

**Секция 1. Геномика. Гены и болезни**

Генетические маркеры в селекции животных <i>Асланян М.М.</i>	5-7
Вклад систем негомологичной рекомбинации в процессы эволюции прокариот <i>Шестаков С.В., Карбышева Е.А.</i>	7-10

**Секция 2. Здоровье человека и космическая погода**

Сезонные механизмы системы гемостаза здоровых лиц и космическая погода <i>Паршина С.С., Самсонов С.Н., Токаева Л.К., Афанасьева Т.Н., Реутов В.П., Сорокина Е.Г.</i>	11-15
Космическая погода 2018: последствия для жизни на Земле <i>Самсонов С.Н.</i>	15-20
Геомангнитная возмущенность и гипертонические кризы <i>Самсонов С.Н., Петрова П.Г., Стрекаловская А.А., Паршина С.С., Кобякова С.Е.</i>	20-24

**Секция 3. Информационная образовательная среда**

Современные образовательные технологии для повышения качества образования и содействия трудоустройству выпускников <i>Алексеев С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К.</i>	25-34
Применение инновационных технологий при изучении «общественного здоровья и здравоохранения, экономики здравоохранения» <i>Ахеджак-Нагузе С.К., Редько А.Н.</i>	35-38
Фармацевтический маркетинг на стадии r&d. Проблема сильного решения <i>Сулов Н.И., Староверов С.С., Шапошников К.В.</i>	38-43

**Секция 4. Нейронауки, неврология и клиническая нейрофизиология**

Механизмы работы поврежденного мозга <i>Болдырева Г.Н., Шарова Е.В., Жаворонкова Л.А., Лысачев Д.А., Моререску С.И., Трошина Е.М., Скорятина И.Г., Смирнов А.С., Пронин И.Н.</i>	44-48
Компенсаторные ресурсы мозга после черепно-мозговой травмы <i>Купцова С.В., Жаворонкова Л.А., Максакова О.А., Скорятина И.Г.</i>	48-51
Постинсультная пластичность мозга при сенсорной афазии <i>Майорова Л.А., Алферова В.В., Петрушевский А.Г., Варламов С.А.</i>	51-54
Особенности электроэнцефалограммы при редком генетическом сочетании понтоцереbellлярной гипоплазии <i>Рыбалко О.Н., Янина Т.Ю.</i>	54-58
Особенности биоэлектрической активности головного мозга у пациентов с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом <i>Сазонова О.Б., Трошина Е.М., Стечкина А.Ф.</i>	59-63

**Секция 5. Оксид азота и продукты его метаболизма в биологических системах**

Сигнальные функции оксида азота <i>Жигачева И.В., Васильева С.В.</i>	64-68
Актуальные вопросы терагерцовой терапии на частотах оксида азота <i>Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Петрова В.Д., Капланова Т.И., Потапова М.В.</i>	68-72

Воздействие различных доз глутамата (GLU) и NO-генерирующего соединения (NaNO <sub>2</sub> ) на мозжечок лягушки <i>Реутов В.П., Самосудова Н.В., Сорокина Е.Г.</i>	72-86
Молекулярные механизмы действия миметиков нитрозильных ферредоксинов - доноров NO <i>Санина Н.А.</i>	86-90
Роль аутоиммунных процессов при гипоксическом и травматическом повреждении мозга у детей <i>Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Карасева О.В., Глоба О.В., Хмельницкий К.Е., Реутов В.П., Рошаль Л.М., Пинелис В.Г.</i>	90-96
 <b>Секция 6. Проблемы, методы и продукты современной биотехнологии</b>	
Обоснование идентификационных критериев (маркеров) рыбного сырья для целей выявления фальсификации <i>Абрамова Л.С., Козин А.В., Сытова М.В.</i>	97-101
Функциональные пищевые ингредиенты, обогащенные полифенолами и/или экидестероидами <i>Петров Н.А., Зорин С.Н., Володин В.В., Володина С.О., Киселева Т.Л., Кочеткова А.А., Мазо В.К.</i>	101-106
Биотестирование почвы с использованием спектроскопии внутреннего отражения <i>Саванина Я.В.; Барский Е.Л., Фомина И.А., Лобакова Е.С.</i>	106-110
 <b>Секция 7. Проблемы фармакологии</b>	
Разработка и валидация метода количественного определения нового лекарственного средства на основе производного пиперидинмонометилтиазолоксантина в плазме крови животных <i>Гурто Р.В., Яновская Е.А., Брюшнина О.С., Белоусов М.В.</i>	111-116
Показатели крови при кровопотери и введении ионизированной жидкости с отрицательным ОВП <i>Желудев А.А.</i>	116-120
Скрининговые исследования на животных в онкофармакологии. Право на существование <i>Зуева Е.П., Разина Т.Г., Амосова Е.Н., Лопатина К.А., Рыбалкина О.Ю., Сафонова Е.А.</i>	121-125
Исследование противовоспалительной активности инновационного лекарственного средства на основе гексаазоизоюрцитана <i>Лопатина К.А., Крылова С.Г., Зуева Е.П., Поветьева Т.Н., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В., Суслов Н.И.</i>	125-128
Молекулярная физика - потенциал для нужд фармакологии <i>Мухачев А.Я., Глинкина Л.Н., Миллер Г.Г.</i>	129-134
Рябина обыкновенная ( <i>Sorbus aucuparia L.</i> ), как источник средств для повышения эффективности химиотерапии опухолей <i>Разина Т.Г., Зуева Е.П., Рыбалкина О.Ю., Исайкина Н.В., Хамитова В.Р.</i>	134-138
Новые подходы к лечению поражений кожи <i>Резников К.М., Новикова Л.А.</i>	139-143
Влияние экстракта плодов рябины обыкновенной ( <i>sorbus aucuparia l.</i> ) на развитие доксорубицин-индуцированного анемического синдрома <i>Рыбалкина О.Ю., Кириленко К.М., Федорова Е.П., Разина Т.Г., Исайкина Н.В., Зуева Е.П.</i>	143-146

Полисахариды <i>tussilago farfara l.</i> как перспективные составляющие химиотерапии опухолей <i>Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Разина Т.Г., Вычужанина А.В., Гурьев А.М., Белоусов М.В., Зуева Е.П.</i>	147-150
 <b>Секция 8. Гемоглобины, кровь и железо, и стресс</b>	
Стрессовые воздействия на структуру мембран эритроцитов <i>Алексеева О.М., Ким Ю.А.</i>	151-155
Гемоглобин как носитель биологического сигнала <i>Космачевская О.В., Топунов А.Ф.</i>	155-159
Диагностика заболеваний крови: от прошлого к настоящему <i>Насыбуллина Э.И., Никитаев В.Г., Клюев К.И., Топунов А.Ф.</i>	160-164
Рентгеновские исследования молекулярных механизмов нарушения функций гемоглобина в условиях, воспроизводящих действие эндогенных факторов в живых организмах <i>Новикова Н.Н., Якунин С.Н., Юрьева Э.А., Коновалов О.В., Степина Н.Д., Рогачев А.В., Космачевская О.В., Топунов А.Ф.</i>	165-168
Изучение комплексообразования железа с рецепторной тирозинкиназой IRR. <i>Можжаев А.А., Петренко А.Г.</i>	168-171
Электрогенные металлы (К, Na, Са): существуют ли границы их нормального содержания в эпидермисе? <i>Петухов В.И., Дмитриев Е.В., Баумане Л.Х.</i>	171-176
Вероятность агрегации эритроцитов в артериальных сосудах <i>Смирнов И.Ю.</i>	176-180
Совместное воздействие электромагнитного поля низкой частоты и кадмия на природные биополимеры <i>Текуцкая Е.Е.</i>	181-186
Эндогенные глобины и трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация <i>Тифлова О.А., Дмитриев А.К.</i>	186-190
Множественные формы гемоглобина в биохимии и диагностике <i>Топунов А.Ф., Космачевская О.В.</i>	190-195
 <b>Секция 9. Медицинская физика: диагностика и лечение</b>	
Применение гидроманжетной технологии для оценки гемодинамических параметров <i>Герашенко М.С., Герашенко С.И., Волчихин В.И., Бадеева Е.А., Янкина Н.Н.</i>	196-201
Особенности перфорации биоткани лазерным оптоволоконном <i>Дмитриев А.К., Коновалов А.Н., Кортуннов В.Н., Ульянов В.А.</i>	201-205
Информационно-технологическое обеспечение ПЛТ онкоофтальмологических новообразований <i>Карпунин В.О., Черных А.Н.</i>	205-210
Организация обратной связи в волоконных хирургических лазерах. <i>Коновалов А.Н., Дмитриев А.К., Кортуннов В.Н., Ульянов В.А.</i>	210-215
Метрологический анализ волоконно-оптического канала измерения расхода жидкости в системе жизнеобеспечения космонавтов <i>Мурашкина Т.И., Бадеева Е.А., Истомина Т.Ю., Шачнева Е.А., Хасанишина Н.А., Янкина Н.Н.</i>	215-221
Антимикробная фотодинамическая терапия – эффективный метод инактивации патогенных бактерий. <i>Филипова Н.И., Тиганова И.Г., Макарова Е.А., Меерович Г.А., Ахлюстина Е.В., Алексеева Н.В., Лукьянец Е.А., Романова Ю.М.</i>	221-225

Технологические этапы протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований <i>Черных А.Н., Карпунин В.О.</i>	225-234
--	---------

**Секция 10. Экспериментальная биология и клиническая медицина в третьем тысячелетии**

Определение динамики стрессоустойчивости по методике «Прогноз» после транскраниальной электростимуляции <i>Ахеджак-Нагузе С.К.</i>	235-238
Оценка стрессоустойчивости после применения транскраниальной электростимуляции <i>Ахеджак-Нагузе С.К.</i>	238-241
Анализ медико-социальных аспектов детей с аномалией развития головы и шеи <i>Ковелина Т.А., Гурбич Г.И., Васильев Ю.А., Плотникова Е.Ю.</i>	241-244
Сопутствующие заболевания у детей с врождённой патологией челюстно-лицевой области в крупном регионе РФ <i>Редько А.Н., Пильщикова В.В., Васильев Ю.А.</i>	244-249
Опыт нейтрализации вредной привычки у детей до полутора лет <i>Карипиди Р.К., Васильев Ю.А., Верапатвелян А.Ф., Васильев Ю.Ю.</i>	249-252
Структура мембран и болезнь Альцгеймера <i>Герасимов Н.Ю., Неврова О.В., Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б.</i>	252-256
Изменения продукции альдостерона при воздействии дихлордифенилтрихлорэтана <i>Обернихин С.С., Яглова Н.В., Цомартова Д.А.</i>	256-260
Организационные аспекты блока родовспоможения <i>Гурбич Г.И., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю.А.</i>	261-265
Развитие тимуса при пренатальном воздействии ДДТ <i>Цомартова Э.С., Яглова Н.В.</i>	265-269
Дисрапторное действие ДДТ на функционирование сетчатой зоны надпочечников <i>Цомартова Д.А.</i>	269-271
Экспрессия Nhex в хромаффинных клетках надпочечников <i>Яглова Н.В., Назимова С.В., Яглов В.В., Обернихин С.С.</i>	272-274

