**Львівський національний медичний університет**

**імені Данила галицького**

**МОЗ україни**

**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ МОЗ україни**

Кваліфікована наукова праця

на правах рукопису

**БРЕЙДАК ОЛЕКСАНДРА АНДРІЇВНА**

УДК: 613.63:615.218.2

КОМПЛЕКСНА ТОКСИКОЛОГО-ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ДІАЗОЛІНУ З РОЗРОБКОЮ ГІГІЄНІЧНИХ РЕГЛАМЕНТІВ ДОПУСТИМОГО ВМІСТУ В ОБ’ЄКТАХ ДОВКІЛЛЯ

14.02.01 – гігієна та професійна патологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидату медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Брейдак О.А.

Науковий керівник:

Кузьмінов Борис Павлович

професор, доктор медичних наук

Львів – 2019

*Брейдак О.А.* Комплексна токсиколого-гігієнічна оцінка діазоліну з розробкою гігієнічних регламентів допустимого вмісту в об’єктах довкілля. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.02.01 «Гігієна та професійна патологія». – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, МОЗ України; Харківський національний медичний університет МОЗ України, Львів, 2019 рік.

У дисертаційній роботі на основі узагальнення результатів проведених токсикологічних, гігієнічних, біохімічних, гістологічних і імунологічних досліджень розроблено та науково обґрунтовано комплекс профілактичних заходів із оздоровлення умов праці та захисту навколишнього середовища під час застосування лікарської субстанції діазолін у виробництві антигістамінних препаратів першого покоління.

Лікарський засіб Діазолін® випускається у вигляді драже, таблеток та гранул для виготовлення суспензії.

Основними виробничо-професійними групами які задіяні у виробництві є дражувальники, слюсарі з ремонту устаткування та інженерно-технічні працівники. Дражувальники упродовж 70-85% часу зміни знаходяться безпосередньо на дільниці, здійснюючи нагляд за технологічним процесом. Слюсарі-ремонтники проводять ремонтно-налагоджувальні роботи як безпосередньо на ділянці виробництва, так і в ремонтних майстернях. Для інженерно-технічних працівників основним обов'язком є прийняття рішень щодо виконання технологічного регламенту і забезпечення ефективної роботи обладнання. Упродовж зміни вони перебувають як на дільниці, так і в службових приміщеннях.

Технологічний процес виготовлення драже складається з 4-х стадій: 1) приготування цукрового сиропу, 2) приготування глянсувальної маси, 3) одержання цукрової крупки, 4) одержання драже Діазоліну®.

Основними виробничими шкідливостями при виготовленні є висока температура (до 300 градусів) і інтенсивний шум (82-85 дБА), джерелом якого служить мотор дражувального котла. Окрім того шум генерують цукрові кульки, основа драже і драже, при вдарянні один до одного при перемішуванні. Вміст діазоліну у повітрі робочої зони на робочому місці дражувальника біля дражувального котла досягає 2 мг/м3.

При виготовленні таблеток Діазолін® основними виробничо-професійними групами є апаратники, машиніст-таблетувальник, слюсарі з ремонту устаткування та ІТП.

Технологічний процес виготовлення таблеток складається з наступних стадій: 1) підготовка сировини, 2) приготування таблетмаси, 3) таблетування, 4) фасування й упакування готових лікарських форм. Таблетки містять допоміжні речовини: лактоза, цукор рафінад, крохмаль картопляний, кальцію стеарат, полівінілпіролідон низькомолекулярний медичний.

На стадії підготовки сировини діазолін може потрапляти в організм працюючих через дихальні шляхи та шкірні покриви. Виміряні концентрації препарату у повітрі робочої зони становили 0,5-1,2 мг/м3.

При приготування таблетмаси діазоліну методом вологої грануляції субстанція надходить в повітря робочої зони в концентраціях 1,0-2,0 мг/мґ3. Рівні шуму при роботі обладнання становлять 80-82 дБ А.

Виготовлення таблеток відбувається на таблетпресах, робота яких супроводжується шумом у межах 83-85 дБ А.

Виробничі дільниці цеху виробництва лікарського засобу Діазолін® обладнані припливно-витяжною вентиляцією, яка забезпечує кратність повітрообміну в приміщеннях не менше 15. Повітря виробничих приміщень через систему фільтрів надходить в навколишнє середовище.

При виготовленні драже і таблеток Діазолін® в кінці зміни, а також при переході до виробництва іншого найменування продукції, здійснюють очищення та миття обладнання, що обумовлює утворення стічних вод.

За параметрами гострої пероральної токсичності діазолін належить до мало небезпечних речовин 4 класу небезпеки у відповідності з ГОСТ 12.1.007-76. Середньосмертельні дози діазолінустановлять 9000 – 10000 мг/кг і > 10000 мг/кг для мишей і щурів відповідно.

У клінічній картині гострого отруєння переважають симптоми ураження центральної нервової системи. Відразу після введення речовини тварини стають збудженими. Через 20-40 хвилин в залежності від дози спостерігається адинамія та знижена реакція на звукові та больові подразники. Дихання важке, порушується координація рухів, фіксується бічне положення і коматозний стан. Загибель наступає упродовж першої доби.

При розтині загиблих тварин макроскопічно спостерігається повнокров'я внутрішніх органів. Гістологічно в головному мозку виявляється повнокров'я судин оболонок, периваскулярний і перицелюлярний набряк; міокарді - виражене повнокров'я, периваскулярний набряк; легенях - помірне повнокров'я; печінці - вогнищева дистрофія; нирках - повнокров'я, вогнищева та зерниста дистрофія.

Видова та статева чутливість до дії діазоліну слабо виражена.

Поріг гострої інгаляційної дії діазоліну знаходиться на рівні 1050 мг/м3. Зона гострої дії діазоліну дорівнює 2,68 і дозволяє віднести його за цим показником до 1 класу небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007-76.

Діазолін не володіє резорбтивно-токсичним ефектом при попаданні на шкіру. Викликає слабо виражене подразнення слизових оболонок очей.

Субхронічний пероральний вплив діазоліну характеризується симптомами ураження центральної нервової системи та проявами сильної кумулятивної дії (Кcum=0,96).

Дослідження віддалених ефектів впливу засвідчили, що діазолін не створює реальної небезпеки розвитку віддаленого гонадотоксичного ефекту і не впливає на ембріогенез.

При внутрішньошкірній сенсибілізації діазолін викликає зміну клітинної складової природного та адаптивного імунітету зі збільшенням у крові числа загальних лейкоцитів та перерозподілом лейкоцитарних фракцій у бік зростання пулу еозинофільних лейкоцитів у 1,4 рази, лімфоцитів у 1,3 рази, зменшення в 1,2 рази кількості нейтрофілів, зростання у 1,3 рази природних кілерів СD16, зростання питомої частки лімфоцитарного пулу клітин, внаслідок збільшення Т- клітинної СД3 та В- клітинної СD22 фракції лімфоцитів. Зафіксовано субпопуляційні зміщення пулів у загальній популяції СД3 із зростанням у 1,2 рази СD4 та 1,5 разів СD8 і зниженням у 1,3 рази імунорегуляторного індексу СD4/СD8. Імунорегуляторна стадія імунної відповіді при сенсибілізації мурчаків діазоліном протікає з випередженням імуносупресивного напрямку імунних процесів направлених на гальмування механізмів розвитку алергічних реакцій й носить адаптивний характер.

На підставі проведених досліджень розроблено і затверджено МОЗ України орієнтовний безпечний рівень впливу діазоліну у повітрі робочої зони виробничих приміщень – 1,0 мг/м3, аерозоль. Обґрунтовано орієнтовно безпечний рівень діазоліну у атмосферному повітрі - 0,1 мг/м3. Розроблена і атестована Укрметртестстандартом спектрофотометрична методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі. Комплекс профілактичних заходів включає використання індивідуальних засобів захисту, забезпечення працівників харчуванням направленої дії з комплексом вітамінів, проведення періодичних медичних оглядів із залученням алерголога не рідше, ніж 1 раз на рік.

**Ключові слова:** діазолін, антигістамінні препарати, параметри гострої токсичності, віддалені ефекти, гігієнічний норматив, поріг дії, алергічні реакції.

*Breidak O.A.* The comprehensive toxicological and hygienic assessment of diazolin with the development of hygienic regulations for allowable content in environmental objects - qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Thesis for the degree of a candidate of medical sciences in specialty 14.02.01 "Hygiene and professional pathology". - Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky, Ministry of Health of Ukraine; Kharkiv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2019.

In the dissertation, the complex of preventive measures aimed at the improvement of working conditions and environmental protection during the use of medicinal substance diazoline in the production of first generation antihistamine drugs has been developed and scientifically substantiated on the basis of the generalization of the results of the toxicological, hygienic, biochemical, histological and immunological researches.

Medicinal product Diazolin® is available in the form of dragees, tablets and granules for the production of a suspension.

The main professional groups involved in the production are: tedders, locksmiths, repair equipment and engineering and technical staff. Drawers during 70-85% of the time changes are located directly at the site, overseeing the technological process. Locksmiths repairmen carry out repair and adjustment works both directly at the production site, and in repair shops. For engineering and technical workers, the main responsibility is to make decisions in accordance with the technological regulations and to ensure the efficient operation of the equipment. During the change they are located both in the district and in the office premises.

The technological process of making the dragee consists of 4 stages: 1) the preparation of sugar syrup, 2) the preparation of gloss mass, 3) the production of sugar grains, 4) the preparation of the diazolin® pillow.

The main industrial hazards in manufacturing are high temperature (up to 300 degrees) and intense noise (82-85 dBA), the source of which is the motor of the boiling pot. In addition, the noise generates sugar balls, the base of the dragee and dragee when they hit each other when they are stirred. The content of diazoline in the working area at the working place of the tanner at the boiling water boiler reaches 2 mg / m3.

In the manufacture of tablet pills Diazolin®, the main industrial-professional groups are: apparatchiks, machine gunner, hardware locksmiths and engineering and technical staff.

The technological process of making tablets consists of the following stages: 1) preparation of raw materials, 2) tablet packs, 3) tabletting, 4) packaging and packaging of finished dosage forms. Tablets contain excipients: lactose, refined sugar, potato starch, calcium stearate, polyvinylpyrrolidone, low molecular weight medical.

During the preparation stage of the raw material, diazolin may enter the body through the respiratory tract and skin. Measured concentrations of the drug in the air of the working zone were 0.5-1.2 mg / m³.

 When cooking tablets diazoline by wet granulation, the substance enters the air in the working zone at concentrations of 1.0-2.0 mg / mg³. Noise levels at work of equipment make 80-82 dB A.

 Tablet pouring out occurs on tablet presses, whose work is accompanied by noise in the range of 83-85 dB A.

The production sections of the Diazolin® Drug Production Workshop are equipped with suction and exhaust ventilation, which provides multiplicity of air exchange in premises not less than 15. The selected air of industrial premises through the system of filters enters the environment.

In the manufacture of tablets and tablets Diazolin ® at the end of the change, as well as in the transition to the production of another name of products, clean and wash equipment that causes the formation of sewage.

It was established, that diazolin belongs to the 4th class of danger (in obedience to the GOST 12.1.007-76) according to the parameters of acute oral toxicity. The average lethal doses of diazolin were 9,000 - 10,000 mg / kg for mice and > 10,000 mg / kg for rats. The symptoms of central nervous system damage developed in acute oral poisoning. Species and sexual sensitivity of animals to the effect of diazoline were slightly expressed.

In the clinical picture of acute poisoning, symptoms of central nervous system damage prevail. Immediately after the introduction of the substance the animals become excited. After 20-40 minutes, depending on the dose, there is adynamia and reduced response to acoustic and pain stimuli. Breathing is difficult, coordination of movements is disturbed, the lateral position and the coma state are fixed. Death occurs during the first day.

At the autopsy of dead animals, macroscopic observation of the glow of internal organs is observed. Histologically, in the brain, the hypertrophy of the vessels of the membranes, perivascular and pericellular edema is manifested; in the myocardium - pronounced hyperfluidity, perivascular edema; lungs - moderate glory; liver - focal dystrophy; kidneys - gluttony, focal and grainy dystrophy.

Species and sexual sensitivity to diazoline are poorly expressed.

The threshold level of the acute inhalation effect of diazolin of the general toxic effect is 1050 mg / m3.

Zone of acute action of diazolinum is 2.68, that index value attributes to the 1st class of danger in accordance with GOST 12.1.007-76. Diazolin does not have a resorptive-toxic effect when it comes into contact with the skin. It causes mild irritation of the mucous membranes of the eyes.

The subchronic oral effect of diazolin is characterized by symptoms of central nervous system lesion and manifestations of severe cumulative effects (Kcum = 0.96).

The studies of long-term effects of exposure have shown that diazolin doesn`t pose a real risk of development of a remote gonadotoxic effect and doesn`t affect embryogenesis.

At the intracranial sensitization, diazolin causes a change in the cellular component of the natural and adaptive immunity with an increase in the number of common white blood cells and redistribution of leukocyte fractions in the direction of an increase in the pool of eosinophilic leukocytes in 1,4 times, lymphocytes in 1,3 times, a decrease in the number of neutrophils by 1,2 times, an increase of 1.3 times the natural killer CD16. an increase in the proportion of the lymphocytic cell pool due to an increase in T-cell CD3 and B-cell CD22 fraction of lymphocytes. Sub-population shifts in pools in the total population of CD3 with 1.2 times increase in CD4 and 1.5 times CD8 and 1.3 times decrease in the immune regulator index CD4 / CD8 were recorded. The immunoregulatory stage of the immune response when sensitization of the mullets is diazolin proceeds with the advance of the immunosuppressive direction of the immune processes directed to inhibit the mechanisms of the development of allergic reactions and is adaptive in nature.

According to the conducted researches the indicative safe level of exposure as 1.0 mg/m3, aerosol for diazoline in the air of the working area was developed and approved by the Health Care Ministry of Ukraine. The indicative safe level of diazoline in the atmospheric air was approved (0.1 mg/m3) aerosol. The spectrophotometric method of measurement of diazoline concentrations in the air has been developed and certified by Ukrmetrteststandart. The complex of preventive measures includes the use of personal protective equipment, provision of preventive nutrition with a complex of vitamins, and periodic medical examinations with the involvement of an allergologist at least once a year.

**Key words:** diazoline, antihistamines, parameters of acute toxicity, long-term effects, hygienic standart, the threshold of action, allergic reactions.

**Список публікацій здобувача Брейдак О.А.**

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації*

1. Брейдак О.А. Дослідження гострої інгаляційної токсичністі антигістамінних препаратів І, ІІ та ІІІ поколінь / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б., Брейдак О.А., Альохіна Т.А., Туркіна В.А. // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки - 2015. - № 4 (72). - С.30-34. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
2. Брейдак А.А. [Сравнительная оценка иммунотоксических свойств антигистаминных препаратов І, ІІ и ІІІ поколения](https://scholar.google.com.ua/scholar?oi=bibs&cluster=14893463134696627583&btnI=1&hl=ru) / Брейдак А.А., Зазуляк Т.С, Алехина Т.А. // Международный Научный Институт “Educatio”*-* 2015. - № 8. - С.158-160. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
3. Брейдак О.А. Гігієнічна регламентація вмісту діазоліну в атмосферному повітрі / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Гігієна населенних місць - 2015. - Вип. 66. - С.44-47. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
4. Брейдак О.А. Експериментальна оцінкагонадотоксичної дії діазоліну / Брейдак О.А. // Медичні перспективи - 2016. - Т. 21 - № 4. - С.15-18.
5. Брейдак О.А. Експериментальне вивчення ембріотоксичного ефекту діазоліну / Брейдак О.А. // Acta medica Leopoliensia - 2016. - Т. 22. - № 1. - С.56-58.
6. Брейдак О.А. Обоснование допустимого содержания диазолина в воздухе рабочей зоны химико-фармацевтического производства / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Туркіна В.А., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Токсикологический вестник - 2016. - № 1. - С.18-21.*(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
7. Breydak A.A. System Approach to Regulation of the Harmful Influence of Medicines in the Conditions in the Manufacturing Process and Environment / Kuzminov B.P., Zazulyak T.S., Grushka O.I., Kuzminov A.B., Breydak A.A., Shvets I.A. // **Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. -** 2018 - 2 (82). - C.15-20. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*

*Опубліковані праці апробаційного характеру*

1. Брейдак О.А. Оцінка кумулятивної активності діазоліну, лоратадину та дезлоратадину у підгострому експерименті на білих мишах / Брейдак О.А., Кузьмінов О.Б, Альохіна Т.А. // Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» Біологія тварин - Львів. - 2015. - Т.17. - № 4. - С.178.
2. Брейдак О.А. Дослідження впливу лікарських субстанцій на репродуктивну функцію лабораторних тварин в експерименті: результати та перспективи / Туркіна В.А., Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Яськів Г.І. // Матеріали науково- практичної конференції з міжнародною участю «Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє» – Дніпропетровськ. - 2016. – С.175-176.
3. Брейдак О.А. Схема гігієнічної регламентації вмісту лікарських субстанцій у повітрі робочої зони хіміко-фармацевтичних підприємств / Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Яськів А.І. // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна медицина: актуальні питання» – Одеса. - 2016. – С. 87-90.
4. Брейдак О.А. Європейська інтеграція України в галузі безпеки та гігієни праці на фармацевтичному виробництві / Брейдак О.А., Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б. // Збірка тез доповідей науково-практичної конференції «Актуальні питання громадського здоров’я та екологічної безпеки України» (чотирнадцяті Марзєєвські читання). - Випуск 18. - 2018р. - Київ. - С.77-79.

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертаційної роботи

1. Брейдак О.А. Гігієнічна регламентація антигістамінних препаратів в об’єктах навколишнього середовища / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Туркіна В.А. // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2016. - Вип. 1-2 (13). - С.17-26. *(Здобувачем взята участь у зборі та аналізі даних)*
2. Брейдак О.А. Оцінка умов праці у виробництві драже та таблеток Діазолін / Кузьмінов Б.П., Брейдак О.А. // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2017. - Вип. - 1 (14). - С.103-108.
3. Брейдак О.А. Методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі робочої зони фармпідприємств. / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Брейдак О.А., Шевчук Л.П. // Актуальні проблеми профілактичної медицини.- 2017. - Вип. 2 (15). - С. 130-136.
4. Брейдак О.А. Профілактика професійних інтоксикацій антигістамінними препаратами (димедролом, діазоліном, лоратадином, дезлоратадином) у хіміко-фармацевтичному виробництві) / Кузьмінов Б.П.,. Зазуляк Т.С, Кузьмінов О.Б., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Інформаційний лист Департаменту охорони здоров'я Львівської обласної державної адміністрації, Львівського обласного центру здоров'я. - 2016 р. – 4c.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Зміст  Зміст  Перелік умовних позначень  Вступ  Розділ 1. ШКІДЛИВІ ВИРОБНИЧІ І ЕКОЛОГІЧНІ ФАКТОРИ У ПРОМИСЛОВОМУ ВИРОБНИЦТВІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ. КЛІНІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ДІАЗОЛІНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) | 13  15  17  23 |  | |
| * 1. Шкідливі виробничі фактори у промисловому виробництві лікарських засобів | 23 |  | |
| * 1. Екологічна оцінка хіміко-фармацевтичного виробництва лікарських засобів | 34 |  | |
| * 1. Діазолін, як представник антигістамінних препаратів першої генерації | 39 |  | |
| розділ 2. Матеріали та методи досліджень | 46 |  | |
| розділ 3. ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА УМОВ ПРАЦІ ПІД ЧАС ВИРОБНИЦТВА ДІАЗОЛІНУ ТА розробка методики кількісного визначення ДІАЗОЛІНУ у повітрі робочої зони | 55 |  | |
| 3.1. Гігієнічна оцінка умов праці під час виробництва діазоліну | 55 |  | |
| 3.2. Розробка методики кількісного визначення діазоліну у повітрі робочої зони | 61 |  | |
| розділ 4.ОЦІНКА токсичності І ХАРАКТЕРУ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ДІАЗОЛІНУ В ГОСТРИХ І ПІДГОСТРИХ ДОСЛІДАХ ТА ПРИ БАГАТОРАЗОВОМУ НАНЕСЕННІ НА ШКІРУ | 68 |  | |
| 4.1. Встановлення параметрів токсичності і характеру біологічної дії діазоліну на організм лабораторних тварин в умовах гострих дослідів | 68 |  | |
| 4.2. Визначення порогової концентрації (Limac) діазоліну при однократному інгаляційному впливі | 70 |  | |
| 4.3. Оцінка кумулятивних властивостей і характеру біологічної дії діазоліну в умовах підгострого досліду та багаторазового нанесення на шкіру | 74 | |
| розділ 5. ДОСЛІДЖЕННЯ Віддалених ЕФЕКТІВ ВПЛИВУ  ТА ІМУНОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДІАЗОЛІНУ | 77 | |
| 5.1. Дослідження гонадотоксичної дії діазоліну | 77 | |
| 5.2.Дослідження ембріотоксичної дії діазоліну | 79 | |
| 5.3. Дослідження імунотоксичної дії діазоліну | 81 | |
| РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ І ОБҐРУНТУВАННЯ ГІГІЄНІЧНИХ НОРМАТИВІВ ДІАЗОЛІНУ У ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ ТА АТМОСФЕРНОМУ ПОВІТРІ | 89 | |
| ВИСНОВКИ | 114 | |
| список використаних джерел | 117 | |
| Додаток а. список праць за темою дисертації | 138 | |
| Додаток Б. Акт впровадження (кафедра гігієни і профілактичної токсикології з курсом гігієни фпдо лнму імені Данила галицького) | 141 | |
| Додаток в. акт впровадження (кафедра фармакології лнму імені Данила галицького) | 142 | |
| Додаток Г. Акт впровадження (ПАТ "ФАРМАК") | 143 | |
| ДОДАТОК Д. інформаційне ПОВІДОМЛЕННЯ | 144 | |
| Продовження Додатку Д | 144 | |
| Додаток е. СВІДОЦТВО ПРО АТЕСТАЦІЮ мвв | 145 | |

Перелік умовних позначень

АГП – антигістамінні препарати

AЛT – аланінамінотрансфераза

AСT – аспартатамінотрансфераза

ІСЛМ – індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів

ІСНМ – індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів

ІСНЕ – індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів

ІРІ – імуннорегуляторний індекс

ІТП - інженерно-технічні працівники

КВЧ – коефіцієнт видової чутливості тварин

ЛВІ – лейко-В-клітинний індекс

ЛТІ – лейко-Т-клітинний індекс

ЛНМУ – Львівський національний медичний університет

МДТД – максимальна добова терапевтична доза

НДТД – найбільша добова терапевтична доза

ОБРВ – орієнтовно безпечний рівень впливу

ПЕГ – високомолекулярний поліетиленгліколь

РСАЛ – реакція специфічної агломерації лейкоцитів

РСЛЛ – реакція специфічного лізису лейкоцитів

СД3 – Т-лімфоцити

СД4 – Т-хелпери

СД8 – Т-цитотоксичні

СД16 – натуральні кілери

СД22 – В-лімфоцити

СПП - сумаційно-пороговий показник

ТР - технологічний регламент

ФСБ – фосфатно–сольовий буфер

ЦНС – центральна нервова система

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

CL50 – середньосмертельна концентрація при інгаляційному надходженні

DL50 – середньосмертельна доза при введенні в шлунок

DL100 – абсолютно смертельна доза при введенні в шлунок

ЕТ50  – середньоефективний час загибелі тварин

IgA – імуноглобуліни класу А

IgG – імуноглобуліни класу G

IgM – імуноглобуліни класу М

Кcum – коефіцієнт кумуляції

Limac – поріг гострої інгаляційної дії

Zac – зона гострої дії

Вступ

Алергічні захворювання за своєю поширеністю займають третє місце після серцево-судинних і онкологічних, а в деяких екологічно несприятливих регіонах виходять на перше місце. Протягом кожного десятиріччя показники захворюваності на алергією в усьому світі подвоюються. Незважаючи на вражаючи успіхи фундаментальних розділів біології і медицини, більш поглиблене вивчення природи алергії і створення нових способів протиалергічного лікування і профілактики, відзначається ускладнення перебігу алергічних захворювань, що неминуче призводить до зростання рівня тимчасової непрацездатності, інвалідизації населення, а отже, до зниження якості життя пацієнтів. В Україні згідно з офіційною статистикою алергічними захворюваннями страждають від 10 до 15% населення, що становить не менше 10 млн. чоловік. Схильні до алергічних реакцій 15- 17% населення [1].

Антигістамінні лікарські засоби – одна з найпоширеніших груп препаратів, що використовують при лікуванні алергічних захворювань. На українському фармацевтичному ринку представлені антигістамінні лікарські засоби різних поколінь вітчизняного виробництва. Особливе місце серед них займає діазолін (мебгідролін) - один з найвідоміших представників антигістамінних препаратів, блокаторів Н1-рецепторів [2]. Діазолін широко застосовується при різних алергічних захворюваннях (полінози, кропив'янка, екзема, свербіж шкіри, алергічний риніт, алергічний кон'юнктивіт, шкірна реакція після укусу комахи, бронхіальна астма), включений до стандартів лікування, в тому числі дітей, має низьку вартість [3, 4]. Головною перевагою діазоліну перед іншими “класичними” препаратами димедролом (дифенгідрамін) та супрастином (хлоропірамін) є відсутність седативного ефекту (сонливості, зниження уваги та ін.) [5].

Діазолін і лікарські препарати на його основі випускаються провідними фармацевтичними підприємствами України - ПАТ “Фармак” (м. Київ), фармацевтична фірма “Дарниця” (м. Київ) та ТОВ “Дослідний завод “ГНЦЛС” (м. Харків).

Наукові праці вітчизняних [6, 7, 8, 9, 10] та зарубіжних [11, 12, 13, 14] вчених свідчать про небезпеку для здоров'я працюючих та населення активних фармацевтичних інгредієнтів і лікарських засобів, які надходять у повітря робочої зони та забруднюють навколишнє середовище внаслідок діяльності підприємств хіміко-фармацевтичної промисловості.

У той же час відсутні вітчизняні дані, які у достатньому обсязі висвітлюють загальний характер токсичної дії діазоліну на організм тварин та людей, особливості перебігу гострих та підгострих отруєнь, віддалених ефектів впливу, токсичності сполуки при інгаляційному надходженні в організм, зокрема, в умовах фармацевтичного виробництва. Вітчизняні наукові розробки по встановленню гігієнічних регламентів допустимого вмісту цієї речовини у повітрі робочої зони, атмосферному повітрі та у воді водойм до цього моменту не проводились.

Таким чином, враховуючи широке застосовування діазоліну у клінічній лікарській практиці, а також високу біологічну активність препарату, необхідність обґрунтування гігієнічних регламентів допустимого вмісту діазоліну у об’єктах довкілля представляється актуальною.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом наукової теми, яка виконувалась центральною науково-дослідною лабораторією та лабораторією промислової токсикології Львівського національного медичного університету (ЛНМУ) імені Данила Галицького: “Наукове обґрунтування гігієнічних регламентів допустимого вмісту лікарських препаратів в об’єктах довкілля та розробка кількісних методів їх визначення у повітрі" **–** реєстраційний номер 0109U000023.

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи – токсиколого-гігієнічна оцінка діазоліну та розробка гігієнічних регламентів у об’єктах довкілля

Досягнення вказаної мети здійснювалось через вирішення таких завдань:

1. Провести гігієнічну оцінку умов праці під час виробництва діазоліну з визначенням концентрацій препарату у повітрі робочої зони;

2. Визначити ступінь токсичності діазоліну при різних шляхах надходження в організм піддослідних тварин в умовах гострих та підгострих експериментів. Оцінити кумулятивні властивості;

3. Вивчити імунотоксичну дію препарату;

4. Оцінити небезпеку розвитку віддалених ефектів впливу діазоліну:

гонадотоксичного, ембріотоксичного;

5. Розробити комплекс заходів попередження негативного впливу діазоліну на організм працівників в умовах виробництва, забруднення діазоліном атмосферного повітря населених місць та води відкритих водойм.

*Об'єкт дослідження:* токсикодинаміка діазоліну при одноразовому та тривалому надходженні до організму лабораторних тварин.

*Предмет дослідження:* токсикологічні, біохімічні, імунологічні, морфологічні показники лабораторних тварин (щурі, миші, мурчаки, кролі) з експериментальним отруєнням діазоліном; санітарно-хімічні параметри повітря робочої зони.

*Методи дослідження: аналітичний –* спрямований на вивчення регламентуючих документів, а також встановлення професійно значущих функцій та якостей працівників фармацевтичного підприємства, професійних вимог до обраної спеціальності; *токсиколого-гігієнічний –* спрямований на визначення умов і характеру праці під час виробництва лікарського засобу та його токсичності при різних шляхах надходження в організм людини; *гематологічний -* для вивчення морфологічної картини клітин крові піддослідних тварин, визначення фізико-хімічних властивостей крові, кількісного та якісного складу формених елементів; *біохімічні -* для діагностики хвороб обміну речовин, причиною яких є зміни активності окремих ферментів; *імунологічні* - для якісного та кількісного виявлення гуморальних або клітинних факторів імунної системи; *морфологічні -* для виготовлення, консервації і збереження макромікропрепаратів органів чи їх структур; *медико-статистичний –* для проведення статистичної обробки матеріалу.

**Наукова новизна** **отриманих результатів полягає** в тому, що *вперше в Україні:*

-встановлено параметри токсичності діазоліну при різних шляхах надходження в організм лабораторних тварин;

- визначено його вплив на гематологічні, біохімічні показники і гістоструктуру тканин внутрішніх органів щурів;

- показано, що гостре і субхронічне отруєння організму тварин діазоліном характеризується переважанням симптомів порушень центральної нервової системи;

- виявлено сильну кумулятивну активність і високу небезпеку діазоліну при інгаляційному шляху надходження, що свідчить про ймовірність несприятливого впливу на здоров'я працюючих у виробничих умовах;

- вперше доведено, що діазолін впливає на показники клітинної та гуморальної ланки природженого та набутого імунітету, що може призвести до формування алергійних та аутоімунних реакцій;

- проведена гігієнічна оцінка умов праці на хіміко-фармацевтичному виробництві свідчить про забруднення повітря робочої зони діазоліном в концентраціях, що перевищують рекомендований безпечний рівень в двічі.

- науково обґрунтовано гігієнічні регламенти допустимого вмісту діазоліну в повітрі робочої зони виробничих приміщень, атмосферному повітрі населених місць, воді відкритих водойм.

*Набуло подальшого розвитку* знання щодо застосування комплексних досліджень з розробки гігієнічних регламентів допустимого вмісту лікарських засобів у повітрі робочої зони для підвищення вимог до якості виробничого середовища на фармацевтичних підприємствах та безпеки праці робітників в умовах виробництва потенційно шкідливих для здоров’я хімічних речовин.

**Теоретичне значення.** Обґрунтована необхідність вивчення специфічних ефектів впливу, зокрема імунологічної дії, для антигістамінних препаратів при їх використанні.

**Практичне значення** **отриманих результатів.** Одержані результати покладені в основу наукового обґрунтування ОБРВ діазоліну в повітрі робочої зони виробничих приміщень (Постанова МОЗ України).

Розроблено та впроваджено в практику державного санітарно-епідеміологічного нагляду методику вимірювання концентрацій діазоліну (свідоцтво про атестацію МВВ № 081/12-0896-14) у повітрі робочої зони та комплекс санітарно-гігієнічних і медико-профілактичних заходів, спрямованих на покращення умов праці та збереження здоров'я працівників, що контактують з речовиною (“Профілактика професійних інтоксикацій антигістамінними препаратами” інформаційне повідомлення Департаменту охорони здоров'я Львівської обласної державної адміністрації, Львівського обласного центру здоров'я, 2016 р.).

Результати роботи впроваджено y навчальний процес на кафедрах гігієни та профілактичної токсикології (додаток Б), фармакології (додаток В) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та підприємстві ПАТ “Фармак”, м. Київ (додаток Г).

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено аналіз літературних джерел, гігієнічні та експериментальні токсикологічні дослідження, статистичну обробку й інтерпретацію результатів. Гістологічні дослідження виконані за консультативної допомоги доц., к.мед.н. Бісяріна Ю.В., імунологічні дослідження **–** за консультативної допомоги с.н.с. Грушки О.І. Гігієнічні дослідження в умовах виробництва проведені за допомогою співробітників санітарно-промислової лабораторії відділу гігієни праці та охорони навколишнього середовища ПАТ “Фармак” (начальник лабораторії Єсипенко А.М.). Методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі розроблена у співавторстві з с.н.с., к.б.н. Зазуляк Т.С.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи представлені та обговорені на XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених “Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини” (Львів, 2015)/VIII международной научно-практической конференции “Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия” (Новосибирск, 2015), науково-практичній конференції з міжнародною участю “Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє” (до 100 річчя ДЗ “Дніпропетровська медична академія МОЗ України”) (Дніпро, 2016), науково-практичній конференції присвяченій 30-річчю лабораторії промислової токсикології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (Львів, 2017), науково-практичній конференції “Актуальні питання громадського здоров’я та екологічної безпеки України (чотирнадцяті Марзєєвські читання)”(м. Київ, 2018).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 робіт, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях рекомендованих ДАК України, 1 – у науковому фаховому виданні інших держав, 1 – включена до міжнародних наукометричних баз, 3 статті – у інших наукових виданнях, 4 - тези доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій, 1 – інформаційне повідомлення.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, розділу, в якому висвітлено матеріали та методи досліджень, 3-х розділів власних досліджень, науково-практичних рекомендацій, висновків, списку літератури. Загальний обсяг дисертації становить 145 сторінки комп'ютерного друку. Дисертація містить 24 таблиці, 2 рисунки. Бібліографія включає 176 джерел.

