

УДК: 615. 838. 7. 014. 4. 076. 9

ВПЛИВ УМОВ ЗБЕРІГАННЯ ПЕЛОЇДІВ КУЯЛЬНИЦЬКОГО ЛИМАНУ НА ЇХ БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ**С. Г. ГУЩА**

ДУ “Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України” м. Одеса
(048) 728-62-41, **E-mail:** mrik@kurort.odessa.net
095- 62- 62- 722, **E-mail:** gushchasergey@rambler.ru

В эксперименте на 60 белых крысах изучены особенности биологического влияния пелоидов Куяльницкого лимана двух образцов: хранящихся под слоем нативной рапы и хранящихся под слоем рапы, разведенной морской водой в соотношении 1:1. Установлено стимулирующее влияние пелоидов на вегетативную нервную систему, экскреторную и ионорегулирующую функцию почек. Показано, что пелоиды способствуют интенсификации метаболических процессов в клетках печени: изменяют активность трансаминаз и активируют процессы жёлчеобразования. Со стороны иммунной системы установлена активация гуморального звена и незначительная депрессия клеточного. Ответная реакция организма животных на проведённые курсовые аппликации пелоидов имела однонаправленный характер и не выходила за пределы физиологической нормы.

Ключевые слова: пелоиды Куяльницкого лимана, биологическая активность, эксперимент.

UDC: 615. 838. 7. 014. 4. 076. 9

EFFECTS OF STORAGE PELOIDS KUYALNIK FIRTH FOR THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY**SG GUSHCHA**

State enterprise “The Ukrainian research institute of medical rehabilitation and balneology of Ministry of Health of Ukraine”, Odessa
(048) 728-62-41, **E-Mail:** mrik@kurort.odessa.net
095- 62- 62- 722, **E-mail:** gushchasergey@rambler.ru

The uniqueness of the Ukrainian the natural medicinal resources necessitates public attitudes towards their saving and sustainable use. This fully applies to Kuyalnik liman, north of the city of Odessa, a major recreational resource which is silt sulfide peloids. Over the past five years, climate change (gradual warming) shoaling, pollution and changing the direction of river beds, leading to a violation of water-filling liman. The level of brine in the liman dropped to a critical level. Now the total salinity brine liman instead of 200 g/dm³ up to 400 g/dm³, in such circumstances, renewal and formation of peloids is impossible. The solution to saving Kuyalnik liman may be seasonal, regular filling liman seawater.

Objective: To carry out experimental studies to establish the biological activity of peloids Liman in modeling changes in the terms of their natural state after filling with sea water.

In experimental studies were used: peloids, stored under a layer of native brine Kuyalnik Liman total mineralization which was 280 g/dm³ (sample 1) and peloids, brine have been grouted with the addition of sea water in the ratio 1:1, total mineralization of 175 g /dm³ (sample 2). Peloids both samples were stored in special containers for three months. Studies on animals were carried out in accordance with existing of legal documents (Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes). The experiment was conducted on 60 white male rats Wistar reproduction weighing 180,0–200,0 g. Peloids used as applications, temperature 38-39 ° C (6 procedures at intervals of 1 day). In rats on his back in the lumbar region shaved their area the size of 4.0 cm². In bare areas placed with peloids temperature 38 - 39 ° C. No single procedure was 20 minutes. Animals were divided into 3 groups: the first - a control group of 20 intact animals; second - with 20 animals undergoing a course of peloid first sample; third, with 20 animals undergoing a course of peloids second sample.