**Секция 11. Системный анализ и математическое моделирование в биологии и медицине**

Количественные значения требований к стойкости функции безопасности информации в медицинских информационных системах <i>Есауленко И.Э., Гулов В.П., Хвостов В.А., Косолапов В.П., Сыч Г.В., Пелешенко Е.И.</i>	275-280
Стратегия предотвращения суставных болей и остеохондроза позвоночника <i>Черкасов А.Д.</i>	280-289

**Секция 4. Нейронауки, неврология и клиническая нейрофизиология**

Нейровизуализация: что важнее мозговые волны или мозговые картинки? <i>Гнездицкий В.В., Борисова О.М.</i>	290-296
--	---------

**Секция 5. Оксид азота и продукты его метаболизма в биологических системах**

Экспрессия NO-синтаз в зависимости от скорости роста опухоли <i>Дерягина В.П., Савлущинская Л.А., Кривошеева Л.В., Голубева И.С., Рыжова Н.И.</i>	297-301
--	---------

УДК 5.75

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ**

*Марлен Мкртичевич Асланян, д.б.н., профессор кафедры генетики*

*E-mail: marlen32@mail.ru*

*ФГБОУ высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ)*

*119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12. Биологический факультет*

*В статье обсуждаются основные проблемы и методы использования генетических маркеров, детерминирующих отдельные хозяйственно полезные признаки сельскохозяйственных животных, что позволяет вести направленную «селекцию с помощью маркеров» – маркер-зависимой селекции (MAS). В отличие от традиционного аналога селекция по генетическим маркерам дает возможность прогнозировать продуктивность даже новорожденных животных и даже эмбрионов.*

*Ключевые слова: сигнальные гены-сигналы, генетическое картирование, качественные и количественные признаки, маркер-зависимая селекция (MAS), QTL-генетические локусы, влияющие на величину количественного признака, ДНК-маркеры.*

Одним из основоположников генетики и селекции животных в нашей стране являлся выдающийся биолог - выпускник Московского университета 1914 года – академик Александр Сергеевич Серебровский. Весьма плодотворным для А.С. Серебровского оказался период, связанный с работой на Аниковской генетической станции (1921-1928 гг.). В Аниково он заведовал лабораторией генетики курицы и генетики овец. В 1922 г. его лабораторию посещал Герман Меллер, который по возвращении в США прислал линии плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Для генетического анализа количественных признаков Серебровский предложил использование «сигналей - сигнальных генов» - прообраза современных генетических маркеров: «Сигнальными генами, или сигналами, мы называем удобные для менделистических наблюдений гены с более или менее известной локализацией, которые, не влияя на изучаемый трансгрессирующий признак облегчают генетический анализ этого признака, позволяя следить за наследованием того участка хромосомы, в котором эти сигналы расположены. Так как на этом участке хромосомы могут находиться некоторые из генов, участвующих в определении полимерного признака, то при помощи сигналей мы оказываемся в состоянии следить за их наследованием не по собственным их фенам, а по фену расположенной вблизи от них сигналей». В 1926 г. этим методом Купченко в лаборатории Серебровского определил влияние отдельных хромосом на яйценоскость дрозофилы. При более детальном изучении во второй хромосоме, «осигналенной доминантным геном *Lobe*, удалось открыть не менее четырех генов, влияющих на величину яиц (один ослабляющий аллель и три усиливающих аллеля в правой части хромосомы. Метод «сигналей» не был реализован в первой половине XX-го века ввиду отсутствия методов картирования генов на хромосомах хозяйственно-полезных видов культурных растений и сельскохозяйственных животных.

Современные молекулярно-генетические маркеры включают в себя две группы биологических макромолекул. А. Белковый полиморфизм: 1) системы групп крови АВО, MN, Rh и др.; 2) аллозимные системы белков - гемоглобины, трансферины, оксидазы и др.

Б. ДНК-маркеры:

1) Полиморфизм длин рестриционных фрагментов (ПДРФ/RFLP);

2) Микросателлиты, или SSR (Simple Sequence Repeats), или STR (Simple Tandem Repeats) состоят из участков ДНК длиной в 2 – 6 п.о. (пар оснований) – тандемно повторенных много раз (например, САСАСАСАСАСАСА). Минисателлиты - длина повторов составляет от десяти до нескольких сотен пар оснований (п.о.).

3) Полиморфизм длин амплифицируемых фрагментов (Amplified fragment length polymorphisms - AFLP) является методом ДНК-фингерпринта (отпечатки пальцев);

4) STS маркер (Меченный сайт последовательности - Sequence Tagged Site) является ДНК последовательностью, которая встречается в геноме только в известном месте. Они необязательно бывают полиморфными и используются для построения физических карт;

5) SNP являются вариантами по одному нуклеотиду, которые не меняют общую длину последовательности ДНК в этом регионе. SNP встречаются по всему геному. Они широко распространены и встречаются в геноме человека с частотой один SNP на каждую 1000 п.о.

Одним из основных направлений в современной селекционной работе является поиск и использование генетических маркеров, детерминирующих отдельные хозяйственно полезные признаки сельскохозяйственных животных, что позволяет вести направленную «селекцию с помощью маркеров» – маркер-зависимой селекции (англ. MAS) Чем же она хороша? В отличие от традиционного аналога, селекция по генетическим маркерам дает возможность прогнозировать продуктивность даже новорожденных поросят. Ее широкое внедрение в селекционную практику позволит значительно ускорить селекционный прогресс, сократив сроки, стоимость и повысив точность оценки племенных качеств.

В настоящее время в распоряжении исследователей имеются миллионы генетических маркеров. Описаны различные системы групп крови сельскохозяйственных животных у крупного рогатого скота 12, у овец 7, у свиней 17, у лошадей 7. Установлено 14 систем групп крови и более 60 антигенов у кур. У собак описаны 10 систем групп крови, у кошек 3. Системы групп крови позволяют объединять животных одного биологического вида в определенные группы по сходству антигенов их крови.

Микросателлитные маркеры, с принадлежащим им природным полиморфизмом, имеют большое значение в анализе генетического разнообразия и происхождения домашних животных. Это анонимные, не несущие кодирующих функций последовательности ДНК, на долю которых приходится до 30 % генома. Функциональное значение их, как и большинства систем групп крови, в точности не известно, хотя, как предполагают, значение их в организме достаточно велико.

Исследование животных по ДНК-микросателлитам позволяет точнее оценить гетерозиготность популяции, то есть ее генетическое разнообразие. С помощью ДНК-микросателлитов можно оценить степень инбридинга и тем самым снизить вероятность близкородственного спаривания, а также повысить точность учета результатов по выявлению происхождения животных. К преимуществам микросателлитного анализа следует отнести высокую точность и достоверность исследований, возможность постановки мультиплексных анализов.

Значение ДНК-маркеров в селекции на повышение продуктивных качеств животных хорошо известно, и они успешно внедряются в практику племенной работы в лучших хозяйствах.

Наиболее распространенная схема MAS включает следующие этапы: выявление родительских форм, различающихся по интересующему селекционера хозяйственному признаку; создание популяции, сегрегирующей по этому признаку, и генетических карт, позволяющих соотнести гены и признаки с фланкирующими их ДНК-маркерами; выбор ДНК-маркеров, косегрегирующих с соответствующим признаком; валидизация этих маркеров на других генотипах; разработка технологии с целью практического использования выбранных ДНК-маркеров.

Основной интерес при использовании молекулярного подхода в селекции полигенных признаков представляют локусы, обозначенные термином QTL (quantitative trait loci) – дискретные, относительно устойчивые локусы, которые независимо от условий в той или иной степени сказываются на величине количественных признаков. Считается, что каждый

QTL – это еще неизвестный аллель одного из полигенов, оказывающий влияние на изменчивость фенотипических признаков. Следовательно, одна из задач генетики состоит в идентификации, исследовании, картировании и клонировании QTL.

Использование животных с желательными генотипами по известным генам-маркерам и элиминация нежелательных генотипов позволят повысить, а также удерживать на высоком уровне продуктивные качества животных и выявить особей устойчивых к определенным заболеваниям.

Сегодня приоритетными являются гены, которые определяют значение количественных, качественных признаков. В селекции свиней уже освоены гены-кандидаты количественных признаков, отвечающие за скорость роста (хромосомы 1, 4, 6, 7, 13), откормочные свойства (хромосомы 4, 6, 7, 13), качество мяса (хромосомы 3, 4, 12, 15), величину гнезда (хромосомы 7, 8), длину кишечника (хромосома 4), интенсивность иммунного ответа (хромосомы 1, 4, 6).

### Литература

1. Багиров, Кленовицкий П.М., Зиновьева Н.А. Генетическое картирование сельскохозяйственных животных. Изд. ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Дубровицы- Моск. Обл. 2015. 165 с.
2. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т. Введение в геномную селекцию животных. ГНУ ЦЭЭРБ Россельхозакадемии. – М.: Приятная компания, 2012. 255 с.
3. Зиновьева Н.А., Кленовицкий П.М., Гладырь Е.А. Моисейкина Л.Т., Генджиева О.В. Биотехнологические методы в зоотехнии и ветеринарии. / Элиста: ЗАО, 2014. 256 с.
4. Рокицкий П.Ф. Послесловие ответственного редактора монографии «Серебровский А.С. Генетический анализ. М., 1970, изд-во «Наука». С.232-237.
5. Серебровский А.С. Исследование по генетике курицы: Сборник «Генетика домашней курицы». М., изд-во «Новая деревня». 1926
- 6.. Серебровский А.С. Генетический анализ. М., 1970, изд-во «Наука». 342 с.
- 7.. Харченко П.Н., Глазко В.И. ДНК-технологии в развитии агробиологии. М.: Воскресение, 2006. 480 с.