РОЗДІЛ 1

ШКІДЛИВІ ВИРОБНИЧІ І ЕКОЛОГІЧНІ ФАКТОРИ У ПРОМИСЛОВОМУ ВИРОБНИЦТВІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ.

КЛІНІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ДІАЗОЛІНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

* 1. Шкідливі виробничі фактори у промисловому виробництві лікарських засобів

Хіміко-фармацевтична промисловість – одна із складових фармацевтичної галузі, яка має вагому значущість у збереженні здоров'я людей та є невід'ємною частиною світової економіки. Дана галузь займає домінуючі позиції в економіці розвинених країн (Швейцарія) [15] та країн, що розвиваються (Індія, Бразилія, Китай) [16, 17, 18]. Фармацевтична індустрія України впродовж останніх років демонструє стійку тенденцію до зростання. Українська фармацевтична промисловість виробляє близько 25% від 13 тис. найменувань лікарських препаратів майже в усіх формах та динамічно розвивається, не зважаючи на соціальні та економічні проблеми, в той період, коли інші галузі народного господарства демонструють від’ємні показники [19].

Промислове виробництво фармацевтичних препаратів – основна задача підприємств, що належать до хіміко-фармацевтичної галузі.

Фармацевтичні препарати - це не клас речовин, такий як фталати або поліхлорбензоли. Вони не мають хімічних, фізичних, структурних чи біологічних аналогів. Ці препарати часто розглядаються як складні хімічні структури, але вони також можуть бути і простими сполуками. Наприклад, анестетик пропофол (2,6-діізопропілфенол) – проста ароматична сполука, а вазодилататор нітрогліцерин (1,2,3-тринітрокіпропан) – проста аліфатична сполука. З більш складних, але все ще порівняно низькомолекулярних сполук можна згадати, такі як статин, аторвастатин ((3R, 5R) -7- [2- (4-фторфеніл) -3-феніл-4- (фенілкарбамоїл) -5-пропан- 2-ілпіррол-1-іл] -3,5-дигідроксігептанова кислота). Нові біофармацевтичні препарати представляють собою високомолекулярні структури, наприклад інсулін. Його молекулярна маса складає 5800 Da.

Фактично єдиний загальний фактор, який об'єднує фармацевтичні препарати – це їх використання. Речовини, що ми ідентифікуємо як фармацевтичні препарати, – це ті речовини, які ми використовуємо як лікарські засоби для людей (або тварин). Це означає, що в принципі, будь-яка речовина може бути визначена в певний момент як фармацевтична [20].

Не дивно, що багато фармацевтичних препаратів також використовуються не для фармацевтичних цілей. Наприклад, диметилфумарат, який широко використовувався як засіб від цвілі, у 2013 році під торговельною маркою Tecfidera отримав ліцензію на фармакологічне виробництво, як препарат від розсіяного склерозу [21]. А вазодилатаційні властивості нітрогліцерину були виявлені Вільямом Мюррелем лише після винаходу речовини Альфредом Нобелем як активної складової динаміту [22].

Фармацевтичні препарати відрізняються від решти продуктів хімічної промисловості тим, що безпосередньо або опосередковано приймають участь в обмінних процесах людського організму. Лікарські засоби задля збереження життя хворих мають завдання відкоригувати або усунути патофізіологічний стан людини, іноді володіють токсичними ефектами (наприклад протиракові препарати).

Все частіше сьогодні розробляються препарати, можуть замінити чи імітувати функцію речовин, які природно виробляються організмом. Якщо рівень цих речовин знижується, ризик деяких захворювань може збільшитися. При екзогенному надходженні потрібної сполуки такі захворювання можуть бути пом'якшені або усунені. Це основа для гормонозамісної терапії (ЗГТ) у жінок після менопаузи, коли рівні природних естрогенів знижуються, а ризик виникнення певних видів захворювань зростає, наприклад, остеопорозу. Для осіб, які не мають зниженого рівня естрогенів, додаткове надходження таких речовин може бути небажаним і потребує контролю. Таким чином, в умовах виробництва лікарських засобів їхній фармакологічний ефект відрізняється від професійного впливу. Це є однією з особливостей хіміко-фармацевтичного виробництва [23].

Особливістю та специфікою хіміко-фармацевтичної промисловості є відповідність якості лікарських засобів вимогам Державної [фармакопеї](http://medical-enc.com.ua/farmakopeya.htm) та іншим офіційним документам, порівняно невеликий обсяг виробництва більшості лікарських засобів, високі вимоги до хімічної чистоти та стерильності продукції [24].

Для цієї промисловості також характерні великі витрати сировини і матеріалів, що обумовлено багатостадійністю і складністю синтезу лікарських засобів. Нарешті, хіміко-фармацевтична промисловість характеризується відносно швидким оновленням номенклатури лікарських засобів. Ці чинники зумовили поширення поєднаних технологічних схем, що дозволяють здійснювати випуск 2-3 видів ліків і більше упродовж року. Крім того, усі речовини, що випускаються цією галуззю, мають бути перероблені в готові лікарські форми. Вказані особливості хіміко-фармацевтичної промисловості обумовлюють вимоги в проектуванні та експлуатації виробничих приміщень, що визначають якість кінцевої продукції та обумовлюють біобезпеку виробництва [25].

У хіміко-фармацевтичній промисловості розрізняють кілька груп підприємств, найголовнішими з яких є заводи по виготовленню синтетичних хіміко-фармацевтичних препаратів, з виробництва антибіотиків та виготовлення із цих препаратів так званих готових (стандартних) лікарських форм [24, 26].

У виробництві лікарських препаратів використовують більше 3000 різних хімічних речовин в якості сировини і напівпродуктів, номенклатура яких представлена в основному насиченими і ненасиченими вуглеводнями, спиртами (метанол, етанол), кислотами, діетиловим ефіром, хлористим воднем тощо. Органічні розчинники – необхідний атрибут у процесах хіміко- фармацевтичного виробництва. Вони зазвичай використовуються на будь-якому етапі синтезу активної речовини або допоміжних речовин, а іноді і під час процесу формування лікарського засобу. Щорічно розробляються нові технологічні процеси, синтезуються нові лікарські сполуки (і відповідно нові напівпродукти) з невивченими токсичними властивостями. Токсична дія майже всіх зазначених речовин політропна і зачіпає багато фізіологічних систем: нервову і органи чуття, органи кровотворення, серцево**-**судинну і гепатобіліарну, імунну та репродуктивну [27, 28].

Слід визнати, що виробнича діяльність працівників фармацевтичної галузі пов'язана з впливом великої кількості негативних факторів. До основних шкідливих виробничих факторів у промисловому виробництві лікарських засобів належать фактори, що можуть бути виділені у п'ять основних груп: хімічний (шкідливі органічні та неорганічні речовини у вигляді пилу, парів, газів, аерозолів); біологічний (продукти мікробіологічного синтезу — антибіотики, антибіотиковмісні препарати, біопрепарати та ін.); механічний (ергономічний), фізичний (мікроклімат, шум, вібрація, опромінення та ін.) та психологічний чинник [29, 30].

Забруднення повітря токсичними речовинами можливе на усіх етапах технологічного процесу: при підготовчих, основних і завершальних операціях. Сильний вплив хімічних речовин можливий під час виготовлення лікарських засобів при шліфуванні, просіюванні, таблетуванні, гранулювання, змішуванні, наповненні та упаковці готової продукції [31].

Головними причинами наявності шкідливих речовин в повітрі виробничих приміщень є недосконалість устаткування, порушення технологічних режимів, відсутність або недостатня механізація багатьох операцій, пов’язаних з транспортуванням, завантаженням і вивантаженням матеріалів з апаратів, застосування негерметичного устаткування, переливання хімічних продуктів при заповненні апаратів та ін. Вміст складових речовин, що забруднюють повітря робочої зони на більшості підприємств з виробництва лікарських засобів, носить складний характер, що обумовлене одночасною присутністю багатьох хімічних інгредієнтів, що знаходяться у вигляді аерозолю, пари або газу. Залежно від стадії технологічного процесу, виду отриманого лікарського засобу повітря виробничих приміщень може забруднюватися початковими, проміжними і готовими продуктами хімічного синтезу [24].

Надходження шкідливих речовин в організм здійснюється головним чином через дихальні шляхи, неушкоджені шкірні покриви і шлунково-кишковий тракт та слизові оболонки. Легені надзвичайно вразливі до хімічних агентів. Навіть речовини, які безпосередньо не впливають на них, можуть проходити через легеневу тканину в кровотік, де вони транспортуються в інші органи та частини тіла. Хімічні речовини також можуть потрапляти в дихальні шляхи через пунктирні барабанні перетинки. Інший важливий шлях впливу - прямий контакт шкіри та очей з небезпечними речовинами. Деякі хімічні речовини безпосередньо травмують шкіру, проникають крізь шкіру в кров'яне русло. Проникність шкіри посилюється через порізи, тепле та вологе оточення. Око є особливо вразливим, оскільки хімічні речовини, що знаходяться в повітрі, можуть розчинятися на вологих поверхнях і переноситися до частин тіла через кровопотік (капіляри розташовані дуже близькі до поверхні ока) [32].

Хімічні експозиції, як правило, поділяються на дві категорії: гостру і хронічну. Симптоми, спричинені гострими експозиціями, зазвичай виникають під час або після впливу достатньо високої концентрації забруднювача (недотримання технологічного процесу, аварійні ситуації, розкриття обладнання). Час та кількість експозицій для даного забруднювача, симптоми гострого отруєння можуть бути цілком відмінними від тих, які виникають у результаті хронічного впливу [33]. Хронічні інтоксикації розвиваються поступово, при довготривалій дії отрут у відносно низьких концентраціях, які не викликають гострих отруєнь. При виражених формах хронічної інтоксикації у результаті дії аміносполук ароматичного ряду амінобензолів (анілін, бензидин, парадіамінодифеніла) та інших сполук, що використовуються у фармацевтичній промисловості, можуть розвиватися анемія та геморагічний діатез. Негативним наслідком дії шкідливих хімічних речовин може бути не тільки гостре або хронічне отруєння, але й зниження імунної опірності, погіршення протікання соматичних хвороб, розвиток алергічних станів [24, 32.]

Пил є одним із найбільш поширених шкідливих хімічних виробничих факторів. Його впливу піддається велика кількість працюючих, у яких можуть розвиватися різні захворювання, в тому числі і професійні захворювання органів дихання. Захворювання, які він викликає небезпечні тим, що діагностуються, як правило, на останній стадії, коли людину треба переводити на інвалідність. Багато виробничих процесів супроводжується емісією у повітря робочої зони пилу, який відрізняється за своїм складом, фізико-хімічним властивостям, біологічною активністю. На хіміко-фармацевтичних підприємствах працівники переважно піддаються впливу пилу, що містить лікарські речовини. Найбільш вагоме забруднення повітря робочої зони відбувається у процесі зважування, транспортування сировини, завантаження та вивантаження інгредієнтів, фасуванні лікарських засобів.

# Характер впливу пилу на організм багатогранний. Він визначається, перш за все, його властивостями та хімічним складом. Так, пил антибіотиків, сульфаніламідних препаратів, вітамінів, гормонів, в залежності від шляхів надходження до організму може викликати загальнотоксичний, шкірно- резорбтивний, подразнюючий, алергенний ефекти [34, 35].

Механізм дії лікарського пилу у виробничих умовах подібний на ті побічні реакції, які виникають при довготривалому та нераціональному лікуванні хворих аналогічними лікарськими засобами. Різниця в тому, що у працівників хіміко-фармацевтичної промисловості ці реакції можуть проявлятись у більш важкій формі, через те, що упродовж робочого дня вони можуть отримувати дозу, яка значно перевищує добову терапевтичну дозу при лікуванні. Багато видів лікарського пилу препаратів, що призначають у малих терапевтичних дозах, викликаються сильний токсичний ефект при виробничому контакті з ними (наприклад аміназин). Барбаміл, саліцилова кислота та її солі, хлоралгідрат, панкреатин, нікотинова кислота проявляють сильно виражену подразнюючу дію, особливо на слизові оболонки верхніх дихальних шляхів. Ураження системи крові може зустрічатися в умовах професійного контакту з сульфаніламідними препаратами, похідними піразоліну, іншими нестероїдними протизапальними засобами, цитостатиками) [24, 36].

Розлади скелетно-м'язової системи - основні причини порушення трудової активності та виникнення довготривалих хвороб, що можуть призводити до виникнення травми або інвалідності. Ця тенденція однакова як для промислово розвинених, так і для тих країн, що розвиваються. Порушення скелетно-м'язової системи складають третину професійних хвороб у Північній Америці, скандинавських країн та Японії. У фармацевтичній промисловості, де є процеси спостерігання за роботою устаткування, пакування готової продукції, працівники досить довгий час мають статичне навантаження та виконують одноманітні операції. Такі роботи часто характеризуються незручним положенням, монотонністю рухів, сидячим або стоячим положенням, вимушеною робочою позою [43].

При довготривалому положенні стоячи можливе виникнення пласкоступості, болей у ногах, набряків, швидкої втоми м'язів ніг, іноді судом литкових м'язів. Як правило, у таких працівників спостерігаються варикозне розширення вен, тромбофлебіт. Тривала робота сидячи сприяє викривленню хребта, підвищенню внутрішньочеревного тиску, застою крові у венах внутрішньочеревної порожнини та прямої кишки, що в свою чергу призводить до порушення функцій кишківника (атонія, закрепи) та геморою. При виконанні одноманітних дрібних рухів (зважування, пакування тощо) можливе перенапруження окремих груп м'язів, наприклад кінцівок рук та пальців. Це призводить до виникнення міозитів, а в деяких випадках – до координаторних неврозів [44].

Узагальнюючи публікації [37, 38, 39, 40, 41, 42] та вищевикладене професійні хвороби працівників хіміко-фармацевтичного виробництва, що виникають внаслідок дії шкідливого хімічного фактору можна представити наступним чином (таблиця 1.1):

*Таблиця 1.1*

**Перелік потенційних професійних захворювань працівників хіміко-фармацевтичного виробництва, що виникають внаслідок дії хімічного фактору** [42]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва захворювань | Шкідливі та небезпечні фактори виробничого середовища | Перелік робіт і виробництв, на яких можливо виникнення |
| 1 | 2 | 3 |
| Захворювання, які виникають у результаті впливу хімічних факторів | | |
| 1. Гострі, хронічні інтоксикації та їх наслідки, для яких характерно ізольоване або поєднане ураження органів та систем | Хімічні речовини: сировина, проміжні, побічні та кінцеві продукти | Отримання, переробка, хімічна стерилізація та застосування сировини |
| 1.1 Токсичні ураження органів дихання: ринофарингіт, риніт, трахеіт, бронхіт, пневмоконіоз | Азотна кислота, аміак, оксид азоту, хлор та його сполуки, бензол і його похідні, свинець, сірка та її сполуки |  |
| 1.2 Токсичні ураження очей: катаракта, кон'юнктивіт | Тринітросполуки, йод, фтор, азотна кислота, аміак, сірка, хлор, фтор |  |
| 2. Хвороби шкіри: епідермою, конкатній дерматит, токсикодерматит, фотодерматит | Бензин, хлоровані нафталіни, кислоти, луги, органічні розчинники, солі важких металів | Виробництва та фасування фармацевтичних препаратів, їх стерилізація |
| Захворювання, які виникають в результаті впливу виробничих аерозолів | | |
| Пневмоконіоз, бісиноз, хронічний бронхіт, токсо-пиловий бронхіт, хронічний ринофарінгит | Тривале вдихання окремих органічних (у тому числі тваринних та рослинних), неорганічних та змішаних видів пилу | Переробка лікарських рослин та іншої сировини, виготовлення та фасування лікарських засобів |
| Продовження табл. 1.1 | | |
| Алергічні захворювання | | |
| Алергічні захворювання: кон'юнктивіт,  ринофаринго-ларингіт, астма, дерматит, екзема, токсикодермія, набряк Квінке, кропив'янка, анафілактичний шок | Речовини та сполуки алергічної дії (згідно переліку відповідних  речовин) | Роботи, що пов'язані з впливом алергенів у фармацевтичній галузі |
| Злоякісні новоутворення | | |
| 1. Пухлини шкіри: гіперкератози, епітеліоми, папіломи, лейкокератози, рак | Поліароматичні вуглеводні, вінілхлорид, хром, миш'як, бензол, аміни бензольного ряду (бензидин, діазидин) з можливим поєднанням іонізуючого та ультрафіолетового випромінювання | Стерилізація упаковочних, фасовочних матеріалів, сировини та медичних препаратів, проведення дезоброки тощо. |
| 2. Пухлини порожнини рота та органів дихання |
| 3. Рак шлунку |
| 4. Лейкози |

Ергономіка - це пристосування робочих місць до фізичних та психологічних потреб працівників. Ергономіка також стосується когнітивних функцій та розуміння використання засобів керування (наприклад, вимикачів), кольорів (наприклад, на моніторах комп'ютера та інших дисплеях) та подібних дизайнерських функцій. Погана ергономічна конструкція може збільшити ризик виникнення небезпечних ситуацій (наприклад, незручне положення може посилювати вплив хімічних речовин, нечіткі сигнали можуть призвести до ситуацій, пов'язаних із безпекою процесу).

Загальні наслідки стресу, пов'язаного з роботою, проявляються підвищеним артеріальним тиском та супутніми серцево-судинними захворюваннями, змінами в імунній відповіді, захворюваннями шлунково-кишкового тракту, депресією, апатією, тривогою. Одним із наслідків, що представляють особливий інтерес для жінок є порівняно недавнє відкриття кореляції між робочими нічними змінами та раком молочної залози. IARC нещодавно оприлюднила висновки про те, що довгострокова робота з зсувами графіку, яка руйнує циркадний ритм, є канцерогенною [29].

Загальна характеристика можливих профзахворювань, що виникають внаслідок фізичного та емоційного навантаження подана у таблиці 1.2. [42]

*Таблиця 1.2*

**Захворювання працівників хіміко-фармацевтичного виробництва, які пов'язані з фізичним навантаженням та перенапругою окремих органів та систем** [42]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва захворювань | Шкідливі та небезпечні фактори виробничого середовища | Перелік робіт і виробництв, на яких можливо виникнення |
| 1. Дисоціативні проворні розлади в тому числі писальний спазм | Роботи, котрі потребують високої координації рухів та виконуються у швидкому нав'язаному темпі | Рукописні, машинописні роботи, оператори комп'ютерного набору |
| 2. Захворювання периферичної нервової системи: моно- і полінейропатії верхніх та нижніх кінцівок | Роботи, що пов'язані з локальним м'язевим напруженням, однотипними рухами, котрі виконуються у швидкому темпі, перенесенням вантажу за участі верхні кінцівок та ін. | Фасувальні процеси, сортування та складування готової продукції |
| 3. Прогресуюча міопія | Підвищене зорове напруження у випадках необхідності розрізнення дрібних предметів з близької відстані | Мікроскопія. сортування, визначення забарвлення ліків, читання інструкцій та ін. |

До фізичних факторів хіміко-фармацевтичного виробництва, як було відмічено вище, належать шум, вібрація, мікроклімат та різні види випромінювання.

Шум — це найпоширеніше явище у промисловому виробництві, що представляє безладне сполучення різних за силою і частотою звуків, здатне впливати на організм. Джерелом шуму є будь-який процес, що викликає місцеву зміну тиску або механічні коливання твердих, рідких або газоподібних середовищ. 16 % випадків втрати слуху у світі зумовлені надмірним впливом шуму на робочому місці. Шумове навантаження розподіляється нерівномірно серед усіх робітників, його впливу переважно піддаються працівники виробничих професій у окремих секторах економіки, не виключенням є і хіміко-фармацевтичні підприємства [45].

Високі рівні звуку можуть генеруватися виробничим обладнанням та устаткуванням (наприклад, стиснене повітря, джерела вакууму та системи вентиляції). Робочі місця працівників часто розташовуються поблизу машин під час виробничих та пакувальних робіт. Необхідно відмітити, що виробничий шум навіть на рівні допустимого може посилювати несприятливу дію хімічних речовин [46].

На підприємствах хіміко-фармацевтичної промисловості мікроклімат виробничих приміщень повинен відповідати вимогам, встановленим ДСН 3.3.6.042-99. Проте дослідження показують, що при недостатній теплоізоляції нагрітих поверхонь апаратів і комунікаційних теплових мереж одночасно з хімічним чинником можлива дія на працюючих і мікроклімату. Підвищена температура повітря реєструється переважно в сушильних відділеннях, біля апаратів, в яких реакція протікає з виділенням тепла або при високій температурі (кристалізатори, розчинники, гідролізери та ін.). Так, в теплу пору року температура повітря на цих ділянках може сягати 34-38°С при відносній вологості 40-60 %. Таким чином, нагріваючий мікроклімат на окремих робочих місцях підприємств фармацевтичної промисловості є додатковим фактором, що посилює дію хімічного чинника [25].

Види професійної патології, що виникає під дією фізичних чинників наведено у таблиці 1.3.

*Таблиця. 1.3*

**Захворювання, які виникають у результаті впливу фізичних факторів**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва захворювань | Шкідливі та небезпечні фактори виробничого середовища | Перелік робіт і виробництв, на яких можливо виникнення |
| 1. Захворювання, що пов'язані з дією іонізуючого випромінювання: гостра або хронічна променева хвороба; місцеві (гострі або хронічні) променеві ураження | Всі види іонізуючих випромінювань (зовнішнє опромінення або надходження радіонукліда до організму) | Виробництво радіо фармацевтичних препаратів, стерилізація виробів з пластмас, пакувальних виробів і деяких лікарських засобів з використання радіаційного методу |
| 2. Електрофтальмія | Інтенсивне ультрафіолетове випромінювання | Стерилізація води та іншої аптечної продукції, санація повітря тощо |
| 3. Катаракта | Систематичний вплив інфрачервоної енергії, ультрафіолетове, надвисоке радіочастотне та інші опромінення |
| 4. Гостре перегрівання (тепловий удар, запаморочення, теплові судоми тощо) | Нагріваючий мікроклімат та інтенсивне теплове випромінювання у виробничому середовищі | Парова і повітряна стерилізація |

* 1. Екологічна оцінка хіміко-фармацевтичного виробництва

Сучасна хіміко-фармацевтична індустрія функціонує у відповідності до нормативних документів, де закладені основи забезпечення виробництва високоякісних препаратів, дотримання принципів GMP, відповідно охорони виробничого середовища й природоохоронні засади, які направлені на зведення до мінімуму негативного впливу різного роду забруднень [47, 48].

На рис. 1 представлена схема організації виробництва лікарських препаратів і перелічені потенційні види відходів та джерел забруднення лікарських препаратів [49].

Виробництво лікарських засобів

Розсів у навколишнє середовище

Утилізація

Відходи, що не утилізуються

Відходи

Паро-газові викиди

Пил

Стічні води

Віходи тари та упаковки

Некондиційні продукти

Рис. 1.1 Схема організації виробництва лікарських засобів [35]

Основними джерелами можливого забруднення атмосфери при виробництві лікарських препаратів є вентиляційні установки, що видаляють забруднене повітря від технологічного устаткування основного і допоміжного виробництв, і загально-обмінні вентиляційні установки. На сучасному етапі промислові викиди лікарських засобів у навколишнє середовище, що є випадковим або такими, що порушують існуючі норми та правила не мають систематичного характеру. Більш того, спостерігається загальна тенденція зниження екологічного навантаження з боку фармацевтичних виробництв, в першу чергу, у розвинених країнах світу внаслідок послідовного підвищення технологічності та організованості виробничого процесу, впровадження стандартів, що підвищують якість та екологічну безпеку, контролю з боку уповноважених державних органів. Крім того, фармацевтичне виробництво локалізоване географічно, і в разі аварії або порушення екологічного законодавства, викиди носять виключно місцевий характер і є небезпечними лише для конкретного регіону [50].

В останні роки поява фармацевтично активних сполук та поступове збільшення їх вмісту у водному середовищі визнано одною із актуальних екологічних проблем сьогодення. Визнаються основні шляхи потрапляння їх у довкілля: зі стоками промислових підприємств [51, 52] та із побутовими стоками [53, 54, 55]. Зазначається, що багато лікарських засобів, що застосовуються в медичній та ветеринарній практиці, не повністю метаболізуються в організмі. Часто вони виділяються незмінними або переважно кон'югованими до полярних молекул. Ці кон'югати легко розщеплюються під час очищення стічних вод і первинні фармацевтично активні сполуки потрапляють в водне середовище [56].

Емісія фармацевтичних препаратів у водне середовище та їх потенційна екологічна стійкість може мати непередбачувані наслідки для водної біоти, але оцінку цих ефектів ще не можливо повністю з'ясувати [55, 58]. Передбачається, що фармацевтичне забруднення водних ресурсів буде ключовим питанням для майбутнього захисту навколишнього середовища, а також для здоров'я людей, які мимоволі отримують забруднену воду та продукти харчування.

Велика кількість хімічних сполук, що використовуються для виробництва лікарських засобів, наявність різних процесів трансформації, які вони можуть пройти, ускладнюють здатність всебічно визначити їх вміст та оцінити сукупні ризики, що виникають в навколишньому середовищі. Нещодавні дослідження виявили високу концентрацію великої кількості лікарських препаратів у стоках фармацевтичних фабрик. Стічні води, що утворюються на таких майданчиках можуть містити активні фармацевтичні інгредієнти у концентрації, що коливається від декількох сотень до тисяч мг на дм3. Вже зараз у стоках, які генеруються підприємствами з виробництва фармакологічних препаратів, виявлено понад 130 різних фармацевтичних забруднювачів [59].

Значна кількість цих біологічно активних сполук витримує класичні процеси обробки, тому їхні концентрації у прісній воді коливаються від н/дм3 до мкг/дм. Наприклад, концентрації антибіотика окситетрацикліну в річці Сяо (Китай) на точці вивантаження та 20 км вниз по течії досягли 641 мкг/дм3 і 250 мкг/дм3 відповідно [60]. Недостатньо очищені стічні води від фармацевтичної промисловості в одному з найбільших у світі центрів з виробництва сипких лікарських препаратів, розташованого в Індії, спричинили дуже високу концентрацію ципрофлоксацину (до 6,5 мг/ дм3), цетиризину (до 1,2 мг/ дм3), норфлоксацину (до 0,52 мг/ дм3) та еноксацину (до 0,16 мг/ дм3) у прісних озерах [61].

Стічні води хіміко-фармацевтичних підприємств надходять на очисні споруди, де підлягають процесам очищення. Однак фармацевтичні препарати після обробки можуть перетворитись на більш токсичні та стійки сполуки. [62]. Крім того, концентрації продуктів перетворення у воді можуть бути навіть більшими, ніж вихідної сполуки, (наприклад це підтаержено для карбамазепіну, диклофенаку і аторвастину) [63]. Слід також враховувати сценарій, згідно з яким концентрації вихідної сполуки будуть знаходитися нижче межі детектування, але продукти їх перетворення будуть присутніми.

Наявність активних фармацевтичних інгредієнтів у поверхневих водах призводить до експозиції водної біоти. Вплив фармпрепаратів вивчався переважно для риб і включав зміни в репродуктивній функції, поведінкових реакціях, а саме виникненні агресії, сміливості, активності, зміну соціальної поведінки та швидкості годування [64]. Наявність антибіотиків у поверхневих водах викликає розвиток антибіотикорезистентного гену та сприяє підвищенню стійкості бактерій до антибіотиків не тільки в стічних водах лікарень та тваринницьких підприємств, але і в побутових стоках, поверхневих та підземних водах [65].

Існує певний розподіл лікарських препаратів у поверхневих водах та донних відкладенях. Дослідження водних басейнів Іспанії показали, що у поверхневих водах в значних кількостях були присутні препарати, що належали до анальгетиків та протизапальних засобів. У дещо менших концентраціях виявлено – діуретики, антигіпертензивні та психотропні препарати. Донні осади, окрім перелічених, містили ще антигістаміни, глюкокортикостероїди та блокатори кальцієвих каналів [66].

Біологічна активність фармацевтичних препаратів перетворює їх присутність у водному середовищі на екологічну проблему, що викликає занепокоєння, оскільки, незважаючи на інтенсивні дослідження за останні 15 років, все ще існують значні прогалини у визначенні хронічного впливу на водні організми, вплив на функціювання екосистем і біорізноманіття [67,68].

Деякі лікарські засоби можуть біоакумулювати та біоконцентруватись у водних організмах. Показано, що поширені нестероїдні протизапальні препарати (диклофенак, напроксен, ібупрофен) здатні накопичуватись у рибі. Причому концентрація ібупрофену, що була визначена у плазмі та зразках жовчі риби в 100-1000 разів є вищою, ніж у відповідних зразках води [69]. Біоакумулючі здібності також виявлені для препаратів групи антибіотиків (накопичення в істотній кількості у молюсках) [70] та антидепресантів (виявлені у перифітоні, равликах, бентосних безхребетних та м'язових тканинах промислових риб) [71, 72, 73].

Окремої уваги вимагає група антигістамінних препаратів. Сьогодні алергічні захворювання набувають статусу пандемії [74], тому виробництво антигістамінних препаратів дедалі збільшується у всьому світі та лідирує поряд із серцево-судинними, гормональними препаратами та анальгетиками [75].

Антигістамінні препарати погано деградують під час біологічного очищення, що застосовуються в установках для очищення стічних вод і, як наслідок, вони постійно скидаються разом з іншими лікарськими засобами до водного середовища. Так, дифенгідрамін антигістамінний препарат першого покоління, широко поширений у поверхневих водах. Він має здатність до біоакумуляції, накопичуючись у печінці та мозку риб карпових порід, впливає на біомаркери перекисного окислення ліпідів, поведінкові реакції [76]. Представник антигістамінних препаратів другого покоління лоратадин відмічений, як небезпечний екополютант, токсичний по відношенню до водоростей, Daphnia та риб [66]. Для препаратів цієї групи відмічено сезонні підвищення концентрації у поверхневих водах, які пов’язані із періодом цвітіння рослин і відповідно збільшенням обсягів використання антигістамінних засобів [77].

1.3 Діазолін, як представник антигістамінних препаратів першої генерації.

Як було зазначено вище, обсяг споживання антигістамінних препаратів збільшується не тільки у всьому світі, а й в Україні. Найпопулярнішими лікарськими засобами упродовж 2014-2017 рр. були 5 препаратів: мебгідролін, лоратадин, цетиризин, дезлоратадин та левоцетеризин. Ці препарати належать до усіх трьох поколінь антигістамінних препаратів (таблиця 1.4) [64].