Investigated: The functional state of the central nervous system (CNS) and the autonomic nervous system (ANS) in gear "an open field." In the study of the behavior of rats counted the number of exits to the center, crossed squares, stand, cleansings (grooming), movements and seats in place, bolus and urinatsiy. When cutting results expected are the sum of:

✓ *Motor activity (MA) - the sum of outputs in the center and the movements on the ground; landmark - research conduct (LRC) - the sum of squares crossed, vertical stand, look in the burrows (where MA and LRC on indicators CNS); Shifted activity (SA) - the sum of grooming (cleansing), sneeze, seats in place;*

✓ *Emotional activity (EA) - the sum urinatsiy, bowel movements (bolus) and seats in place (where EA and indicators by ANS);*

✓ *Kidney function was assessed by exposure to urine formation function (glomerular filtration, tubular reabsorption, daily urine output), the excretory function (by creatinine excretion and urea) and ion regulatory function (the concentration and daily excretion of sodium, potassium, calcium and chloride ions). We determined the acid-alkaline daily urine concentrations of hydrogen ions;*

✓ *Immunological studies determined the reaction of animals, which was assessed by changes in total peripheral blood: number of leukocytes erythrocyte sedimentation rate (ESR), formula of blood and immunological reactivity - the contents of heterophile antibodies (HA), circulating immune complexes (CIC), the level complement nitroblue tetrazolovanyy test (NBT-test);*

✓ *Biochemical studies determined the the enzyme activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), α -amylase, serum total bilirubin and its fractions. This paper uses physiological, clinical and laboratory research methods and statistics. These data were compared with similar indicators of intact rats (control group). Statistical analysis of the data in a series of experiments was performed by indirect differences. Credible changes were considered those that were within the probability tables for the Student's $t < 0.05$.*

Under the influence of a course of treatments peloids samples 1 and 2, compared with control, physical activity and conduct landmark and research have no disagreement with the data of the control group of rats, and biased and emotional activity significantly increased, that is driven by the functional state of the ANS. Upon completion of the course of application of peloids animals 2nd and 3rd groups compared with the control data, the following changes in renal function: increased excretion of nitrogenous toxins in the form of urea, increased concentration and excretion of daily excretion of sodium and chloride ions, decreased urine pH daily. However, it remains the same function of urine formation, namely, despite the decrease in tubular reabsorption, daily urine output is not plausible differences with control values. Glomerular filtration rate does not change, hence the decrease in creatinine excretion. The difference with respect to the action of peloids in renal function applies only to the concentration and excretion of daily excretion of potassium ions, which increases the animals the second group. Definitely a significant reduction in the activity of enzymes ALT and AST. Applications course peloids Kuyalnik Liman causing rats unidirectional changes in pigment metabolism. Thus, animals second and 3rd groups significantly reduced the content of total, direct and indirect bilirubin compared with data intact animals.

The response from the general blood parameters in the application of peloids both samples is characterized by a redistribution of blood counts elements: an increase in neutrophils and decrease in lymphocytes. These displacements indicate the formation reaction of adaptation to the effect of environmental factors. The number of leukocytes and ESR value remained within control values. The response from the immune parameters in effect in animals peloids 2nd and 3rd groups as unidirectional and characterized by a significant stimulation of HA. Thus, the application of peloids 1st sample HA level increased 2.7 times, while applying the second - in 1.9 times. Complement activity and the content of CIC after the procedure still in the normal range. Be stable number of active phagocytes and metabolic function index (spontaneous NBT-test). Reduced absorptive capacity of peripheral blood phagocytes and the index that characterizes the backup possibility metabolic function (stimulated NBT test). Much limited number of T-lymphocytes.

Course peloids external procedures in both study groups encourages state ANS leads to increased excretion of nitrogen as urea toxins, improve concentration and excretion of daily urine sodium ions and chloride ions, lowering the pH of urine daily; causes reorganization of metabolic parameters in protein spectrum and enhance liver function bilification towards the strengthening of conjugated bilirubin, with subsequent excretion through the biliary tract. Under the influence of a course peloids both samples in rats defined increasing the number of neutrophils and fewer lymphocytes. These displacements indicate the formation reaction of adaptation to the effect of environmental factors. In these conditions develops a typical reaction to the action of stress factors - activation of humoral and cell-moderate depression. The response of animals to respond to a course of application of peloids both samples did not extend beyond the physiological level norms.