Genetic markers in animal breeding. Aslanyan marlen, professor, the department of genetics  
*Marlen Mkrtichevich Aslanyan, PhD, professor, Lomonosov Moscow State University (MSU)*  
*The article discusses the main problems and methods of using genetic markers that determine certain economically useful signs of agricultural animals, which allows directing "selection by means of markers" - marker- associated selection (MAS). The selection by genetic markers makes it possible to predict the productivity of even newborn animals and even embryos.*  
*Key words: signaling signal genes, genetic mapping, qualitative and quantitative features, marker-associated selection (MAS), quantitative trait loci (QTL)-genetic loci that affect quantitative trait, DNA markers.*

УДК: 577.2.08

### ВКЛАД СИСТЕМ НЕГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ В ПРОЦЕССЫ ЭВОЛЮЦИИ ПРОКАРИОТ

**Шестаков Сергей Васильевич**<sup>1,2</sup>, д.б.н., профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, [shestakovgen@mail.ru](mailto:shestakovgen@mail.ru)

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН<sup>1</sup>, 119991, Москва, ул. Губкина 3  
<http://www.vigg.ru>

**Карбышева Елена Алексеевна**<sup>2</sup>, к.б.н., ведущий научный сотрудник, [karbisheva@mail.ru](mailto:karbisheva@mail.ru), Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова<sup>2</sup>, 119234, Москва, ул. Ленинские горы, д.1, стр. 12.  
<http://www.bio.msu.ru>

*Клетки прокариот обладают Ku-белок зависимой, а также RecBCD-контролируемой системами негомологичной рекомбинации, обеспечивающей репарацию двунитевых разрывов в ДНК. Предполагается, что эта система участвует в интеграции гетерологичной ДНК в геном реципиента при горизонтальном переносе генов от филогенетически далеких доноров. Таким образом, негомологичная рекомбинация может играть важную роль в процессах эволюции прокариот.*

*Ключевые слова: эволюция, прокариоты, репарация ДНК, негомологичная рекомбинация, горизонтальный перенос генов*

Приобретение новых признаков через горизонтальный перенос генов (ГПП) от филогенетически далеких доноров может радикально менять темпы и направления эволюционного процесса, обеспечивая освоение новых экологических ниш [1, 2]. Такие процессы в ходе эволюции происходили даже между доменами: массивный ГПП от бактерий в археи [3] привел, в частности, к возникновению мезофильных аэробных галофильных архей из анаэробных метаногенов в результате переноса генов, ответственных за системы дыхания. При отдаленных ГПП в геномах реципиентов могут отсутствовать нуклеотидные последовательности, гомологичные генам донора, что препятствует интеграции чужеродных ортологов в хромосомы реципиента путем гомологичной рекомбинации. «Чужие» гены (генные блоки) передаются преимущественно в составе плазмид, профагов, интегронов и других мобильных элементов через системы конъюгации, трансдукции и т.д. В ходе геномных перестроек такие гены могут затем перемещаться в хромосому и подвергаться амелиорации, полностью встраиваясь в гено-метаболические сети нового хозяина.

Приживление чужеродного геномного фрагмента (например, из трансформирующей экзогенной ДНК), возможно также и в результате прямой интеграции в геном реципиента путем негомологичной рекомбинации. Мы полагаем, что такую интеграцию генов-ксенологов (не имеющих гомологов в клетке реципиента) может осуществлять система репарации двунитевых разрывов в ДНК, способная соединять концы, образующиеся в результате разрыва. Эта система, обнаруженная у многих, но не у всех бактерий [4, 5] и архей [6] получила название негомологичной рекомбинации путем соединения концов (nonhomologous end-joining механизм – NHEJ). Система включает комплекс белков, обеспечивающих сближение концов (функция Ku-белка), подготовку концевых участков для сшивания (специализированные РНК/ДНК-полимеразы и фосфоэстеразы) и собственно акт лигирования концов (особая АТФ-зависимая лигаза) [5,7]. На первом этапе ключевую роль играет Ku-белок, стабилизирующий положение сближенных концов. На следующем промежуточном этапе происходит подготовка к лигированию, которую осуществляют полимеразы Pol, использующая преимущественно рибонуклеотиды, и фосфодиэстераза PE, участвующая в резекции выполнившего свою роль рибонуклеотида [8]. Оптимизированные «тупые» концы или сближенные в Ku-комплексе участки микрогомологии, образующиеся при возникновении двух однонитевых разрывов в противоположащих нитях ДНК (ситуация, сходная с действием рестриктаз), готовы для лигирования. Завершающий этап выполняется АТФ-зависимой лигазой LigD, которая у большинства прокариот является мультифункциональным ферментом, содержащим три автономных домена, ответственных за Pol, PE и Lig-активности. По наличию и взаимному расположению доменов внутри одного полипептида обнаружены различия между таксонами. Видоспецифичные различия касаются и числа копий генов Ku-белка и лигаз (помимо лигазы LigD у некоторых прокариот выявлены и другие формы АТФ-зависимых лигаз: LigC, LigB, функционально схожие с LigD). Однако, принципы организации NHEJ-систем одинаковы у всех прокариот [7, 8, 9]. Это подтверждается тем, что Ku-белок взаимодействует с LigD *in vitro* и кодируется



геном, который часто входит в один оперон с геном *LigD* или экспрессируется и регулируется вместе с *LigD*.

Помимо Ku-белок зависимой NHEJ-системы репарации у некоторых прокариот (в частности, у *Escherichia coli* [10]) выявлена альтернативная (АЕJ) система негомологичной рекомбинации, которая не связана с функцией Ku-белка и не зависима от *RecA*-гена, необходимого для гомологичной рекомбинации. В АЕJ-системе используются короткие участки микрогомологии для соединения концов при участии белков *RecBCD*-системы и НАД-зависимой лигазы *LigA*, необходимой для репликации ДНК [10].

Обе системы репарации имеют важное значение для поддержания стабильности геномов, обеспечивая защиту клеток от повреждающего ДНК действия ионизирующей радиации, активных форм кислорода и различных стрессовых факторов (высыхания, осмотического шока и т.п.). Система NHEJ наиболее активна в стационарной фазе роста клеток и при споруляции, когда имеется хромосома без хроматид и механизм репарации на основе гомологичной рекомбинации работать не может [11]. Следует отметить, что функционирование систем негомологичной рекомбинации вносит определенный вклад в процессы эволюции и через влияние на генетическую изменчивость, обусловленную мутациями. На промежуточных этапах подготовки к лигированию в результате действия ДНК/РНК полимераз, РЕ-фосфоэстераз и *RecBCD*-нуклеаз может происходить замена оснований, включение нового или исключение нуклеотида, что ведет к возникновению мутаций в участках репарации разрывов.

Однако в этом кратком обзоре мы хотим подчеркнуть прежде всего потенциальную значимость систем репарации двунитевых разрывов в ДНК для реализации событий горизонтального переноса генов между филогенетически далекими партнерами, т.е. для интеграции чужеродных фрагментов ДНК в геном реципиента путем состыковки «тупых» концов или через короткие участки микрогомологии, не способные к осуществлению канонической гомологичной рекомбинации. В ряде публикаций [7, 10] отмечалось, что репаративные системы негомологичной рекомбинации могут быть вовлечены в процессы интеграции в геном хозяина провирусов или генных блоков устойчивости к антибиотикам. Возможность участия NHEJ-системы в реализации ГПГ от далеких доноров косвенно показана при сравнении видов, способных к Ku-зависимой репарации или лишенных этой системы [12]. Вероятность отдаленных ГПГ у видов без NHEJ-системы ниже, чем у прокариот, обладающих геном, кодирующим Ku-белок. Эти сведения и данные сравнительной геномики большого числа видов прокариот позволяют предположить, что системы негомологичной рекомбинации не только участвуют в контроле генетической стабильности, но и могут играть существенную роль в процессах «приживания» чужеродных генов, приобретаемых через ГПГ. Анализируя экологическую значимость репарационных процессов негомологичной рекомбинации можно предполагать, что эффективность отдаленных ГПГ как инструмента эволюционных преобразований должна быть: 1) выше у видов, обладающих активными системами NHEJ (и/или АЕJ); 2) будет проявляться прежде всего в неблагоприятных условиях, когда в геноме возникают поломки и увеличивается «потребность» в расширении диапазона генетической изменчивости, обеспечивающей экологическую адаптацию. Частота отдаленных ГПГ существенно зависит от таких факторов как температура, аэробные/анаэробные условия, ацидофильность и т.п. Эффективные ГПГ между бактериями и археями отмечены в гипертермофильных наземных и глубоководных морских источниках, в анаэробных донных экосистемах [13]. Высокая частота ГПГ коррелирует с высокой плотностью популяций, активными межклеточными взаимодействиями в таксономически гетерогенных сообществах, в биопленках [14]. Прослеживается тенденция к сочетанию способности расти в биопленках с действием Ku-зависимой негомологичной рекомбинации у ряда бактерий и архей, обладающих большой долей генов-ксенологов, полученных через ГПГ-системы. Наличие экзогенной гетерологичной ДНК в среде обитания, вирус-векторов с широким кругом хозяев, ген-переносящих агентов ГТА-

типа важны для реализации ГПГ с участием механизмов негомологичной рекомбинации. Исследование взаимосвязей между функционированием систем негомологичной рекомбинации, экологическими условиями и генетической компетентностью партнеров ГПГ является актуальной задачей эволюционной филогеномики.