*Таблиця 1.4.*

**Обсяги споживання антигістамінних лікарських засобів**

**(DDDs/1 000 жителів/день)** [64]

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| АТС код/МНН | Роки | | | | | | | |  |
| 2014 | | 2015 | | 2016 | | 2017 | |  |
| 1 | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |  |
| R06A B03 Дiметинден | 0,09 | | 0,08 | | 0,06 | | 0,09 | |  |
| R06A C03 Хлоропiрамiн | 0,22 | | 0,19 | | 0,23 | | 0,15 | |  |
| R06A X15 Мебгiдролiн | 1,38 | | 1,28 | | 1,25 | | 1,23 | |  |
| Продовження табл.1.4 | | | | | | | | | |
| R06A X17 Кетотифен | | 0,32 | | 0,32 | | 0,34 | | 0,35 | |
| R06A А02 Дифенгідрамін | | 0,05 | | 0,024 | | 0,017 | | 0,022 | |
| R06A А04 Клемастин | | 0,15 | | 0,11 | | 0,10 | | 0,12 | |
| R06A А09 Доксиламін | | 0,027 | | 0,025 | | 0,025 | | 0,029 | |
| R06A X31 Хіфенадин | | 0,0016 | | 0,0012 | | 0,0013 | | 0,0015 | |
| R06A X32 Секвіфенадин | | 0,0007 | | 0,0005 | | 0,0006 | | 0,0009 | |
|  | | **2,24** | | **2,03** | | **2,03** | | **1,99 ↓** | |
| R06A E07 Цетиризин | | 1,78 | | 1,34 | | 1,69 | | 1,94 | |
| R06A X29 Бiластин | | - | | 0,0005 | | 0,045 | | 0,08 | |
| R06A X02 Ципрогептадин | | 0,0015 | | 0,0013 | | 0,0002 | | 0,0002 | |
| R06A X13 Лоратадин | | 2,62 | | 2,75 | | 3,03 | | 2,62 | |
|  | | **4,41** | | **4,09** | | **4,77** | | **4,64↑** | |
| R06A E09 Левоцетиризин | | 1,91 | | 1,95 | | 2,21 | | 2,53 | |
| R06A X26 Фексофенадин | | 0,098 | | 0,08 | | 0,13 | | 0,17 | |
| R06A X27 Дезлоратадин | | 0,98 | | 0,72 | | 1,09 | | 1,27 | |
|  | | **2,99** | | **2,75** | | **3,43** | | **3,97↑** | |
| **Всього** | | **9,64** | | **8,87** | | **10,23** | | **10,60↑** | |

де DDDs – це кількість визначених середніх добових доз (DDD), які спожиті хворими на певній території

Отримані результати свідчать, що використання антигістамінних лікарських засобів збільшилося впродовж аналізованого періоду (від 9,64 DDDs/1 000 жителів/день у 2014 р. до 10,60 DDDs/1 000 жителів/день у 2017 р.). Аналіз отриманих даних демонструє, що найбільша питома вага в загальній структурі споживання антигістамінних лікарських засобів І покоління характерна для препаратів на основі МНН мебгідролін (пік споживання в 2014 р. – 1,38 DDDs/1 000 жителів/день). Найімовірніше, це зумовлено тим, що препарат представлений на ринку лише вітчизняними виробниками (збільшення кількості торгових назв з 9 до 12), що значно знижує його вартість. Він наявний у вигляді 5 лікарських форм, серед яких є дитячі дозування, що сприяє безпечному застосуванню у педіатричній практиці. Крім того, мебгідролін, який належить до антигістамінних препаратів I покоління, застосовують у медичній практиці досить тривалий час, що надає йому певні переваги (наприклад прогнозованість побічних ефектів тощо) [78].

Найбільш важливими особливостями неселективних блокаторів гістамінових рецепторів І покоління є те, що вони одночасно з гістаміновими рецепторами Н1-типу блокують М-холінорецептори периферичних тканин та проникають через гематоенцефалічний бар’єр у центральну нервову систему (ЦНС). Супутня блокада периферичних М-холінорецепторів призводить до зниження секреції екзокринних залоз, підвищення в’язкості секрету, зокрема бронхіального, сухості слизової оболонки ротової порожнини, зниження моторики шлунково-кишкового тракту і тонусу сечовивідних шляхів, порушення акомодації, підвищення внутрішньоочного тиску та частоти серцевих скорочень. Тому додатковими показами до призначення антигістамінних засобів І покоління є виражена ексудація (шкірний висип, що мокне, нежить та закладеність носа, сльозотеча). М-холіноблокуючий ефект може бути використаний за умови лікування синдрому подразненої кишки з проносами, дизуричних проявів та помірної брадикардії.

Завдяки центральній дії антигістамінні препарати І покоління мають також протиблювотний, протипаркінсонічний, антидофаміновий, протикашльовий та анксіолітичний ефекти, зумовлює їх штроке використання у клінічній практиці. Додатковими показами до призначення антигістамінних засобів І покоління є збудження та висока психомоторна активність, нудота, страх. Завдяки центральній помірній протикашльовій дії та блокаді М-холінорецепторів у залозах бронхів ці препарати зменшують кашель. Хоча загальна тривалість дії антигістамінних засобів І покоління – досить коротка (4–8 годин), позитивним моментом є те, що вона швидко починається (протягом хвилин). У пізніше синтезованих препаратів досягнуто більш тривалого поступового ефекту дії: диметинден, клемастин – до 12 годин, мебгідролін – до 24 годин.

Таким чином, недоліки антигістамінних препаратів І покоління можуть стати їх перевагами за умови раціонального використання всіх властивостей цих засобів, так званих «плейотропних ефектів», які відсутні у антигістамінних препаратів ІІ–ІІІ поколінь [79].

На користь засобів І покоління свідчить наявність топікальних та ін'єкційних лікарських форм, що дає змогу застосовувати їх локально (при опіках, укусах комах), терапії термінальних станів (анафілактичний шок, ангіоневротичний набряк), а також тривалий (понад 50 років) досвід застосування, що зумовлює прогнозованість фармакологічних і побічних ефектів [80].

Мебгідролін, похідне етилендіаміну, є седативним антагоністом H1-гістамінових рецепторів. Лікарський засіб належить до класу антигістамінних препаратів І-го покоління. Препарати мебгідроліну застосовуються перорально, часто у вигляді солі мебгідроліну нападизілата, для симптоматичного лікування алергічних захворювань, таких як кропив'янка, сінна лихоманка, свербіж, алергічний кон'юнктивіт, вазомоторний риніт, алергічна астма [81], алергічні дерматити, нейродерматози, сироваткова хвороба, ангіоневротичний набряк, ревматизм із вираженим алергічним компонентом. Відмічено позитивний вплив препарату при капіляротоксикозі [82].

Діазолін включають у комплексну терапію при лікуванні гострого герпетичного стоматиту у дітей [83], плоского червоного лишаю [84], псоріазу [85], іксодових кліщових бореліозів [86].

Нерідко діазолін дає позитивний результат у тих випадках, коли димедрол та інші антигістамінні засоби виявляються неефективними. Головною перевагою мебгідроліна перед іншими «класичними» препаратами дифенгідраміном (димедрол), супрастином (хлорпірамін) є відсутність пригнічуючої дії на ЦНС, сонливості та седативного ефекту. Це обумовлює призначення діазоліну у разі необхідності особам, професійна діяльність яких потребує підвищеної уваги та швидких реакцій (водії транспорту, оператори тощо).

Діазолін не володіє аналгезуючими властивостями, не підсилює знеболюючу дію морфіну, не впливає на тривалість сну, викликаного етиловим спиртом, хлоралгідратом, барбамілом або гексеналом. Крім того, препарат практично не впливає на розвиток судом, які пов'язані з уведенням стрихніну, ареколіну, камфори, коразолу або нікотину. Передача збудження у верхньому шийному ганглії при застосуванні діазоліну не змінюється. Діазолін усуває брадикардію, що виникає при подразненні блукаючого нерву або введенні ацетилхоліну, при цьому гіпотензивна дія останнього зберігається. Не відмічено змін з боку крові та функціонального стану печінки під впливом діазоліну [82].

У дослідах на лабораторних тваринах виявлено, що діазолін у дозі 100 мг/кг не впливає на ЦНС, не змінює артеріальний тиск та пульс, не впливає на кислотоутворюючу функцію шлунку. Однак, поряд із цим, він підсилює ушкоджуючу дію етанолу та індоміцину у комплексі з хлористоводневою кислотою на слизову шлунка [87].

Інструкція по застосуванню діазоліна свідчить про швидке всмоктування препарату у травному тракті. Біодоступність коливається у межі 40 – 60 %. Терапевтичний ефект розвивається через 15–30 хвилин, максимальна дія спостерігається через 1–2 години. Тривалість ефекту може досягати 2 діб. Препарат практично не проникає через гематоенцефалічний бар'єр, метаболізується у печінці шляхом метилування, індукує ферменти печінки, виводиться з організму нирками [88].

Фармакінетичні параметри діазоліну наведені у таблиці 1.5 [87].

*Таблиця 1.5.*

**Фармакінетичні параметри діазоліну** [87]

|  |  |
| --- | --- |
| Параметр | Величина |
| Кліренс, л /год | 13,4±1,2 |
| Уявний об'єм розподілу, л | 385±39,4 |
| Константа швидкості виведення, год-1 | 0,035 ± 0,005 |
| Час напіввиведення, год | 19,8 ± 1,6 |
| Площа під фармакінетичною кривою, мкг/мл·год | 31,2±3,6 |
| Максимальна концентрація, мкг/мл | 0,98±0,09 |
| Час досягнення максимальної концентрації, год | 4 |

При призначенні діазоліну слід пам'ятати, що термін вживання антигістамінних препаратів обмежений. Це пояснюється трьома етапами дії антигістамінних препаратів. У першому періоді проявляється саме антигістамінний ефект, а у другому виникає ефект звикання. Другий період настає, як правило, через 1-1,5 місяці і характеризується втратою терапевтичного ефекту. У третьому періоді сам АГП стає алергеном і може викликати загальні та місцеві алергічні ефекти [89].

Окрім побічного алергічного ефекту, препарати мебгідроліну викликають агранулоцитоз, нейтропенію [90], також зафіксовані випадки тромбоцитопенії [91]. При тривалому прийомі мебгідраліну може виникнути пізня екстрапірамідальна гіперкінезія [92]. Є дані про ризик токсичного впливу діазоліну на нервові клітини (загальмованість, запаморочення), особливо молодого організму [93].

Препарати мебгідроліну також використовуються у ветеринарній практиці при лікуванні харчової гіперчутливості та алергічних станів. Діазолін вважають малотоксичною речовиною. Дорослим тваринам призначається у дозі 0,015-0,35 г на 10 кг живої ваги, молодим тваринам від 0,007 до 0,035 г на 10 кг живої ваги. Найвищі дози для дорослих тварин: разова - 0,2 г, добова 0,4 г на 10 кг живої ваги [94].

Лікарські форми мебгідроліну, які розроблені та виробляються без змін упродовж 50 років, мають застарілий склад та нестабільність фармакологічних показників. Отже, потребують удосконалення, з метою забезпечення високої швидкості розчинення речовини в рідких середовищах та досягнення фармакологічного ефекту, що важливо при багатьох алергічних захворюваннях. Саме таким покращенням присвячені роботи, спрямовані на збільшення ефективності та біодоступності діазоліну [7, 81, 95]. Очевидно, що мебгідролін, виробництво якого відбувається на вітчизняних підприємствах, залишиться упродовж тривалого часу одним з основних засобів для лікування алергічних захворювань.

Незважаючи на тривалу історію застосування мебгідроліну у лікарській практиці та суто вітчизняне виробництво цієї субстанції, дані про токсичні властивості цього препарату обмежені. До цього часу також не розроблені гігієнічні регламенти мебгідроліну для об'єктів довкілля.

У зв,язку з цим актуальним є встановлених параметрів токсичності і гігієнічних показників, що дозволить науково обґрунтування гігієнічні нормативи діазоліну у повітрі робочої зони, атмосферному повітрі та воді відкритих водойм.

Саме цим питанням була присвячена виконана дисертаційна робота.

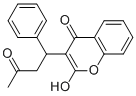
РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Обєктом досліджень був активний фармацевтичний інгредієнт діазолін, який використовується у виробництві лікарського засобу Діазолін® на ПАТ “Фармак” м. Київ. Також цю субстанцію використовують для виробництва антигістамінних препаратів І покоління фармацевтична фірма «Дарниця» м. Київ та ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛ»” м. Харків.

Діазолін - 9-бензил-2- метил-,2,3,4-тетрагідро-1H-β-карболін. Синоніми: Мебгідролін, Омерил. CAS №: 524-81-2. Емпірична формула: [C](http://ru.wikipedia.org/wiki/Углерод)19[H](http://ru.wikipedia.org/wiki/Водород)20[N](http://ru.wikipedia.org/wiki/Азот)2, молекулярна маса**:** 276,376. За зовнішнім виглядом - білий або білий з кремовим відтінком кристалічний порошок. Практично нерозчинний у воді та в органічних розчинниках.

Структурна формула:



У повітря робочої зони надходить у вигляді аерозолю дезінтеграції. Виробник субстанції “ФАРМХІМ” м. Шостка (Україна).

Мінімальна добова терапевтична доза (МДТД) – 0,3 г, найвища добова терапевтична доза (НДТД) – 0,6 г.

Програма досліджень включала визначення гострої пероральної та перкутанної токсичності, місцево-подразнювальної дії, інгаляційної токсичності, кумулятивного й імунотоксичного ефектів, оцінку характеру біологічної дії в підгострому експерименті, потенційної і реальної небезпеки розвитку віддалених ефектів впливу, статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів.

Дослідження проводили згідно з “Методичними вказівками по обґрунтуванню гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць [96] та методичними вказівками “Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов” [97].

Використано 4 види лабораторних тварин: нелінійні щурі (200-220 г), миші (20-25 г), мурчаки (300-350 г), кролі (3,0-3,5 кг), які утримувались в умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до їжі і води, відповідно до вимог лабораторного тваринництва [98].

Відбір тварин і формування експериментальних груп (6–10 особин кожна) проводили методом «випадкових чисел» з нумерацією за вихідною масою тіла.

Параметри токсичності діазоліну встановлювали при його пероральному, перкутанному та інтраназальному надходженні в організм дослідних тварин.

Оцінку гострої пероральної токсичності здійснювали на білих щурах і білих мишах згідно з “Методическими указаниями к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны” [99]. Діазолін вводили перорально натще у вигляді водної суспензії з додаванням емульгатору Твін. За тваринами спостерігали упродовж 14 діб. Клінічні спостереження включали контроль інтенсивності та характеру рухової активності, стану шкірного покриву, частоти дихання, вживання їжі та води. Встановлювались наступні показники токсичності: абсолютно смертельна доза (DL100) і середньосмертельна доза (DL50) при введенні в шлунок, коефіцієнт видової чутливості тварин (КВЧ), середньоефективний час загибелі тварин (ЕТ50). Інтерпретацію клінічних проявів при дослідженні гострої токсичності проводили за Hayes A.W. [100]. Розрахунок DL50 здійснювали з використанням пробіт-аналізу за методом Litchfielda & Wilcoxon та Van der Waerden [101]. ЕТ50 встановлювали за Г. Н. Красовським [102].

Дослідження місцево-подразнювальної, іритативної та шкірно-резорбтивної дій здіснювали у відповідності з методичними вказівками “Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи” [103] та “Методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны” [104]. Для оцінки іритативної дії діазоліну препарат в кількості 50 мг вносили в кон'юнктивальний мішок ока кроля. Стан слизової оболонки та прозорість рогівки ока контролювали через 1, 24, 48 та 72 години після внесення речовини та упродовж 4-х тижнів. Ступінь пошкодження оцінювали за класифікацією A. Majda, K. Chrusaielska [105].

Резорбтивно-токсичну і місцево-подразнюючу дії досліджували на білих щурах методом однократного та 10-кратного нанесення діазоліну у вигляді мазі з ланоліном на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба (час експозиції 4 години).

Реєстрували токсичні ефекти: загибель та клінічні прояви інтоксикації.

При моделюванні інгаляційного шляху надходження діазоліну при гострому впливі використовували суспензію препарату у стерильному фізіологічному розчині. Суспензію в кількості 0,20 мл вводили білим щурам інтраназально за допомогою дозатора з м'яким пластиковим зондом. Перерахування введеної дози лікарського засобу на концентрацію в повітрі, що вдихається, проводили за формулою [96]:

D = K × V, (2.1)

де:

K – концентрація препарату, мг/м3;

D – доза препарату (мг), введена тварині;

V – об'єм повітря, що вдихається (м3);

Кумулятивну активність оцінювали за величиною коефіцієнту кумуляції (Кcum), встановленого в тесті “субхронічної токсичності” за методикою Lim at all. [106]. Препарат вводили білим щурам щоденно через рівні проміжки часу в наростаючих дозах упродовж 24±4 доби. Перші 4 доби тварини отримували по 0,1 DL50, 5-8 доби – 0,15 DL50, 9-12 доби – 0,22 DL50, 13-16 доби – 0,34 DL50, 17-20 доби – 0,5 DL50, 21-24 доби – 0,75 DL50. Найвища доза, яку вводили на 25-28 доби становила 1,12 DL50. Сумарна доза за 28 діб дорівнювала 12,8 DL50.

Розрахунок коефіцієнта кумуляції проводили за формулою:

Кcum = ∑ DLn50 /DL150,(2.2)

де ∑ DLn50 – сумарна середньосмертельна доза речовини при багаторазовому введенні;

DL150 – середньосмертельна доза речовини при однократному введенні;

Кcum – коефіцієнт кумуляції.

При встановленні порогу гострої (Limac) інгаляційної дії використовували комплекс методів, що дозволяє характеризувати картину периферичної крові (рівень гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів [107]), функціональний стан печінки (активність лужної фосфатази [108], аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові), нирок (вміст сечовини в сироватці крові та сечі), хлоридів (у сироватці і в сечі), креатиніну (у сироватці і в сечі [109), ліпідний обмін (вміст загальних ліпідів та β-ліпопротеїдів у сироватці крові 108), ЦНС (активність холінестерази в крові, мозку і в печінці 109], поведінкові реакції [110], сумаційно-пороговий показник (СПП) [111]). Рівні впливу становили 115,0 мг/м3, 350,0 мг/м3 та 1050,0 мг/м3 (третя дослідна група).

Морфологічну картину внутрішніх органів досліджували з використанням загальноприйнятих методів світлової мікроскопії [112]. Гістологічні препарати були пофарбовані гематоксилін-еозином.

Імунотоксичну дію діазоліну вивчали у відповідності з методичними рекомендаціями “Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації” [113] та методичними вказівками “Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы” [114]. В експерименті були використані мурчаки світлої масті масою 300-350 г. Контрольна і дослідні групи включали по 8 особин. Сенсибілізацію проводили за методом О.Г. Алєксєєвої, А.І. Петкевич [115] шляхом внутрішньошкірного введення 200 мкг препарату в 0,02 мл розчинника (фізіологічний розчин) в шкіру зовнішньої поверхні вуха тварини. Контрольним тваринам вводили по 0,02 мл розчинника. Через 10 діб додатково наносили 7 аплікацій на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба у розведенні 1:50 (2 %). Ступінь сенсибілізації встановлювали після постановки внутрішньошкірних проб в розведеннях: 1:10, 1:100, 1:1000. Вираженість алергійної дії препарату досліджували, у порівнянні з контролем, за інтенсивністю місцевої гіперемії, набряку, наявністю ерозій та некрозу тканин. Реакцію організму оцінювали шляхом візуального огляду поверхні шкіри (діаметр еритеми, наявність інфільтрату чи набряку) на місці введення проб через 20-30 хв, 4-5 год та 24 год після введення і за результатами клінічних та імунологічних тестів.

Визначали зміни показників периферичної крові (лейкоцитів та лейкоцитарну формулу) [107]. На основі лейкоцитарної формули проводили обчислення співвідношення окремих популяцій лейкоцитів, які можуть бути використані в якості загальної характеристики клітинних реакцій неспецифічного і специфічного захисту організму. Враховували такі гематологічні індекси: індекс співвідношення лімфоцитів та моноцитів (ІСЛМ), який вказує на можливу взаємодію ефекторної та афекторної ланок імунної відповіді; індекс співвідношення нейтрофілів та моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення нейтрофілів та еозинофілів (ІСНЕ), що дають певне уявлення про роль кожного компонента мікрофагальної та макрофагальної системи захисту організму [116].

Стан неспецифічної резистентності організму вивчали за фагоцитарним показником [117]. Стан імунологічної реактивності організму оцінювали за відносним та абсолютним вмістом у периферичній крові субпопуляцій Т - лімфоцитів і В-лімфоцитів за допомогою реакції розеткоутворення з еритроцитами, на яких адсорбовані моноклональні антитіла проти рецепторів СД3 (Т-лімфоцитів), СД4 (Т-хелпери), СД8 (Т-цитотоксичні), СД16 (натуральні кілери), СД22 (В-лімфоцити).

Отримані дані виражали у відсотках і абсолютних одиницях у перерахунку на 1 літр крові (109/л).

Крім того, розраховували імунорегуляторний (відношення СД4/СД8), ЛТІ-лейко-Т-клітинний та ЛВІ-лейко-В-клітинний індекси.

Гуморальний імунітет оцінювали за вмістом імуноглобулінів А, М, G (IgA, IgM, IgG) та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). Вміст імуноглобулінів у сироватці крові визначали за допомогою радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні [118], циркулюючих імунних комплексів – за методом, який грунтується на преципітації високоглобулярних імунних комплексів крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ) з наступним вимірюванням результатів спектрофотометричним методом [119].

Вплив діазоліну на репродуктивну функцію досліджували з урахуванням гонадотоксичного та ембріотоксичного ефектів відповідно до методичних рекомендацій “Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования” 120.

Гонадотоксичний ефект субстанції досліджували на активних статевозрілих білих щурах – самцях при пероральному надходженні в організм. Вплив діазоліну оцінювали на основі визначення функціональних (концентрація сперматозоїдів в камері Горяева, кількості патологічних форм та мертвих сперматозоїдів, часу рухливості сперматозоїдів, осмотичної та кислотної резистентності, а також макроскопічних досліджень сім'янників (зовнішній огляд, вага, розміри).

Експериментальні дослідження ембрiотоксичного ефекту діазоліну проводились на нелінійних самках білих щурів віком 3-3,5 місяці і масою тіла 180-230 г. Попередньо відбирали тварин зі стабільним естральним циклом за результатами мікроскопічного дослідження вагінальних мазків. Цих самиць у фазі проеструсу та еструсу для спарювання підсаджували до самців у вечірній період у співвідношенні 2:1. Першим днем вагітності вважали день появи сперматозоїдів у вагінальному мазку.

Дослідним тваринам вводили щоденно внутрішньошлунково упродовж 20 днів діазолін в дозах 1/250 DL50 – 40,0 мг/кг, та 1/1250 DL50 – 8,0 мг/кг. Контрольна група внутрішньошлунково отримувала воду.

Тварин виводили з експерименту на 20-й день вагітності методом вертебральної дислокації хребців. При розтині підраховували кількість жовтих тіл, місць резорбції та місць імплантації, живих плодів та плацент, проводили морфометричні дослідження ембріонів. Визначали рівень доімплантаційної (1-13 доба) та постімплантаційної (з 14 по 20 добу) загибелі плодів.

В якості незалежної змінної за одиницю спостереження приймали дані, які були отримані при розтині однієї самки, та середнє значення показника для одного посліду.

Після зовнішнього огляду половину від числа узятих плодів фіксували в рідині Буена для подальшого вивчення внутрішніх органів за методикою Wilson [121], решту заливали 96 % етиловим спиртом для подальшого вивчення їх скелета за методикою Dawson [122].

Морфологічні дослідження проводили у відповідності з “Методическими рекомендациями к проведению морфологических исследований при экспериментальном обосновании ПДК в воздухе рабочей зоны” 123. Шматочки органів (легені, серце, нирки, печінка, селезінка, головний мозок) фіксували в 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації, просочували ксилолом і заливали в парафін. Зрізи товщиною 6–8 мкм виготовляли на ротаційному мікротомі HI 1210 (Leica, Німеччина) і забарвлювали еозином. Отримані препарати досліджували у світлооптичному мікроскопі DFC 420 (Leica, Німеччина).

При інтерпретації результатів токсикологічних досліджень їх порівнювали з фоновими, контрольними показниками, показниками фізіологічної норми у лабораторних тварин 124.

Вид і кількість тварин, шлях введення, дози, концентрації та тривалість токсикологічних експериментів наведені у таблиці 2.1.

*Таблиця 2.1*

**Особливості постановки токсикологічних експериментів**

**при дослідженні діазоліну**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Етапи дослідження | Вид і кількість тварин | Шлях введення, дози, концентрації | Тривалість експерименту |
| Визначення DL50 | Миші-самки  46  Миші-самці  6  Щурі-самки  6  Щурі-самці  6  Миші-самці  18 | в/ш  5000-12000 мг/кг  в/ш  10000 мг/кг  в/ш  10000 мг/кг  в/ш  10000 мг/кг  в/ч  100-500 мг/кг | 14 діб  14 діб  14 діб  14 діб  14 діб |
| Визначення DL50 per cutis | Щурі-самки 12 | Нанесення на бок. поверхню тулуба | 14 діб |
| Вивчення іритативної дії | Кролик 1 | Внесення 50 мг в кон,юнктивальний мішок ока | 30 діб |
| Визначення Kcum  за мет. Lim et al | Миші-самки 10 | в/ш | 28 діб |
| Визначення СL50 | Щурі-самки 12 | Інгаляційно  Однократно | 14 діб |
| Визначення порогу гострої інгаляційної  токсичності Limac | Щурі-самки 40 | Інгаляційно  Однократно | 4 доби |
| Вивчення гонадотоксичної дії | Щурі-самці 30 | в/ш | 72 доби |
| Вивчення ембріотоксичної дії | Щурі-самки 30 | в/ш | 21 доба |
| Вивчення алергенних властивостей | Мурчаки 16 | в/ш, нашкірна аплікація | 20 діб |

Програма гігієнічних досліджень включала оцінку параметрів мікроклімату (температура, вологість повівтря, швидкість руху повітря, інтенсивність теплового випромінювання), забруднення діазоліном повітря робочої зони, визначення рівнів шуму, вібрації та освітлення на всіх стадіях виробництва лікарського засобу.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету ліцензійної програми Microsoft Excel.

Достовірність отриманих змін порівняльних величин (кількісних ознак) оцінювали з використанням t-крітерію Стьюдента при нормальному розподілі ознак та критерію Манна-Уітні у випадках, коли мало місце відхилення закону розподілу від нормального. За достовірні приймали зміни з рівнем значимості більш, ніж 95% (p<0,05) 125.

Комісія з питань етики при Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького постановила, що робота проводилась у відповідності з положеннями Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (протокол №3 від 14.03.2016 р.).

Таким чином, гігієнічні дослідження на робочих місцях технологічної лінії виготовлення лікарського засобу та вищенаведений обсяг токсикологічних експериментів дозволять адекватно оцінити ступінь небезпеки діазоліну і запропонувати обґрунтовані пропозиції по запобіганню отруєнь в умовах його виробництва, забруднення атмосферного повітря і води відкритих водойм.

Розділ 3

ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА УМОВ ПРАЦІ У ВИРОБНИЦТВІ ДІАЗОЛІНУ та розробка методики кількісного визначення ДІАЗОЛІНУ у повітрі

Для оцінки умов праці, які займають провідне місце у системі професійного здоров’я та обґрунтування гігієнічних вимог до виробництва необхідно, перш за все, отримати інформацію і здійснити аналіз щодо приміщень, обладнання, шкідливих чинників виробництва, професійного контакту працюючих з виробничими шкідливостями та лікарськими субстанціями, які застосовуються [126]. Для кількісної характеристики рівнів забруднення повітря робочої зони, необхідно розробити методику вимірювання концентрацій речовин.

3.1. Гігієнічна оцінка умов праці у виробництві діазоліну.

Лікарський засіб Діазолін® випускається у вигляді драже та таблеток.

*Виготовлення драже Діазолін®*0,05 гпроводиться в цеху № 4 на дільниці №2 ПАТ «Фармак» у відповідності з технологічним регламентом 64-00481198-132.1-12 (розмір серії 46480 до 52000 уп. №10 або від 23240 до 26000 уп. №20).

Основними виробничо-професійними групами є дражувальники, слюсарі з ремонту устаткування та інженерно-технічні працівники. Дражувальники упродовж 70-85% часу зміни знаходяться безпосередньо на дільниці, здійснюючи нагляд за технологічним процесом. Слюсарі-ремонтники проводять ремонтно-налагоджувальні роботи як безпосередньо на ділянці виробництва, так і в ремонтних майстернях. Для ІТП основним обов'язком є прийняття рішень про виконання технологічного регламенту і забезпечення ефективної роботи обладнання. Упродовж зміни вони знаходяться як на дільниці, так і в службових приміщеннях.

Технологічний процес складається з 4-х стадій: 1) приготування цукрового сиропу, 2) приготування глянсувальної маси, 3) отримання цукрової крупки, 4) отримання драже Діазоліну®.

У технологічному процесі використовується наступне обладнання: вага, електрична плитка, водяна баня, дражувальний барабан, калібратор.

Після приготування цукрового сиропу та глянцевальної маси у дражувальний барабан завантажують цукор,який попередньо для видалення маленьких часток просіюють через сито. Вмикають дражувальний барабан та зволожують цукор порціями сиропу, а потім обсипають цукровою пудрою. Операції поливу цукровим сиропом і обсипанням цукровою пудрою повторюють багаторазово до формування цукрової крупки (кулеподібних гранул). Із метою одержання цукрової крупки однакового розміру її фракціонують з допомогою барабанних сит. Отримана таким чином цукрова крупка є ядром, серцевиною для подальшого нашарування лікарських і допоміжних речовин. Сушку цукрової крупки проводять на лотках, встановлених на пересувних стелажах при регламентних параметрах.

Певну кількість цукрової крупки поміщають в дражувальний котел і змочують цукровим сиропом. Зволожену цукрову крупку опудрують діазоліном та цукровою пудрою, ретельно перемішують і отримують основу драже. Після цього проводять сушіння теплим повітрям.

Далі основу драже змочують цукровим сиропом, наносять суміш діазоліну та цукрової пудри і перемішують в дражувальному котлі.

Відбирають кульки одного розміру, пропускаючи їх через сито, і визначають кількісний вміст діазоліну.

Відкаліброване драже поміщають у дражувальний котел і проводять накатку оболонки сиропом і цукровою пудрою. В процесі нашарування контролюють середню масу драже на вагах до досягання середнього регламентного значення 0,25 г. Драже для сушки вивантажують із дражувального барабану на лотки пересувних стелажів.

Після цього проводять згладжування або полірування драже за допомогою цукрового сиропу. Перемішування продовжують до тих пір, поки поверхня кульок не буде покрита тонким рівномірним шаром сиропу, який сушать 30-40 хвилин в дражувальному котлі.

На цій стадії відбувається усунення нерівностей. Останньою стадією процесу утворення драже є стадія глянсування, тобто надання драже блиску. Глянцувальну мастику, до складу якої входять віск бджолиний (45%), олія (45%) і тальк (10%), наносять на теплі драже, що обертаються і надають можливість їм вільно обертатися упродовж 30-40 хв. Потім драже обсипають невеликою кількістю тальку для прискорення одержання глянцу.

Основні виробничі шкідливості на дільниці № 2 наведені у таблиці 3.1

*Таблиця 3.1*

**Шкідливі та небезпечні фактори при виробництві драже Діазолін**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Найменування шкідливого фактору | Виміряна величина | Етап виробництва |
| Температура виробничого середовища | 25-30 ºC | Сушіння та глянсування драже (тепле повітря та нагріті поверхні) |
| Шум | 82-85 дБА | Виготовлення цукрової крупки та драже (мотор дражувального котла, основа драже при перемішуванні) |
| Вміст діазоліну у повітрі робочої зони | 2 мг/м3 | Обпудрювання основи драже діазоліном (біля дражувального котла) |

*Виготовлення таблеток Діазолін®* проводиться у цеху № 4 на дільниці №4 ПАТ «Фармак» у відповідності з ТР 64-00481198-292-13.

Основними виробничо-професійними групами є апаратники, машиніст-таблетувальник, слюсарі з ремонту устаткування та ІТП.

Технологічний процес складається з наступних стадій: 1) підготовка сировини, 2) приготування таблетмаси, 3) таблетування, 4) фасування й упакування готових лікарських форм. Таблетки містять допоміжні речовини: лактоза, цукор рафінад, крохмаль картопляний, кальцію стеарат, полівінілпіролідон низькомолекулярний медичний.

До стадії підготовки сировини проводять її зважування і просіювання. Для цього передбачено використання кабін направленого потоку повітря з потрійним захистом (людини, продукту, навколишнього середовища). Однак ця стадія не виключає безпосереднього контакту працівника з сировиною на етапах зважування, ручного просіювання і перевантаження малих порцій. Даний процес виконується у спеціальних вагових станціях з циркуляцією повітря (ламінарії) для запобігання впливу як на чистоту повітря в приміщеннях з класифікованою зоною чистоти, так і на працівників. Персонал, працюючи з відкритою сировиною, використовує засоби індивідуального захисту, дотримуючись усіх заходів безпеки при роботі з цими речовинами, під ламінарним потоком повітря з постійною швидкістю і напрямом ― зверху вниз. На цій стадії діазолін може потрапляти в організм працюючих через дихальні шляхи та шкірні покриви.

Для приготування таблетмаси діазоліну методом вологої грануляції застосовуються вертикальні змішувачі та сушарки-гранулятори псевдозрідженого шару. Передбачено механізоване закрите перевантаження сировини за допомогою вакууму з однієї одиниці обладнання в іншу.

Приміщення таблетування обладнані комп'ютеризованими роторними таблетпресами, кожен з яких оснащений пристосуванням для знепилювання таблеток. Завантаження таблетмаси в приймальний пристрій таблетпресу здійснюють за допомогою підйомних електричних колон.

Зважування великих завантажень (понад 8 кг) здійснюють в зоні ламінарного потоку за допомогою автоматичної системи (вакуумний завантажувач, гідравлічна поворотна колона, буфер з дозатором, ваги, контейнер). Ця система є герметичною, що виключає проникнення речовин у повітря робочої зони.