Thus, when modeling ecosystems therapeutic filling peloids of Kuyalnik liman sea water (in a ratio of brine estuary and sea water 1:1) revealed that peloids are unidirectional nature of the effects on the body healthy animals

and significant differences in biological activity have not. When filling Liman sea water is recommended to maintain overall mineral content of the brine within 120-180 g/dm³. The data allow to create favorable hydroecological mode Kuyalnik liman for conservation and restoration of its natural medicinal resource.

Keywords: *peloids Kuyalnik firth, biological activity, experiment.*

ВСТУП

Україна займає одне з провідних місць серед країн Європи та СНГ по наявності природних лікувальних ресурсів, а також кліматичних умов, які сприяють розвитку курортної індустрії. Про ефективність використання природних лікувальних ресурсів в нашій країні можна судити по наявності таких всесвітньовідомих курортів, як Трускавець, Поляна, Моршин, Хмільник, Саки, Куяльник та ін. [1,2]. Разом з тим, в останні роки з'явилися дані про те, що загальновідомі родовища пелоїдів інтенсивно експлуатуються, що в сукупності з наростаючим антропогенним забрудненням призводить до їх швидкої деградації та втрати (зменшення) біологічної активності [3,4,5]. Крім того, недбале відношення до природних багатств в Україні як у цілому, так і у Одеській області, зокрема, призвело до того, що знаменитий Куяльницький лиман опинився у складній екологічній ситуації. Нажаль, регіон Куяльницького лиману, незважаючи на багаторазові спроби оголосити його охоронною курортною територією, у відповідності до Закону України «Про курорти», не завершилися успіхом. За останні п'ять років лиман обмілів до рівня, ніколи раніш не зареєстрованого. Зміна клімату (поступове потепління), заїлення, забруднення та зміна напрямку русел річок Великого Куяльнику, Кубанки, Долобка, розорювання їх берегів, відведення води у ставки, це одні із головних, але не всіх причини, що призвели до порушення водонаповнення лиману [6]. На думку вчених та фахівців рівень ропи у лимані знизився до критичного рівня. Зараз загальна мінералізація ропи лиману досягає 400 г/дм³, в таких умовах відновлення та утворення пелоїдів стає неможливим.

Одним із запропонованих реальних рішень проблеми збереження Куяльницького лиману може стати сезонне, регулярне наповнення лиману морською водою. Слід зазначити, що морська вода потрапляла до лиману декілька разів примусово по спеціальних каналах наприкінці 19 сторіччя. Тоді лиман було поділено дамбою на дві частини: північну для затримки прісних вод та південну, для промислової добути солі.

Програма рятування Куяльницького лиману, ініційована громадкістю Одеси, Одеською обласною радою, включає проведення експериментальних досліджень щодо встановлення біологічної активності пелоїдів лиману при моделюванні зміни умов їх природного стану після заповнення морською водою.

МЕТА РОБОТИ

Вивчення в експерименті біологічної активності та проведення порівняльної оцінки пелоїдів Куяльницького лиману за різними умовами їх зберігання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У експериментальних дослідженнях було використано: пелоїди, які зберігалися під шаром нативної ропи Куяльницького лиману, загальна мінералізація якої складала 280 г/дм³ (зразок 1) та пелоїди, які було залито ропою з додаванням морської води у співвідношенні 1:1, і загальною мінералізацією 175 г/дм³ (зразок 2). Пелоїди обох зразків зберігалися у спеціальних ємкостях протягом трьох місяців. Дослідження над тваринами проводились згідно існуючих правових документів [7,8]. Експеримент проводився на 60 білих щурах-самцях лінії Вістар аутбредного розмноження з масою тіла 180,0 - 200,0 г. Пелоїди застосовували у вигляді аплікацій, температурою 38-39 °С (6 процедур з інтервалом в 1 добу). У щурів на спині голили ділянку розміром приблизно 4,0 x 4,0 см², верхня мережа якої є максимальною, що з'єднує нижні краї лопаток. На голену шкіри ділянку поміщали коржик з пелоїдів температурою 38 – 39 °С. Тривалість однієї процедури складала 20 хв. Відбір біологічних рідин для подальших досліджень

проводився через 16 – 18 годин після останньої процедури курсу. Тварини було поділено на 3 групи: перша група — контрольна група з 20 інтактних тварин; друга група — з 20 тварин, яким проводили курс з пелоїдами першого зразка; третя група — з 20 тварин, яким проводили курс з пелоїдами другого зразка.