### Литература

1. Gogarten J., Townsend J. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution // *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. Vol. 3. P. 679-687.
2. Шестаков С.В. Как происходит и чем лимитируется горизонтальный перенос генов у бактерий // *Эколог. Генетика.* 2007. Т.5, №2. С.12-24.
3. Nelson-Sathi S., Sousa F.L., Roettger M. et al. Origin of major archaeal clades correspond to the gene acquisition from bacteria // *Nature.* 2015. V.517. P.77-80.
4. Weller G.R., Kysela B., Roy R. et al. Identification of DNA non-homologous end-joining complex in bacteria // *Science.* 2002. V.297. P.1686-1689.
5. Shuman S., Glickman M.S. Bacterial DNA repair by non-homologous end joining // *Nature Rev. Microbiol.* 2007. V.5. P. 852-861.
6. Arvind L., Koonin E.V. Prokaryotic homologs of the eukaryotic DNA-end-binding protein Ku, novel domains in the Ku protein and prediction of a prokaryotic double-strand break repair system // *Genome Res.* 2001. V.11. P.1365-1374.
7. Pitcher R.S., Brissett N.C., Doherty A.J. Non homologous end-joining in bacteria: a microbial perspective // *Ann. Rev. Microbiol.* 2007. V.61. P.259-282.
8. Bartlett E.J., Brissett N.C., Doherty A.J. Ribonucleolytic resection is required for repair of strand displaced non-homologous end-joining intermediates // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V.110. E1984-E1901.
9. Bhattarai H., Gupta R., Glickman M.S. DNA ligase C1 mediates the LigD-independent non homologous end-joining pathway of *Mycobacterium stegmatis* // *J. Bacteriol.* 2014. V.196 (19). P.3366-3376.
10. Chayot R., Montagne B., Mazei D., Ricchetti M. An end-joining repair mechanisms in *Escherichia coli* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107(5). P. 2141-2146.
11. de Vega M. The minimal *Bacillus subtilis* non-homologous end-joining repair machinery // *PloS One.* 2013. V.8 (5). e64232,
12. Popa O., Hazkani-Covo E., Landan G. et al. Directed networks reveal genomic barriers and DNA repair bypasses to lateral gene transfer among prokaryotes // *Genome Res.* 2011. V.21. P.599-609.
13. Fuchsman C.A., Collins R.E., Rocap G., Brazelton W.J. Effect of the environment on horizontal gene transfer between bacteria and archaea // *Peer J.* 2017. V.5. e3865.
14. Frols S. Archaeal biofilms: widespread and complex // *Biochem. Soc. Trans.* V. 41. P. 393-398

Работа выполнена по гранту Программы президиума РАН №22 «Эволюция органического мира и планетарных процессов».

### Impact of the non-homologous recombination systems to the processes of prokaryotic evolution

*Shestakov S. V.* shestakovgen@mail.ru, N.Vavilov Institute of General Genetics, Russian academy of Sciences, Moscow; <http://www.vigg.ru>

*Karbysheva E. A.*, karbisheva@mail.ru, Lomonosov State University, Moscow, <http://www.bio.msu.ru>

*Prokaryotic cells possess Ku-protein dependent and RecBCD-controlled systems of non-homologous recombination repairing DNA double-strand breaks. It is presumed that these systems participate in integration of heterologous DNA into recipient genome during horizontal gene transfer from phylogenetically distant donors. Thus non-homologous recombination may play an important role in driving of prokaryotic evolution.*

*Key words: evolution, prokaryotes, DNA repair, non-homologous recombination, horizontal gene transfer*

УДК 616.12. -009.72-085.849.11(045)-611.018.8

## СЕЗОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА

*Светлана Серафимовна Паршина<sup>1</sup>, д.м.н., профессор,  
e-mail: lparshinasvetlana@mail.ru*

*Сергей Николаевич Самсонов<sup>2</sup>, к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник,  
e-mail: s\_samsonov@ikfia.ysn.ru*

*Лиана Константиновна Токаева<sup>1</sup>, д.м.н., профессор,  
e-mail: 624494@mail.ru*

*Татьяна Николаевна Афанасьева<sup>1</sup>, к.м.н., ассистент,  
e-mail: protegemoi18@mail.ru*

*Валентин Палладиевич Реутов<sup>3</sup>, д-р. биол. наук, вед. науч. сотр.  
valentinreutov@mail.ru*

*Елена Геннадьевна Сорокина<sup>4</sup>, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.  
sorokelena@mail.ru*

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Россия, 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112; <http://www.sgmi.ru>

<sup>2</sup>ФГБУН Институт космических исследований и аэронавтики им. Ю.Г. Шафера СО РАН, Россия, 677980, Якутск, пр. Ленина, 31; <http://www.ikfia.ysn.ru>

<sup>3</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН Россия, 117485, Москва, ул. Бултерова, 5А; <http://www.ihna.ru>

<sup>4</sup>ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей МЗ РФ Россия, 119296, Москва, Ломоносовский просп., 2/62; <http://www.nczd.ru>

*Изучены сезонные биоритмы системы гемостаза здоровых лиц, выявлены сезонно-зависимые и сезонно-независимые параметры гемокоагуляции. Проанализирована связь сезонных биоритмов системы гемостаза и сезонной динамики геомагнитной возмущенности.*

*Ключевые слова: гемокоагуляция, сезонные биоритмы, геомагнитная возмущенность. здоровые лица.*

**Введение.** Ритмичность биологических функций, основных физиологических, биохимических и биофизических процессов, является одним из условий существования организма человека и непременным компонентом в структуре адаптационных механизмов [1, с. 20]. Жизнеспособность любого организма определяется наличием у него динамически устойчивой временной организации, способной адаптироваться к ритмическим изменениям внешней среды, при этом воздействия внешней среды являются главными стимуляторами биоритмов организма [2, с. 11]. Одними из наиболее важных являются сезонные биоритмы. Известно, что в сезонной перестройке принимают участие все органы и системы человека [2, с. 29], при этом одной из важнейших является система гемостаза, имеющая суточные, многодневные и сезонные ритмы функционирования [3, с. 9; 4, с.15].

**Цель.** проанализировать связь геомагнитной возмущенности и особенностей сезонных биоритмов системы гемостаза здоровых лиц.

**Объекты и методы исследования.** Обследованы 98 практически здоровых лиц (ЗЛ): 25 чел. обследовались в зимний период, 23 чел. – в весенний, 19 чел. – в летний и 30 чел. - в осенний сезоны. Сроки исследования — 1997-2002 г.г.

Оценивались: активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АПТВ), активированное время рекальцификации плазмы (АВР), протромбиновое время (ПВ), содержание фибриногена (ФГ), активность антитромбина-III (Ат-III), содержание эндогенного гепарина (ГП) и нарушения в системе протеина С по нормализованному отношению РАПС (НО РАПС, усл. ед.), свидетельствующему о

резистентности Va фактора к активированному протеину С, и нормализованному отношению ПрС (НО ПрС, усл.ед.), фибринолитическая активность плазмы по активности XIIIa-калликреин-зависимого эуглобулинового фибринолиза (ЭФ).

Геомагнитная возмущенность оценивалась по Кр-индексу. Определялся средне-сезонный Кр-индекс для каждого сезона за указанный период исследования.

**Результаты.** За период наблюдения Кр-индекс составил 1277 для зимнего сезона, 1550 — для весеннего, 1478 — для летнего, 1689 — для осеннего сезонов. Таким образом, за указанный период наибольшая геомагнитная возмущенность наблюдалась в весенний и осенний сезоны в сравнении с зимним и летним, максимальные значения геомагнитной возмущенности установлены для осеннего сезона в сравнении с остальными сезонными периодами ( $p < 0,05$ ). Наиболее резкие межсезонные изменения геомагнитной возмущенности ( $p < 0,05$ ) в течение всего года связаны прежде всего с осенним сезоном. Так, при переходе от летнего сезона к осеннему отмечено резкое повышение геомагнитной возмущенности (от 1478 до 1689) а при переходе от осени к зиме – резкое снижение (с 1689 до 1277). Кроме того, резкое повышение геомагнитной возмущенности отмечено и при переходе от зимнего сезона к весеннему (с 1277 до 1550).

Установлено, что у ЗЛ процессы свертывания и фибринолиза имеют сезонную зависимость, однако резких изменений при смене одного сезона на другой не отмечается.

Акрофазы (максимальные значения) показателей начальных фаз свертывания крови (АПТВ, АВР и ПВ) приходятся на весну, когда они становятся максимальными в сравнении с осенью, что свидетельствует о наибольшей выраженности процессов сезонной гипокоагуляции. Эти механизмы поддерживаются и III фазой свертывания крови – весной содержание ФГ минимальное, его акрофаза выявлена осенью (таблица 1). Таким образом, весной отмечена минимальная активность прокоагулянтного потенциала системы гемостаза.

Большинство показателей антикоагулянтного потенциала (Ат-III, ПрС, НО РАПС) обладают хронорезистентностью – их межсезонной динамики не выявлено. Содержание гепарина сезонно-зависимо - минимально летом в сравнении с зимним периодом ( $p < 0,05$ ).

При переходе от весеннего к летнему периоду происходит укорочение АПТВ, АВР, ПВ, повышается содержание ФГ, снижается уровень эндогенного ГП. При этом летние значения ПВ, ФГ и ГП приобретают отличие от зимних показателей ( $p < 0,05$ ). Фибринолитическая активность крови максимальная в сравнении с осенне-зимним периодом ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Таким образом, летом у ЗЛ развивается гиперкоагуляция и компенсаторное увеличение активности фибринолиза в сравнении с зимним сезоном.

В осенний период укорочение АПТВ, АВР, ПВ приобретает статистическую достоверность в сравнении с весенним сезоном ( $p < 0,05$ ), содержание ФГ также значительно выше, чем весной ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Активность ЭФ осенью существенно превышает весенний показатель ( $p < 0,05$ ), снижаясь в сравнении с летним периодом ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Таким образом, осенний сезон характеризуется наиболее выраженной гиперкоагуляцией при наличии компенсаторно высокой активности фибринолиза и системы ПрС.

В зимний период осенняя гиперкоагуляция сохраняется, различия показателей системы гемостаза зимой и осенью не выявлено ( $p > 0,05$ ) (таблица 1). Вместе с тем в течение зимы происходит переход от осенней гиперкоагуляции к весенней гипокоагуляции. В сравнении с летом зимой менее выражена активность свертывания крови: значение ПВ выше ( $p < 0,05$ ), а содержание ФГ ниже ( $p < 0,05$ ), чем летом (таблица 1).

Таким образом, сезонные биоритмы системы гемостаза у ЗЛ характеризуются наличием сезонно-зависимых и сезонно-независимых параметров. Сезонно-независимыми (хронорезистентными) являются Ат-III, ПрС, НО РАПС, то есть система естественных антикоагулянтов. Остальные показатели имеют сезонную зависимость, однако в большинстве своем не имеют резких колебаний в соседних сезонах: динамика проявляется преимущественно только к противоположному сезонному периоду (осень – в сравнении с весной, зима – в сравнении с летом и т.п.), что свидетельствует о ведущем механизме плавного перехода к полярным значениям. Для ЗЛ характерны максимум гиперкоагуляции – осенью и максимум гипокоагуляции – весной. Зимний и летний периоды являются переходными. При этом гиперкоагуляционные сдвиги в зимнее время компенсируются в основном системой естественных антикоагулянтов, а в летнее – системой фибринолиза. Весенний сезон отличается минимальной активностью ЭФ и максимальной активностью антикоагулянтов, а осенний – снижением антикоагулянтного потенциала и нарастанием активности ЭФ.