Зважування допоміжної сировини у малих кількостях, а також її просіювання здійснюють у ламінарному боксі з потрійним ступенем захисту: оператор, продукт, навколишнє середовище. Приплив і витяжка повітря в ламінарному боксі обладнані фільтрами НЕРА (з фільтраційної здатністю 99,99 % частки розміром 0,3 мм), що запобігає потраплянню пилу в приміщення вагової.

Завантаження, зважування, подрібнення допоміжної сировини великих обсягів здійснюють за допомогою автоматизованої системи **–** вакуумне завантаження, поворотна гідравлічна колона, роторний подрібнювач, буферний резервуар з дозатором і ваги. Конструкція даної системи запобігає пиловиділенню при завантаженні, подрібненні і просіюванні, а також мінімізує втрати речовин.

Кратність повітрообміну в приміщеннях, де можлива робота з відкритим продуктом, становить не менше 15.

Для роботи при виробництві таблеток Діазолін® передбачений спецодяг для працівників (костюм – сорочка і штани, шапочка, тапки, комбінезон, бахіли, гумові рукавички, маска), який покриває всі ділянки тіла і служить як для захисту продукту від впливу людини, так і для захисту людини від впливу шкідливих речовин.

При виробництві діазоліну у таблетованій формі робітники хіміко-фармацевтичних підприємств зазнають впливу негативних виробничих чинників, які наведені у таблиці 3.2.

*Таблиця 3.2*

**Перелік шкідливих та небезпечних факторів при виробництві таблеток Діазолін®**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Найменування шкідливого фактору | Виміряна величина | Стадія виробництва |
| Шум | 80-82 дБА | Приготування таблетмаси (сушарки-гранулятори, змішувачі, вакуумне перевантаження) |
| 83-85 Дба | Таблетування (роторні таблетпреси) |
| Вміст діазоліну у повітрі робочої зони | 0,5-1,2 мг/м3 | Підготовка сировини (зважування, ручне просіювання, перевантаження малих порцій) |
| 1,0-1,2 мг/мґ3 | Приготування таблетмаси (перевантаження сировини з одного обладнання в інше) |
| Напруженість праці | Монотонність | Фасування й упакування готових лікарських форм |

При виготовленні драже і таблеток Діазолін®в кінці зміни здійснюють очищення обладнання. При переході до виробництва іншого найменування продукції, після очищення технологічного обладнання, проводять контроль якості відмивання обладнання від залишків субстанції діазоліну.

При щотижневому прибиранні та переході до виробництва іншого найменування продукції також проводять контроль якості відмивання обладнання від миючого засобу.

Стічні води виробничого цеху поступають в спеціальний резервуар-усереднювач, розміщений на території виробничого майданчика підприємства. Через періодичність виробничих процесів, стічні води упродовж доби мають різний склад і містять залишки субстанції, поверхнево-активні речовини, спирти. Виробничі стічні води подаються у відділення нейтралізації для їх подальшого фізико-хімічного і механічного очищення. Очищені таким чином виробничі стоки змішуються із побутовими стоками від адміністративно-побутового корпусу і після цього надходять у міську систему каналізації.

3.2. Розробка методики кількісного визначення діазоліну у повітрі робочої зони

Для визначення вмісту діазоліну у повітрі робочої зони було розроблено фотометричну методику, яка базується на вимірюванні світлопоглинання розчину сполуки фіолетового кольору, що утворюється в результаті реакції нітрозування діазоліну нітритом натрію в середовищі сірчаної кислоти.

Відбір проб повітря робочої зони проводять шляхом аспірації з концентруванням пилу та аерозолю діазоліну на фільтрі АФА-ВП-20.

Обчислення масової концентрації діазоліну здійснюється за градуювальною залежністю величини оптичної густини від маси речовини у градуювальних розчинах.

Розроблена методика виконання вимірювань концентрації діазоліну у повітрі робочої зони відповідає метрологічним характеристикам згідно з ГОСТ 8.10-99, ГОСТ 12.1.016-79, ГОСТ 12.1.005-88 та забезпечує нижню межу визначення речовини на рівні, що перевищує половину гігієнічного нормативу [127, 128, 129, 130].

Методика забезпечує виконання вимірювань масової концентрації діазоліну в повітрі робочої зони в діапазоні від 0,5 мг/м3 до 2,0 мг/м3 з відносною сумарною похибкою, що не перевищує *δ* = ± 25 % за довірчої ймовірності *Р* = 0,95.

Межа кількісного визначення діазоліну в аналізованому об’ємі проби 60 мкг. Нижня межа вимірювання масової концентрації діазоліну в повітрі робочої зони (за відбору 300 дм3 повітря) – 0,5 мг/м3.

Значення нормативів оперативного контролю методики: збіжність (*d*) – 5,6 %, відтворюваність (*D*) – 7,8 %, похибки вимірювання (*К*) – 12 % у відповідності до ДСТУ ІSО 5725-2:2005, ДСТУ-Н РМГ 61:2006.

Оптичну густину вимірювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3.

Умови фотометрування: довжина хвилі – 535 нм, довжина оптичного шляху кювети – 10 мм.

Основні матеріали та реактиви, які використовуються при виконанні методики:

* кислота сірчана концентрована (х.ч.) – згідно з ГОСТ 4204-77;
* 9-Бензил-2-метил-2,3,4,9-тетрагідро-1H-β-карболін (98,0 % у перерахунку на основну речовину, не менше) – згідно з чинним НД;
* нітрит натрію технічний – згідно з ГОСТ 19906-74.

Для приготування градуювальних розчинів діазоліну в мірні пробірки місткістю 15 см3 за допомогою градуйованої піпетки місткістю 1 см3 вносять робочий розчин діазоліну у кількості згідно з таблицею 3.3.

*Таблиця 3.3*

Приготування серії градуювальних розчинів діазоліну

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| № градуюваль-ного розчину | Об’єм робочого розчину, см3 | Вміст діазоліну, мкг |
| 1 | 0 | 0 |
| 2 | 0,15 | 60 |
| 3 | 0,20 | 80 |
| 4 | 0,25 | 100 |
| 5 | 0,30 | 120 |
| 6 | 0,40 | 160 |
| 7 | 0,50 | 200 |
| 8 | 0,60 | 240 |

Відібрані в градуйовані пробірки об’єми робочих розчинів доводять до позначки 1 см3 сірчаною кислотою та перемішують розчини, злегка струшуючи кожну пробірку. Далі в кожну пробірку з розчинами за допомогою градуйованої піпетки місткістю 2 см3 вносять по 2 см3 нітрозувальної суміші, доводять до позначки 5 см3 сірчаною кислотою, струшують та залишають на 20 хв у темному місці.

Готують три серії градуювальних розчинів та вимірюють оптичну густину відносно розчину порівняння (№ 1, табл. 3.1). Отримані розчини забарвлені у фіолетовий колір. Оптична густина розчинів залишається стабільною впродовж 30 хв.

Будують градуювальний графік залежності оптичної густини отриманого розчину (середнє арифметичне значення з трьох вимірювань) − вісь ординат, від маси речовини в мікрограмах − вісь абсцис. Для встановлення градуювальної залежності отримані результати обробляють за методом найменших квадратів, визначаючи параметри *а* та *b* лінійної градуювальної функціїзгідно з ДСТУ ISO 8466-1-2001 [131].

Градуювальну залежність описує рівняння:

*D535 = a + bmгр*, (3.1)

де *D535* – оптична густина фотометрованого розчину, яку вимірюють при λ = 535 нм;

*mгр* – маса діазоліну у відповідному градуювальному розчині, мкг;

*а* – параметр регресії, що дорівнює довжині відрізка, який відсікає градуювальна пряма на осі ординат;

*b* – параметр регресії, який дорівнює тангенсу кута нахилу градуювальної прямої.

Відбір проб повітря для визначення діазоліну проводили шляхом протягування повітря крізь фільтр АФА-ХП-20 за допомогою аспіраційного пристрою з об’ємною витратою 15,0 дм3/хв упродовж 20 хвилин.

Після закінчення відбору фільтр з речовиною виймали з фільтротримача та поміщали у бюкси з покришкою. Строк зберігання проб – не довше 3 діб за температури не вище 20 С та відносній вологості повітря не більше 75 %.

Далі фільтр з відібраною пробою діазоліну за допомогою пінцета поміщали у стакан місткістю 50 см3, додавали для екстрагування речовини 7,5 см3 концентрованої сірчаної кислоти. Пробу з фільтром залишають на 4-5 хв для повного розчинення речовини, періодично перемішуючи скляною паличкою. Зі стакану з фільтром відливали у дві мірні пробірки місткістю 15 см3 по 3,0 см3 отриманого екстракту (орієнтуючись на мітку 3 см3 на пробірці). Далі в кожну пробірку з екстрактами за допомогою градуйованої піпетки місткістю 2 см3 вносили по 2 см3 нітрозувальної суміші, доводили до позначки 5 см3 сірчаною кислотою, струшували та залишали на 20 хв у темному місці. Одержували підготовлені до фотометрування розчини з аліквот підготовленої проби. Розчин холостої проби готували, обробляючи чистий фільтр АФА-ВП-20 одночасно та аналогічно з пробою.

Вимірюють оптичну густину підготовлених розчинів першої та другої аліквоти проби на фотоелектроколориметрі КФК-3 за довжини хвилі 535 нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм. Розчином порівняння слугує розчин холостої проби. Вимірювання оптичної густини виконують тричі. Розраховують середнє арифметичне значення оптичної густини.

За середніми значеннями оптичної густини за градуювальною характеристикою розраховують масу діазоліну в *і*-тій аліквоті проби *mi*, мкг.

Результат визначення масової концентрації діазоліну в повітрі робочої зони *ρі*, мг/м3, обчислюють за формулами:

 (3.2)

або , ( 3.3)

де *mі* – маса діазоліну в *і*-тій аліквоті проби, знайдена за градуювальною характеристикою, мкг;

*Vекстр.* – загальний об’єм підготовленої проби (за методикою 7,5 см3);

*Vал.екстр.*– об’єм аліквотної частини підготовленої проби, відібраний для аналізування (3 см3);

*D535і* – оптична густина розчину *і-*тої аліквоти підготовленої проби;

*а* та *b* – параметри градуювальної залежності;

*V*20 – об’єм відібраного повітря, зведений до стандартних умов, дм3;

*і* - номер аліквоти екстракту проби (*і* = 1,2).

Зведення об’єму відібраного повітря до стандартних умов (атмосферний тиск 101,3 кПа, або 760 мм рт. ст., температура 20 оС) проводять за формулою:

 (3.4)

де *V20* - об’єм відібраного повітря, приведений до стандартних умов, дм3;

*Vt* – об’єм повітря, відібраний для аналізу за температури *t*, дм3;

*р* – атмосферний тиск під час відбору проби, кПа або мм рт. ст.;

*t* – температура повітря під час відбору проби, оС;

*рст* – атмосферний тиск за стандартних умов, кПа або мм рт. ст.

Результати розрахунків записують до третьої значущої цифри.

Контроль збіжності здійснюють при кожному виконанні вимірювань за розходженням результатів вимірювань масової концентрації діазоліну в двох аліквотних частинах підготовленої проби – *ρ*зб1 та *ρ*зб2, виконаних за умов збіжності. Рішення про задовільну збіжність приймають, якщо виконується умова:

, (3.5)

де *d* – норматив оперативного контролю збіжності, значення якого за довірчої ймовірності *Р* = 0,95 для діапазону вимірювань від 0,5 мг/м3 до 2,0 мг/м3, наведене в 2.3, становить 6 %.

Результат вимірювання масової концентрації діазоліну у пробі повітря робочої зони подають у вигляді:

(*ρДН* ± *Δ*) мг/м3, *p* = 0,95

або (*ρДН*) мг/м3 ,  δ*, %, p* = 0,95

Розроблена методика вимірювання масової концентрації діазоліну в повітрі робочої зони пройшла метрологічну атестацію Державним підприємством “Всеукраїнський державний науково-виробничий центр стандартизації, метрології, сертифікації та захисту прав споживачів (Укрметртестстандарт)” Мінекономрозвитку України (Свідоцтво Укрметртестстандарту про атестацію МВВ № 081/12-0895-14 від 19.03.2014 р.) та погоджена МОЗ України.

Таким чином, процес виробництва драже і таблеток діазоліну супроводжується надходженням препарату в повітря робочої зони, потраплянням його на шкіру, слизові оболонки і забрудненням спецодягу працюючих.

Концентрації діазоліну у повітрі робочої зони, визначені за допомогою розробленої фотометричної методики, досягають при виготовленні драже на робочому місці дражувальника біля дражувального котла 2 мг/м3, а при виготовленні таблеток коливаются від 0,5 мг/м3 до 1,2 мг/м3.

Робота дражувальних котлів і таблетпресів супроводжується інтенсивним шумовим навантаженням.

Найбільш несприятливі умови праці спостерігалися у виробничо-професійної групи дражувальників на стадії одержання драже, апаратників на стадіях фільтрації та сушіння, машиністів-таблетувальників на стадії таблетування, де відбувається інтенсивне надходження аерозолю діазоліну в повітря робочої зони. Виходячи з цього можна прогнозувати наявність шкідливості і небезпеки хімічного фактора умов праці у виробництві лікарського засобу Діазолін®, що визначає необхідність докладного вивчення токсичних властивостей лікарської субстанції діазолін.

Результати досліджень, що наведені у розділі 3 “Гігієнічна оцінка умов праці під час виробництва діазоліну та розробка методики кількісного визначення діазоліну у повітрі робочої зони” висвітлені в наступних публікаціях [132, 133].

Розділ 4

ОЦІНКА токсичності І ХАРАКТЕРУ БІОЛОГІЧНОЇ ДІЇ ДІАЗОЛІНУ

В ГОСТРИХ І ПІДГОСТРИХ ДОСЛІДАХ ТА БАГАТОРАЗОВОМУ НАНЕСЕННІ НА ШКІРУ

Токсикометрія хімічних сполук передбачає великий обсяг досліджень, обов'язковими з яких є встановлення смертельного ефекту, вивчення резорбтивної і місцево-подразнювальної дії, кількісної характеристики кумулятивних властивостей [134].

4.1 Встановлення параметрів токсичності і характеру біологічної дії діазоліну на організм лабораторних тварин в умовах гострих дослідів.

Завданням цього етапу досліджень було визначення параметрів токсичності, видової і статевої чутливості та клінічної картини отруєння при різних шляхах надходження діазоліну в організм експериментальних тварин.

За результатами проведених досліджень встановлено, що однократне пероральне введення діазоліну білим щурам в дозі 5000 мг/кг, білим мишам перорально в дозах від 5000 мг/кг до 12000 мг/кг та внутрішньочеревно в дозах від 200 мг/кг до 500 мг/кг викликає у тварин гостре отруєння, в клінічній картині якого переважають симптоми ураження центральної нервової системи. Відразу після введення речовини тварини ставали збудженими. Через 20-40 хвилин в залежності від дози спостерігались адинамія та знижена реакція на звукові та больові подразники. Дихання було важке, порушувалась координація рухів, фіксувались бічне положення і коматозний стан. Загибель наступала упродовж першої доби.

При розтині загиблих тварин макроскопічно спостерігалось повнокров'я внутрішніх органів. Гістологічно в головному мозку виявлено повнокров'я судин оболонок, периваскулярний і перицелюлярний набряк; міокарді - виражене повнокров'я, периваскулярний набряк; легенях - помірне повнокров'я; печінці - вогнищева дистрофія; ниркак - повнокров'я, вогнищева і зерниста дистрофія.

DL50 діазоліну для білих мишей–самок становить 9000,0 (6500±12600) мг/кг, білих мишей-самців – 10000,0 мг/кг, білих щурів-самок, та білих щурів-самців - > 10000,0 мг/кг (таблиці 4.1).

#### *Таблиця 4.1*

**Середньосмертельні дози діазоліну для лабораторних тварин при пероральному введенні**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Вид тварин | DL50, мг/кг | | Клас небезпеки за ГОСТ 12.1.007-76 |
| За Litchfielda & Wilcoxon | За Van der Waerden |
| Білі миші-самки | 9000 (6500±12600) | - | 4 |
| Білі миші-самці | - | 10000 | 4 |
| Білі щурі-самки | - | > 10000 | 4 |
| Білі щурі-самці | - | > 10000 | 4 |

Коефіцієнт видової чутливості (КВЧ) дорівнює 1,11 і свідчить про слабо виражені розбіжності видової чутливості до дії діазоліну. Статева чутливість не виражена. DL50 діазоліну для білих мишей-самців при внутришньочеревному введенні становить 326,0 мг/кг (4 клас небезпеки за К.К. Сидоровим [135], речовина малотоксична).

Однократну інгаляційну дію діазоліну вивчали шляхом інтраназального ведення препарату білим щурам в кількості, що відповідала концентрації 2000,0 мг/м3. Через 20-30 хв. після введення препарату у тварин спостерігалась адинамія, слабка реакція на зовнішні подразники, дихання - 54-59 за хв. Загибелі тварин за весь період спостереження не відмічено. Розрахункова СL50 діазоліну дорівнює 2818,0 мг/м3.

Внесення 50 мг препарату у кон’юнктивальний мішок ока кроля викликало слабку подразнюючу дію: гіперемія - 1 бал, виділення – 1 бал за класифікацією A. Mayda i K. Chrusаielska. Офтальмостатус відновлювався упродовж 2-3 годин без проведення лікувальних міроприємств.

Однократне нанесення діазоліну у вигляді мазі з ланоліном на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба білих щурів (час експозиції 4 години) не викликало загибелі тварин, змін на шкірі та видимих ознак гострої інтоксикації.

4.2 Визначення порогової концентрації (Limac) діазоліну при однократному інгаляійному впливі

При будь-якому впливі існують порогові значення фактора, нижче якого в організмі не відбуваються несприятливі зміни. При цьому до уваги береться не будь-яке відхилення від фізіологічної норми, а тільки те, що пов'язано з патологічними реакціями з боку організму і викликає порушення гомеостазу [136].

При плануванні досліджень по встановленню порогової концентрації діазоліну при однократному інгаляційному впливі (Limac ) було використано рівняння кореляційної залежності № 11 методичних вказівок [96].

Lg Lim ac=0,91LgDL50 (в/ш) - 0,63 (11)

Lg Lim ac=0,91 Lg 10000 - 0,63 = 3,01

Lim ac=1023,3 мг/м3

Limac встановлювали на білих щурах-самках шляхом інтраназального введення. Препарат вводили тваринам у вигляді водної суспензії в дозах від 1,87 мг до 24,6 мг*,* що відповідало в перерахунку на концентрації 115,0 мг/м3 (перша дослідна група), 350,0 мг/м3 (друга дослідна група) та 1050,0 мг/м3 (третя дослідна група).

В якості критеріїв токсичного впливу визначали біохімічні та гематологічні показники, враховуючи дані літератури та напрямок дії діазоліну на організм лабораторних тварин у гострому експерименті з пероральним введенням препарату.

За результатами досліджень було встановлено, що однократний інгаляційний вплив діазоліну не викликав загибелі піддослідних тварин та клінічних симптомів інтоксикації за виключенням незначного зниження рухової активності упродовж 5-6 годин від початку експерименту.

Результати оцінки гематологічних показників (гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів) та лейкоформули (базофілів, еозинофілів, нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів) свідчать, що рівень гемоглобіну та загальна кількість еритроцитів під дією препарату зменшувались в усіх дослідних групах на першу і другу добу експерименту. Однак ці зміни не мали статистичної достовірності. Кількість лейкоцитів зростала і виходила статистично достовірно за межі рівня контрольної групи під дією діазоліна в концентрації 1050 мг/м3 на першу добу експерименту (таблиця 4.2).

*Таблиця 4.2*

**Гематологічні показники стану організму білих щурів при інтраназальному введенні діазоліну в умовах гострого досліду**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Термін,  доба | Досліджувані групи | | | |
| Контрольна група | Дослідні групи | | |
| 115 мг/м3 | 350 мг/м3 | 1050 мг/м3 |
| М±m | М±m | М±m |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Гемоглобін, г/л | 1 | 128,0±4,58 | 124,67±4,98 | 122,17±3,06 | 120,67±3,75 |
| 2 | 132,17±3,48 | 129,67±1,96 | 126,50±5,15 | 124,17±3,60 |
| Еритроцити, Т/л | 1 | 4,87±0,24 | 4,47±0,32 | 4,52±0,22 | 4,23±0,15 |
| 2 | 5,13±0,16 | 5,08±0.36 | 4,95±0,44 | 4,78±0,30 |
| Лейкоцити, г/л | 1 | 6,97±0,27 | 7,67±0,23 | 8,15±0,51 | 8,65±0,50\* |
| 2 | 7,13±0,60 | 7,62±0,37 | 8,88±0,38 | 9,50±0,62 |
| Базофіли,  % | 1 | 0,33±0,21 | 0,50±0,22 | 0,50±0,22 | 0,50±0,22 |
| 2 | 0,33±0,21 | 0,50±0,22 | 0,50±0,22 | 0,62±0,21 |
| Базофіли,  г/л | 1 | 0,025±0,02 | 0,038±0,05 | 0,038±0,02 | 0,042±0,02 |
| 2 | 0,025±0,02 | 0,036±0,02 | 0,040±0,02 | 0,062±0,02 |
| Еозинофіли, % | 1 | 2,67±0,33 | 3,00±0,26 | 1,17±0,30 | 3,67±0,36 |
| 2 | 2,50±0,43 | 2,83±0,31 | 3,00±0,36 | 3,50±0,22 |
| Продовження табл.4.2 | | | | | |
| Еозинофіли, г/л | 1 | 0,188±0,03 | 0,232±0,02 | 0,260±0,04 | 0,314±0,06 |
| 2 | 0,173±0,03 | 0,215±0,02 | 0,267±0,03 | 0,330±0,02 |
| Нейтрофіли, % | 1 | 29,17±1,23 | 27,50±1,45 | 25,67±2,50 | 23,67±2,76 |
| 2 | 28,17±2,03 | 27,17±1,80 | 26,65±1,87 | 22,67±2,12 |
| Нейтрофіли, г/л | 1 | 2,040±0,13 | 2,12±0,175 | 2,08±0,15 | 2,030±0,113 |
| 2 | 2,02±0,18 | 2,07±0,18 | 2,35±0,16 | 2,17±0,24 |
| Моноцити, % | 1 | 3,17±0,47 | 3,50±0,22 | 3,67±0,20 | 4,17±0,30 |
| 2 | 3,00±0,36 | 3,33±0,34 | 3,67±0,20 | 4,00±0,36 |
| Моноцити, г/л | 1 | 0,219±0,03 | 0,270±0,02 | 0,399±0,03 | 0,327±0,04 |
| 2 | 0,220±0,04 | 0,257±0,31 | 0,328±0,03 | 0,373±0,06 |
| Лімфоцити, % | 1 | 64,67±1,53 | 65,50±3,80 | 67,00±1,88 | 68,00±1,32 |
| 2 | 66,00±1,37 | 66,17±1,79 | 66,17±1,90 | 69,17±1,13 |
| Лімфоцити, г/л | 1 | 4,50±0,54 | 5,00±0,123 | 5,46±0,43 | 5,90±0,40 |
| 2 | 4,70±0,57 | 5,54±0,51 | 5,90±0,67 | 6,32±0,48 |

\*- cтатистично достовірні зміни (p<0,05).

Змін біохімічних показників, зокрема, вмісту загального білка, сечовини, креатиніну, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази у сироватці крові дослідних білих щурів, порівняно з контрольною групою, виявлено не було (таблиця 4.3).

*Таблиця 4.3*

**Біохімічні показники стану організму білих щурів при інтраназальному введенні діазоліну в умовах гострого досліду**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Термін, доба | Досліджувані групи | | | |
| Контрольна група | Дослідна група | | |
| 115 мг/м3 | 350 мг/м3 | 1050 мг/м3 |
| М±m | М±m | М±m |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| AлАТ, ммоль/л×год | 1 | 0,67±0,19 | 0,75±0,09 | 0,82±0,12 | 1,03±0,09 |
| 2 | 0,70±0,26 | 1,00±0,096 | 1,16±0,06 | 1,21±0,08 |
| AсАТ, ммоль/л×год | 1 | 1,48±0,20 | 1,56±0,38 | 1,58±0,11 | 1,80±0,19 |
| 2 | 1,50±0,13 | 1,45±0,08 | 1,56±0,07 | 1,72±0,10 |
| Продовження табл.4.3 | | | | | |
| Лужна фосфатаза, мккат/л | 1 | 8,50±0,67 | 9,07±0,89 | 9,10±0,67 | 9,18±0,70 |
| 2 | 8,70±0,60 | 9,15±0,60 | 9,25±0,86 | 9,50±0,70 |
| Загальний білок, г/л | 1 | 63,50±0,89 | 63,00±1,34 | 63,80±1,45 | 61,30±1,60 |
| 2 | 62,70±1,03 | 63,80±0,60 | 61,00±1,10 | 63,30±1,50 |
| Сечовина, ммоль/л | 1 | 5,37±0,37 | 5,58±0,37 | 5,38±0,42 | 6,06±0,18 |
| 2 | 5,15±0,27 | 5,33±0,49 | 5,50±0,38 | 5,74±0,48 |
| Креатинін, мкм/л | 1 | 46,10±2,55 | 48,70±4,40 | 48,80±2,80 | 48,40±3,50 |
| 2 | 45,20±1,26 | 50,10±3,18 | 48,30±2,90 | 51,00±3,14 |

Під впливом максимального рівня діазоліну 1050 мг/м3 на другу добу експерименту зафіксовано збільшення циркулюючих імунних комплексів (таблиця 4.4).

*Таблиця 4.4*

**Вміст ЦІК в організмі білих щурів при інтраназальному введенні діазоліну** **в умовах гострого досліду**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Термін, доба | Досліджувані групи | | | |
| Контрольна група | Дослідні групи | | |
| 115 мг/м3 | 350 мг/м3 | 1050 мг/м3 |
| М±m | М±m | М±m |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ЦІК | 1 | 41,33±4,90 | 42,17±3,74 | 47,33±5,36 | 53,00±3,86 |
| 2 | 50,33±3,80 | 53,17±4,50 | 63,33±6,00 | 76,67±5,92**\*** |

\*- cтатистично достовірні зміни (p < 0,05).

Сумаційно-пороговий показник, що характеризує загальний стан нервової системи (центральної і вегетативної) у щурів третьої групи, затруєних діазоліном, змінився на 36,2%, тобто в бік зменшення по відношенню до контрольних значень, а у експериментальних тварин першої та другої груп, які зазнали впливу препарату, зміни цього показника по відношенню до контролю, не мали статистичної достовірності (таблиця 4.5).

*Таблиця 4.5*

**СПП і поведінкові реакції у білих щурів при інтраназальному введенні діазоліну в умовах гострого досліду**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Термін, доба | Досліджувані групи | | | |
| Контроль-на група | Дослідні группи | | |
| 115 мг/м3 | 350 мг/м3 | 1050 мг/м3 |
| М±m | М±m | М±m |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| СПП | 1 | 16,05±1,62 | 13,20±1,89 | 19,15±0,62 | 11,50±1,26 |
| 2 | 15,67±0,95 | 13,33±0,99 | 15,67±1,44 | 10,00±1,154**\*** |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вертикальна активність | 1 | 1,50±0,92 | 1,60±0,64 | 2,50±1,07 | 1,50±0,465 |
| 2 | 1,50±0,42 | 1,33±0,43 | 2,67±1,50 | 0,67±0,33**\*** |
| Горизонтальна активність | 1 | 6,40±1,94 | 9,90±3,33 | 12,20±4,95 | 13,40±4,41 |
| 2 | 7,67±0,42 | 10,47±2,07 | 15,17±3,33 | 16,38±2,22 |
| “Норковий” рефлекс | 1 | 1,60±0,616 | 1,60±0,64 | 1,00±0,447 | 1,40±0,46 |
| 2 | 1,33±0,42 | 1,50±0,43 | 1,33±0,33 | 1,17±0,42 |

\*- cтатистично достовірні зміни (p < 0,05).

В якості Limac при однократному інгаляційному впливі визначена максимальна досліджувана концентрація 1050,0 мг/м3.

## 4.3. Оцінка кумулятивних властивостей і характеру біологічної дії діазоліну в умовах підгострого досліду та багаторазового нанесення на шкіру

Важливе місце в профілактичній токсикології займає вивчення кумулятивних властивостей речовини, що характеризує її здатність викликати токсичний ефект при послідовному, багаторазовому надходженні в організм. Кумулятивна дія може проявлятися накопиченням речовини в організмі і утворенням депо (матеріальна кумуляція) або накопиченням (сумацією) ефекту (функціональна кумуляція) [137, 138].

Для визначення кумулятивних властивостей діазоліну препарат вводили білим мишам-самкам у вигляді водної суспензії, починаючи з дози 0,1 DL50 (900 мг/кг) шляхом збільшення дози в 1,5 рази кожні 4 доби. Поступове підвищення дози дозволяло виявити не тільки кумулятивну дію, але і можливість звикання до дії токсиканта, яка розвивається, коли адаптивні і компенсаторні можливості організму забезпечують збереження гомеостазу на рівні, що відповідає нормальну перебігу фізіологічних процесів.

Перші ознаки інтоксикації у тварин експериментальної групи спостерігалися при надходженні в організм діазоліну у сумарній дозі 0,4 DL50. Вони проявлялися в неохайності зовнішнього вигляду (скуйовджена шерсть), адинамії, відсутності апетиту. Починаючи з 5 доби експерименту у тварин розвивалась клінічна картина інтоксикації з симптомами ураження центральної нервової системи (підвищена реакція на зовнішні подразники). Відзначалося зниження динаміки приросту маси тіла дослідних тварин порівняно з контролем. Загибель перших тварин спостерігалася з 6 доби експерименту при отриманні сумарної дози діазоліну 3,28 ЛД50 і досягала максимуму на 18 добу при дозі препарату 4,28 ЛД50.

Коефіцієнт кумуляції дорівнює 0,96 і свідчить про виражену кумулятивну активність діазоліну.

10-кратне нанесення діазоліну у вигляді мазі з ланоліном на попередньо депільовану ділянку бокової поверхні тулуба білих щурів (час експозиції 4 години) не викликало загибелі тварин, змін на шкірі та видимих ознак гострої інтоксикації.

Таким чином, як результатами виконаних досліджень встановлено, що діазолін за параметрами гострої пероральної токсичності належить до мало небезпечних речовин 4 класу небезпеки у відповідності з ГОСТ 12.1.007-76. При гострому пероральному отруєнні розвиваються симптоми ураження центральної нервової системи. Видова та статева чутливість тварин до препарату слабо виражена.

Діазолін не володіє резорбтивно-токсичним та місцево-подразнювальним ефектами при попаданні на шкіру. Викликає слабке подразнення слизових оболонок очей. Субхронічний пероральний вплив діазоліну характеризується симптомами ураження центральної нервової системи та проявами сильної кумулятивної активності (Кcum=0,96). Поріг гострої інгаляційної дії за зміною ЦІК та СПП знаходиться на рівні 1050 мг/м3.

Гігієнічна регламентація хімічної сполуки у повітрі робочої зони передбачає вивчення небезпеки розвитку специфічних та віддалених ефектів впливу. Проведення таких досліджень розглянуто у наступному розділі.

Результати досліджень, що наведені у розділі 4 “Оцінка токсичності і характеру біологічної дії діазоліну в гострих і підгострих дослідах” викладені у статтях [139, 140, 141] та апробовані на науковому форумі [142].

Розділ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ВІДДАлЕНИХ ЕФЕКТІВ ВПЛИВУ

ТА ІМУНОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ДІАЗОЛІНУ

В основі віддалених ефектів впливу (гонадотоксичного, ембріотоксичного) хімічних речовин лежать зміни найбільш тонких структур організму і процесів обміну на клітинному, субклітинному і молекулярному рівнях. Віддалені ефекти виявляються порушеннями генетичного апарату, процесів регенерації, відтворюваності потомства, особливим станом імунітету [143,144].

5.1 Дослідження гонадотоксичної дії діазоліну

Оцінку гонатоксичного ефекту діазоліну здійснювали на білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г. Експериментальні групи тварин включали по 10 особин кожна.

Препарат вводили внутрішньошлунково упродовж 72 діб в дозах 100 мг/кг (1 дослідна група) і 20 мг/кг (2 дослідна група), що становило відповідно 1/100 DL50 і 1/500 DL50. Для оцінки стану статевих залоз використовували макроскопічні дослідження сім'яників (зовнішній огляд, вага, розміри), функціональні та морфологічні показники. Оцінка функціональних показників включала визначення концентрації сперматозоїдів у камері Горяєва, кількості патологічних форм і мертвих сперматозоїдів, часу рухливості сперматозоїдів, осмотичної і кислотної резистентності.

Стан сім’яутворюючого епітелію щурів вивчали за кількісною оцінкою структурно-функціональних елементів сім’яників (сумарна кількість нормальних сперматогоній, кількість канальців зі злущеним епітелієм), на підставі якої розраховували індекс сперматогенезу.