Досліджували:

✓ Функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) та вегетативної нервової системи (ВНС) у приладі «відкрите поле». При дослідженні поведінки підраховували кількість виходів в центр, пересічених квадратів, стійок, чисток (грумінгів), рухів і сидінь на місці, болюсів та урінацій. При обробленні результатів розраховували такі сумарні показники:

✓ Рухова активність (РА) – сума кількостей виходів у центр і рухів на місці;

✓ Орієнтувально-дослідницька поведінка (ОДП) – сума кількостей перетнутих квадратів, вертикальних стійок, зазирань у норки;

✓ Зміщена активність (ЗА) – сума кількостей грумінгів (чисток), чихань, сидінь на місці;

✓ Емоційна активність (ЕА) – сума урінацій, дефекацій (болюсів) та сидінь на місці;

✓ Функціональний стан нирок оцінювали за впливом на функцію сечоутворення (швидкість клубочкової фільтрації, канальцева реабсорбція, добовий діурез), на вивідну функцію (за екскрецією креатиніну та сечовини) та іонорегулюючу функцію (за концентрацією та добовою екскрецією іонів натрію, калію, кальцію та хлорид-іонів). Визначали кислотно-лужну реакцію добової сечі за показниками концентрації іонів водню;

✓ Імунологічними дослідженнями визначалась реакція організму тварин, яка оцінювалася за змінами з боку загальних показників периферичної крові: кількість лейкоцитів, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), формула крові та імунологічної реактивності – вміст гетерофільних антител (ГА), циркулюючих імунних комплексів (ЦК), рівень комплементу, нітросиній тетразолований тест НСТ-тест);

✓ Біохімічними дослідженнями визначали активність ферментів аланінамінотрансферази (АлТ), аспартатамінотрансферази (АсТ), α -амілази, рівень загального білірубину та його фракцій. В роботі використано фізіологічні, клініко-лабораторні та статистичні методи досліджень [9, 10]. Отримані дані порівнювали з подібними показниками інтактних щурів (контрольна група). Статистичну обробку отриманих даних у серіях дослідів проводили методом непрямих різниць [11]. Достовірними зрушеннями вважалися ті, що знаходились в межах вірогідності за таблицями t Ст'юдента $< 0,05$. Дані відображено у відсотках по відношенню до контролю, який було прийнято за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.

Під впливом проведеного курсу процедур з пелоїдами зразків 1 та 2, у порівнянні з контролем, рухова активність і орієнтувально-дослідницька поведінка не мають розбіжностей з даними контрольної групи щурів, а зміщена та емоційна активність вірогідно підвищуються (рис. 1).

Отримані дані свідчать, що застосування пелоїдів Куяльницького лиману за різними умовами зберігання стимулює стан ВНС і не змінює функціональний стан ЦНС.

По завершенню курсу апікацій з пелоїдами у тварин 2-ої та 3-ої груп у порівнянні з контрольним даними встановлено наступні зміни функції нирок: зростає виведення з організму азотистих шлаків у вигляді сечовини, підвищується концентрація та екскреція з добовою сечею іонів натрію та хлорид-іонів, знижується рН добової сечі. Однак, залишається без змін функція сечоутворення, а саме, незважаючи на зниження канальцевої реабсорбції, добовий діурез не має вірогідних розбіжностей з контрольними значеннями (рис. 2).

Курс апікацій пелоїдів у щурів 2-ої та 3-ої груп викликає перебудову метаболічних процесів в печінкових клітинах та посилення жовчоутворювальної функції печінки в напрямку посилення процесів кон'югації білірубину, з наступним його виведенням через жовчовивідні шляхи.