Таблица 1

Сезонная динамика показателей коагуляционного гемостаза и фибринолиза у здоровых лиц ( $M \pm m$ )

Показатели	Здоровые добровольцы (n=98)			
	Зима (n=25)	Весна (n=23)	Лето (n=19)	Осень (n=30)
АПТВ, сек.	32,1±1,2	33,5±0,8 * осень	29,4±0,9	27,8±0,9 * весна
АВР, сек.	62,5±1,9	63,8±1,8 * осень	60,7±1,6	59,8±1,7 * весна
ПВ, сек.	15,9±0,3 * лето	16,3±0,2 * осень	14,9±0,4 * зима	14,2±0,3 * весна
ФГ, г/л	3,00±0,08 * лето	2,82±0,11 * осень	3,29±0,13 * зима	3,33±0,10 * весна
Ат-III, %	86,7±2,0	89,9±2,1	87,8±3,4	85,9±2,3
НО ПрС, усл.ед.	0,78±0,06	0,76±0,08	0,74±0,09	0,75±0,11
НО РАПС, усл.ед.	1,13±0,14	1,15±0,11	1,29±0,31	1,19±0,18
ГП, ед/мл	8,21±1,14 * лето	8,73±1,19	6,52±0,39 * зима	7,31±0,97
ЭФ, мин.	7,75±0,99 * лето	8,58±0,20 * осень	6,09±1,25 * зима *осень	7,96±0,21 * весна * лето

Примечание:\* - различие между сезонами статистически достоверно,  $p < 0,05$ .

Сезонная динамика антикоагулянтного потенциала обеспечивается изменением содержания ГП, в то время как активность Ат-III характеризуется хронорезистентностью.

Еще одной особенностью сезонных биоритмов системы гемостаза ЗЛ является однонаправленность изменений показателей каждого из ее звеньев (прокоагулянтного, антикоагулянтного, фибринолитического), что свидетельствует о выраженной центральной регуляции и стабильности функционирования основных стресс-лимитирующих систем.

Анализ сезонных биоритмов гемокоагуляции и фибринолиза ЗЛ в зависимости от сезонной динамики геомагнитной возмущенности показывает, что у здоровых лиц даже резкие межсезонные колебания геомагнитной возмущенности не вызывают срыва компенсаторных механизмов системы гемостаза. Так, резкое повышение геомагнитной возмущенности при переходе от летнего к осеннему сезону и от зимнего к весеннему не

сопровождается достоверным межсезонным изменением ни одного показателя системы прокоагулянтов. Антикоагулянтные защитные механизмы вообще отличаются хронорезистентностью и не зависят от сезонных изменений (исключение – содержание гепарина). У ЗЛ единственной системой, реагирующей на резкие межсезонные колебания Кр-индекса, является система фибринолиза. Из всех изученных показателей гемокоагуляции и фибринолиза мы наблюдаем единственное межсезонное достоверное изменение - снижение активности фибринолиза - при переходе от летнего к осеннему сезону, когда происходит резкое повышение геомагнитной возмущенности. Таким образом, у ЗЛ биоритмы системы фибринолиза наиболее чувствительны к изменениям геомагнитной возмущенности.

Поскольку принцип цикличности лежит в основе нормальной жизнедеятельности живых систем, сезонные биоритмы организма человека (в том числе и системы гемостаза) также следует рассматривать именно с позиций данного принципа. Одним из ведущих механизмов, обеспечивающих полноценное функционирование организма человека, является цикл оксида азота [5, с. 353]. Существующая гипотеза о том, что цикл оксида азота является одним из важнейших акцепторов, обеспечивающих влияние факторов космической погоды на процессы жизнедеятельности человека [6, с. 166], позволяет предположить его участие и в формировании сезонных биоритмов гемокоагуляции и фибринолиза. При этом именно благодаря цикличности регуляторных механизмов, вероятно, обеспечивается устойчивость гемокоагуляционного потенциала здоровых лиц при изменениях геомагнитной возмущенности.

**Выводы.** У здоровых лиц сезонные биоритмы гемокоагуляции и фибринолиза характеризуются наличием сезонно-независимых и сезонно-зависимых механизмов. Ведущим защитным механизмом является хронорезистентность системы естественных антикоагулянтов (сезонно-независимое сохранение их активности в течение всего года). Прокоагулянтные и фибринолитические механизмы имеют сезонную зависимость. Максимальная активность свертывающей способности крови отмечена осенью при наличии компенсаторно высокой активности фибринолиза и системы ПрС. Максимальная гипокоагуляция выявлена весной. Зимний и летний периоды являются переходными. Система фибринолиза является самой чувствительной из изученных компонентов системы гемостаза к сезонным изменениям геомагнитной возмущенности.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: сезонные биоритмы системы гемостаза и фибринолиза обладают различной чувствительностью к сезонным изменениям геомагнитной возмущенности. Наиболее устойчивыми – хронорезистентными – являются защитные антикоагулянтные механизмы. Система прокоагулянтов сезонно-зависима, однако у здоровых лиц отсутствуют резкие межсезонные колебания показателей гемокоагуляционного потенциала даже при резких колебаниях геомагнитной возмущенности. Наиболее чувствительной к сезонным изменениям геомагнитной возмущенности у здоровых лиц является система фибринолиза, причем эта чувствительность проявляется прежде всего в осенний сезон и характеризуется достоверным резким снижением фибринолитической активности при переходе от лета к осени в условиях резкого же нарастания геомагнитной возмущенности.

### Литература

1. Агаджанян Н.А. Хронобиология и хрономедицина. М., 2000. 220 с.
2. Чибисов С.М., Благоднаров М.Л., Фролов В.А. Телеметрическое мониторирование в патофизиологии сердца и хронокардиологии: Учеб. пособие. М., 2008. 156 с.
3. Балуда В.П., Исабаева В.А., Пономарева Т.А., Адамчик А.С. Биологические ритмы системы гемостаза человека. Фрунзе, 1978. 197 с.

4. Паршина С.С. Адаптационные механизмы системы гемостаза и реологии крови у больных различными формами стенокардии: автореф. дис....докт. мед. наук. Саратов. 2006. 48 с.

5. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности // Биохимия. 2002. Т. 67. № 3. С. 353–376.

6. Паршина С.С., Самсонов С.Н., Реутов В.П., Сорокина Е.Г. XXI в.: космическая погода и нитратно-нитритный фон существования современного человека // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции IT + M&Ec`2017 - 2017. С. 164-181

#### **Season mechanisms of a haemostasis system in healthy persons and cosmic weather**

*Svetlana Serafimovna Parshina, professor, B.I. Razumovsky Saratov State Medical University*

*Sergey Nikolaevich Samsonov, Leading Researcher Yu.G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy of Siberian Branch of the Russian Academy of Science*

*Liliana Konstantinovna Tokayeva, professor, B.I. Razumovsky Saratov State Medical University,*

*Tatyana Nikolaevna Afanasyeva, assistant, B.I. Razumovsky Saratov State Medical University*

*Valentin Palladievich Reutov, PhD., Doct. Biol. Sci., Leading Researcher, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences*

*Elena Gennad'evna Sorokina, PhD., Leading Researcher, National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the Russian Federation*

Season biorhythm of the haemostasis system are studied in healthy persons, season dependent and season independent haemocoagulation parameters are revealed. The connection between season biorhythm of the haemostasis system and the season dynamics of geomagnetic activity are analyzed.

*Key words: haemocoagulation, season biorhythm, geomagnetic activity, healthy persons*

УДК 551.521.6

#### **КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА 2018: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ЖИЗНИ НА ЗЕМЛЕ**

*Сергей Николаевич Самсонов, к.ф.-м.н., внс*

*E-mail: s\_samsonov@ikfia.ysn.ru*

*ФГБУН Институт космофизических исследований и*

*аэронауки им. Ю.Г.Шафера СО РАН*

*ikfia.ysn.ru*

*Проведен обзор работ, посвященным последствиям от влияния изменения космической погоды на жизнь на Земле. Показаны результаты исследования ученых, составивших список катастроф, которые могут привести к гибели всего живого на Земле. В работе также показаны возможные последствия от изменения солнечной и геомагнитной активностей на обстановку в околоземном пространстве и на Земле.*

*Ключевые слова: космическая погода, солнечная активность, электромагнитное излучение Солнца, солнечный ветер, геомагнитное возмущение*

**Цель работы.** на основании опубликованных материалов по прогнозам изменения параметров космической погоды и возможных космических угрозах провести анализ возможных последствий для жизни на Земле в 2018 году.

В академическом издании Великобритании «The Conversation» в декабре 2017 г. была опубликована статья, в которой ученые назвали пять главных угроз человечеству из космоса.

### **1. Мощная солнечная вспышка**

Выделяемая Солнцем в окружающую среду энергия не постоянна, как в потоках частиц, так и в электромагнитных излучениях, за исключением волн видимого диапазона. И когда эти потоки становятся интенсивнее, они также могут влиять на радиосвязь, вызывать перебои в подаче электроэнергии, приводить к повышенному износу магистральных газопроводов, влиять на самочувствие биологических объектов, включая человека. Самая мощная магнитная солнечная буря документально поразила Землю в 1859 году. Инцидент, названный событием Каррингтона, вызвала огромные помехи для электронного оборудования, вывела из строя телеграфные аппараты и т.д. Такие события, случались несколько раз в прошлом, но при этом люди выживали. В последние годы мы стали полностью зависимы от электронного оборудования и если произойдет вспышка подобная Каррингтоновской или еще мощнее, то даже если это событие не уничтожит человечество мгновенно, это станет огромной проблемой. По подсчетам ученых, в современных реалиях событие такого масштаба нанесет экономический ущерб в размере \$10 трлн — аварии на электросетях, выход из строя спутников и средств связи. А вспышка чуть мощнее способна повредить озоновый слой. Не будет электричества, отопления, подачи воды, кондиционера, GPS или интернета, встанут заводы и фабрики, а затем станут исчезать еда и топливо, продукты и лекарства, и жизнь на Земле будет исчезать.