За результатами експерименту встановлено, що діазолін в дозах 100 мг/кг (1/100 DL50 ) і 20 мг/кг (1/500 DL50 ) не змінює розмір та масу сім’яників білих щурів. Вагові коефіцієнти сім'яників склали відповідно 10,90 ± 0,14 г/кг і 10,30 ± 0,33 г/кг (таблиця 5.1) і істотно не відрізнялися від контролю (10,60 ± 0,83).

*Таблиця 5.1*

**Результати дослідження гонадотоксичної дії діазоліну**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Досліджувані групи | | | | |
| Контроль | 1/100 DL50 | | 1/500 DL50 | |
|  | М+m | t | М+m | t |
| Вагові коефіцієнти, г/кг | 10,60±0,83 | 10,90±0,14 | 0,36 | 10,30±0,33 | 0,34 |
| Функціональний стан сперматозоїдів | | | | | |
| Кількість сперматозоїдів, млн. | 56,03±7,38 | 65,72±8,39 | 0,08 | 51,10±5,42 | 0,06 |
| Рухливість сперматозоїдів, хв. | 264,11±8,58 | 240,52±9,3 | 0,15 | 261,73±8,26 | 0,02 |
| Кількість мертвих сперматозоїдів,% | 16,52±72,91 | 15,64±2,69 | 0,06 | 13,93±2,07 | 0,20 |
| Патологічні форми сперматозоїдів, % | 13,20±2,03 | 12,31±1,73 | 0,13 | 12,31±1,61 | 0,13 |
| Осмотична резистентність, %  р-нів NaCl | 2,75±0,12 | 2,44±0,12 | 1,84 | 2,68±0,10 | 0,50 |
| Кислотна резистентність, рН | 4,15±0,13 | 3,85±0,15 | 1,50 | 3,95±0,14 | 1,05 |
| Окисно-відновні процеси спермато-зоїдів, хв. | 66,12±11,0 | 64,83±56,5 | 0,70 | 206,71±37,2 | 0,41 |
| Морфологічні показники сім’яродного епітелію | | | | | |
| Кількість нормальних сперматогоній, шт. | 71,65±1,60 | 70,45±1,44 | 0,50 | 71,25±1,10 | 0,60 |
| Індекс сперматоге-незу, ум.од. | 3,75±0,09 | 3,70±0,19 | 0,41 | 3,74±1,10 | 0,30 |
| Кількість канальців зі злущеним епітелієм, % | 3,00 ±0,07 | 3,00 ±0,06 | 0,35 | 2,72±0,06 | 0,23 |

Вплив діазоліну в дозі 100 мг/кг (1/100 DL50) призводив до збільшення загальної кількості сперматозоїдів з одночасним зниженням їх рухливості, окисно-відновних процесів, осмотичної та кислотної резистентності. Однак, ці зміни не досягали статистичної достовірності. Кількість мертвих сперматозоїдів і їх патологічних форм та показники сім’яутворюючого епітелію знаходилась у межах контролю.

При затруєнні тварин діазоліном у дозі 20 мг/кг (1/500 DL50 )зміни були близькі до контрольної групи.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що діазолін у дозах 20 мг/кг (1/500 DL50) і 100 мг/кг (1/100 DL50) не проявляє гонадотоксичної дії.

5.2 Дослідження ембріотоксичної дії діазоліну

Ембріотоксичну дію діазоліну досліджували на вагітних білих щурах-самках. Для цього статевозрілих самок масою 180-200 г підсажували до самців у стадії проеструс-еструс і першим днем вагітності вважали день виявлення сперматозоїдів у вагінальних мазках. Із першого дня вагітності за тваринами встановлювали спостереження: контролювали стан і поведінку самок, реєстрували динаміку зміни маси тіла та тривалість вагітності. Паралельно проводили спостереження за контрольною групою тварин. Затруєння препаратом проводили щоденно внутрішньошлунково упродовж 20 днів в дозах 1/250 DL50 – 40,0 мг/кг, та 1/1250 DL50 – 8,0 мг/кг. Підраховували доімплантаційну (1-13 доба) та постімплантаційну загибель плодів (з 14 по 20 добу). Розтин самок проводили на 20 добу вагітності самок. Після евтаназії під легким ефірним наркозом тварин шляхом дислокації шийних хребців, робили розтин черевної порожнини та рогів матки, враховуючи наступні показники: кількість жовтих тіл вагітності, кількість живих і мертвих плодів, кількість місць резорбції та імплантації, стан плаценти. Плоди і плаценти зважували, вимірювали їх краніо-каудальні відстані.

Проведеними дослідженнями встановлено, що внутрішньошлункове, упродовж 20 днів, введення діазоліну в дозах 1/250 DL50 (40,0 мг/кг) та 1/1250 DL50 (8,0 мг/кг) вагітним самкам не викликало їх загибелі та розвитку клінічної картини отруєння. Введення препарату не позначалось на тривалості вагітності самок, не було зафіксовано абортів та передчасних пологів. Маса тіла тварин зростала впродовж експерименту.

У ході проведення макроскопічного огляду плодів самок, які отримували діазолін під час усієї вагітності, виявлено, що в усіх ембріонів контрольної та дослідних груп були відсутні вади лицевої і мозкової частин черепу. Сам череп мав овально-довгасту форму. Вушна раковина та повіки очей були закриті. Передня черевна стінка зарощена, без ознак пупкової грижі. Хвіст був звичайної довжини. Кінцівки мали добре розвинуте плече, передпліччя, кість, стегно, гомілку та стопу. Положення, форма кінцівок, кількість пальців та їх розміри у ембріонів дослідних і контрольних перебували в межах норми. На шкірі були відсутні ознаки порушення пігментації.

У дослідних тварин маса плодів та їх краніо-каудальний розмір, маса плацент та їх діаметр не мали достовірних відмінностей від показників контрольних тварин.

Показники ембріогенезу при введенні діазоліну щурам-самкам наведено в таблиці 5.2

*Таблиця 5.2*

**Показники ембріогенезу при введенні діазоліну щурам-самкам**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Дослідні групи | | | | Контрольна группа |
| 1/50 LD50 | T | 1/250 LD50 | t |
| M±m | M±m | M±m |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Кількість жовтих тіл | 12,80±0,66 | 0,82 | 13,10±0,65 | 0,42 | 13,40±0,30 |
| Кількість місць імплантації | 11,00±0,83 | 1,44 | 11,70±0,40 | 1,11 | 12,30±0,37 |
| Кількість живих плодів | 10,20±0,70 | 1,14 | 10,80±0,39 | 0,54 | 11,10±0,37 |
| Кількість резорбції | 1,00±0,33 | 0,36 | 0,90±0,23 | 0,60 | 1,20±0,44 |
| Загальна ембріональна смертність, % | 19,60±4,48 | 0,70 | 18,30±2,12 | 0,65 | 15,50±3,78 |
| Продовження табл. 5.2 | | | | | |
| Доімплатаційна смертність, % | 11,20±3,40 | 0,80 | 10,50±2,54 | 0,70 | 8,00±2,56 |
| Післяімплатаційна смертність, % | 9,70±3,30 | 0,10 | 7,60±2,00 | 0,44 | 9,30±3,30 |
| Маса плода, г | 1,96±0,22 | 1,88 | 2,47±0,18 | 0,74 | 2,90±0,44 |
| Краніо-каудальний розмір, мм | 29,94±2,60 | 1,00 | 31,43±1,61 | 0,72 | 33,83±2,92 |
| Маса плаценти, г | 0,38±0,024 | 1,63 | 0,40±0,021 | 1,00 | 0,44±0,03 |
| Діаметр плаценти, мм | 13,70±0,25 | 0,83 | 13,54±0,24 | 0,70 | 13,30±0,23 |

Встановлено, що показники ембріогенезу вагітних самок дослідних груп відповідали аналогічним показникам контрольних щуриць. Показники доімплатаційної, післяімплатаційної та загальної ембріональної летальності в дослідних групах не мали вірогідних відмінностей від показників у контролі. Такі показники ембріогенезу, як кількість жовтих тіл, кількість місць імплантації та передімплатаційна загибель (%) суттєво не відрізнялися в контрольній та експериментальних групах.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що діазолін в дозах 8 мг/кг та 40 мг/кг маси тіла у вагітних самиць-щурів не викликає ембріотоксичного ефекту .

5.3 Дослідження імунотоксичної дії діазоліну

Дослідження імунотоксичної дії діазоліну здійснювали за принципом етапності. На І етапі проводили сенсибілізацію мурчаків та визначали ступінь сенсибілізації, на ІІ етапі визначали стан неспецифічної реактивності організму, на ІІІ та ІV етапах визначали стан клітинного і гуморального ланцюжків імунітету.

Перший етап аналізу отриманих результатів, зокрема оцінка локальних змін поверхні шкіри на місці введення діазоліну у розведеннях 1:100, 1:1000, 1:10000 через 20-30 хв., 4-5 год та 24 год не виявив проявів шкірної реакції у сенсибілізованих тварин. Проте, клітинна система кров'яного гомеостазу була значно активнішою і реагувала на дію діазоліну кількісним зміщенням чисельності окремих субпопуляцій лейкоцитарних клітин в ту чи іншу сторону, що було направлено, у першу чергу, на зв'язування та елімінацію антигенних комплексів, які у подальшому при умові постійного, тривалого впливу будуть ініціювати запуск патофізіологічних процесів.

Аналіз результатів лейкограми крові сенсибілізованих діазоліном тварин виявив зростання в 1,3 рази (на 25,3 %) популяції загальних лейкоцитів, які становили 15,40±0,60 г/л відносно 11,50±1,44 г/л у інтактних тварин (t=2,50, р<0,05) та порушення субпопуляційного балансу лейкоцитарних пулів у загальній популяції лейкоцитів. Виявлено зростання у 1,4 рази кількості еозинофільних (на 28,4 %, t=2,80, р<0,05) і лімфоцитарних (на 28,0 %, t=2,50, р<0,05) клітин, зменшення в 1,2 рази нейтрофільних лейкоцитів (на 18,9 %, t =3,33, р<0,01). Достовірне зменшення у периферичній крові сенсибілізованих тварин кількості нейтрофілів, очевидно, було обумовлено їх перерозподілом з кров'яного русла у зону «конфлікту». Разом з тим, у дослідної групи тварин відмічено чітку тенденцію до зростання базофільних гранулоцитів (в 1,5 разів, t=0,78, р>0,05) та моноцитів (в 1,2 разів, t=1,75, р>0,05), що представлено таблиця 5.3.

*Таблиця 5.3*

**Показники лейкоцитограми крові інтактних та сенсибілізованих діазоліном мурчаків**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники / групи | контрольна (п=8) | дослідна (п=8) | t | |
| М±m | М±m |
| Лейкоцити, г/л | 11,50±1,44 | 15,40±0,60\* | **2,50** | |
| Продовження табл. 5.3 | | | |
| Базофіли, % | 0,40±0,19 | 0,60±0,16 | 0,78 | |
| Базофіли, г/л | 0,044±0,018 | 0,062±0,035 | 0,45 | |
| Еозинофіли, % | 3,00±0.21 | 3,20±0,20 | 0,70 | |
| Еозинофіли, г/л | 0,35±0,04 | 0,49±0,03\* | **2,80** | |
| Нейтрофіли, % | 21,20±0,59 | 17,20±1,04\* | **3,33** | |
| Нейтрофіли, г/л | 2,43±0,15 | 2,32±0,22 | 0,42 | |
| Моноцити, % | 3,10±0,23 | 3,80±0,33 | 1,75 | |
| Моноцити, г/л | 0,54±0,01 | 0,580±0,05 | 0,77 | |
| Лімфоцити, % | 72,30±0,58 | 75,20±0,94\* | **2,64** | |
| Лімфоцити, г/л | 8,32±0,49 | 11,56±1,54 | **2,25** | |

Примітка: \* різниця достовірна відносно групи контролю, р<0,05-0,001.

Не зважаючи на це, що лейкоцити виконують функцію неспецифічного клітинного захисту від впливів біологічних, хімічних, фізичних чинників, проте і на цьому етапі прослідковується диференціювання їх ролі у реакціях захисту. Так, еозинофіли і базофіли організовують вогнище запалення, лімфоцити – основа специфічних імунних реакцій, нейтрофіли і моноцити виконують роль фагоцитів. Зокрема, від ефективної реакції нейтрофілів значною мірою залежить рівень неспецифічної резистентності організму, оскільки вони приймають активну участь у процесах фагоцитозу – видаленні з організму патогенних мікроорганізмів, сторонніх речовин та змінених власних клітин організму. У площині даного розділу роботи – вивчення імуносенсибілізуючої дії діазоліну було доцільним дослідити його вплив на функціональну активність нейтрофільних лейкоцитів. Нами встановлено незначну тенденцію до посилення фагоцитарної активності фагоцитів крові мурчаків сенсибілізованих діазоліном. Однак, кількість фагоцитоз-активних клітин – фагоцитарний індекс (дослід 13,20±0,33 %, контроль 13,80±0,42 %, t=1,13, р>0,05) та їх поглинальна здатність – фагоцитарне число (дослід 3,89±0,14, контроль 4,19±0,10, t=1,72, р>0,05) не виходили за довірчий інтервал норми, таблиця 5.4.

*Таблиця 5.4*

**Показники фагоцитарної активності нейтрофілів крові інтактних та сенсибілізованих діазоліном мурчаків**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники / групи | контрольна (п=8) | дослідна (п=8) | **t** |
| М±m | М±m |
| Фагоцитарний індекс, % | 13,20±0,33 | 13,80±0,42 | 1,13 |
| Фагоцитарне число | 3,89±0,14 | 4,19±0,10 | 1,72 |

Отримані результати вказали на те, що діазолін в організмі тварин здатний кон'югувати з білковими, глікопротеїдними чи ліпопротеїдними структурами сироватки крові і тканин, утворюючи антигенні комплекси. Наявність чужих для організму біоструктур підтверджується достовірним зростанням у крові тварин пулу еозинофілів, які відповідальні за регуляцію судинно-інфільративної фази запалення, контролюють виділення гістаміну та інших біологічноактивних речовин базофілами та опасистими клітинами (тканинними базофілами), приймають участь у розвитку патофізіологічних механізмів алергічних захворювань, а також забезпечують регуляцію клітино-опосередкованих імунних реакцій, які у подальшому визначатимуть «поведінкову реакцію» клітинної відповіді адаптивного імунітету.

Результати досліджень клітинного адаптивного імунітету представлені в таблиці 5.5.

*Таблиця 5.5*

**Показники клітинного адаптивного імунітету крові інтактних та сенсибілізованих діазоліном мурчаків**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники / групи | контрольна (п=8) | дослідна (п=8) | **t** |
| М±m | М±m |
| Т-лімфоцити - (СД3), % | 50,20±0,87 | 48,50±0,98 | 1,30 |
| Т-лімфоцити - (СД3), г/л | 4,20±0,29 | 5,60±0,22\* | **3,80** |
| Т-хелпери - (СД4), % | 31,90±1,21 | 28,20±1,00 | **2,35** |
| Т-хелпери - (СД4), г/л | 2,78±0,13 | 3,26±0,14\* | **2,52** |
| Т-супресори – (СД8), % | 18,30±0,84 | 20,30±0,68 | 1,83 |
| Т-супресори – (СД8), гг/л | 1,54±0,03 | 2,33±0,09\* | **8,40** |
| NK-клітини – (СД16), % | 18,60±0,87 | 17,90±0,60 | 0,66 |
| NK-клітини – (СД16), г/л | 1,55±0,13 | 2,06±0,10\* | **3,20** |
| В-лімфоцити – (СД22), % | 20,10±0,90 | 19,20±0,57 | 0,84 |
| В-лімфоцити – (СД22), г/л | 1,67±0,14 | 2,21±0,08\* | **3,33** |
| Імунорегуляторний індекс | 1,78±0,12 | 1,41±0,07\* | **2,66** |

Примітка: \* різниця достовірна відносно групи контролю, р<0,05-0,001.

Результати свідчать, що у мурчаків дослідної групи, відносно контролю відбувалося зростання у 1,3 рази абсолютної кількості Т- лімфоцитів СД3, показники яких становили у дослідній групі 5,60±0,22 г/л, у контролі 4,20±0,29 г/л, **t** = 3,80, р<0,01. Зростання Т-лімфоцитарного спектру клітин відбувалося внаслідок збільшення у 1,2 рази пулів Т-хелперних СД4 лімфоцитів(t = 2,35, р<0,05) і у 1,5 разів Т-супресорних СД8 клітин(t =  8,40, р < 0,001). У даному випадку імунорегуляторна стадія імунної відповіді протікає з активуванням, диференціюванням і взаємодією Т-хелперних та Т - супресорних лімфоцитів й супроводжується достовірним зростанням обох субпопуляційних фракцій з випередженим зростанням чисельності пулу СД8 і, відповідно, переважанням імуносупресивного напрямку імунних процесів направлених на пригнічення механізмів розвитку алергічних реакцій. Підтвердженням цього є зниження величини імунорегуляторного індексу (ІРІ), який у сенсибілізованих тварин становив -1,41 ± 0,07, і був у 1,3 рази нижчим ніж у інтактних - 1,78 ± 0,12, t = 2,70, р<0,05 та вказував на адаптивний характер імунної відповіді на дію зовнішнього подразника.

Проведені дослідження встановили, що у тварин дослідної групи відбувається зростання пулу NK-клітин у 1,3 рази (дослід 2,06±0,10 г/л, контроль 1,55±0,13, t = 3,20, р<0,02). Збільшення в крові кількості природних кілерів вказує на присутність в організмі чужих хімічномодифікованих біокомплексів. Саме СD16 разом із незначною кількістю популяції CD8, які не вимагають презентації антигена молекул головного комплексу гістосумісності, здатні виявляти такий антигенний комплекс та формувати ранню фазу імунної відповіді (впродовж годин). Достовірне зростання пулів СD8, (р<0,001), СD16 р<0,02) на тлі збільшеного СD4 (р<0,05) вказує на алергічну налаштованість організму з можливим розвитком аутоалергічних реакцій при умові подальшого постійного впливу діазоліну на біооб'єкт.

При умові повторної дії фактора впливу в організмі тварин чи людини запускаються процеси формування імунної пам'яті з участю Т- та В-клітин пам'яті та відбувається їх накопичення. За результатами наших досліджень, ті зміни які констатували у сенсибілізованих тварин у клітинній структурі крові доводять, що діазолін утворює з біоструктурами організму діазолінозв'язані біомолекулярні комплекси, що здатні ініціювати зростання в системі кров'яного гомеостазу кількості клітин пам'яті. Очевидно, саме з цими процесами пов'язано збільшення в крові дослідної групи тварин на 20,8 % пулу В-лімфоцитів СD22 (дослід - 2,21±0,08 г/л, контроль - 1,67±0,14, **t** = 3,33, р<0,02).

Вивчення у експериментальних тварин функціонального стану В-ланки імунітету на основі дослідження імуноглобулінів Ig А, Ig М, Ig G не виявило ознак посиленого активування процесів антитілотворення. Значення показників імуноглобулінів у дослідній і контрольній групах тварин були практично ідентичними (таблиця 5.6).

*Таблиця 5.6*

**Показники гуморального імунітету у інтактних та сенсибілізованих діазоліном мурчаків**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники / групи | контрольна (п=8) | дослідна (п=8) | **t** |
| М±m | М±m |
| Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), од.опт.щільн. | 69,20±4,18 | 94,00±5,33 | **3,66** |
| Імуноглобулін А (Ig A), г/л | 1,60±0,19 | 1,60±0,16 | 0,68 |
| Імуноглобулін М (IgМ), г/л | 0,29±0,016 | 0,30±0,019 | 0,40 |
| Імуноглобулін G (IgG), г/л | 2,21±0,26 | 2,38±0,27 | 0,46 |

Примітка: \* різниця достовірна відносно групи контролю, р<0,05.

Очевидно, у випадку непостійної вибіркової періодичності впливу хімічного чинника на організм (у нашому випадку - дослідження сенсибілізуючої дії діазоліну) процеси антитілоутворення активуються слабо. Разом з тим спрацьовують адаптивно-компенсаторні механізми імунного комплексотворення (ЦІК), направлені на зв'язування та елімінацію антигена, які утримують рівень імуноглобулінів у довірчому інтервалі норми. Підтвердженням даного припущення є зростання в крові дослідних тварин у 1,4 рази циркулюючих імунних комплексів, рівень яких становив 94,00±5,33од. опт. щільн. відносно 69,20±4,18 од. опт. щільн. у інтактних, t= 3,66, р < 0,02.

Отже, діазолін за хімічною структурою молекули та дією на систему імунітету є гаптеном, здатним ініціювати патофізіологічні механізми запуску алергічних реакцій. Зростання в крові експериментальних тварин пулу еозинофільних лейкоцитів (р < 0,05), СD4 (р < 0,05), СD8 (р < 0,001), СD16 (р < 0,02) та ЦІК (р < 0,01) можна розцінювати як реакцію організму на наявність діазолінозв'язаних біомолекулярних структур, які в організмі набувають властивостей алергену.

Сенсибілізація діазоліном експериментальних тварин викликала зміну клітинної складової природного та адаптивного імунітету:

а) збільшення у крові числа загальних лейкоцитів (р < 0,05) та перерозподіл лейкоцитарних фракцій зі зміщенням динамічної рівноваги між ними у бік зростання пулу еозинофільних лейкоцитів у 1,4 рази (р < 0,05), лімфоцитів - у 1,3 рази (р < 0,051), зменшення в 1,2 рази кількості нейтрофілів (р < 0,01), зростання у 1,3 рази природних кілерів СD16 (р < 0,02);

б) зростання питомої частки лімфоцитарного пулу клітин, внаслідок збільшення Т- клітинної СД3 (р < 0,01) та В- клітинної СD22 (р < 0,02) фракції лімфоцитів;

в) субпопуляційні зміщення пулів у в загальній популяції СД3 із зростанням у 1,2 рази СD4 (р < 0,05) та 1,5 разів СD8 (р < 0,001) і зниженням у 1,3 рази імунорегуляторного індексу СD4/СD8 (р < 0,05).

Імунорегуляторна стадія імунної відповіді при сенсибілізації мурчаків діазоліном протікала з випередженням імуносупресивного напрямку імунних процесів (зростання СD4 на 14,7 %, а СD8 на 33,9 %) направлених на гальмування механізмів розвитку алергічних реакцій й носила адаптивний характер.

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що діазолін не створює реальної небезпеки розвитку віддаленого гонадотоксичного ефекту, не впливає на ембріогенез; однак при внутрішньошкірній сенсибілізації мурчаків діазолін викликав достовірні зміни у периферичній крові тварин, впливав на показники клітинної та гуморальної ланки природженого та набутого імунітету, що може призвести до формування алергійних та аутоімунних реакцій.

Результати досліджень, що наведені у розділі 5 “Дослідження віддалених ефектів впливу та імунотоксичної дії діазоліну ” викладені у статтях [145, 146, 147] та апробовані на науковому форумі [148].

РОЗДІЛ 6

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ І ОБҐРУНТУВАННЯ ГІГІЄНІЧНИХ НОРМАТИВІВ ДІАЗОЛІНУ У

ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ, АТМОСФЕРНОМУ ПОВІТРІ ТА ВОДІ ВІДКРИТИХ ВОДОЙМ

За останні десятиліття проблема алергії набула масштабу глобальної медико-соціальної проблеми. Алергічні захворювання за своєю поширеністю займають третє місце після серцево-судинних і онкологічних, а в деяких екологічно несприятливих регіонах виходять на перше місце. Впродовж кожного десятиріччя показники захворюваності алергією в усьому світі подвоюються. Незважаючи на вражаючі успіхи фундаментальних розділів біології і медицини, більш поглиблене вивчення природи алергії, впровадження нових способів протиалергічного лікування та профілактики, реєструється ускладненний перебіг алергічних захворювань, що неминуче призводить до зростання рівня тимчасової непрацездатності, інвалідизації населення, а отже, до зниження якості життя пацієнтів [1].

Алергію називають “хворобою цивілізації”. Якщо XX століття було століттям серцево-судинних захворювань, то XXI за прогнозами ВООЗ стане сторіччям алергії [149, 150, 151].

Забруднення навколишнього середовища відходами промислового виробництва, несприятливі соціальні умови, інтенсивне використання засобів дезінфекції в побуті та на виробництві, застосування пестицидів і гербіцидів у сільському господарстві, зміна характеру харчування, використання генетично змінених продуктів - поєднаний вплив цих факторів на організм сучасної людини створює передумови для високих алергенних навантажень. Згідно зі статистичними даними багатьох країн світу, від 10 до 30% міського і сільського населення, що проживає в регіонах із високорозвиненим економічним потенціалом, страждає на алергічні захворювання. В Україні, згідно з офіційною статистикою, алергічними захворюваннями страждають від 10 до 15% населення, що становить не менше 10 млн. чоловік. Схильні до алергічних реакцій 15-17% населення [1].

Антигістамінні лікарські засоби – одна з найпоширеніших груп препаратів, що використовують при лікуванні алергічних захворювань. В медичній практиці широко застосовуються чисельні представники блокаторів Н1–гістамінових рецепторів, які відіграють важливу роль у лікуванні різноманітних алергічних реакцій. На українському фармацевтичному ринку представлені антигістамінні лікарські засоби різних поколінь вітчизняного виробництва [152].

Найспоживанішими лікарськими засобами упродовж 2014-2017 років були 5 препаратів: діазолін (мебгідролін), лоратадин, цетиризин, дезлоратадин та левоцетеризин. Ці лікарські засоби належать до усіх трьох поколінь антигістамінних препаратів [64].

Найбільша питома вага в загальній структурі споживання антигістамінних лікарських засобів І покоління належить препаратам на основі мебгідроліна. Вони представлені у вигляді 5 лікарських форм, серед яких є дитячі дозування, що сприяє безпечному застосуванню у педіатричній практиці. Окрім того, їх застосовують у медичній практиці досить тривалий час, що надає певні переваги (наприклад прогнозованість побічних ефектів тощо) [78].

Діазолін застосовують перорально для симптоматичного лікування алергічних захворювань, таких як кропив'янка, сінна лихоманка, свербіж, алергічний кон'юнктивіт, вазомоторний риніт, астма [81], алергічні дерматити, нейродерматози, сироваткова хвороба, ангіоневротичний набряк, ревматизм із вираженим алергічним компонентом. Відмічено позитивний вплив препарату при капіляротоксикозі [82].

Також діазолін рекомендують у комплексній терапії при лікуванні гострого герпетичного стоматиту у дітей [83], плаского червоного лишаю [84], псоріазу [85], іксодових кліщових бореліозів [86].

Головною перевагою діазоліну перед іншими “класичними” препаратами - дифенгідраміном (димедрол) та супрастином (хлорпірамін) є відсутність пригнічуючої дії на ЦНС, він не викликає сонливість та седативний ефект [82].

В інструкції по застосуванню діазоліну вказано, що препарат швидко всмоктується з травного тракту. Біодоступність коливається у межах 40-60 %. Терапевтичний ефект розвивається через 15–30 хвилин, максимальна дія спостерігається через 1–2 години. Тривалість ефекту може досягати 2 діб. Препарат практично не проникає через гематоенцефалічний бар'єр, метаболізується у печінці шляхом метилювання, індукує ферменти печінки, виводиться з організму нирками [88].

Лікарську субстанцію діазолін як сировину використовують у виробництві такі підприємства, як ПАТ “Фармак” м. Київ (драже і таблетки “Діазолін®”), ПАТ фармацевтична фірма “Дарниця” м. Київ (таблетки “Діазолін”) та ТОВ “Дослідний завод "ГНЦЛС” м. Харків (гранули для виготовлення суспензії).

ПАТ “Фармак” розроблено регламент, згідно з яким, драже і таблетки “Діазолін®” виготовляють за технологією, що складається з 4 стадій. Процес отримання лікарського засобу у вигляді драже передбачає приготування цукрового сиропу, приготування глянсувальної маси, одержання цукрової крупки, одержання готової лікарської форми з наступним його пакуванням. Процес виготовлення таблеток включає в себе підготовку сировини, приготування таблетмаси, таблетування, фасування й упакування готової лікарської форми.

Ознайомлення з технологічним процесом виробництва показує на можливість забруднення повітряного середовища аерозолем діазоліну на всіх етапах виробництва. Причинами забруднення можуть стати порушення герметичності обладнення і технологічні відбори проб. Проведені гігієнічні дослідження дозволили встановити, що найбільш небезпечні умови праці спостерігаються у виробничо-професійної групи дражувальників, апаратників на стадіях фільтрації та сушіння, машиністів-таблетувальників. Визначені концентрації діазоліну у виробничому середовищі знаходилися на рівні 0,5 мг/м3 - 2,0 мг/м3. Можливе потрапляння препарату на шкіру, слизові оболонки і забруднення спецодягу працюючих. Окрім того через систему вентиляції діазолін потрапляє у атмосферне повітря, а при проведенні регламентних робіт зі стічними водами підприємства надходить в каналізаційну мережу і відповідно може попадати у відкриті водойми.

Виробництво лікарських засобів, в тому числі і діазоліну, регулюється Українським законодавством [153] і може бути розпочато лише після токсиколого-гігієнічної оцінки і обґрунтування ГДК або ОБРВ в об’єктах навколишнього середовища [154, 155].

Гранично допустима концентрація шкідливих речовин у повітрі робочої зони – це концентрація, яка при щоденній (крім вихідних днів) роботі упродовж 8 годин або іншій тривалості, але не більше 41 години на тиждень за час всього робочого стажу не може викликати захворювань або відхилень у стані здоров'я, що виявляються сучасними методами досліджень у процесі роботи або у віддалені періоди життя теперішнього і наступних поколінь [156].

Гранично допустима концентрація шкідливої хімічної речовини в атмосферному повітрі населених місць - це максимальна концентрація, при дії якої упродовж усього життя людини не виникає прямого або опосередкованого несприятливого впливу на теперішнє і майбутнє покоління, не знижується працездатність людини, не погіршується її самопочуття та санітарно-побутові умови життя [157].

ГДК в воді водних об'єктів господарсько-питного та культурного водокористування - максимальна концентрація речовини у воді, в якій речовина при надходженні в організм протягом всього життя не здійснює прямого або опосередкованого впливу на здоров'я населення в цьому і наступних поколіннях, а також не погіршує гігієнічні умови водокористування [158].

Орієнтовно безпечний рівень впливу шкідливої хімічної речовини – це тимчасовий гігієнічний норматив вмісту хімічної речовини в повітрі робочої зони, атмосферному повітрі. Обґрунтовується шляхом розрахунку за параметрами токсикометрії і фізико-хімічних властивостей на основі кореляціонно-регресивної залежності або шляхом інтерполяцій і екстраполяцій у ряді близьких за будовою сполук [156].

Орієнтовно допустимий рівень (ОДР) у воді водних об'єктів господарсько-питного та культурного водокористування - тимчасовий гігієнічний норматив, що розробляється на основі розрахункових і експрес- експериментальних методів прогнозу токсичності і застосовуваний лише на стадії запобіжного санітарного нагляду за проектованими або будуються підприємствами, реконструйованими очисними спорудами [158].

Розробка ГДК, ОБРВ і ОДР хімічних речовин у повітрі робочої зони, атмосферному повітрі та воді водойм здійснюється як на етапі проектування фармпідприємств, так і на етапі лабораторного синтезу і наступного виробництва ЛЗ. При цьому характерною особливістю є невеликий об’єм випуску кінцевих продуктів, широкий асортимент лікарських препаратів і проміжних продуктів їх синтезу, переривчастий і багатостадійний характер технологічних процесів, періодичність річного виробництва, незначна тривалість в часі заключних стадій отримання ЛЗ і наявність спільних сумісних схем. Дія ЛЗ впливає на невелику кількість працюючих, при чому тривалість їх контакту з фармакологічними препаратами не перевищує 20-50 % часу робочої зміни, а загальна тривалість складає не більше 1-2 місяців на рік.

Тому в умовах малотонажного виробництва ЛЗ практично неможливо впровадити традиційні для хімічної промисловості профілактичні заходи (автоматизація, механізація, герметизація технологічних процесів і т. д.) [159].

Експериментальне вивчення токсичності і визначення параметрів токсикометрії, необхідних для обґрунтування ГДК або ОБРВ, здійснюється за загальноприйнятими умовами [160, 161] з урахуванням особливостей ЛЗ як специфічного хімічного фактора виробничого середовища.

Обґрунтування ОБРВ ЛЗ у атмосферному повітрі проводиться шляхом розрахунку з використанням рівнянь кореляційної регресії. Для цього необхідними є відомості про величини ЛД50, Limac, кумулятивні властивості, характер дії речовини на шкіру і слизові оболонки очей, сенсибілізуючу дію, значеннях терапевтичних доз.

Для визначення обсягу досліджень при обґрунтуванні ОДР ЛЗ у воді водойм необхідно отримати виробничу і фізико-хімічну характеристику сполуки. При цьому особлива увага приділяється показникам розчинності, стабільності і параметрам токсикометрії для прогнозу небезпеки речовини.