Реакція з боку загальних показників крові при застосуванні пелоїдів Куяльницького лиману характеризується перерозподілом елементів формули крові: збільшенням кількості нейтрофілів та зменшенням кількості лімфоцитів (див. рис. 4). Ці зсуви свідчать про формування реакції адаптації на дію фактору зовнішнього середовища. Кількість лейкоцитів та величина ШОЕ залишаються у межах контрольних величин.

З боку імунологічних показників реакція на дію пелоїдів у тварин 2-ої та 3-ої груп має також односпрямований напрямок (рис. 5) та характеризується значною стимуляцією рівня ГА ($p < 0,001$). Так, при застосуванні пелоїдів 1^{то} зразка, рівень ГА підвищується у 2,7 рази, а при 2-у — у 1,9 рази. Активність комплементу та вміст ЦІК після завершення процедур залишаються у межах норми. Залишаються стабільними кількість активних фагоцитів та показник метаболічної функції (спонтанний НСТ-тест). Достовірно знижуються поглинальна здатність фагоцитів периферійної крові та показник, який характеризує резервну можливість метаболічної функції (стимульований НСТ-тест) ($p < 0,05$). Крім того, значно обмежується кількість Т-лімфоцитів ($p < 0,001$).

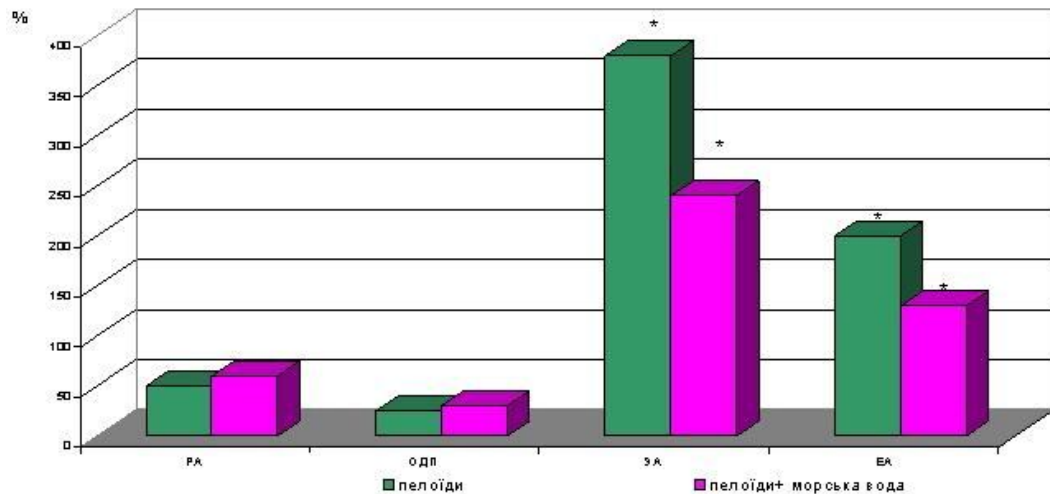


Рис. 1. Вплив пелоїдів Куяльницького лиману (нативних та відновлених морською водою) на функціональний стан ЦНС та ВНС щурів відносно до даних контрольної групи, що визначено за 100 %