### **2. Воздействие астероида**

Мы теперь хорошо знаем об опасностях, которые астероиды могут представлять для человечества – в конце концов, они, как полагают, способствовали исчезновению динозавров. Недавние исследования позволили нам узнать о большом количестве космических камней в нашей Солнечной системе, которые могут представлять опасность. Мы находимся на начальном этапе разработки и разработки систем защиты от некоторых небольших астероидов, которые могут поразить нас. Но против более крупных и редких мы совершенно беспомощны. И, если даже крупный астероид не сможет навсегда уничтожить Землю, то сможет сделать ее непригодной для жизни, вызвав огромные цунами, пожары и другие стихийные бедствия.

### **3. Расширяющееся Солнце**

Если предыдущие космические опасности могут произойти с некоторой вероятностью, то мы точно знаем, что наше Солнце закончится через 5-7 миллиардов лет. В этот момент оно выбросит свою внешнюю атмосферу, чтобы сформировать планетарную туманность, в конечном итоге как Звездный остаток, известный как “белый карлик”. Со временем Солнце станет прохладнее и больше. К тому времени, когда оно станет звездным гигантом, оно будет достаточно большим, чтобы поглотить как Меркурий, так и Венеру. В результате наша планета превратится во внешние слои чрезвычайно расширенной умирающей звезды и растает навсегда.

### **4. Локальный гамма-всплеск**

Чрезвычайно мощные вспышки энергии, называемые гамма-всплесками, могут быть вызваны двойными звездными системами (Две звезды, вращающиеся вокруг общего центра) и сверхновыми (взрывающиеся звезды). Эти вспышки энергии весьма мощные потому что они фокусируют их энергию в узкий луч шириной не более чем минута или даже секунда. В результате излучение от одного может повредить и разрушить наш озоновый слой, оставляя жизнь уязвимой для сурового ультрафиолетового излучения Солнца. Астрономы обнаружили звездную систему-WR



104-которая могла бы создать такое событие. WR 104 находится примерно в 5200-7500 световых лет, что недостаточно далеко, чтобы быть безопасным. И мы можем только догадываться, когда произойдет взрыв. К счастью, есть вероятность, что луч может быть направлен мимо Земли.

### 5. Движущиеся звезды

Одна из блуждающая звезд на своем пути через Млечный Путь может приблизиться так близко к нашему Солнцу, что она будет взаимодействовать с "облаком Оорта" на краю Солнечной системы, которая является источником наших комет. Это может привести к увеличению шансов огромной кометы, мчащейся на Землю. Само Солнце следует по Млечному пути, который проходит через более или менее плотные участки межзвездного газа. В настоящее время мы находимся в менее плотном пузыре, созданном сверхновой. Солнечный ветер и солнечное магнитное поле помогают создать пузырчатую область вокруг нашей Солнечной системы-гелиосферу, которая защищает нас от взаимодействия с межзвездной средой. Когда мы покидаем этот регион через 20 000-50 000 лет (в зависимости от текущих наблюдений и моделей), наша гелиосфера может быть менее эффективной, обнажая Землю.

Эти описанные пять основных угроз для человечества представляют теоретические опасности без ограничения какими-либо временными периодами. А сейчас рассмотрим более конкретную ситуацию с космической погодой.

На рисунке 1 представлен график числа солнечных пятен, характеризующий уровень солнечной активности с 1700 года до нашего времени подготовленный в Королевской обсерватории Бельгии [1]. По оси абсцисс представлено время в годах, а по оси ординат – число солнечных пятен. Методика получения и обработки научного материала показана в работе [2]. На представленном рисунке хорошо видно, что наш нынешний 24 цикл солнечной активности был одним из самых низких за последние 100 лет.

На рисунке 2 представлено международное число солнечных пятен с 2006 по 2017 год, а также прогноз числа пятен на 2018 год. Синей ломанной линией показаны месячные данные числа пятен, красной – сглаженное число пятен, а штриховой красной линией – прогноз на 2018 год. По оси абсцисс представлено время в годах, а по оси ординат – число солнечных пятен. Регулярные солнечные наблюдатели заметили, что с середины 2016 года, Солнце иногда было лишено пятен. Эти солнечные диски без пятен постепенно станут знакомой характеристикой по мере того как солнечный цикл будет приближаться к своему следующему минимуму, в настоящее время предполагаемому к концу этой декады. Количество дней без пятен может значительно варьироваться от одного солнечного цикла до другого.

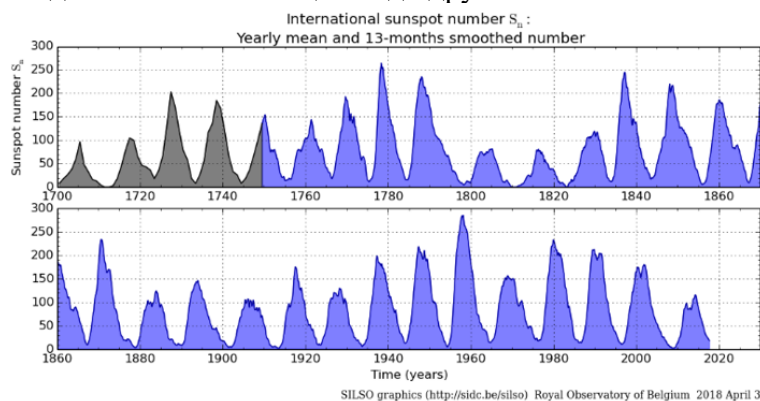


Рис.1.

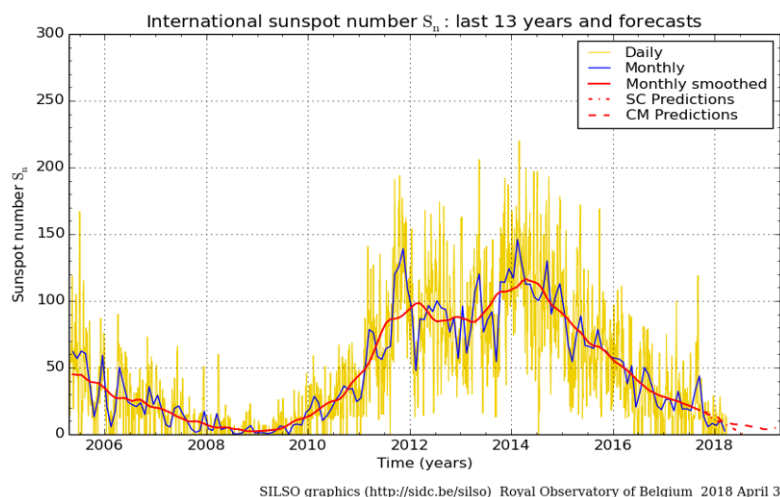


Рис.2.

В течение предыдущего минимума (около 2009 года) было зарегистрировано не менее 817 дней без солнечных пятен, в то время как минимальный период, относящийся к солнечному циклу 23 (около 1996 года), насчитывал только 309 таких дней. Предыдущий минимум удивил ученых и солнечных наблюдателей, став самым глубоким за почти 90 лет. Покажет ли предстоящий солнечный цикл столько дней без пятен, или солнечный цикл 25 взлетит намного быстрее, чем ожидалось? Как следует из рисунка 2 число солнечных пятен в 2018 г. должно уменьшаться в течение всего года.

Известно, что на земные процессы в значительной мере оказывает влияние параметры геомагнитной возмущенности, поэтому рассмотрим прогноз геомагнитной возмущенности, выполненный в Национальном Управлении по исследованию океанов и атмосферы США. Как уже отмечалось ранее [4] наибольшие возмущения геомагнитной активности, связанной с корональными дырами на Солнце, наблюдаются через 1-3 года после максимума солнечной активности [5, 6]. Рассматриваемы нами 2018 год находится на 4 году спада солнечной активности поэтому можно ожидать в этом году появление геомагнитных возмущений более низкой интенсивности, чем в 2017г. И в этом можно убедиться, глядя на Рис.3, демонстрирующий изменения Ар-индекса геомагнитной возмущенности [7]. На рис.3. по оси абсцисс представлено время в годах, а по оси ординат-значения Ар-индекса геомагнитной возмущенности. Ломанной линией на этом рисунке представлены месячные данные Ар-индекса, а сглаженной линией – усредненную 13-месячную версию ежемесячных усредненных данных.

На рисунке 4 приведено изменение величины солнечного радиоизлучения на длине волны 10,7 см с 2000 по 2017 год. Ломанной линией показаны среднемесячные величины потока, синей линией сглаженные величины потока, а красной – прогноз потока на 2018 год. Как видно из рисунка в 2018 году ожидается снижение величины потока в течение всего года. Таким образом, можно сделать вывод, что 2018 год и по солнечной активности (число солнечных пятен и радиоизлучение на длине волны 10,7см), а также геомагнитной возмущенности будет по прогнозам спокойнее, чем предыдущие 6 лет 24 цикла солнечной активности.

Согласно прогнозу специалистов Всероссийского центра мониторинга и прогнозирования чрезвычайных ситуаций МЧС России (центр «Антистихия»), в 2018 году ожидаются 20–35 геомагнитных бурь, среди которых 2–4 большие и очень большие. Вероятность возникновения бури высшей категории (extreme) около 5%, — говорится в сообщении центра. При этом возрастания потоков высокоэнергичных электронов будут регулярными, некоторые из них окажутся продолжительными (пять

дней и более), что может неблагоприятно повлиять на электронику геостационарных и низкоорбитальных спутников [8].

