ⁹ /л	473,0 ± 30,0	494,1 ± 26,1
Средн. объем тромбоцитов	усл. ед.	7,82 ± 0,15	8,04 ± 0,16
Лейкоциты:	10 ⁹ /л	15,0 ± 1,71	19,4 ± 1,80
- с/я нейтрофилы	%	37,5 ± 2,19	43,0 ± 2,72
	10 ⁹ /л	5,77 ± 0,76	8,48 ± 1,15 ⁰
- п/я нейтрофилы	%	2,40 ± 0,34	5,50 ± 0,92**
	10 ⁹ /л	0,34 ± 0,06	1,07 ± 0,21***
- лимфоциты	%	54,5 ± 2,34	40,1 ± 2,19***
	10 ⁹ /л	8,06 ± 1,09	7,60 ± 0,62
- эозинофилы	%	1,50 ± 0,22	4,10 ± 0,80**
	10 ⁹ /л	0,25 ± 0,05	0,85 ± 0,19**
- моноциты	%	4,10 ± 0,32	7,30 ± 0,90***
	10 ⁹ /л	0,59 ± 0,06	1,44 ± 0,03**

Примечание: Обозначения см. таблицу 3.

при компенсаторном значимом снижении удельного веса лимфоцитов. Данная картина лейкоформулы весьма характерна для иммунозависимых воспалительных процессов в организме.

Следовательно, длительное ингаляционное воздействие препарата на организм животных сопровождается выраженными гемотоксическими проявлениями.

Выводы

1. Комплексный биологический препарат «Гулливвер» на основе смеси культуральной жидкости штамма бактерий *Pseudomonas aureofaciens* А 8-6 (КМБУ 5498) и гидрогумата торфа, а также изолированный штамм бактерий *Pseudomonas aureofaciens* А 8-6 в максимально испытанных дозах и концентрациях при разных путях поступления в организм лабораторных животных не проявляют существенных патогенных свойств: DL_{50} БПГ при внутрижелудочном введении белым крысам более $1,6 \times 10^{10}$ м.кл./кг, при внутрибрюшинном введении белым мышам – более $2,1 \times 10^8$ м.кл./кг; DL_{50} *Ps.a.* при внутрижелудочном введении белым крысам более $1,51 \times 10^{10}$ м.кл./кг, при внутрибрюшинном введении белым мышам – более $2,3 \times 10^{10}$ м.кл./кг, что определяет отнесение данного штамма бактерий и БПГ к IV классу опасности.

2. Как комплексный БПГ, так и штамм бактерий *Ps.a.* не проявляют токсигенных и токсических свойств, не обладают кожно-раздражающим и ирритативным действием.

3. Биологический препарат «Гулливвер» в максимально возможной дозе ($1,0 \times 10^8$ м.кл./жив.) вызывал при недельной ингаляции развитие в организме животных умеренно выраженной гиперчувствительности замедленного типа. По классификационным критериям препарат «Гулливвер» обладает умеренной сенсибилизирующей способностью (3 класс аллергенной активности).

4. При ингаляционном (интраназальном) воздействии в максимально возможной концентрации ($3,24 \times 10^9$ м.кл./м³) в течение месяца биологический препарат «Гулливвер» вызывал у белых крыс индукцию

выраженного аллергизирующего эффекта преимущественно по немедленному анафилактическому и замедленному клеточно-посредованному типам гиперчувствительности, проявляет выраженную антигенную способность в отношении угнетения функции фагоцитов, значимые гемотоксические и слабые иммуномодулирующие свойства.

5. С учетом проявления сенсибилизирующего и иммунотоксического действия комплексного биологического препарата «Гулливвер» при его производстве и применении следует предусмотреть меры коллективной (приточно-вытяжная механическая вентиляция) и индивидуальной защиты (СИЗ органов дыхания, очки, спецодежда), технологические меры, направленные на предупреждение или ограничение поступления его в воздух рабочей зоны, а также меры первичной и вторичной медицинской профилактики.