Примітка. Тут і далі * — достовірні зрушення

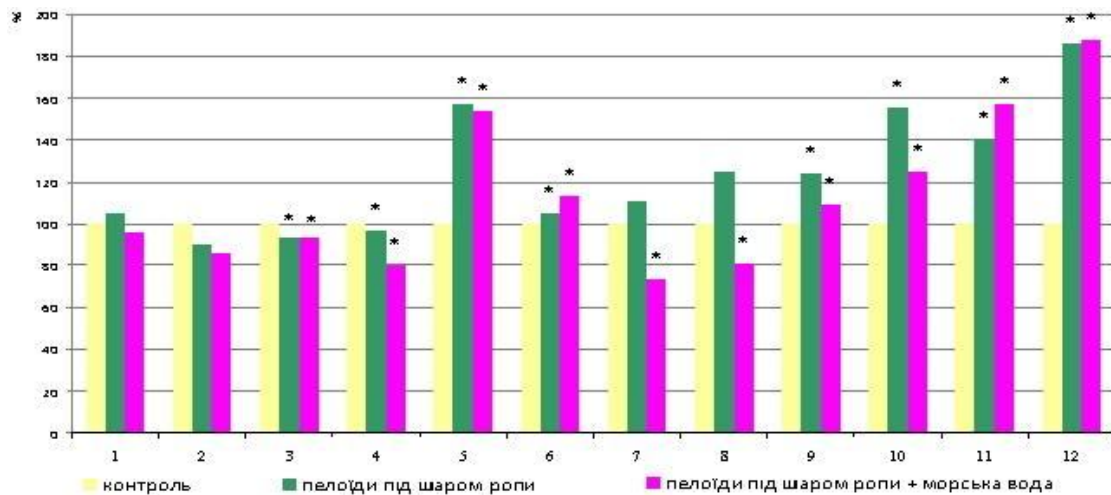


Рис. 2. Вплив пелоїдів Куяльницького лиману (нативних та відновлених морською водою) на функціональний стан нирок щурів відносно до даних контрольної групи, що визначені за 100 %

Примітка.

- Умовні позначення:** 1. — добовий діурез у розрахунку на одиницю поверхні тіла, мл/см²;
2. — клубочкова фільтрація, мл/(см²·хв);
3. — канальцева реабсорбція, частка до фільтрації, %;

4. — добова екскреція креатиніну, ммоль;
5. — добова екскреція сечовини, ммоль;
6. — рН добової сечі, од.рН;
7. — концентрація K^+ в добовій сечі, ммоль/л;
8. — добова екскреція K^+ , ммоль/л;
9. — концентрація Na^+ в добовій сечі, ммоль/л;
10. — добова екскреція Na^+ , ммоль/л;
11. — концентрація Cl^- в добовій сечі, ммоль/л;
12. — добова екскреція Cl^- , ммоль.

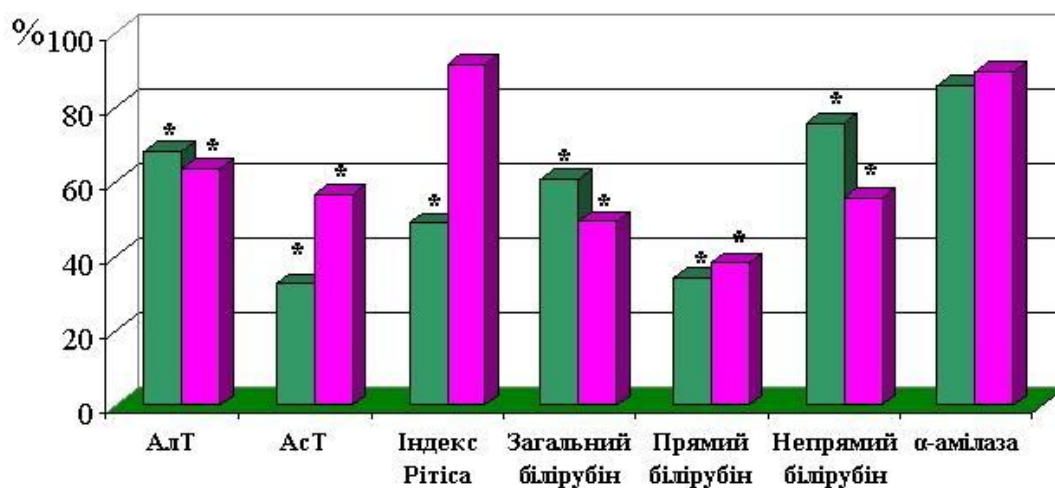


Рис. 3. Вплив пелоїдів Куяльницького лиману (нативних та відновлених морською водою) на функціональний стан печінки та підшлункової залози щурів відносно до даних контрольної групи, що визначені за 100 %