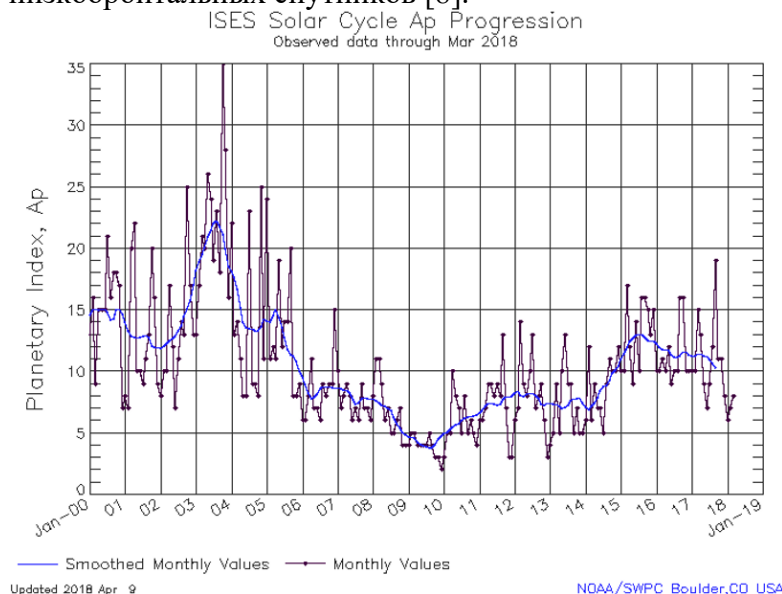


Рис.3

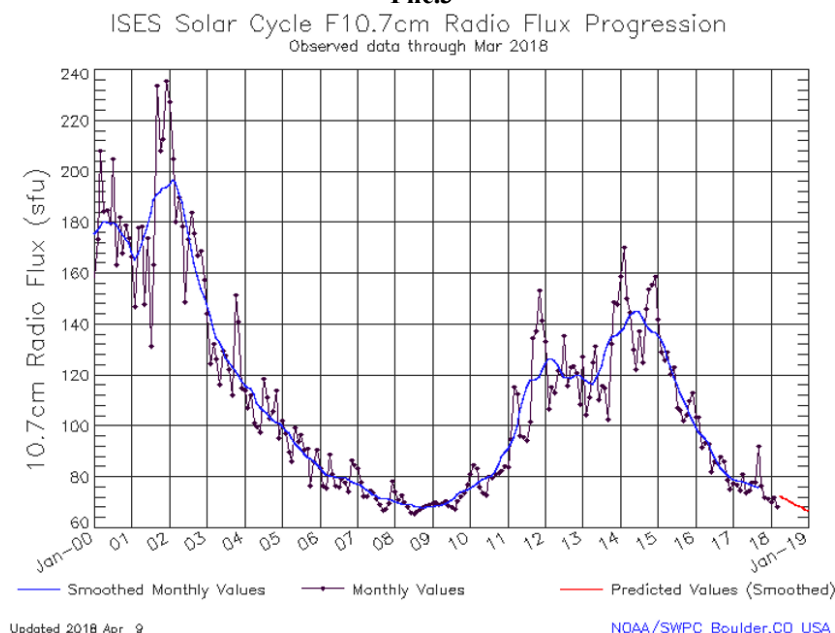


Рис.4

здоровье людей свидетельствует тот факт, что в Госдуме предложили ввести новое основание для отгулов - работникам с метеозависимостью могут разрешить брать выходной в дни магнитных бурь. «Мы сегодня выступили с инициативой дать возможность отгула людям с метеозависимостью» - заявил в ходе пленарного заседания депутат Госдумы от ЛДПР Василий Власов. По статистике 70% инфарктов и инсультов происходят во время магнитных бурь, при этом именно эти заболевания выходят на первое место в мире среди болезней, заявил он. Власов отправил запрос на эту тему министру труда и социальной защиты РФ Максиму Топилину и министру здравоохранения РФ Веронике Скворцовой (Российская газета 13.10.2017).

Таким образом можно отметить, что 2018 год характеризуемый понижением солнечной активности (число солнечных пятен и радиоизлучение на длине волны 10,7см), а также геомагнитной возмущенности будет по прогнозам спокойнее, чем предыдущие 6 лет 24 цикла солнечной активности.

Об опасностях, связанных с падением небесных тел мощно отметить следующее: уже в начале 2018 года окрестности Земли посетили несколько астероидов, превышающих размеры челябинского. Так, 6 февраля открытый недавно астероид 2018 CC, пролетел мимо Земли на расстоянии 184 тыс. километров, его размеры составляли от 15 до 30 метров. А 9 февраля пролетел астероид на очень близком расстоянии от Земли - 64 тыс. километров, размеры которого, по оценкам наблюдателей составляют от 15 до 40 метров (расстояние от Луны до Земли приблизительно 384 тыс. км.). Об этом говорится в сообщении NASA. Астероид обнаружен благодаря обзору Catalina Sky Survey (CSS) 4 февраля.

О том, насколько большое влияние космическая погода может оказывать на

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации бюджетной темы П.16.2.1. (номер государственной регистрации № АААА-А17-117021450059-3).

### Литература

1. THE CONVERSATION, United Kingdom, January 19, 2017 11.13am GMT; e-mail: <https://theconversation.com/six-cosmic-catastrophes-that-could-wipe-out-life-on-earth-71178>
2. SILSO data / image, Royal Observatory of Belgium, Brussels; e-mail address: <http://sidc.oma.be>
3. The Solar Activity Cycle, Sp Series of ISSI, Volume 53. ISBN 978-1-4939-2583-4, Springer, pp. 35-103. DOI: 10.1007/978-1-4939-2584-1\_3
4. С.Н. Самсонов. Космическая погода 2017: последствия для жизни на Земле // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции IT + M&Eс`2017 (Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 г.). 2017. - С.154-158. (<https://elibrary.ru/item.asp?id=29917988>)
5. Schwenn R. Solar wind sources and their variations over the solar cycle// Space Sci. Rev. 2006. V. 124. No 1–4. - P. 51–76.
6. Tsurutani B.T., Gonzalez W.D., Gonzalez A.L.C. et al. Corotating solar wind streams and recurrent geomagnetic activity: A review// J. Geophys. Res. 2006. V. 111. No A7. A07S01. - P. 11107–11132.
7. <http://www.swpc.noaa.gov/products/solar-cycle-progression>
8. [https://www.gazeta.ru/science/news/2018/03/04/n\\_11241577.shtml?utm\\_source=google&utm\\_medium=banner&utm\\_campaign=science\\_news](https://www.gazeta.ru/science/news/2018/03/04/n_11241577.shtml?utm_source=google&utm_medium=banner&utm_campaign=science_news)
9. <https://www.nasa.gov/feature/jpl/two-small-asteroids-safely-pass-earth-this-week>

### Space weather of 2018: consequences for life on the earth

*Sergey Nikolaevich Samsonov, leading researcher of Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Tel. +79246615558; e-mail: [s\\_samsonov@ikfia.ysn.ru](mailto:s_samsonov@ikfia.ysn.ru); [ikfia.ysn.ru](http://ikfia.ysn.ru); 31 Lenin Ave., Yakutsk, Russia, 677980*

*The works, devoted to consequences of the effect of change of a space weather on the life on the Earth has been reviewed. The results of the research of scientists who have compiled a list of disasters that can lead to the death of all life on Earth. The paper also shows the possible consequences of changes in solar and geomagnetic activities on the situation in near-earth space and on Earth*  
*Keywords: space weather, solar activity, ELECTROMAGNETIC RADIATION OF THE SUN, solar wind, geomagnetic disturbance.*

### ГЕОМАГНИТНАЯ ВОЗМУЩЕННОСТЬ И ГИПЕРТОНИЧЕСКИЕ КРИЗЫ

*Самсонов С.Н.<sup>1</sup>, Петрова П.Г.<sup>2</sup>, Стрекаловская А.А.<sup>2</sup>, Паршина С.С.<sup>3</sup>, Кобякова С.Е.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup> - Институт космофизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера СО РАН, Россия, 677980, г. Якутск, просп. Ленина, д. 31, <http://www.ikfia.ysn.ru>*

*<sup>2</sup> - Медицинский институт Северо-Восточного федерального университета им. М.К.Аммосова, 677000, г. Якутск, ул. Ойунского, 27, <http://svfu.ru/universitet/rukovodstvo-i-struktura/instituty/mi/>*

*<sup>3</sup> - Саратовский медицинский университет им. В.И.Разумовского, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112, <http://www.sgmi.ru>*

*Самсонов Сергей Николаевич, к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник, тел. +79246615558, эл. почта: [s\\_samsonov@ikfia.ysn.ru](mailto:s_samsonov@ikfia.ysn.ru)*

*Петрова Пальмира Георгиевна, д.м.н., зав. кафедрой, тел. +79242727471, эл.почта: mira\_44@mail.ru*

*Стрекаловская Алена Анатольевна, к.м.н., доцент, тел.: +79241678433, эл. почта: a\_strekalovskaya@mail.ru*

*Паршина Светлана Серафимовна, д.м.н., профессор, тел. +79053219039, эл.почта: Iparshinasvetlana@mail.ru*

*Кобякова Саргылана Егоровна, б/степени, младший научный сотрудник, тел. +79241663117, эл. почта: s.e.kobyakova@ikfia.ysn.ru*

*В представленной работе исследуется связь геомагнитной возмущенности с гипертоническими кризами в г. Якутске. Показана актуальность исследования, методы сбора первичной информации и формирования информационной базы исследования, обоснование структуры выборки объектов для проведения анализа и проведен анализ влияния изменений параметров геомагнитной возмущенности на здоровье людей с артериальной гипертензией на примере г.Якутска*

*Ключевые слова: космическая погода, геомагнитная возмущенность, сердечно-сосудистая система, гипертонический криз.*

#### **Актуальность исследования**

Организм человека представляет собой открытую систему, поэтому изменение условий во внешней среде оказывает влияние на его жизнедеятельность. Сердечно-сосудистая система (ССС) одна из первых включается в процесс адаптации к изменяющимся внешним условиям. Помимо явно влияющих факторов внешней среды, таких как метеорологические и социальные, было обнаружено, что не регистрируемые чувствами человека электрические и магнитные поля, электромагнитные излучения могут оказывать влияние на его самочувствие.

На тему влияния космической погоды на жизнь на Земле публикуется большое количество печатных трудов. Но, несмотря на значительное количество публикаций, посвященных исследованию влияния космической погоды на здоровье человека многие вопросы еще не нашли своего ответа. Ежегодно в России от сердечно-сосудистых заболеваний умирает от 500 до 1500 тысяч человек, а как было показано в ряде публикаций в периоды повышенной геомагнитной активности число сердечных катастроф увеличивается на 15-20%. Поэтому любая новая работа, о связи космической погоды со здоровьем человека является социально значимой.

Целью настоящей работы является изучение связи параметров космической погоды, в частности геомагнитной возмущенности, с гипертоническими кризами.