Присутність у повітрі робочої зони, атмосферному повітрі і стічних водах діазоліну обумовлює необхідність заходів щодо забезпечення контролю за виробничим та навколишнім середовищем. Діагностика професійних інтоксикацій і захворювань у осіб, що працюють у виробництві лікарських засобів, заходи попередження шкідливого впливу на людину виробничих факторів, відповідно до принципів, прийнятих в гігієні та медицині праці [162], можуть бути обґрунтовані тільки після проведення гігієнічних досліджень.

Саме тому, метою дисертаційної роботи була токсиколого-гігієнічна оцінка діазоліну та розробка гігієнічних регламентів у об’єктах довкілля за умов хіміко-фармацевтичного виробництва.

Для досягнення поставленої мети проведені токсикологічні експерименти на лабораторних тваринах.

Визначення кількісних показників взаємодії речовини і організму проводилось у кілька етапів за параметрами токсикометрії з встановленням порогових доз і концентрацій. Також визначали здатність препарату здійснювати шкідливу дію на організм в реальних умовах життєдіяльності [136].

Вивчення будь-якої шкідливої речовини передбачає встановлення кількісних показників токсичності і небезпеки, тобто показників токсикометрії.

Токсикометрія - це сукупність методів і прийомів досліджень для кількісної оцінки токсичності і небезпеки отрут.

Токсичний ефект при дії різних доз і концентрацій шкідливих речовин може проявитися у вигляді порушень окремих чи багатьох функцій або діяльності всього організму, аж до його загибелі.

Найбільш статистично значущі в характеристиці токсичності отрут за смертельним ефектом є середня смертельна доза при введенні в шлунок і середня смертельна концентрація в повітрі.

Середня смертельна доза при введенні в шлунок - доза речовини, що викликає загибель 50 % тварин при одноразовому введенні в шлунок, середня смертельна концентрація шкідливої речовини в повітрі - це концентрація речовини, що викликає загибель 50 % тварин при дво- та чотиригодинній інгаляційній дії.

Величини середніх смертельних доз і концентрацій, встановлені безпосередньо в експерименті, розглядаються як показники абсолютної токсичності шкідливих речовин.

Рівень токсичності речовини тим більший, чим менше є величина DL50 і CL50, тобто токсичність дорівнює 1 / DL50 або 1 / CL50 [136].

В умовах гострих та підгострих досліджень на лабораторних тваринах були встановлені параметри токсичності діазоліну та характер його біологічної дії на організм.

Дослідження гострої токсичності проводиться як мінімум на двох видах тварин (миші, щурі) при різних способах моделювання перорального, внутрішньочеревного і інгаляційного надходження.

За параметрами гострої пероральної токсичності діазолін належить до малонебезпечних речовин 4 класу небезпеки відповідно до ГОСТ 12.1.007-76.

Середньосмертельні дози діазолінудля лабораторних тварин, що визначені за методами Litchfielda & Wilcoxon та Van der Waerden знаходяться в діапазоні 9000–10000 мг/кг. При гострому пероральному отруєнні розвиваються симптоми ураження центральної нервової системи. Загибель білих мишей та білих щурів відбувається упродовж першої доби. Видова та статева чутливість тварин до дії діазоліну слабовиражена.

Після загибелі тварин проведено морфологічні дослідження внутрішніх органів тварин у відповідності до “Методические рекомендации к проведению морфологических исследований при экспериментальном обосновании гигиенических нормативов вредных веществ в воздухе рабочей зоны” [123].

При розтині тварин, що загинули, макроскопічно спостерігалось повнокрів'я внутрішніх органів. Гістологічно в головному мозку виявлено повнокрів'я судин оболонок, периваскулярний і перицелюлярний набряк; міокарді - виражене повнокрів'я, периваскулярний набряк; легенях - помірне повнокрів'я; печінці - вогнищева дистрофія; нирках - повнокрів'я, вогнищева і зерниста дистрофія.

При внутрішньочеревному введенні середньосмертельна доза діазоліну становить 326,0 мг/кг, що відповідає 4 класу небезпеки (речовина малотоксична) за класифікацією К.К. Сидорова [163].

У зв’язку з тим що вартість субстанції не дозволяла отримати необхідну масу речовини для дослідження в інгаляційних камерах, для моделювання інгаляційного впливу використовували інтраназальний спосіб введення діазоліну в організм лабораторних тварин. При цьому забезпечується точне дозування надходження препарату в організм. Для введення використовується суспензія ЛЗ в стерильному фізіологічному розчині [96].

Надходження діазоліну в організм білих щурів у максимальній концентрації (2000 мг/м3) викликало порушення частоти дихання і адинамію. При цьому загибелі тварин не зафіксовано упродовж всього періоду спостереження (14 діб). Розрахункова середньосмертельна концентрація діазоліну для білих щурів дорівнює 2818 мг/м3 (2 клас небезпеки) згідно з ГОСТ 12.1.007-76.

В оцінці промислових отрут важливим є не тільки встановлення верхніх показників токсичності, тобто смертельних концентрацій і доз, які є крайніми формами впливу речовини. Не менш важливе значення має встановлення порогу шкідливої дії.

Поріг шкідливої дії - це мінімальна концентрація (доза) речовини в об'єкті навколишнього середовища, при впливі якої в організмі (при конкретних умовах надходження речовин і стандартної статистичної групи тварин) виникають зміни, що виходять за межі фізіологічних пристосувальних реакцій або прихована (тимчасово компенсована) патолологія. Для цього зазвичай використовують інтегральні показники інтоксикації - масу тіла, температуру тіла та інші [136].

Для встановлення порога однократної дії (Limac) проводиться серія гострих дослідів на лабораторних тваринах із застосуванням різних доз і концентрацій досліджуваної речовини.

Результати досліджень по встановленню порогу однократної інгаляційної дії діазоліну засвідчили, що рівень гемоглобіну та загальна кількість еритроцитів під дією препарату зменшувались в усіх дослідних групах на першу і другу добу експерименту. Однак ці зміни не мали статистичної достовірності. Кількість лейкоцитів зростала і виходила статистично достовірно за межі рівня контрольної групи під дією діазоліну в концентрації 1050 мг/м3 на першу добу експерименту.

Змін біохімічних показників, зокрема, вмісту загального білка, сечовини, креатиніну, активності АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази у сироватці крові дослідних білих щурів, порівняно з контрольною групою, виявлено не було.

Під впливом максимального рівня діазоліну 1050 мг/м3 на другу добу експерименту зафіксовано збільшення циркулюючих імунних комплексів та зменшення  сумаційно-порогового показника.

В якості Limac при однократній інгаляційній дії речовини визначена максимальна досліджувана концентрація 1050,0 мг/м3.

Про реальну небезпеку розвитку гострого отруєння можна судити також за величиною зони гострої дії.

Зона гострої дії (Zac) - це відношення середньої концентрації (дози) до граничної концентрації (дози) при одноразовій дії. Вона є інтегральним показником компенсаторних властивостей організму, його здатності до знешкодження і виведення отрути з організму та компенсації пошкоджених функцій. Величина Zас обернено пропорційна небезпеці отрут при одноразовому впливі, тобто чим менше значення її кількісної характеристики, тим більша ймовірність розвитку гострого отруєння [136].

Zac діазоліну дорівнює 2,68 і дозволяє віднести його за цим показником до 1 класу небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007-76.

При виробництві ЛЗ існують технологічні операції, які характеризуються значним забрудненням шкіри тому оцінка місцево-подразнювальної та шкірно-резорбтивної дії є важливим етапом в токсикологічних дослідженнях і виконується шляхом вивчення місцевої подразнювальної дії на шкіру і слизові оболонки та резорбції їх через пошкоджені шкірні покриви. Наявність у досліджуваного ЛЗ місцевої подразнювальної і шкірно-резорбтивної дії позначається знаком «+» в інструкції до застосування, що означає: вимагається спеціальний захист шкіри і очей [96].

Діазолін не володіє резорбтивно-токсичним ефектом при попаданні на шкіру. Викликає слабовиражене подразнення слизових оболонок очей.

Реальну небезпеку розвитку хронічної інтоксикації характеризує ступінь кумулятивних властивостей препарату, тому при гігієнічній регламентації шкідливих речовин у повітрі робочої зони необхідним є проведення підгострих експериментів, що дозволяє не тільки встановити кількісні параметри кумуляції, а й скласти уявлення про органи та системи, що уражаються, а також про глибину цих уражень [136].

Особливу увагу звертають на визначення кумулятивних властивостей. Найбільш поширені методи оцінки кумуляції в токсиколого-гігієнічних дослідженнях базуються на визначенні усередненої сумарної кількості речовини (мг/кг), яку отримали тварини в підгострому досліді до появи визначеного ефекту (найчастіше - летального кінця), і співставленні цієї кількості з однократною середньою ефективною дозою (зокрема – ЛД50). При цьому розраховують коефіцієнт кумуляції Кcum [96].

У дисертаційній роботі для оцінки кумулятивних властивостей діазоліну був використаний метод Lima at all. [106]. При цьому експеримент передбачає поетапне (в 1,5 рази) підвищення дози речовини, що вводиться через кожні 4 дні. Режим затруєння тварин сприяє виявленню адаптивних властивостей організму до дії ксенобіотика. Звідси одна з поширених назв цього методу – “тест субхронічної токсичності”. Розрахунок Кcum проводять за тим же рівнянням, що і в методі Ю.С. Кагана і В.В. Станкевича. Одна з переваг даного методу полягає в майже постійній і не надто великій (24 ± 4 діб) тривалості експерименту.

За результатами “тесту субхронічної токсичності” пероральний вплив діазоліну характеризується симптомами ураження центральної нервової системи та проявами сильної кумулятивної дії (Кcum = 0,96).

Шкідливі хімічні речовини можуть спричиняти на організм віддалені наслідки впливу, які проявляються не в період дії і не відразу по його завершенню, а в періоди життя, відокремлені від періоду хімічної експозиції багатьма роками і навіть десятиліттями. Прояв цих ефектів є можливим і в наступних поколіннях.

Під терміном “віддалений ефект” слід розуміти розвиток патологічних процесів і станів у індивідуумів, що контактують з хімічними забрудненнями довкілля у віддалені терміни їхнього життя, а також впродовж життя декількох поколінь їх потомства [136]. До цих ефектів відносять гонадотоксичну і ембріотоксичну дію.

Вивчення віддалених ефектів при обґрунтуванні санітарних стандартів необхідно для підвищення їх надійності.

При вивченні гонадотоксичної і ембріотоксичної дії в промисловій токсикології використовуються методи, викладені в методичних рекомендаціях “Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования” [120].

Для виявлення гонадотоксичної дії при гігієнічній регламентації шкідливих хімічних сполук використовують такі методи: функціональний (тривалість або швидкість руху сперматозоїдів, витривалість їх по відношенню до рН середовища, осмотична стійкість, кількість патологічних форм); морфологічні (онтогенетичний аналіз стадії розвитку сперматогенного епітелію, контроль за величиною і вагою гонад).

За результатами проведених експериментів було встановлено, що діазолін в дозах 1/100 DL50 (100 мг/кг) і 1/500 DL50  (20 мг/кг) не змінює розміру та масу сім’яників білих щурів. Вагові коефіцієнти сім'яників також істотно не відрізнялися від контролю.

Вплив діазоліну в дозі 1/100 DL50 (100 мг/кг) призводив до збільшення загальної кількості сперматозоїдів з одночасним зниженням їх рухливості, окисно-відновних процесів, осмотичної та кислотної резистентності. Однак ці зміни не досягали статистичної достовірності. Кількість мертвих сперматозоїдів і їх патологічних форм та показники сім’яутворюючого епітелію знаходилась у межах контролю.

При затруєнні тварин діазоліном у дозі 1/500 DL50  (20 мг/кг) зміни були близькі до показників контрольної групи.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що діазолін в дозах 20 мг/кг і 100 мг/кг не проявляє гонадотоксичної дії.

Вплив шкідливих хімічних сполук під час вагітності може викликати у розвитку плоду різні порушення, які умовно можна віднести до наступних типів ефектів: тератогенного (гістоморфологічні дефекти розвитку, біохімічні, функціональні та інші порушення функції органів і систем, які проявляються в постнатальному розвитку); ембріотоксичного (внутрішньоутробна загибель, зниження маси і розмірів ембріонів при нормальному диференціюванні тканин).

При вивченні ембріотоксичної дії хімічних речовин в експерименті велике значення має тривалість впливу отрути, терміну вагітності, на які припадає ця дія, рівні впливу, вид експериментальних тварин. Для промислової токсикології, враховуючи реальні умови впливу отрути на виробництві, практичний інтерес представляє чутливість ембріону упродовж всієї вагітності і в окремі дні вагітності (в основному в період органогенезу).

Чутливість ембріону особливо велика на ранніх стадіях його розвитку. Хімічні речовини в дозах, що не викликають токсичного ефекту у матері, можуть проявляти ушкоджуючу дію на плід. Існують два критичні періоди розвитку ембріона з дуже високою чутливістю до зовнішніх впливів - період попередній імплантації і період плацентації [121].

Проведеними дослідженнями встановлено, що внутрішньошлункове введення діазоліну упродовж 20 днів в дозах 1/250 DL50 (40,0 мг/кг) та 1/1250 DL50 (8,0 мг/кг) вагітним самкам не викликало їх загибелі та розвитку клінічної картини отруєння. Введення препарату не позначалось на тривалості вагітності самок, не було зафіксовано абортів та передчасних пологів. Маса тіла тварин зростала впродовж експерименту.

Огляд плодів самок, які отримували діазолін під час усієї вагітності, засвідчив, що в усіх ембріонів контрольної та дослідних груп були відсутні вади розвитку. У дослідних тварин маса плодів та їх краніо-каудальний розмір, маса плацент та їх діаметр не мали достовірних відмінностей від показників контрольних тварин.

Показники вагітних самок щурів дослідних груп відповідали аналогічним показникам тварин контрольної групи. Показники доімплатаційної, післяімплатаційної та загальної ембріональної летальності в дослідних групах не мали вірогідних відмінностей від показників у контролі.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що діазолін в дозах 8 мг/кг та 40 мг/кг маси тіла у вагітних самиць-щурів не викликає ембріотоксичного ефекту.

Імунологічні порушення лежать в основі патогенезу ряду захворювань, сприяють зниженню резистентності організму до інфекцій, зростанню алергічних, автоімунних та онкологічних захворювань [164**,** 165**,** 166]. Відомо, що імунна система є однією з найчутливіших і швидкореагуючих на впливи екзогенних та ендогенних факторів, несприятлива дія яких може пригнічувати чи стимулювати імунну відповідь [167**,** 168**,** 169]. Тому, визначення імунотоксичності на основі ряду імунологічних тестів, є обов'язковою складовою програми регламентації шкідливих хімічних речовин.

Дослідження імунотоксичної дії діазоліну здійснювали за принципом етапності. На першому етапі проводили сенсибілізацію мурчаків та визначали ступінь сенсибілізації, на другому - визначали стан неспецифічної реактивності організму, на третьому та четвертому етапах визначали стан клітинної та гуморальної ланок імунітету.

При внутрішньошкірній сенсибілізації мурчаків на місці введення діазоліну у розведеннях 1:100, 1:1000, 1:10000 через 20-30 хв., 4-5 год та 24 год. проявів шкірної реакції у тварин не виявлено.

Проте, клітинна реакція кров'яного гемостазу на дію діазоліну відповіла кількісним зміщенням чисельності окремих пулів лейкоцитарних клітин в ту чи іншу сторону від нормативних значень. Аналіз результатів лейкограми крові експериментальної групи тварин виявив зростання в 1,3 рази (на 25,3 %) популяції загальних лейкоцитів (t=2,50, р<0,05) з перерозподілом у ній лейкоцитарних фракцій у бік зростання в 1,4 рази кількості еозинофільних (на 28,4 %, t=2,80, р < 0,05) і лімфоцитарних (на 28,0 %, t=2,50, р<0,05) клітин, зменшення в 1,2 рази нейтрофільних лейкоцитів (на 18,9 %, t =3,33, р<0,01).

Отримані результати вказали на те, що діазолін в організмі тварин здатний кон'югувати з білковими, глікопротеїдними чи ліпопротеїдними структурами сироватки крові і тканин, утворюючи антигенні комплекси. Наявність нетипових для організму біоструктур підтверджено достовірним зростанням у крові тварин пулу еозинофілів, які відповідальні за регуляцію судинно-інфільтративної фази запалення, контролюють виділення гістаміну та інших біологічноактивних речовин базофілами та опасистими клітинами (тканинними базофілами), приймають участь у розвитку патофізіологічних механізмів алергічних захворювань, а також забезпечують регуляцію клітино-опосередкованих імунних реакцій, які у подальшому визначатимуть «поведінкову реакцію» клітинної відповіді адаптивного імунітету.

Підтвердженням вищепереліченого є зростання у 1,3 рази у сенсибілізованих тварин, у порівнянні до контролю, абсолютної кількості Т- лімфоцитів СД3 (t = 3,80, р < 0,01). Збільшення Т-лімфоцитарного спектру клітин відбувається внаслідок зростання у 1,2 рази пулів Т-хелперних СД4 лімфоцитів(t = 2,35, р<0,05) і у 1,5 разів Т-супресорних СД8 клітин(t = 8,40, р < 0,001). У даному випадку імунорегуляторна стадія імунної відповіді протікає з випередженим зростанням чисельності пулу СД8 і, відповідно, зниженням в 1,3 рази величини імунорегуляторного індексу СД4/СД8 (t = 2,70, р < 0,05), що вказує на імуносупресивний напрямок імунних процесів направлених на пригнічення механізмів розвитку алергічних реакцій. При нетривалій дії зовнішнього подразника такий напрямок імунної відповіді носить адаптивний характер.

Не зважаючи на те, що діазолін є представником антигістамінних препаратів першої генерації, він здатен ініціювати запуск механізмів алергічного спрямування. Зростання 1,3 рази пулу NK-клітин (СD16 t = 3,20, р < 0,02) вказує на присутність в крові дослідних тварин хімічномодифікованих біокомплексів. Саме СD16 разом із незначною кількістю популяції CD8, які не вимагають презентації антигена молекул головного комплексу гістосумісності, здатні виявляти такий антигенний комплекс та формувати ранню фазу імунної відповіді. Достовірне зростання пулів СD8, (р<0,001), СD16 р<0,02) на тлі збільшеного СD4 (р<0,05) вказує на алергічну налаштованість організму з можливим розвитком аутоалергічних реакцій за умов подальшого постійного впливу діазоліну на організм.

За результатами наших досліджень, ті зміни які констатували у сенсибілізованих тварин у клітинній структурі крові, доводять, що діазолін утворює з біоструктурами організму діазолінозв'язані біомолекулярні комплекси, що здатні ініціювати в системі кров'яного гомеостазу зростання пулу клітин пам'яті. Очевидно, саме з цими процесами пов'язано збільшення в крові дослідної групи тварин на 20,8 % пулу В-лімфоцитів СD22 (t = 3,33, р < 0,02).

Дослідження показали, що у випадку непостійної вибіркової періодичності впливу діазоліну на організм, процеси антитілотворення активуються слабо, або ж спрацьовують адаптивно-компенсаторні механізми імунного комплексотворення - циркулюючі імунні комплекси, направлені на зв'язування та елімінацію антигена, які утримують рівень імуноглобулінів у довірчому інтервалі норми. Вірогіднішим є останнє припущення, підтверджене зростанням в крові дослідних тварин у 1,4 рази циркулюючих імунних комплексів (t = 3,66, р<0,02).

Отже, діазолін за хімічною структурою молекули та дією на систему імунітету є гаптеном, здатним ініціювати патофізіологічні механізми запуску алергічних реакцій. Зростання в крові експериментальних тварин пулів еозинофільних лейкоцитів (р < 0,05), СD4 (р < 0,05), СD8 (р < 0,001), СD16 (р < 0,02) та ЦІК (р<0,01) можна розцінювати як реакцію організму на наявність діазолінозв'язаних біомолекулярних структур, які в організмі набувають властивостей алергену.

Імунорегуляторна стадія імунної відповіді при сенсибілізації мурчаків діазоліном протікає з випередженням імуносупресивного напрямку імунних процесів (зростання СD4 на 14,7 %, а СD8 на 33,9 %) направлених на гальмування механізмів розвитку алергічних реакцій й носить адаптивний характер.

Таким чином, отримані результати імунологічних досліджень вказують, що імуносенсибілізація тварин діазоліном обумовлює порушення в системі неспецифічного клітинного захисту та системній імунній відповіді, які є фоновими для формування алергічних захворювань.

Діазолін – один з небагатьох антигістамінних препаратів, який застосовується у педіатричній лікарській практиці майже з народження дитини, що є актуальним в умовах сьогодення, адже алергічні захворювання набувають статусу пандемії не тільки серед дорослого населення. За даними МОЗ України кількість випадків алергопатології значно зросла серед дитячого населення. У 2013 році на 1000 дітей припадало 5,5 хворих на бронхіальну астму [170]. Як наслідок поширення попиту на антигістамінні препарати саме в педіатричній практиці.

Серед антигістамінних препаратів І покоління в педіатрії та неонтології, окрім діазоліну (мебгідроліну), використовуються наступні препарати: дифенгідрамін (димедрол – з 2-х місяців), хлорпірамін (супрастин – до 1 року) [171]. АГП ІІ покоління найчастіше представлені “золотим стандартом” - лоратадином. Серед зарекомендованих препаратів ІІІ покоління у педіатричній практиці слід зазначити цетиризин та дезлоратадин [172, 173].

Порівняння параметрів небезпеки АГП різних поколінь, що використовуються у педіатричній практиці, у розрізі клінічної практики та гігієнічного нормування вважається доцільним.

Літературні та експериментальні дані свідчать, що ентеральна токсичність діазоліну на два рівня нижча у порівнянні з дифенгідраміном, приблизно на порядок нижче за токсичність супрастину, лоратадину, цетиризну та дезлоратадину. Це єдиний антигістамінний препарат 4 класу небезпеки за показниками пероральної токсичності, а саме цей шлях надходження притаманний більшості протиалергічних лікарських засобів. При тому, діазолін серед зазначених препаратів має найвище значення НДТД. Реальникй ризик виникнення гострого перорального отруєння існує для димедролу та супрастину, малоймовірний для дезлоратадину та відсутній для лоратадину, діазоліну, цетиризину [174] (таблиця 6.1.).

*Таблиця 6.1*

**Показники пероральної токсичності, клас небезпеки та НДТД АГП, що використовуються у педіатричній практиці**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Назва препарату або діючої речовини | DL50 | Клас небезпеки | НДТД |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Діазолін (мебгідромін) | 9000 мг/кг (миші – самиці)  10000 мг/кг (миші –самці)  > 5000 мг/кг (щури-самиці) | 4 | 600 мг  (10 мг/кг) |
| Димедрол (дифенгідрамін) | 125 мг/кг (миші-самиці)  265 мг/кг (миші-самці)  400 мг/кг (щури-самиці) | 2 | 150 мг  (10 мг/кг) |
| Хлорпірамін (супрастин) | 354 мг/кг (миші)  920 мг/кг(щури) | 3 | 100 мг  (1,7 мг/кг) |
| Лоратадин | 1980 мг/кг (миші – самиці)  2375 мг/кг (миші-самці)  6150 мг/кг (щури-самиці) | 3 | 10 мг  (0,17 мг/кг) |
| Цетиризин | 703 мг/кг (щури-самці)  865 мг/кг (щури-самиці) | 3 | 10 мг  (0,17 мг/кг) |
| Дезлоратадин | 400 мг/кг (миші-самиці)  255 мг/кг (миші-самці)  625 (щури-самиці) | 3 | 5 мг (0,08 мг/кг) |

З точки зору клінічного застосування діазолін – один з найнебезпечніших препаратів. Однак при виробництві, де шлях надходження препарату переважно інгаляційний, картина змінюється на протилежну. (таблиця 6.2)

*Таблиця 6.2*

**Показники гострої інгаляційної токсичності димедролу, діазоліну, лоратадину та дезлоратадину**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва препарату | CL50 | Limас | Zас | Клас небезпеки |
| Димедрол | 1050 мг/м3 | 30 мг/м3 | 35 | 3 |
| Діазолін | 2818 мг/м3 | 1050 мг/м3 | 2,68 | 1 |
| Продовження табл. 6.2 | | | | |
| Лоратадин | 1699,9 мг/м3 | 900 мг/м3 | 1,88 | 1 |
| Дезлоратадин | 1039 мг/м3 | 150 мг/м3 | 6,92 | 2 |

При інгаляційному шляху надходження діазолін, лоратадин та дезлоратадин, на відміну від димедролу, не викликають розвитку клінічної картини гострого інгаляційного отруєння, однак спричиняють зміну показників гомеостазу білих щурів [174]. За показниками середьосмертельної концентрації та порогового рівня гострої інгаляційної дії серед всіх досліджених препаратів діазолін має найнижчу токсичність. Величина середньосмертельної концентрації діазоліна приблизно у 2,7 разів вища за димедрол та дезлоратадин, та у 1,66 разів вища за лоратадин. Поріг гострої інгаляційної дії приблизно на порядок вищий за поріг дезлоратадину, на два порядки – за димедрол та співставимий з лоратадином. Однак за зоною гострої інгаляційної дії, яка свідчить про можливість розвитку гострого інгаляційного отруєння, діазолін з лоратадином належать до речовин першого класу небезпеки відповідно до ГОСТ 12.1.007-76. Для дезлоратадину цей показник відповідає 2 класу небезпеки, а для димедролу – 3 класу небезпеки.

Ще одна важлива характеристика речовини у виробництві – дія на шкірні покриви та слизові оболонки (таблиця 6.3.).

*Таблиця 6.3.*

**Шкірно-резорбтивний ефект та подразнююча дія АГП** **І-ІІІ поколінь, що використовуються у педіатричній практиці**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Назва препарату | Шкірно-резорбтивний ефект | Місцево-подразнювальний ефект на шкіру | Місцево-подразнювальний ефект на слизові оболонки |
| Діазолін | - | - | 2 бали |
| Димедрол | + | + | 2 бали |
| Лоратадин | - | - | 4 бали |
| Продовження табл. 6.3 | | | |
| Дезлоратадин |  |  | 10 балів |
| Цетиризин |  |  | 0 балів |

Так, димедрол володіє шкірно-резорбтивною дією та може викликати інтоксикацію при забрудненні шкірних покривів робітників. Шкірно-резорбтивний ефект відсутній у діазоліну, лоратадину та дезлоратадину. Препарати спричиняють подразнювальний ефект при потраплянні на слизові оболонки (за класифікацією A.Majda, K.Chrusaielska): димедрол (2 бали), діазолін (2 бали), лоратадин (4 бали), дезлоратадин (10 балів). Цетиризин не подразнює слизові оболонки очей [174].

Парадоксальним ефектом при застосуванні антигістамінних препаратів є виникнення побічної дії у вигляді алергічних реакцій.

Димедрол і діазолін викликають суттєві зміни в показниках клітинного імунітету і можуть бути віднесені до речовин, що володіють імунотоксинчим ефектом. Навпаки, лоратадин та дезлоратадин не впливають на клітинну і гуморальну складову природного та набутого імунітету [174].

За показниками віддалених ефектів дії діазолін безпечний препарат. Він не впливає на репродуктивну функцію. Лоратадин та дезлоратадин змінюють показники сперматогенезу та проявляють цитотоксичний вплив. Димедрол володіє ембріотоксичною дією, яка характеризується збільшенням доімплантаційної та загальної ембріональної летальності. Віддалених ефектів впливу на організм цетиризина не зафіксовано, однак літературні дані свідчать про можливість гепатотоксичного ефекту препарату [174, 175] (таблиця 6.4).

*Таблиця 6.4.*

**Віддалені ефекти АГП**, **що застосовуються у педіатричній практиці**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва препарату або діючої речовини | Гонадотоксичний ефект | Ембріотоксичний ефект |
| Діазолін (мебгідрамін) | - | - |
| Димедрол (дифенгідрамін) | - | + |
| Лоратадин | + | - |
| Цетиризин | - | - |
| Дезлоратадин | + | - |

Отримані експериментальні дані дозволили, відповідно до методичних вказівок “Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць” [96], розрахувати гігієнічний регламент допустимого вмісту діазоліну у повітрі робочої зони. Для розрахунку величини ОБРВ використані формули кореляційної регресії № , 21, 22, 24:

lg ОБРВ = 0,77 lg МДТД + 0,34(21) [96]

ОБРВ = 0,37 мг/м3

lg ОБРВ = 0,8 lg НДТД– 0,068 (22) [96]

ОБРВ = 0,57 мг/м3

lg ОБРВ = 0,49lg МТДТ+0,42 lg Limac +

0,11 lg LD50 – 0,75 (24) [96]

ОБРВ= 2,9 мг/м3

Середня розрахункова величина ОБРВ діазоліну у повітрі робочої зони складає 0,85 мг/м3.

Враховуючи сильно виражені кумулятивні властивості, високу небезпеку за зоною гострої інгаляційної дії, порівняльну оцінку параметрів токсичності, а також приймаючи до уваги затверджені у законодавчому порядку ОБРВ димедролу (0,2 мг/м3), лоратадину (0,05 мг/м3), дезлоратадину (0,1 мг/м3), гігієнічний норматив вмісту діазоліну у повітрі робочої зони запропоновано на рівні 1,0 мг/м3, аерозоль.

Розрахунок ОБРВ діазоліну в атмосферному повітрі проведений у відповідності з рекомендованими МОЗ України методичними вказівками [176].

Розрахункові величини становили: за формулою №32 (з врахуванням відносної молекулярної маси від 32 до 600) – 0,35 мг/м3; за формулами №62 та №63 (з врахуванням МДТД та НДТД) – 0,11 мг/м3 та 0,27 мг/м3; за формулами №28, №72, №73 (з врахуванням значень параметрів токсикометрії – DL50, Limac, Кк) – від 0,13 мг/м3 до 0,35 мг/м3.

Середньогеометрична, середньозважена розрахункова величина ОБРВ діазоліну в атмосферному повітрі населених місць дорівнює 0,087 мг/м3. Як тимчасовий норматив речовини в атмосферному повітрі рекомендовано орієнтовно безпечний рівень впливу 0,1 мг/м3.

При обґрунтуванні гігієнічного регламенту у воді відкритих водойм приймали до уваги фізико-хімічні властивості речовини і керувались вимогами методичних вказівок [97], згідно з вимогами яких нерозчинні сполуки 4 класу токсичності, які не викликають змін в організмі в дозах > 500 мг/кг, нормуються як завислі речовини на рівні 0,25 мг/дм3.

За фізико-хімічними властивостями, які наведено у розділі 2, діазолін практично нерозчинна у воді сполука. Також він не розчиняється і у більшості інших розчинників [2]. За параметрами токсикометрії препарат належить до 4 класу токсичності, а дози, що викликають зміни в організмі тварин перевищують 5000 мг/кг [141]. Тому в якості орієнтовно допустимого рівня діазоліну у воді рекомендується величина 0,25 мг/дм3.

За правилами виробничої санітарії на всіх підприємствах повинен проводитися систематичний контроль повітряного середовища.

Вміст шкідливих речовин в повітрі робочої зони не повинен перевищувати гранично допустимих концентрацій, які використовуються при проектуванні виробничих будівель, технологічних процесів, обладнання, вентиляції, для контролю за якістю виробничого середовища і профілактики несприятливого впливу на здоров'я працюючих.

Відбір проб проводиться в зоні дихання при характерних виробничих умовах.

Для кожної виробничої ділянки визначаються речовини, які можуть виділятися в повітря робочої зони. При наявності в повітрі декількох шкідливих речовин контроль повітряного середовища допускається проводити по найбільш небезпечним і характерним речовин.

Періодичність контролю встановлюється в залежності від класу небезпеки шкідливої речовини: для 1 класу - не рідше 1 разу на 10 днів, 2 класу - не рідше 1 разу на місяць, 3 і 4 класів - не рідше 1 разу в квартал.

Забір повітряного середовища для контролю слід здійснювати безпосередньо на робочих місцях різними методами: лабораторними експресними, індикаторними або автоматичними. Лабораторні методи визначення шкідливих речовин в повітрі включають в себе відбір проб повітря в намічених місцях і наступний їх аналіз за допомогою розроблених методик кількісного аналізу, які дозволяють з достатньою точністю безпосередньо в обстежуваному приміщенні визначити їх концентрацію.

Методики вимірювання концентрацій шкідливих речовин в повітрі робочої зони, що розробляються, повинні бути затверджені Міністерством охорони здоров'я і метрологічно атестовані [129].