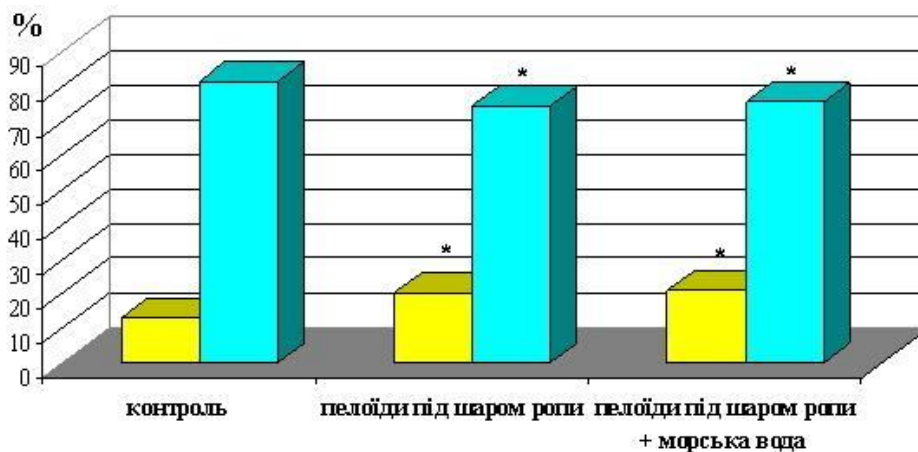


Рис. 4. Вплив пелоїдів Куяльницького лиману (нативних та відновлених морською водою) на перерозподіл елементів формули крові щурів відносно до даних контрольної групи, що визначені за 100 %

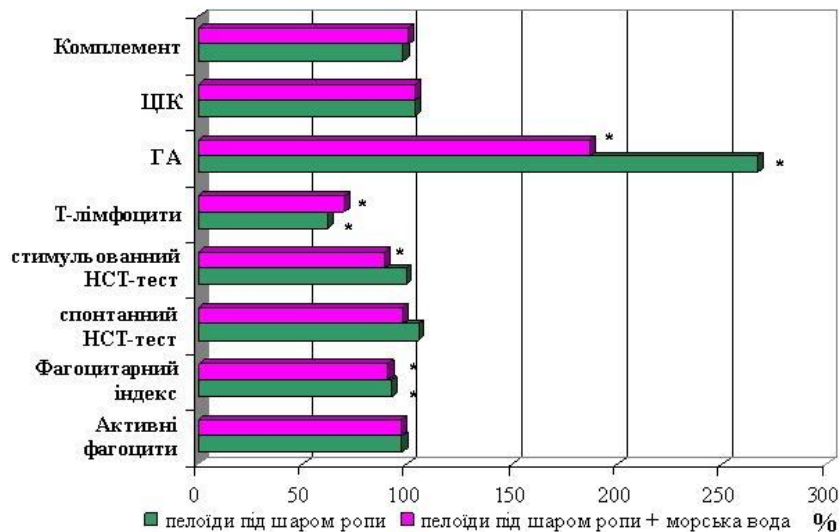


Рис. 5. Вплив пелоїдів Куяльницького лиману (нативних та відновлених морською водою) на імунологічні показники щурів відносно до даних контрольної групи, що визначені за 100 %

В даних умовах розвивається типова реакція на дію стресогенного чинника — активація гуморальної ланки і помірна депресія клітинної.

Отримані експериментальні дані узгоджуються з власними попередніми дослідженнями та з даними літератури стосовно впливу мулових сульфідних пелоїдів на організм здорових тварин [12,13,14,15].

ВИСНОВКИ

Таким чином, при аналізі експериментальних досліджень щодо застосування пелоїдів Куяльницького лиману за умов їх різного зберігання встановлено, що вони мають односпрямований характер впливу та суттєвих відмінностей у біологічній активності не мають. Отримані дані обґрунтовують проведення подальших досліджень у цьому напрямку по вивченню біологічної активності пелоїдів які зберігаються під шаром ропи, розведеної морською водою у співвідношенні 1:1 впродовж більш тривалого часу. При заповненні лиману морською водою слід підтримувати загальну мінералізацію ропи у межах 120-180 г/дм³, що дозволить створити благосприятливий гідроекологічний режим Куяльницького лиману, зберегти та відновити його природні лікувальні засоби.