6. Условия труда работающих при производстве и применении комплексного биологического препарата «Гулливвер» должны соответствовать требованиям действующих санитарных правил и норм, технических нормативных правовых актов. Работающие в контакте с биологическим препаратом должны проходить предварительные в соответствии с МУ № 03/082-9107 от 26.07.1991 «Критерии профессионального отбора лиц, поступающие на алергоопасные работы» и периодические медицинские осмотры, особое внимание при медосмотрах следует обращать на иммуно-аллергологический статус.

7. Нормирование содержания препарата в продуктах питания не требуется. Использование комплексного препарата «Гулливвер» в качестве средства биологической защиты, стимуляции роста и развития сельскохозяйственных растений не будет приводить к загрязнению почвы, поскольку штамм бактерий *Pseudomonas aureofaciens* А 8-6 (КМБУ 5498) является природным почвенным микроорганизмом, а гидрогумат торфа – продукт гидролиза нативной торфяной почвы, с небольшой нормой расхода препарата (не более 40 л/га). Контроль содержания препарата «Гулливвер» в возду-

хе рабочей зоны следует проводить по концентрации аэрозоля гидрогумата торфа.

Библиографический список

1. Экспериментальное обоснование ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды: Методические указания № 5789/1-91. – М., МЗ СССР, 1991. – 23 с.

2. Постановка исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны: Инструкция 1.1.10-13-57-2005 / Мин-во здравоохранения РБ. – Мн., 2005. – 16 с.

3. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно-допустимых уровней загрязнений кожи: Инструкция 1.1.10-13-56-2005 / Мин-во здравоохранения РБ. – Мн., 2005. – 23 с.

4. Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы: Методические указания № 1.1.11-12-5-2003 // Сб. офиц. документов по мед. труда и произв. санитарии. – Ч. XIV / Мин-во здравоохранения РБ. – Мн., 2004. – С. 133-156.

5. Архипова, О.Г. Методы исследования в профпатологии / Под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988.- С. 68-84.

6. Кост, Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / Е.А. Кост. – М.: Медицина, 1975. – 326 с.

7. Вильчинский, М.П. Упрощенная методика избирательной окраски базофильных гранулоцитов крови / М.П. Вильчинский // Лабор. дело. – 1972. – №1. – С. 58-60.

8. Кузовкова, Н.А. Колориметрические методы исследования в иммунологии: метод. рекомендации / Н.А. Кузовкова, Т.Е. Злотник, С.В. Жаврид. – Мн., 1992. – 12 с.

9. Методические рекомендации по иммунологическому обследованию профессионально работающих с источниками ионизирующих излучений / В.М. Шубик [и др.]. – Л., 1981. – 15 с.

10. Ремизов, П.И. Методы определения естественной (неспецифической) резистентности организма: учебное пособие / П.И. Ремизов, Г.А. Башмаков. – Л., ВМА им. С.М. Кирова, 1976. – 64 с.

11. Беленький, Л.М. Количественные элементы фармакологического анализа / Л.М. Беленький. – Рига: Изд-во АН ЛатССР, 1969. – 176 с.

12. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте / И.М. Трахтенберг [и др.]. – М.: Медицина, 1978. – 176 с.

**V. Shevlaykov, V. Filanyuk, T. Studenichnik, G. Erm, N. Stchurskaya,
A. Buinitskaya, E. Chernyshova, T. Kozlovskaya**

**NEW COMPLEX BIOLOGICAL PRODUCT «GULLIVER»: PECULIAR
FEATURES OF HARMFUL EFFECTS ON THE ORGANISM**

The new complex biological product «Gulliver» created on the basis of the mixture of *Pseudomonas aureofaciens* A 8-6 strain culture fluid and peat hydrohumate, has no significant acute toxicity but in the experiments exhibits expressed allergenic, antigenic and hemotoxic properties.

Key words: biological product «Gulliver», toxic, irritative, sensitizing, immunomodulatory and hemotoxic properties

Поступила 08.09.11