Розроблена (у співавторстві з с.н.с., к.б.н. Т.С. Зазуляк) фотометрична методика вимірювання концентрації діазоліну у повітрі робочої зони фармпідприємств забезпечує вимірювання масової концентрації діазоліну в діапазоні від 0,5 мг/м3 до 2,0 мг/м3 з відносною сумарною похибкою вимірювання δ (аналог розширеної невизначеності вимірювань), що не перевищує ± 25 % за довірчої ймовірності *Р* = 0,95. Межа кількісного визначення діазоліну в аналізованому об’ємі проби – 60 мкг. Значення нормативів оперативного контролю при *Р* = 0,95 та *n* = 2 (паралельні проби): збіжність (*d*) – 6,0 %, відтворюваність (*D*) – 16,0 %, похибка вимірювання (*К*) – 18,0 %. Методика селективна в присутності інших компонентів препаративної форми діазоліну і за своїми характеристиками є придатною для здійснення контролю рівнів концентрацій діазоліну у повітрі робочої зони фармпідприємств на рівні гігієнічного нормативу.

Методика вимірювання масової концентрації діазоліну в повітрі робочої зони пройшла метрологічну атестацію Державним підприємством “Всеукраїнський державний науково-виробничий центр стандартизації, метрології, сертифікації та захисту прав споживачів (Укрметртестстандарт)” Мінекономрозвитку України (Свідоцтво Укрметртестстандарту про атестацію МВВ № 081/12-0895-14 від 19.03.2014 р.) та погоджена МОЗ України.

Аналіз та узагальнення даних, що характеризують потенційну небезпеку впливу діазоліну в умовах виробництва, результати досліджень стосовно характеру біологічної дії, віддалених ефектів впливу, можливості розвитку сенсибілізації, рівнів шуму та забруднення повітря робочої зони в умовах виробництва, дозволили аргументувати комплекс профілактичних заходів:

1. При роботі з діазоліном необхідно використовувати спецодяг, захисні рукавиці, протиаерозольні респіратори ШБ-1 "Лепесток".

2. Працівники повинні бути забезпечені лікувально-профілактичним харчуванням у вигляді лікувально-профілактичного раціону №5 (гарячі сніданки до початку роботи).

3. При організації лікувально-профілактичного харчування необхідно дотримуватися наступних принципів:

а) лікувально-профілактичне харчування повинно бути забезпечене необхідною кількістю овочів та фруктів, які є джерелом багатьох водорозчинних вітамінів, каротину, мікроелементів, пектинових речовин та клітковини;

б) обмежувати вживання солі, оскільки вона сприяє затриманню рідини в організмі;

в) раціони лікувально-профілактичного харчування повинні спричиняти детоксикуючу дію на організм в умовах наявності діазоліну. Енергетична цінність раціонів не повинна перевищувати 45 % добової потреби в енергії. Вміст білків у середньому повинен становити 60 г, жирів - 50 г, вуглеводів - 160 г, енергетична цінність **–** 1400 ккал (5,86 МДж).

4. У таблетковому цеху виробництва діазоліну стіни приміщення, де розташовані таблетпреси, необхідно обладнати шумопоглинаючими панелями.

5. Періодичні медичні огляди необхідно проводити 1 раз на рік із залученням алерголога.

6. Рівні офіційних державних гігієнічних нормативів діазоліну у об’єктах довкілля становлять:

- орієнтовно безпечний рівень впливу діазоліну у повітрі робочої зони виробничих приміщень – 1,0 мг/м3, аерозоль (Затверджено в.о. головного державного санітарного лікаря України С.В. Протас від 03.03.2015 р.);

- орієнтовно безпечний рівень впливу діазоліну у атмосферному повітрі 0,1 мг/м3 (рекомендований);

- орієнтовний допустимий рівень діазоліну у воді відкритих водойм 0,25 мг/дм3 (рекомендований).

7. Визначення концентрацій діазоліну у повітрі необхідно проводити за допомогою “Методики виконання вимірювань масової концентрації 9- бензил-2-метил-2,3,4,9-тетрагідро-1H-В-карболіну (діазоліну) фотометричним методом” МВВ №081/12-0895-14.

ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні на основі узагальнення результатів проведених токсикологічних, гігієнічних, біохімічних, гістологічних і імунологічних досліджень вирішено актуальне наукове завдання, щодо розробки та наукового обґрунтовання комплексу профілактичних заходів із оздоровлення умов праці та захисту навколишнього середовища під час застосування лікарської субстанції діазолін у виробництві антигістамінних препаратів І покоління.

1. З'ясовано, що процес виробництва діазоліну характеризується на стадіях зважування, просіювання, подрібнення, вологої грануляції, одержання цукрової крупки, приготування таблетмаси, таблетування, фасування й упакування готової лікарської форми надходженням препарату в повітря робочої зони у концентраціях від 0,5 мг/м3 до 2,0 мг/м3, потраплянням його на шкіру, слизові оболонки і забрудненням спецодягу працюючих. Робота дражувальних котлів і таблетпресів супроводжується інтенсивним шумом в межах 81-85 дБА.

2. Встановлено, що параметри гострої пероральної токсичності діазоліну (DL50) становлять 10000 мг/кг і 9000 мг/кг для щурів і мишей відповідно (4 клас небезпеки згідно з ГОСТ 12.1.007-76). При гострому пероральному отруєнні діазолін уражає центральну нервову систему. Смертельні концентрації при інгаляційному впливі не досягнуті. Поріг гострої інгаляційної дії знаходиться на рівні 1050 мг/м3 за змінами циркулюючих імунних комплексів та сумаційно-порогового показника. Резорбтивно-токсичним ефектом при потраплянні на шкіру діазолін не володіє. При нанесенні на слизові оболонки здійснює виражену слабку пошкоджуючу дію. Підгострий пероральний вплив діазоліну характеризується симптомами ураження центральної нервової системи з проявами сильної кумулятивної дії (Кcum = 0,96).

3. Констатовано, що при внутрішньошкірній сенсибілізації діазолін викликає зміну клітинної складової природного та адаптивного імунітету зі збільшення у крові числа загальних лейкоцитів та перерозподілом лейкоцитарних фракцій у бік зростання пулу еозинофільних лейкоцитів у 1,4 рази, лімфоцитів у 1,3 рази, зменшення в 1,2 рази кількості нейтрофілів, зростання у 1,3 рази природніх кілерів СD16. зростання питомої частки лімфоцитарного пулу клітин, внаслідок збільшення Т-клітинної СД3 та В-клітинної СD22 фракції лімфоцитів. Зафіксовано субпопуляційні зміщення пулів в загальній популяції СД3 із зростанням у 1,2 рази СD4 та 1,5 разів СD8 і зниженням у 1,3 рази імунорегуляторного індексу СD4/СD8. Імунорегуляторна стадія імунної відповіді при сенсибілізації мурчаків діазоліном перебігає з випередженням імуносупресивного напрямку імунних процесів спрямованих на гальмування механізмів розвитку алергічних реакцій й носить адаптивний характер.

4. Доведено, що діазолін не створює реальної небезпеки розвитку гонадотоксичного та ембріотоксичного ефектів. Вплив препарату в дозах 100 мг/кг (1/100 DL50) і 20 мг/кг (1/500 DL50) не змінює розмір та масу сім’яників білих щурів, не впливає на рухливість сперматозоїдів, окисно-відновні процеси, їх осмотичну та кислотну резистентність.

5. З’ясовано, що рівні впливу діазоліну 40,0 мг/кг (1/250 DL50) та 8,0 мг/кг (1/1250 DL50) не змінюють показники доімплатаційної, післяімплатаційної та загальної ембріональної летальності. Такі показники ембріогенезу, як кількість жовтих тіл, кількість місць імплантації та передімплатаційна загибель суттєво не відрізнялися в контрольній та експериментальних групах.

6. Встановлено і затверджено МОЗ України орієнтовний безпечний рівень впливу діазоліну у повітрі робочої зони виробничих приміщень – 1,0 мг/м3, аерозоль. Розроблена і атестована Укрметртестстандартом фотометрична методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі, а також комплекс заходів, який забезпечує оздоровлення умов праці та профілактику негативного впливу на організм працюючих. Орієнтовно безпечний рівень діазоліну у атмосферному повітрі рекомендовано на рівні 0,1 мг/м3. Орієнтовний допустимий рівень діазоліну у воді відкритих водойм становить 0,25 мг/дм3.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алергічні ураження шкіри у практиці сімейного лікаря: навчальний посібник для лікарів, клінічних ординаторів, лікарів загальної (сімейної) практики, лікарів терапевтичного спрямування, а також для лікарів-інтернів за фахом «Загальна практика-сімейна медицина» та «Внутрішні хвороби» / В. І. Кривенко, І. В. Непрядкіна, М. Ю. Колесник [та ін.]. – 2-ге вид., доп. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. – 127 с.

2. Загородній С.Л. Розробка спектрофотометричної методики мебгідроліну в лікарських формах / С.Л. Загородній, С.О Васюк // Фармацевтичнінауки. - 2015. - №12(4). - С. 33-38.

3. Горячкина Л.А. Антигистаминные препараты в лечение аллергических заболеваний / Л.А. Горячкина, Е.В.Передкова // Доктор Ру. - 2008. - № 2. - С. 38-42.

4. Кондюрина Е.Г. Антигистаминные препараты в педиатрической практике / Е.Г. Кондюрина, Т.Н. Елкина, О.А. Грибанова, Ю.А. Татаренко // Рос. мед. Журн. - 2011. - № 22. - С. 1357-1360.

5. Пучинина С. В. Технология и стандартизация таблеток теоритина и мебгидролина: дис. канд. фарм. Наук: 14.04.01 / С. В. Пучинина // – техн. Пермь, 2013. - 148 с.

6. Трахтенберг І.М., Краснокутська Л.М., Короленко Т.К. [та ін.] Основні підходи до гігієнічного нормування допустимого вмісту хімічних речовин у повітрі робочої зони хіміко-фармацевтичних підприємств. ІІ Національний з’їзд фармакологів України “Фармакологія 2006 – крок у майбутнє” 17-20 жовтня 2006 р. м. Одеса: тези доповідей. Одеса, 2006. С. 175-176.

7. Кундиев Ю.И., Трахтенберг И.М. Химическая безопасность в Украине. Ежегодные чтения, посвященные Е.И. Гончаруку. Киев: ИД “Авиценна”, 2007. - 72 с.

8. Сердюк А.М. Екологічна безпека: гігієнічний погляд через роки / А.М. Сердюк // Медичні перспективи (Дніпропетровськ). - 2007. - Том12, - N4. - С. 4- 7.

9. Бардов В. Г., Федоренко В. І., Білецька Е. М. "Основи екології": підручник для студентів вищих навчальних закладів / за ред. В. Г. Бардова, В. І. Федоренко. Вінниця: Нова Книга, 2013. – 424 с

10. Кушнірук В. М. Стандартизація промислового синтезу активних фармацевтичних інгредієнтів на прикладі амізону та дибамку : автореф. дис. ... канд. фармац. Наук : 15.00.03 / В. М. Кушнірук // - Х., 2017. - 24 с.

11. Национальное руководство “Профессиональная патология” / Под ред. Н.Ф. Измерова. М.: ГЄОТАР-МЕДИЯ, 2011. 784 с.

12. Горохова Л.Г. Гигиеническое регламентирование соединений бензофуранового ряда в воздухе рабочей зоны с оценкой риска для здоровья работающих: автореф. дис. ... канд. биолог. Наук: 14.02.01 / Л.Г. Горохова // Иркутск, 2010. - 23 с.

13. Рахманин Ю.А. Научно-методические подходы к совершенствованию “Руководства по оценке риска здоровью населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду” на базе последних мировых достижений в области анализа риска / Ю.А. Рахманин // Здоровье населения и среда обитания. - 2010. - № 11. - C. 4–6.

14. Проблемы совершенствования системы управления качеством окружающей среды на основе анализа риска здоровью населения / Авалиани С.Л., Новиков С.М., Шашина Т.А., Додина Н.С., Кислицин В.А., Мишина А.Л. // Гигиена и санитария. - 2014. - № 6. - С.5–9.

15. The Swiss Chemical and Pharmaceutical Industry [Електронний ресурс] scienceindustries. 2012. Режим доступу до ресурсу: <https://en.scienceindustries.ch/_file/9257>.

16. Knowledge paper: Trends & Opportunities for Indian Pharma [Електронний ресурс]. Federation of Indian Chambers of Commerce and Industry. 2018. Режим доступу до ресурсу: <http://ficci.in/spdocument/22944/india-pharma-2018-ficci.pdf>.

17. Lima Nogueira A. Transaction Costs and Organizational Competences: Explaining the Governance Structure for Manufacturing Stage / Lima Nogueira A. Walter B. // Journal of Technology Management & Innovation. - 2012. - V. 7, I. - 1. - Р. 159–173.

18. China Pharmaceutical Distribution Sector A Brighter Future for Fewer Players [Електронний ресурс] / Kong M., Gao C. // DBS Asian Insights SECTOR BRIEFING 58. 2018. Режим доступу до ресурсу: <https://www.dbs.com.sg/sme/aics/pdfController.page?pdfpath=/content/article/pdf/AIO/052018/180504_insights_china_pharmaceuticals_a_brighter_future_for_fewer_players.pdf>..

19. Скрипка А. К. Сучасний стан фармацевтичної галузі України / А. К. Скрипка // Вісник Хмельницького національного університету. - 2015. - № 2, Т.2. - С. 86–89.

20. Taylor D. The Pharmaceutical Industry and the Future of Drug. Pharmaceuticals in the Environment / D. Taylor // - 2015. - P. 1–33.  DOI: [10.1039/9781782622345-00001](https://doi.org/10.1039/9781782622345-00001#_blank).

21. Tecfidera Dimethyl fumarate [Електронний ресурс] EMA (European Medicines Agency). 2013. Режим доступу до ресурсу: [www.ema.europa.eu/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-tecfidera\_en.pdf](http://www.ema.europa.eu/documents/smop-initial/chmp-summary-positive-opinion-tecfidera_en.pdf).

22. NITRO-GLYCERINE AS A REMEDY FOR ANGINA PECTORIS [Електронний ресурс] / Murell W. // The lancet. - 1879. Режим доступу до ресурсу: <https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(02)46032-1/fulltext>.

23. Ku R. An overview of setting occupational exposure limits (OELs) for pharmaceuticals / Ku R. // Chemical Health and Safety. - 2000. - 7 (1). - Р. 34–37.

24. Замбржицкий О.Н. Гигиена труда в аптечных организациях и на предприятиях фармацевтической промышленности: учеб. -метод. пособие / О. Н. Замбржицкий, Н. Л. Бацуковаю Белорус. гос. мед. ун-т, каф. общ. гигиены. Минск: БГМУ, 2014. 52 с.

25. Большаков А. М. Общая гигиена: учебник - 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР. Медиа, 2014. 432 с.

26. Laird Trevor. Innovation in Generic API Synthesis and Manufacture / Laird Trevor. //American Chemical Society. - 2012. - 16. - P. 365−365.

27. Grodowska K. Organic solvents in the pharmaceutical industry / K. Grodowska, A. Parczewski // Acta Poloniae Pharmaceutica с Drug Research. - 2010. - №1 (67). - Р. 3–12.

28. Гигиенические аспекты состояния здоровья работающих в химико-фармацевтическом производстве / Горохова Л.Г., Мартынова Н.А., Кизиченко Н.В., Логунова Т. Д. // Медицина в Кузбассе. - 2017. - Т.16, № 3. - С.11–16.

29. Occupational health and safety hazards in pharmaceuticals manufacturing: Past, present and future knowledge, policies and possibilities, particularly for women [Електронний ресурс] / Wigmore D. // - 2009. Режим доступу до ресурсу: <http://www.whp-apsf.ca/pdf/Pharmaceutical%20Manufacturing%20Health%20%20Safety%20_2_.pdf> 30. Quinlan M., Bohle P., Quinlan M., Lamm F. Managing occupational health and safety: A multidisciplinary approach, 3rd edn. South Yarra: Palgrave Macmillan, 2010. 704 р.

31. Binks S. P. Occupational toxicology and the control of exposure to pharmaceutical agents at work / S. P. Binks // Occupational Medicine. - 2003. - 53. - P. 363–370.

32. Chemical hazards and safety management in pharmaceutical industry / Bhusnure O., Dongare R., Gholve S., Giram P. // Journal of Pharmacy Research. - 2018. - №3. - Р. 357–369.

33. Windham G. Environmental contaminants and pregnancy outcomes / G. Windham, L. Fenster // Fertil Steril. - 2008. - 89 (2). - Р. 111–116.

34. Волкотруб Л. Гигиена труда на предприятиях химико-фармацевтической промышленности: учебно-методическое пособие / Л. Волкотруб, Т. Андропова // Томск: СибГМУ, 2016. - 164 с.

35. Moklesur R. S. Occup Health. 2 Studies of the Impact of Occupational Exposure of Pharmaceutical Workers on the Development of Antimicrobial Drug Resistance / R. S. Moklesur Md, N. I. Kamrun, Z. H. Hasniza // [014. - 56. - Р. 260–280

36. Champmartin C. Inhalable dust measurements as a first approach to assessing occupational exposure in the pharmaceutical industry / C. Champmartin   F. Clerc // Journal of occupational and environmental hygiene. - 2014. - 11 (2). - P. 85–92.

37. Youk A. O. Pharmaceutical production workers and the risks of mortality from respiratory system cancer and lymphatic and hematopoietic tissue cancers / A. O. Youk, J. M. Buchanich, G. M Marsh. // J Occup Environ Med. - 2009. - 51. - Р. 903–915.

38. Attaianese E. The integrated assessment of occupational risks in a pharmaceutical manufacturing plant / E. Attaianese, G. Duca // Work. - 2012. - 41 (1). - P. 1733–1738.

39. Health Hazards in the Pharmaceutical Industry [Електронний ресурс] / Gathuru I. M., Buchanich J. M., Marsh G. M., Dolan D. G. // Pharmaceut Reg Affairs 4:145. - 2014. Режим доступу до ресурсу: doi:10.4172/2167-7689.1000145.

40. Milovanovic A. Morbidity patterns of workers employed in pharmaceutical-chemical industry / A. Milovanovic, B. Jakovljevic, J. Milovanovic // Srpski Arhiv za Celokupno Lekarstvo. - 2007. - 135 (3-4). - P. 184–190

41. Oddone E. Pharmaceutical Industries Air Quality. Comprehensive Analytical Chemistry [Електронний ресурс] / Milovanovic A., Jakovljevic B., Milovanovic J. // - 2016. Режим доступу до ресурса: DOI: 10.1016/bs.coac.2016.02.014.

42. Охрана труда в фармацевтическо отрасли: учеб. пособие для преподавателей и студентов V курса фармац. факультетов специальностей «Фармация» и «ТПКC» / А. И. Панасенко, В. П. Буряк,А. А. Кремзер и др. Запорожье: ЗГМУ, 2015. 102 с.

43. Pourmahabadian M. Investigation of Risk Factors of Work-Related Upper-Limb Musculoskeletal Disorders in a Pharmaceutical Industry / M. Pourmahabadian, M. Akhavan, K. Azam, M. Pourmahabadian // Journal of Applied Sciences. - 2008. - 8 (7). - Р. 262–1267.

44. Kheiri H. Investigation of relationship between musculoskeletal disorders and working conditions among workers at a pharmaceutical industry in Iran (2011-2012) / H. Kheiri, H. Moshfegh, H. Hatami, M. Ranjbarian // Iranian Journal of Health, Safety & Environment. - 2012. - №3. - Р. - 145–150.

45. Nelson D. The global burden of occupational noise-induced hearing loss / D. Nelson, R. Nelson, M. Concha-Barrientos, M. Fingerhut // - 2005. - 48 (6). - Р. 446–458.

46. Mager Stellman J. Encyclopaedia of Occupational Health and Safety / J Mager Stellman // = 1998. - 1253 р.

47. ГНД 01.001.98. GMP. Належна виробнича практика GMP. К.: Держкоммедбіопром, 1998. - 126 с.

48. Системи екологічного керування. Вимоги та настанови щодо застосовування: ДСТУ ISO 14001:2006. Офіц. вид. К.: Держспоживстандарт України, 2006. 26 с.

49. Жуковіна О. В. Оцінка еколого-економічної діяльності фармацевтичних / О. В. Жуковіна , О.В. Посилкіна , В. Тіманюк // Організація та економіка фармації. - 2003. - №4. - С. 83–88.

50. Гетьман М.А. Лекарственные средства / М. А. Гетьман, И. А. Наркевич // Ремедиум. - 2013. - С. 50–54.

51. Fick J., Söderström H., Lindberg R.et al. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production / J. Fick, H. Söderström, R. Lindberg et al // Environ Toxicol Chem. - 2009. - 28 (12). - P. 2522–2527.

52. DG Larsson, de Pedro C, Paxeus N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals / DG Larsson, de Pedro C, Paxeus N. // J Hazard Mater. - 2007. - 148 (3). - P. 751–755.

53. Jjemba P. K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment / P. K. Jjemba // Ecotoxicol Environ Saf. - 2006. - 63(1). - P. 113–130.

54. Lienert J. Screening Method for Ecotoxicological Hazard Assessment of 42 Pharmaceuticals Considering Human Metabolism and Excretory Routes / J. Lienert, B. I. Escher, K. Guedel // Environmental Science and Technology. - 2007. - 41 (12). - P. 4471–4478.

55. Pharmaceuticals in the environment--Global occurrences and perspectives. / [T. aus der Beek, F. A. Weber, A. Bergmann et al.]. Environ Toxicol Chem. - 2016. 35. - P. 823–835.

56. Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data / T. Heberer // Toxicol Lett. - 2002. - 131 (1-2). - P. 5–17.

57. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle / [A. Pal, Y. He, М. Jekel та ін.]. Environ. Int. - 2014. 71. - Р. 46–62.

58. Obimakinde S. Veterinary pharmaceuticals in aqueous systems and associ¬ated effects: an update. / S. Obimakinde, O. Fatoki, B. Opeolu, O. Olatunji // Environ. Sci. Pollut. Res. - 2017. - 24(4). - Р. 3274–3297.

59. Cardoso O. Factory-dis¬charged pharmaceuticals could be a relevant source of aquatic environment contamination: review of evidence and need for knowledge / O. Cardoso, J. Porcher, W Sanchez // Chemosphere. - 2014. 115. - Р. 20–30.

60. Investigation of antibiotics in mollusks from coastal waters in the Bohai Sea of China / [W. Li, Y. Shi, L. Gao та ін.]. Environ. Pollut. - 2012. - №162. - С. 56–62.

61. Fick J. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production / J. Fick, H. Söderström, R. Lindberg // En¬viron. Toxicol. Chem. - 2009. - 28(12). - Р. 2522–2527.

62. Celiz M. D. Pharmaceutical metabolites in the environment: analytical challenges and ecological risks / M. D. Celiz, J. Tso, D. S. Aga // Environ. Toxicol. Chem. - 2009. - 28(12). - Р. 2473–2484.

63. Langford K. Input of selected human pharmaceutical metabolites into the Norwegian aquatic environment Monitor / K. Langford, K. V. Thomas // - 2011. - 13. - Р. 416–421.

64. Ecological effects of pharmaceuticals in aquatic systems—impacts through behavioural alterations [Електронний ресурс] / T. Brodin, S. Piovano, J. Fick та і. Phil. Trans. R. Soc. B. // - 2014. Режим доступу до ресурсу: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0580>.

65. Zhang X. X. Antibiotic resistance genes in water environment. / X. Zhang, T. Zhang, H. H. Fang // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 2009. - 82(3). - Р. 397–414.

66. Osorio V. Concentration and risk of pharmaceuticals in freshwater systems are related to the population density and the livestock units in Iberian Rivers / V. Osorio, A. Larrañaga, J. Aceña // Science of the Total Environment. - 2016. - №540. - Р. 267–277.

67. Hughes S. R. Global Synthesis and Critical Evaluation of Pharmaceutical Data Sets Collected from River Systems / S. R. Hughes, P. Key, L. E. Brown // Environ. Sci. Technol. - 2013. - 47 (2). - С. 661–677.

68. Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. / S. Bartelt-Hunt, D. D. Snow, T. Damon-Powell, D. Miesbach. J Contam Hydrol. - 2011. - 123 (3-4). - С. 94–103.

69. Lahti M. Uptake from water, biotransformation, and biliary excretion of pharmaceuticals by rainbow trout / M. Lahti, J. M. Brozinski, A. Jylhä // Environ Toxicol Chem. - 2011. - 30 (6). - P. 1403–1411.

70. Li W. Investigation of antibiotics in mollusks from coastal waters in the Bohai Sea of China / W. Li, Y. Shi, L. Gao // Environ Pollut. - 2012. - 162. - P. 56–62.

71.  Du B. Pharmaceutical bioaccumulation by periphyton and snails in an effluent-dependent stream during an extreme drought. / B Du, S. P. Haddad, W Scott. // Chemosphere. - 2014. - 119. - P. 927–934.

72. Grabicova K. Presence of pharmaceuticals in benthic fauna living in a small stream affected by effluent from a municipal sewage treatment plant / K. Grabicova, R. Grabic, M. Blaha // Water Res. - 2015. - №72. - Р. 145–153.

73. Brooks B. W. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream / B. W. Brooks, C. K. Chambliss, J. K. Stanley // Environ Toxicol Chem. - 2005. - 24(2). - P. 464–469.

74. Первичная профилактика как эффективный ответ на эпидемию аллергических болезней [Електронний ресурс] / [С. Г. Макарова, Т. Е. Лаврова, Е. А. Вишнёва та ін.] ПФ. 2015. Режим доступу до ресурсу: <https://cyberleninka.ru/article/n/pervichnaya-profilaktika-kak-effektivnyy-otvet-na-epidemiyu-allergicheskih-bolezney>.

75. Rasouli A. Characteristics of Occupational Injuries in a Pharmaceutical Company in Iran / A. Rasouli, S. Hosseini, M. Bahadori // Bulletin of Emergency and trauma. - 2018. – 6 (2). - P. 155–161.

76. Xie Z. Bioconcentration, metabolism and effects of diphenhydramine on behavioral and biochemical markers in crucian carp (Carassius auratus) / Z. Xie, G. Lu, K. Hou et al. // Sci Total Environ. - 2016. - 544. - P. 400–409.

77. Kosonen J. The occurrence of antihistamines in sewage waters and in recipient rivers / J. Kosonen, L. Kronberg // Environ Sci Pollut Res Int. - 2009. - 16 (5). - P. 555–564.

78. Яковлєва Л. В. Аналіз асортименту, доступності й обсягів споживання антигістамінних лікарських засобів в Україні / Л. В. Яковлєва , О. Г. Бердник, А. О. Гуртякова //Фармацевтичний журнал. - 2018. - №1. - С. 12–21.

79. Радченко О. М. Плейотропні ефекти антигістамінних препаратів / О. М. Радченко , О. О. Сорокопуд // Ліки України. - 2016. - №4 (200). - С. 65–68.

80. Зайченко Г. В. Сучасні протиалергічні препарати:клініко-фармакологічні та фармаекономічні особливості / Г. В. Зайченко , Л. В. Яковлєва , Т. О. Брюханова , О. М. Колос // Український медичний часопис. - 2012. - № 6 (92). - С. 134–136.

81. Ara J. Formulation & in vitro evaluation of gastroretentive floating drug delivery system of mebhydrolin napadisylate / J. Ara, R. Hossain, P. Bhowmik //World Journal of Pharmaceutical Research*. -* 2017. - V. 6 (4). - Р. 291–305.

82. Петровский Б. В. Большая медицинская энциклопедия [Електронний ресурс. Издание третье, онлайн версия – Режим доступу до ресурсу: <http://xn--90aw5c.xn--1avg/index.php/%D0%97%D0%B0%D0%B3%D0%BB%D0%B0%D0%B2%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%81%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0>.

83. Тидген К. В. Острый герпетический стоматит у детей / К. В. Тидген, Р. З. Уразова, Р. М. Сафина // Практическая медицина. - 2012. - 4(72). - С. 28–33.

84. Миннулин И. К. Опыт лечения бородавчатой формы красного плоского лишая / И. К. Миннулин, Г. В. Никитина // Практическая медицина. - 2005. - 4 (13). - С. 9.

85. Котвицкая А. А. Маркетинговый анализ ассортимента рынка лекарственных препаратов, применяемых для лечения псориаза в Украине [Електронний ресурс] / А. А. Котвицкая, В. В. Карло // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. - 2013. Режим доступу до ресурсу: <https://cyberleninka.ru/article/n/marketingovyy-analiz-assortimenta-rynka-lekarstvennyh-preparatov-primenyaemyh-dlya-lecheniya-psoriaza-v-ukraine>.

86. Мурзабаева Р. Т. Клинико-эпидемиологические особенности иксодовых клещевых боррелиозов в республике Башкортостан / Р. Т. Мурзабаева , Л. Д. Шарифуллина , Д. А. Валишин // Медицинский вестник Башкортостана. - 2016. - №3. - С. 16–19.

87. Сергеев П. В., Гущин И. С., Каминка М. Э. Диацин-новый отечественный комплексный антиаллергический препарат / П. В. Сергеев, И. С. Гущин, М. Э. Каминка // Химико-фармацевтический журнал. - 2002. - №2. - С. 50–53.

88. Диазолин - инстукция к применению [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=417>.

89. Большая медицинская энциклопедия: акутализированное и дополненное издание бестселлера. М.: Эксмо, 2015. - 880 с.

90. McEwen J. Mebhydrolin napadisylate. A possible cause of reversible agranulocytosis and neutropenia / J. McEwen, W. J. Strickland // The Medical Journal of Australia. - 1982. - 2 (11). - Р. 523–525.

91. McKenna K. E. Exacerbation of psoriasis, liver dysfunction and thrombocytopenia associated with mebhydrolin / K. E. McKenna, J. C. McMillan // Clinical end experimental dermatology. - 1993. - 18 (2). - P. 131–132.

92. Wörz R. Late extrapyramidal hyperkinesia during long-term administration of mebhydrolin [Електронний ресурс] Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1973. Режим доступу до ресурсу: <https://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1106968>.

93. Вдовиченко В. П. Проблема выбора Н1-блокатора в клинической практике / В. П. Вдовиченко, Г. М. Бронская, Т. А. Коршак // Медицинские новости. - 2012. - №3. - С. 60–63.

94. Талько А. Н. Справочник ветеринара: руководство по оказанию неотложной помощи животным / А. Н. Талько. – Питер: Издательский дом "Питер", 2010. - 256 с.

95. Патент РФ таблетки диазолина, полученные на основе комплекса включения субстанции с -циклодекстрином, обладающие антигистаминным действием [Електронний ресурс]. 2000. Режим доступу до ресурса: http://www.freepatent.ru/patents/2160095.

96. Обґрунтування гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і в атмосферному повітрі населених місць: МВ № 544 [Затв. МОЗ України 21.10.2005]. - К., 2005. - 19 с.

97. Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов: Методические указания: МУ № 1.1.726-98 [Утв. МЗ РФ 28.12.1998]. М., 1999. - 70 с.

98. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М.Кожем’якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. К: Авіценна. - 2002. - 156 с.

99. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны: МУ № 2163-80 [Утв. МЗ СССР 04.04.80]. М., - 1980. - 20 с.

100. Hayes A.W. Principles and Methods of Toxicology / A.W. Hayes // New-York: Raven Press. - 1989. - 899 p.

101. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / Беленький М.Л. // Л. - 1963. - С.152.

102. Красовский Г.Н. Среднее время гибели животных как параметр для прогнозирования хронической токсичности веществ / Г.Н. Красовский, Н.А. Егорова, З.И. Жолдакова // Гигиена и санитария. - 1982. - № 7. - С. 12-14.

103. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи: МУ № 2102-79 [Утв. МЗ СССР 01.11.1979]. М.- 1980. -22с.

104. Методические указания к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны: МУ № 2196-80 [Утв. МЗ СССР 11.08.1980]. М., 1980. - 18 с.

105. Medicine Pracy, XXIV, 1973, 3, 321 – 336.

106. Lim R. K. Method for evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronics median effective doses / R. K. Lim, K.G. Rink, H.G Glass // Arch. Int. Pharmacodym. Therap. - 1961. - Vol.130. - P. 336-352.

107. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая [и др.] Москва: Медицина, 1987. 364 c.

108. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии / А.М. Горячковский. Одесса: ОКФ. - 1994. - 415 c.

109. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ. - 2009. - 896 с.

110. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования: МР № 2166-80 [Утв. МЗ СССР 1980]. Киев, 1980. - 47 с.

111. Сперанский С.В. О преимуществах использования нарастающей силы тока при исследовании способности белах мышей к суммации подпороговых импульсов / С.В. Сперанский // Фармакология и токсикология. 1965. № 1. С. 123-124.

112. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лили. М.: Мир. -1969. - 645 с.

113. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації: методичні рекомендації МР 8.1.4.104-2003 [Затв. МОЗ України 25.07.2003] К. - 2003. - 30 с.

114. Требования к постановке экспериментальных исследований по обоснованию предельно допустимых концентраций промышленных химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы: методические указания МУ 1.1.578-96: [Утв. Госкомсанэпиднадзором России 21.10.1996]. М.,1997. - 24 с.

115. Алексеева О.Г. Аллергия к промышленным соединениям / О.Г. Алексеева, Л.А. // Дуева. Москва: Медицина, 1978. 272 с.