ВІДПОВІДНІСТЬ ЕТИЧНИМ СТАНДАРТАМ

Експерименти на тваринах проведені відповідно до положень Гельсінкської Декларації 1975 року, переглянутої та доповненої в 2002 році, директив Національних Комітетів з етики наукових досліджень.

Проведення експериментів схвалено Комітетом з етики. Дотримано сучасні правила утримання і використання лабораторних тварин, що відповідають принципам Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, котрі використовуються для наукових експериментів і потреб (Страсбург, 1985).

У всіх авторів відсутній будь-який конфлікт інтересів.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабов К.Д. Золотарева Т.А., Гриняева Л.Я., Никипелова Е.М. Санаторно-курортный комплекс Украины – социально-ориентированная индустрия здоровья // Курортные ведомости. – 2010. – № 6 (63). – С. 8-12.
2. Курорты та санаторії України: Науково-практичний довідник / За ред. К. Д. Бабова, В.В. Єжова, О. М. Торохтіна. — К.: Фолігрант, 2009. – 432 с.
3. Шнюков Е. Ф. Емельянов В.А., Никитина А.А. Глубоководные пелоиды Черного моря. — К.: Академперіодика, 2012. – 242 с.
4. Алексєєнко Н.О. Гуца С.Г., Ярошенко Н.А. Експериментальне дослідження ропи Шаболатського та Будацького лиманів Одеської області // Вісник морської медицини. – 2012. – № 3 (57). – С. 33-37.
5. Вступ до медичної геології / За ред. Г.І. Рудька, О.М. Адаменка. — К.: Академпрес, 2010. – Т. 2. – 448 с.
6. Степаненко С.И. Причины обмеления Куяльницкого лимана и пути его спасения. – Одесса: Экология, 2013. – 36 с.
7. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249. – Офіційний вісник України від 06.04.2012. — № 24. — С. 82; стаття 942, код акта 60909/2012.

8. Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance) // Official Journal L 276, 20.10.2010. – P. 0033 - 0079.

9. Алексєєнко Н.О., Павлова О.С., Насібуллін Б. А., Ручкина А.С. Посібник з методів досліджень природних та преформованих лікувальних засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їх основі; штучно-мінералізовані води; пелоїди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі. – Одеса: ЮНЕСКО-СОЦІО, 2002. – Ч. 3. – 114 с.

10. Бабов К.Д., Золотарьова Т.А., Насібуллін Б.А. Порядок здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів.. – К.: КІМ, 2008. – 176 с.

11. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. Ю. А. Данилова, под ред. Н. Е. Бузикашвили. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

12. Фотина О.Н., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А. Ответная реакция организма на курсовое воздействие лечебной грязи Мелководненского месторождения в эксперименте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2012. – № 5. С. 54-56.

13. Лечебные грязи (пелоиды) Украины. Ч. 1. Под ред. М.В. Лободы, К.Д. Бабова, Т.А. Золотаревой, Е.М. Никипеловой. — К.: Куприянова, – 2008. – 320 с.

14. Алексєєнко Н.А., Колкер И.А., Никипелова Е.М. Определение биологической активности лечебных грязей // Лікарська справа. – 2005. – № 4. – С. 37-38.

15. Алексєєнко Н.О., Тихохід Л.В., Гуца С.Г. Виявлення безпеки при використанні та ступеня біологічної активності пелоїдів Солонного лиману Дніпропетровської області // Український бальнеологічний журнал. – 2002. – № 4. – С. 66 - 69.

Гуца Сергій Геннадійович, к. мед. н., ст. н. с. ДУ “Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України”, м. Одеса

Домашня адреса:

вул. Базарна 32, кв. 8, м. Одеса, 65014, Україна

095- 62- 62- 722 **E-mail:** gushchasergey@rambler.ru

Дата поступлення: 25.12.2013 р.