116. Методичні рекомендації для оцінки імунного статусу людини: клініко-лабораторна діагностика алергічних захворювань, типування лейкоцитів, оцінка імунограми / укл. Я.М. Романишин, І.В. Темник, Л.Є. Лаповець [та ін.]; ЛНМУ. Львів, 1999. - 26 с.

117. Посібник з лабораторної імунології: Навчальний посібник для лікарів-інтернів закладів (факультетів) післядипломної освіти / Л.Є. Лаповець, Б.Д. Луцик, Г.Б. Лебедь, В.М. Акімова. Львів: ПП Сорока Тарас Богданович, 2008. - С. 26-33.

118. Mancini G. Immunological guantitation of antigens by singl radial diffusion / G. Mancini , A. Carbonare , G. Heneman // Immunochemistry. - 1965. - Vol. 2, № 4. - P. 235.

119. Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов / Ю.А. Гриневич, А.И. Алферов // Лабораторное дело. - 1981. - № 8. - С. 493-496.

120. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования: методические указания МУ № 1744-77 [Утв. МЗ СССР 10.07.1977]. М., 1978. - 35с.

121. Изучение эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию: методические указания / сост. А.П. Дыбан [и др.]. Москва, 1986. - 24 с.

122. Методичні рекомендації по експериментальному вивченню ембріотоксичної активності лікарських препаратів. Київ. Фармкомітет МОЗУ.1998. - 28 с.

123. Методические рекомендации к проведению морфологических исследований при экспериментальном обосновании гигиенических нормативов вредных веществ в воздухе рабочей зоны: МР № 2939-83 [Утв. МЗ СССР 05.09.1983]. М., 1983. - 3 с.

124. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель [и др.]. М.: Медицина, 1991. - 208 с.

125. Гельман В.Я. Медицинская информатика: Практикум / В.Я. Гельман. – СПб: Питер, 2001. - 480 с.

126. Кузьмінов Б.П. Хімічна небезпека у поліграфічному виробництві як гігієнічна проблема: дис. доктора мед. наук: 14.02.01 / Борис Павлович Кузьмінов. - Львів, 2006. - 343 с.

127. Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений. Основные положения: ГОСТ 8.010-99. Введ. 01.06.2001 г. К: Госстандарт Украины, 2002. - 23 с.

128. Система стандартов безопасности труда. Воздух рабочей зоны. Требования к методикам измерения концентраций вредных веществ: ГОСТ 12.1.016-79 зі зміною № 1 від 01.09.83. (ИУС № 9-83). М., 1979. - 10 с.

129. Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны: ГОСТ 12.1.005-88. М.: Госстандарт, 1988. - 48 с.

130. Метрологія. Показники точності, правильності, прецизійності методик кількісного хімічного аналізу. Методи оцінення (РМГ 61-2003, IDT): ДСТУ-Н РМГ 61:2006. Введ. 01.07.2007 р. К.: Держспоживстандарт України, 2007. - 41 с.

131. ДСТУ ISO 8466-1-2001 Якість води. Визначання градуювальної характеристики методик кількісного хімічного аналізу. Частина 1. Статистичне оцінювання лінійної градуювальної характеристики (ISO 8466-1:1990, IDT).

132. Кузьмінов Б.П. Оцінка умов праці у виробництві лікарського засобу Діазолін / Б.П. Кузьмінов , О.А. Брейдак. // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2017. - Вип. 1 (14). - С. 103-108.

133. Кузьмінов Б.П. Методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі робочої зони фармпідприємств / Б.П. Кузьмінов, Т.С. Зазуляк, О.А. Брейдак , Л.П. Шевчук // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2017. - Вип. 2 (15). - С. 88-91.

134. Курляндский Б.А. Общая токсикология / Б.А. Курляндский, В.А. Филова // М.: Медицина, - 2002. - 608 с.

135. Измеров Н.Ф. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии [Текст]: (Справочник) / Н.Ф. Измеров, И.В. Саноцкий., К.К. Сидоров // Москва: Медицина, 1977. - 240 с.

136. Токсикометрия химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Под общей ред. д-ра мед. наук, проф. А.А. Каспарова и д-ра мед. наук, проф. И. В. Саноцкого. Москва, Центр Международных проектов ГКНТ, 1986. 426 с.

137. Штабский Б.М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии (часть 1) / Б. М. Штабский. [Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров’я; патологія](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=JUU_all&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=IJ=&S21COLORTERMS=1&S21STR=Ж25294). - 2013. - № 2. - С. 8-20.

138. Штабский Б.М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии (часть 2. Методы исследования) / Б. М. Штабский // [Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров’я; патологія](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=JUU_all&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=IJ=&S21COLORTERMS=1&S21STR=Ж25294). - 2013. - № 3. - С. 8-15.

139. Кузьмінов Б.П. Гостра інгаляційна токсичність антигістамінних препаратів – діазоліну, лоратадину та дезлоратадину / Б.П. Кузьмінов, Т.С. Зазуляк, О.Б. Кузьмінов, Т.А. Альохіна, В.А. Туркіна, О.А. Брейдак // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. - 2015 р. - № 4 (72). - С.30-34.

140. Кузьмінов О.Б. Оцінка кумулятивної активності діазоліну, лоратадину та дезлоратадину у під гострому експерименті на білих мишах. Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини” / О.Б .Кузьмінов, Т.А. Альохіна, О.А Брейдак // Біологія тварин. - Львів, - 2015. - Т.17. - № 4. - С.178.

141. Кузьмінов Б.П.. Обоснование допустимого содержания диазолина в воздухе рабочей зоны химико-фармацевтического производства. / Б.П. Кузьмінов, Т.С. Зазуляк, В.А. Туркіна, О.А. Брейдак, Т.А. Альохіна // Токсикологический вестник. - 2016 р. - № 1. - С.18-21.

142. Кузьмінов О.Б. Оцінка кумулятивної активності діазоліну, лоратадину та дезлоратадину у підгострому експерименті на білих мишах. Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини” / О.Б. Кузьмінов, Т.А. Альохіна, О.А. Брейдак // Біологія тварин. - Львів, 2015. - Т.17. - № 4. - С.178.

143. Штабський Б.М. Ксенобіотики, гомеостаз і хімічна безпека людини / Б.М. Штабський, М.Р. Гжегоцький // - Львів:«Наутілус», 1999. - 308 с.

144. Пивень В.И. Эколого-гигиенические основы прогнозирования потенциальной опасности новых групп ксенобиотиков, продуктов их деструкции и биотрансформации в связи с проблемой санитарной охраны водоемов: автореф. дисс.. ... доктора мед. наук : 14.00.07 / В. И. Пивень // Ростов-на-Дону, 2004. - 45 с.

145. Зазуляк Т.С. [Сравнительная оценка иммунотоксических свойств антигистаминных препаратов І, ІІ и ІІІ поколения](https://scholar.google.com.ua/scholar?oi=bibs&cluster=14893463134696627583&btnI=1&hl=ru) / Т.С. Зазуляк, Т.А. Алехина, А.А. Брейдак // Международный Научный Институт “Educatio”. - 2015. - № 8. - С. 158-160.

146. Брейдак О.А. Експериментальна оцінкагонадотоксичної дії діазоліну / О.А. Брейдак //Медичні перспективи. - 2016. - Т. 21, - № 4. - С. 15-18.

147. Брейдак О.А. Експериментальне вивчення ембріотоксичного ефекту діазоліну / О.А. Брейдак // Acta medica Leopoliensia. - 2016. - Т. 22, № 1. - С. 56-58.

148. Туркіна В.А. Дослідження впливу лікарських субстанцій на репродуктивну функцію лабораторних тварин в експерименті: результати та перспективи. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє (до 100 річчя ДЗ ”Дніпропетровська медична академія МОЗ України”) / В.А. Туркіна, Т.С. Зазуляк, Т.А. Альохіна, О.А. Брейдак, Г.І. Яськів, А.Л Зелений // 19-20 травня 2016, м. Дніпропетровськ” Дніпропетровськ. - 2016. - С.175-177.

149. Тяжка О.В. Профілактичні заходи та професійна орієнтація дітей зі спадковою атопією / О.В. Тяжка, Л. О. Левадна, О. В. Тяжка, А. О. Горобець // [Современная педиатрия](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=JUU_all&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=IJ=&S21COLORTERMS=1&S21STR=Ж24603)*.* - 2015. - № 5. - С. 111-114.

150. Сакевич В.Д. Атопія і метаболічний синдром: обгрунтування патогенетичних підходів до діагностики, лікування та профілактики/В. Д. Сакевич, Т. А. Трибрат, С. В. Шуть // Вісник проблем біології і медицини. -Полтава ; Киев, 2014. т.Том 3,N N 4.-С.30-33

151. Алергологія: підручник / Вороненко Ю.В., Кузнецова Л.В., Пухлик Б.М. та ін., за ред. член.-кор. АМН України, проф. Вороненко Ю.В., проф. Кузнецової Л.В. - Київ, 2008. – 366 с.

152. Попова Т. В. Аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку антигістамінних лікарських засобів місцевого застосування / Т. В. Попова, Г. П. Кухтенко, Е. В. Гладух // Промислова фармація : етапи становлення та майбутнє : зб. наук. пр. Міжнар. наук. -практ. конф., присвяч. 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні, м. Харків, 29-30 верес. 2017 р. - Х., 2017. - С. 101-102.

153. Про лікарські засоби. Закон України 123/96-вр. Відомості Верховної Ради України. 1996; 22: 86.

154. Гигиена труда - учебник для вузов / под. ред. академика РАМН, проф. Н.Ф. Измерова и проф. В.Ф. Кириллова. М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2008. 592 с.

155. Голубева М.И. Особенности обоснования безопасных уровней содержания лекарствен­ных средств в воздухе рабочей зоны / М.И. Голубева, Л.Ф. Шашкина, Г.И. Рожнов, С.М. Новиков // Токсикологический вестник. - 2001. - № 1. - С. 14-20.

156. Англо-русский глоссарий избранных терминов по профилактической токсикологии: промежуточный документ. – М.: Центр международных проектов ГКНТ, 1982. – 68 с.

157. ДСП-201-97 Державні санітарні правила охорони атмосферного повітря населених місць (від забруднення хімічними та біологічними речовинами), затверджені наказом МОЗ від 09.07.1997 року № 201;

158. Методические указания по разработке и научному обоснованию предельно допустимых концентраций вредных веществ в воде водоемов: МУ №1296-75. –Москва: МЗ СССР. – 1976. –78 с.

159. Трахтенберг И.М. Принципы и методы определения допустимого содержания химических веществ в воздухе химико-фармацевтических предприятий / И.Трахтенберг, Л.Краснокутская, Т.Короленко и др. // Вісник фармакології та фармації. – 2007. - №10.-С. 50-55.

160. Трахтенберг И.М. Приоритетные аспекты экспериментальных исследований безопасности лекарственных средств / И.М. Трахтенберг, Н.В. Кокшарева, Ю.И. Лобода // Современные проблемы токсикологии. - 2003. - № 1. – С.4-10

161. Шашкина Л.Ф. Ускоренные методы обоснования гигиенических нормативов лекарственных средств в воздухе рабочей зоны / Л.Ф. Шашкина, С.М.Новиков, Г.И. Рожнов // Гигиена и санитария. – 1993. - № 11. - С. 23-26.

162. Кузьмина Л.П., Тарасова Л.А. Биохимический профиль организма: теоретические и практические аспекты изучения и оценки в медицине труда. Медицина труда и промышленная экология. 2000. №7. С. 1-6.

163. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ, Вып. 13, Москва (1973), С. 47-51.

164. Клінічна імунологія та алергологія. Навч. посібник /за ред. член-кор. АМНУ, д.м.н., проф. О.М. Біловола, д.м.н., проф. П.Г. Кравчуна, д.м.н., проф. В.Д. Бабаджана. д.м.н., проф. Л.В. Кузнецової. Харків: Гриф, 2011.550 с.

165. Черенько С. О. Імунопатогенез туберкульозу / С. О Черенько // Астма та алергія. 2013. №1. С. 32–37.

166. Curtis J. L., Freeman C.M., Hogg J.C. The immunopathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Text] / J. L. Curtis, C.M. Freeman, J.C. Hogg // The Proceedligs of the American Hyoracis Society. - 2007. - № 4. - P. 512-521.

167. Кузнецова Л. Н. Взаимоотношение адренореактивных систем и гуморального иммунитета / Л. Н. Кузнецова // Клиническая лабораторная диагностика. - 2008. - № 10. - С.48-50.

168. Порушення імунного статусу оганізму за дії хімічних чинників та методи їх визначення : методичні рекомендації / Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М., Моложава О.С., Миронюк Ю.М. Київ, 2008. 45 с.

169. Boscolo P. Work, environment, immne system and humane health. International / P. Boscolo, M. Gioacchino, N Giao // Jornal of Immunopathology and Pharmacology. 2004. V. 17, №3. P. 1-6.

170. Волосовець О.П., Врублевкська С.В. Первинна профілактика алергічних захворюванні у дітей на перинатальному етапі / О.П. Волосовець, С.В. Врублевкська // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. - 2015. - № 1. - С. 14-21.

171. Волкова М.П. Применение антигистаминных препаратов в педиатрической практике. [Електронний ресурс]. *Журнал ГрГМУ.* 2006. №1 (13). Режим доступу: <https://cyberleninka.ru/article/n/primenenie-antigistaminnyh-preparatov-v-pediatricheskoy-praktike>.

172. Татаурщикова Н.С., Сепиашвили Р.И. Рациональное применение антигистаминных препаратов в клинической практике. Москва, «МЕДпресс-информ», 2013. 36 с.

173. Тамразова О.Б. Антигистаминные препараты в лечении простудных заболеваний у детей. / О.Б. Тамразова // Вопросы современной педиатрии. - 2015. - 14(2). - С.281-286. [https://doi.org/10.15690/vsp.v14i2.1299](https://doi.org/10.15690/vsp.v14i2.1299#_blank).

174. Кузьмінов Б.П. Хімічні небезпечні чинники виробничого середовища фармацевтичних підприємств україни; блокатори Н1 гістамінових рецепторів (токсичність, гігієнічні регламенти, методи контролю) / Б.П. Кузьмінов, О.Б. Кузьмінов, Т.С. Зазуляк // – Львів “Коло”, 2016. – 78 с.

175. [Adil Coskun](javascript:;) [Irfan Yavasoglu](javascript:;) [M Hadi Yasa](javascript:;) [Nil Culhaci](javascript:;) [Vahit Yukselen](javascript:;). Cetirizine-induced hepatotoxicity: case series and review of the literature. Gastroenterology Report. Volume 6, Issue 3. August 2018. - Pages 228–230. <https://doi.org/10.1093/gastro/gow025>.

176. Методичні вказівки “Обґрунтування орієнтовних безпечних рівнів впливу (ОБРВ) хімічних речовин в атмосферному повітрі населених місць”, (затверджені наказом МОЗ України № 485 від 07.10.2004 р.

ДОДАТОК А

**Список публікацій здобувача Брейдак О.А.**

*Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації*

1. Брейдак О.А. Дослідження гострої інгаляційної токсичністі антигістамінних препаратів І, ІІ та ІІІ поколінь / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б., Брейдак О.А., Альохіна Т.А., Туркіна В.А. // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки - 2015. - № 4 (72). - С.30-34. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
2. Брейдак А.А. [Сравнительная оценка иммунотоксических свойств антигистаминных препаратов І, ІІ и ІІІ поколения](https://scholar.google.com.ua/scholar?oi=bibs&cluster=14893463134696627583&btnI=1&hl=ru) / Брейдак А.А., Зазуляк Т.С, Алехина Т.А. // Международный Научный Институт “Educatio”*-* 2015. - № 8. - С.158-160. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
3. Брейдак О.А. Гігієнічна регламентація вмісту діазоліну в атмосферному повітрі / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Гігієна населенних місць - 2015. - Вип. 66. - С.44-47. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
4. Брейдак О.А. Експериментальна оцінкагонадотоксичної дії діазоліну / Брейдак О.А. // Медичні перспективи - 2016. - Т. 21 - № 4. - С.15-18.
5. Брейдак О.А. Експериментальне вивчення ембріотоксичного ефекту діазоліну / Брейдак О.А. // Acta medica Leopoliensia - 2016. - Т. 22. - № 1. - С.56-58.
6. Брейдак О.А. Обоснование допустимого содержания диазолина в воздухе рабочей зоны химико-фармацевтического производства / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Туркіна В.А., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Токсикологический вестник - 2016. - № 1. - С.18-21.*(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*
7. Breydak A.A. System Approach to Regulation of the Harmful Influence of Medicines in the Conditions in the Manufacturing Process and Environment / Kuzminov B.P., Zazulyak T.S., Grushka O.I., Kuzminov A.B., Breydak A.A., Shvets I.A. // **Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. -** 2018 - 2 (82). - C.15-20. *(Здобувачем виконано частину експериментальної роботи, взята участь у пошуку та огляді літератури).*

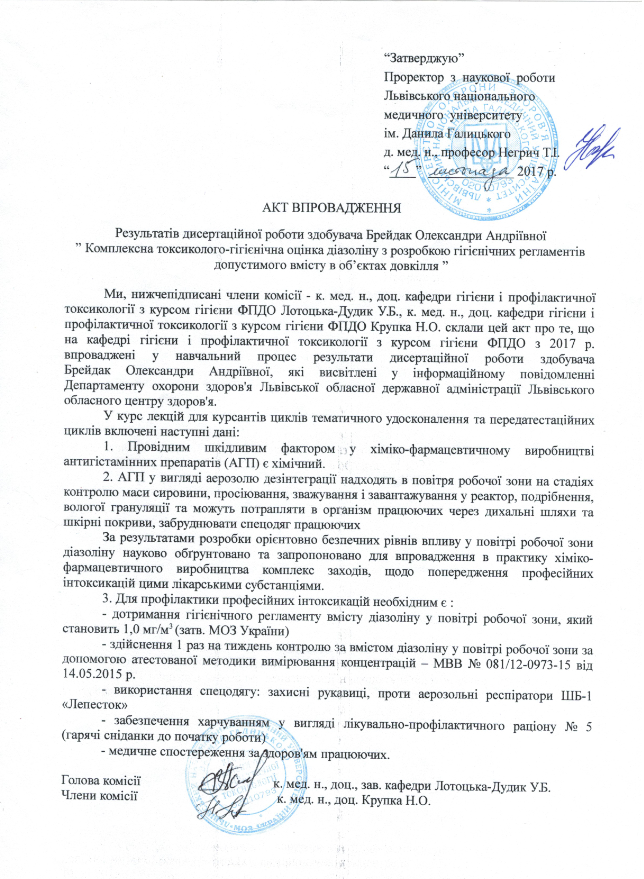
*Опубліковані праці апробаційного характеру*

1. Брейдак О.А. Оцінка кумулятивної активності діазоліну, лоратадину та дезлоратадину у підгострому експерименті на білих мишах / Брейдак О.А., Кузьмінов О.Б, Альохіна Т.А. // Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» Біологія тварин - Львів. - 2015. - Т.17. - № 4. - С.178.
2. Брейдак О.А. Дослідження впливу лікарських субстанцій на репродуктивну функцію лабораторних тварин в експерименті: результати та перспективи / Туркіна В.А., Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Яськів Г.І. // Матеріали науково- практичної конференції з міжнародною участю «Профілактична медицина: здобутки сьогодення та погляд у майбутнє» – Дніпропетровськ. - 2016. – С.175-176.
3. Брейдак О.А. Схема гігієнічної регламентації вмісту лікарських субстанцій у повітрі робочої зони хіміко-фармацевтичних підприємств / Зазуляк Т.С., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Яськів А.І. // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Сучасна медицина: актуальні питання» – Одеса. - 2016. – С. 87-90.
4. Брейдак О.А. Європейська інтеграція України в галузі безпеки та гігієни праці на фармацевтичному виробництві / Брейдак О.А., Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б. // Збірка тез доповідей науково-практичної конференції «Актуальні питання громадського здоров’я та екологічної безпеки України» (чотирнадцяті Марзєєвські читання). - Випуск 18. - 2018р. - Київ. - С.77-79.

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертаційної роботи

1. Брейдак О.А. Гігієнічна регламентація антигістамінних препаратів в об’єктах навколишнього середовища / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Кузьмінов О.Б., Альохіна Т.А., Брейдак О.А., Туркіна В.А. // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2016. - Вип. 1-2 (13). - С.17-26. *(Здобувачем взята участь у зборі та аналізі даних)*
2. Брейдак О.А. Оцінка умов праці у виробництві драже та таблеток Діазолін / Кузьмінов Б.П., Брейдак О.А. // Актуальні проблеми профілактичної медицини. - 2017. - Вип. - 1 (14). - С.103-108.
3. Брейдак О.А. Методика вимірювання концентрацій діазоліну у повітрі робочої зони фармпідприємств. / Кузьмінов Б.П., Зазуляк Т.С., Брейдак О.А., Шевчук Л.П. // Актуальні проблеми профілактичної медицини.- 2017. - Вип. 2 (15). - С. 130-136.
4. Брейдак О.А. Профілактика професійних інтоксикацій антигістамінними препаратами (димедролом, діазоліном, лоратадином, дезлоратадином) у хіміко-фармацевтичному виробництві) / Кузьмінов Б.П.,. Зазуляк Т.С, Кузьмінов О.Б., Альохіна Т.А., Брейдак О.А. // Інформаційний лист Департаменту охорони здоров'я Львівської обласної державної адміністрації, Львівського обласного центру здоров'я. - 2016 р. – 4c.

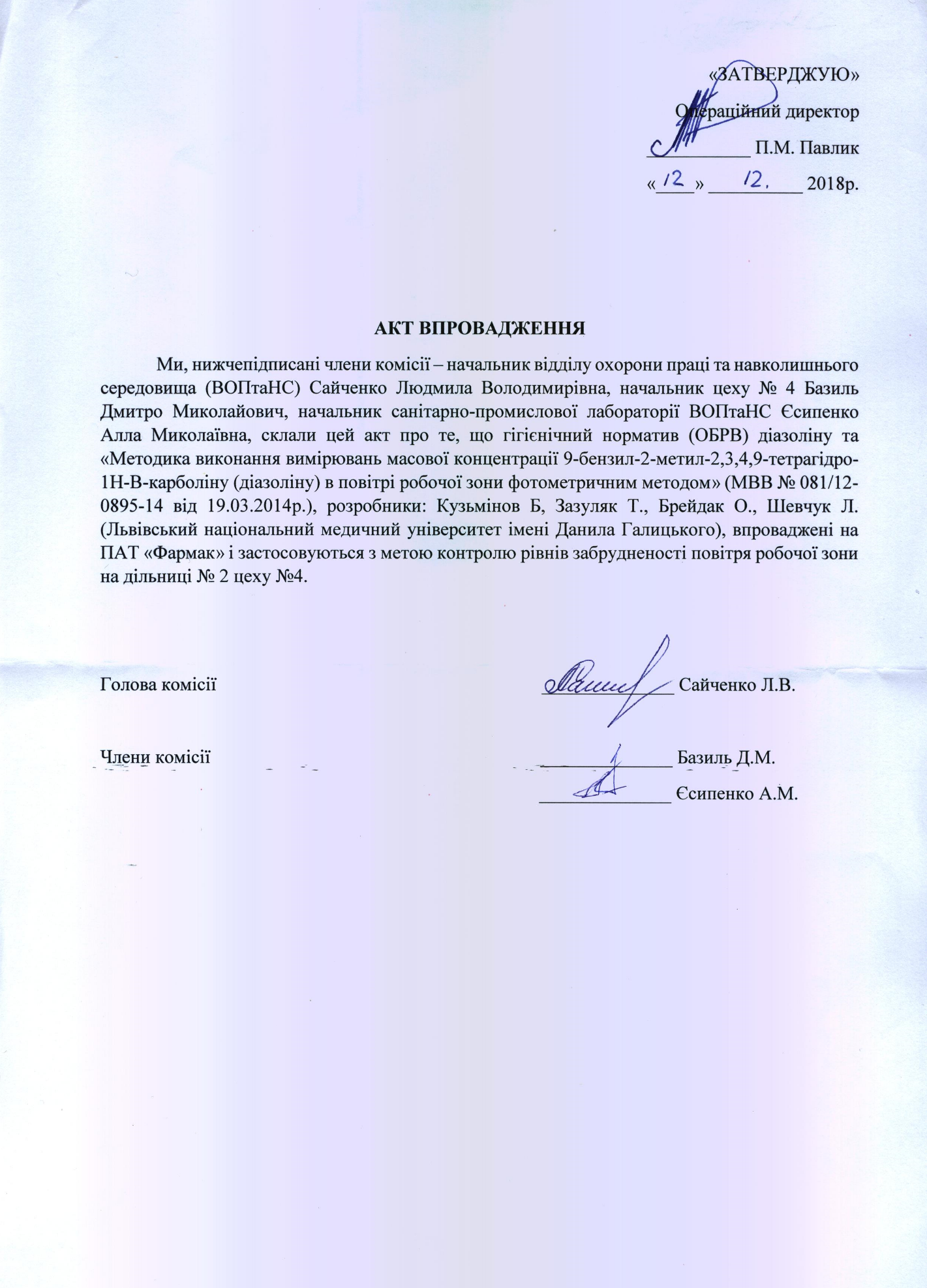
ДОДАТОК Б



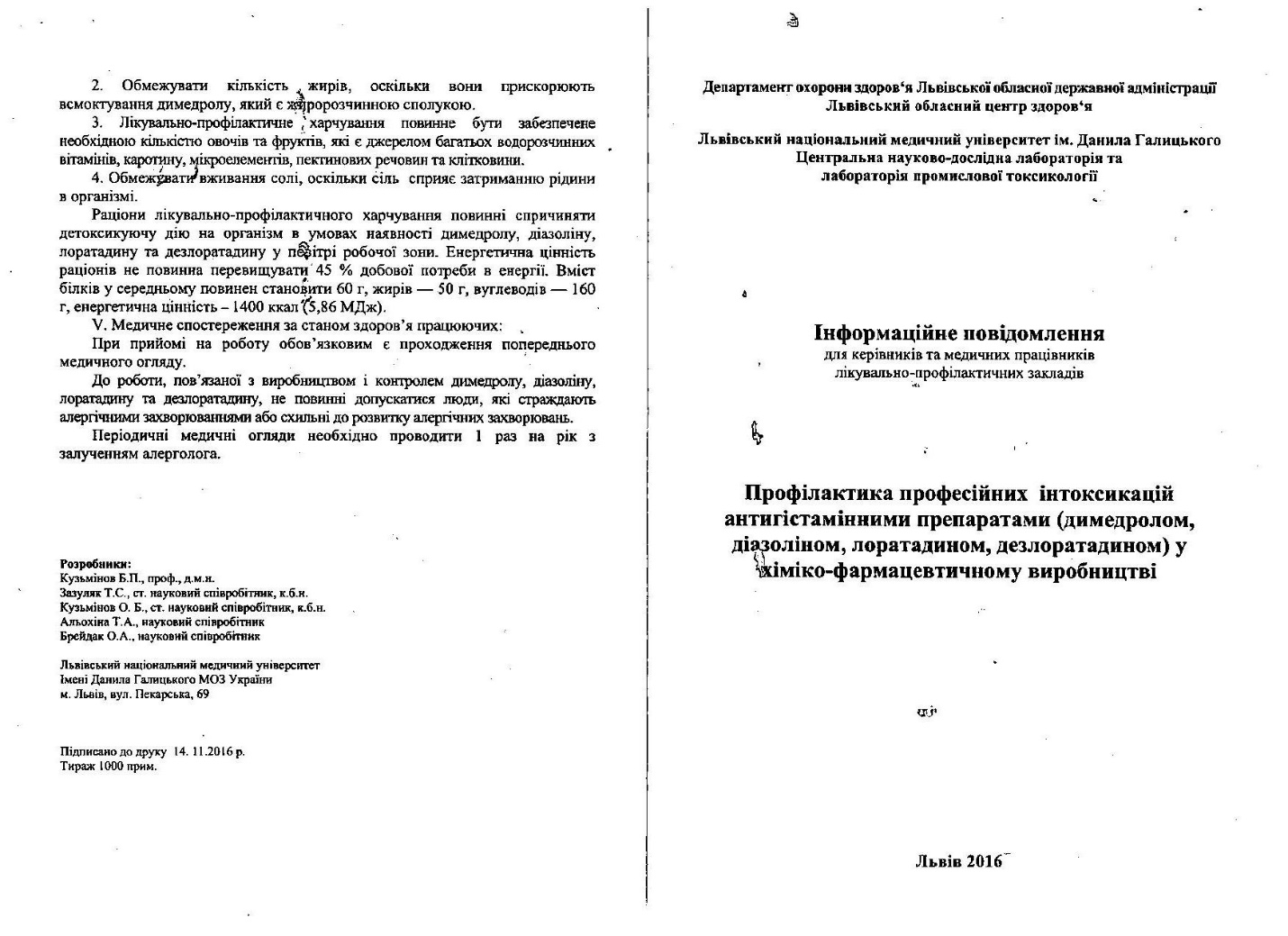
ДОДАТОК В



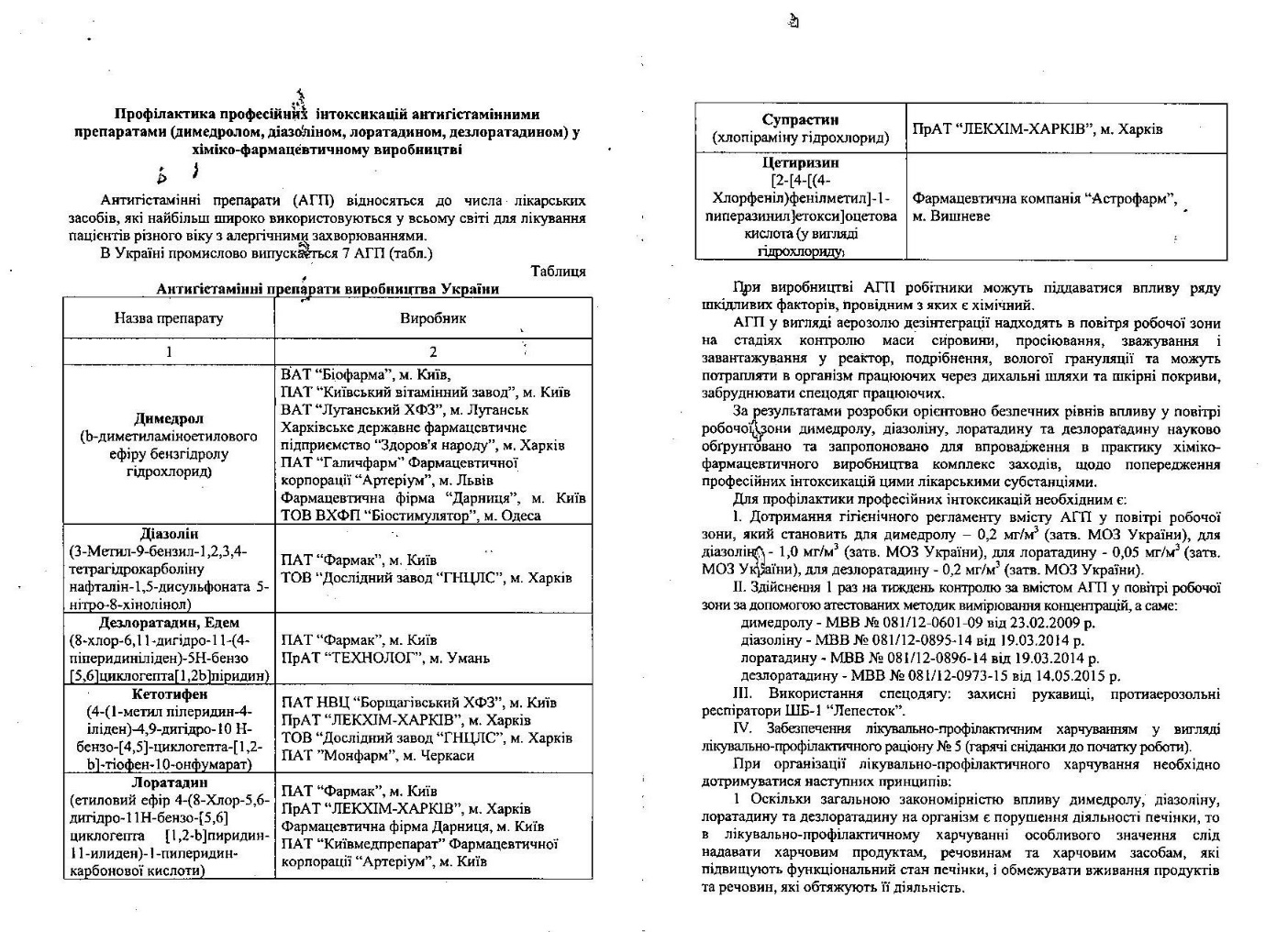
ДОДАТОК Г



ДОДАТОК Д



ДОДАТОК Д (продовження)

****

ДОДАТОК Е