#### **1.1. Методы сбора первичной информации и формирования информационной базы исследования**

Для изучения динамики ухудшения самочувствия людей, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями, проживающими в субарктических широтах, проанализирована электронная база данных обращений в лечебные учреждения г. Якутска Республики Саха (Якутия) за 2016 г. с диагнозом гипертонический криз. Для выявления причин, влияющих на ухудшение самочувствия пациентов с патологией сердца и сосудов, было проведено сопоставление числа случаев гипертонических кризов с Кр-индексом, характеризующим уровень геомагнитной активности. Для этого использовались месячные данные числа обращений за медицинской помощью в лечебные учреждения г. Якутска с диагнозом гипертонический криз, а также месячные данные значений Кр-индекса. Кр-индекс - характеризует среднее отклонение магнитного поля всей планеты от нормы. Измеряется в условных единицах от 1 до 9. Спокойное состояние, соответственно - 1. По мере роста интенсивности значение



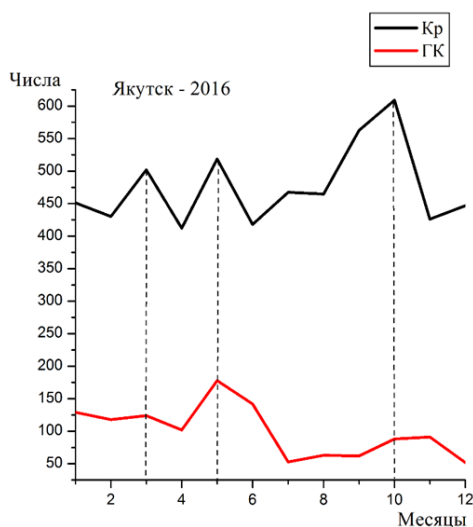
индекса растёт. Для статистической обработки данных была использована компьютерная программа «Origin», используемая для построения графиков и проведения статистических вычислений.

### 1.2. Обоснование структуры выборки объектов для проведения анализа

Для проведения анализа были выбраны пациенты, обратившиеся в медицинские учреждения г. Якутска РС(Я), по поводу ухудшения состояния в связи с повышением уровня артериального давления. В патологии человека гипертонические, или гипертензивные состояния играют очень большую роль, что связано, с одной стороны, с их высокой распространенностью, а с другой, с их участием в патогенетических механизмах сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, часто приводящих к снижению работоспособности населения. Резкие внезапные подъемы артериального давления могут создавать угрозу жизни больного и требуют безотлагательного вмешательства. Проведен количественный анализ связи числа обращений по поводу АГ с геомагнитной возмущенностью. Для сравнения был выбран планетарный параметр космической погоды - Кр-индекс, отражающий геомагнитную активность.

### 1.3. Анализ влияния изменений параметров геомагнитной возмущенности на здоровье людей с артериальной гипертензией на примере г.Якутска Республики Саха (Якутия).

Для анализа влияния гелиогеофизических факторов на здоровье проживающих в г. Якутске людей были выбраны данные скорой медицинской помощи г. Якутска. Для сравнения были выбраны случаи ухудшения самочувствия людей по поводу



**Рис. 5. Изменения Кр-индекса геомагнитной возмущенности и количество обращений по поводу артериальной гипертензии в 2016 году в г. Якутске**

повышения артериального давления за 2016 год. Анализ обращений пациентов и сравнение с Кр-индексом (планетарный индекс геомагнитной возмущенности) проведен за тот же 2016 год и показан на Рисунке Анализ данных по количеству случаев артериальной гипертензии (АГ) и сравнение с Кр-индексом показал, что в 2016 г. зарегистрировано всего 1202 обращения больных с диагнозом артериальная гипертензия (АГ), в большинстве случаев АГ (62%) наблюдался у пожилых людей от 60 и старше лет, что является вполне логичным, так как патогенетическими факторами, способствующими развитию ГК у лиц пожилого возраста, являются высокое содержание циркулирующего в крови ангиотензина II, недостаточность кининогена, простаглицлинов, повреждение эндотелия сосудов и снижение выделения вазодилатирующих веществ.

В 2016 году наблюдалось совпадение основных изменений Кр-индекса и числа обращений больных с диагнозом артериальная гипертензия, что свидетельствует о существовании связи между этими двумя параметрами (рис.5.).

Анализ обращаемости населения г. Якутска по поводу гипертонических кризов помесячно в 2016 г. в сочетании с динамикой геомагнитной возмущенности показал, что повышение геомагнитной возмущенности не всегда непосредственно коррелирует с увеличением количества обращений по поводу гипертонических кризов (рис. 5). Так, выраженные изменения геомагнитной возмущенности в начале года (январь-март) не вызывали столь же выраженных изменений в количестве обращений по поводу гипертонических кризов, хотя незначительные тенденции в динамике данного

показателя за указанный период в целом не противоречили динамике колебаний геомагнитной возмущенности. Наибольшая корреляция между резкими колебаниями геомагнитной возмущенности и количеством обращений по поводу гипертонических кризов отмечена в апреле-июне и в августе-октябре. Необходимо отметить, однако, что данная взаимосвязь не носит характер линейной корреляции и наиболее выраженное повышение геомагнитной возмущенности не всегда вызывает такое же максимальное увеличение количества обращений по поводу гипертонических кризов. Речь идет прежде всего об общих трендах изучаемых показателей.

Полученные данные свидетельствуют, что у больных АГ отсутствует взаимно однозначное соответствие изменений геомагнитной возмущенности и количества обращений по поводу гипертонических кризов. Указанные результаты подтверждают полученные нами ранее данные о том, что не все изменения геомагнитной возмущенности обладают одинаковой биоэффективностью, необходимо учитывать структуру этих возмущений и, в первую очередь, присутствие в ней короткопериодных пульсаций типа  $Pc1$  и  $Pi1$ , как было описано в работах Клейменовой и др. [1, 1112], Самсонова и др. [2, 730], Паршиной и др. [3, 316], Samsonov et. al [4, 719]. Период указанных пульсаций соответствует частоте сердечного ритма, что обуславливает их максимальную биоэффективность по влиянию на состояние сердечно-сосудистой системы. Известно, что именно наличие указанных короткопериодных пульсаций и приводит к декомпенсации сердечно-сосудистой патологии при изменениях геомагнитной возмущенности.

Таким образом, анализ месячного обращения населения г. Якутска по поводу гипертонических кризов в зависимости от изменения геомагнитной возмущенности позволяет сделать следующие выводы:

1. Декомпенсация АГ в виде возникновения гипертонических кризов в ряде случаев связана с изменениями гелиогеомагнитной возмущенности.
2. Существует два типа периодов гелиогеомагнитной возмущенности: обладающих биоэффективностью для больных АГ и не обладающих подобным действием.
3. Сравнительная детализация характеристик биоэффективных и био-неэффективных периодов гелиогеомагнитной возмущенности позволит выделить факторы космической погоды, обладающие максимальной опасностью для лиц с АГ.
4. Продолжение исследований в данном направлении является актуальным для разработки профилактических мер для населения и должно включать два обязательных аспекта: выявление максимально биоэффективных компонентов космической погоды - с одной стороны - и разработку критериев кардиочувствительности к геомагнитным возмущениям у лиц с АГ - с другой стороны.

Работа выполнена при частичном финансировании по Программе комплексных научных исследований РС(Я) 2016-20 гг.

### Литература

1. Клейменова Н.Г., Козырева О.В., Бреус Т.К., Раппопорт С.И. Сезонные вариации инфарктов миокарда и возможное биотропное влияние короткопериодных пульсаций геомагнитного поля на сердечно-сосудистую систему // Биофизика. 2007. Т. 52, вып. 6. С. 1112–1119.
2. Самсонов С.Н., Манькина В.И. / Труды межд. конф. «Влияние космической погоды на человека в космосе и на Земле», М.: ИКИ, 2012. Т.2. С. 730-738.
3. Паршина С.С., Самсонов С.Н., Манькина В.И. и др. Особенности групповой реакции сердечно-сосудистой системы на изменение космической погоды // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции IT + M&Ec`2015, 2015. С. 316-322.

4. S.N. Samsonov, N.G. Kleimenova, O.V. Kozyreva, P.G. Petrova Influence of space weather on diseases of cardiovascular system of a human being in subauroral latitudes // *Izvestiya Atmospheric and oceanic physics*. 2014. V. 50. № 7. P.719-727.

A GEOMAGNETIC disturbance AND HYPERTENSIVE CRISES

Samsonov S.N.<sup>1</sup>, Petrova P.G.<sup>2</sup>, Strekalovskaya A.A.<sup>2</sup>, Parshina S.S.<sup>3</sup>, Kobayakova S.Ye.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 31, Lenin Ave, Yakutsk, Russia, 677980, ikfia.ysn.ru;

<sup>2</sup> - Medicine of the Ammosov North-Eastern Federal University, 27, Oyunskogo str., Yakutsk, Russia, 677000, <http://s-vfu.ru/universitet/rukovodstvo-i-struktura/instituty/mi/>;

<sup>3</sup> - Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112, B.Kazachya, Saratov, Russia, 410012, sgmru.ru

Sergey Nikolaevich Samsonov, leading researcher of Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, tel: +79246615558, e-mail: s\_samsonov@ikfia.ysn.ru; ikfia.ysn.ru; 31, Lenin Ave, Yakutsk, Russia, 677980.

Petrova Palmira Georgievna, Professor of Institute of Medicine of the Ammosov North-Eastern Federal University, tel: +74112363046, e-mail: mira\_44@mail.ru; <http://s-vfu.ru/universitet/rukovodstvo-i-struktura/instituty/mi/>; 27, Oyunskogo str., Yakutsk, Russia, 677000.

Strekalovskaya Alena Anatolevna, associate professor of Institute of Medicine of the Ammosov North-Eastern Federal University, tel: +74112363046, e-mail: a\_strekalovskaya@mail.ru; <http://s-vfu.ru/universitet/rukovodstvo-i-struktura/instituty/mi/>; 27, Oyunskogo str., Yakutsk, Russia, 677000.

Parshina Svetlana Serafimovna, professor of Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, tel: +79053219039, e-mail: 1parshinasvetlana@mail.ru; sgmru.ru; 112, B.Kazachya, Saratov, Russia, 410012.

Kobayakova Sargylana Egorovna, junior researcher of Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, tel: +79241663117; e-mail: s.e.kobayakova@ikfia.ysn.ru; ; 31, Lenin Ave, Yakutsk, Russia, 677980.

In this paper we investigate the relationship of geomagnetic disturbance with hypertensive crises in Yakutsk. The article shows the relevance of the study, methods of primary information collection and the formation of the information base of the study, justification of the sampling structure of objects for the analysis and the analysis of the impact of changes in the parameters of geomagnetic disturbance on the health of people with arterial hypertension on the example of Yakutsk

Key words: cosmic weather, geomagnetic disturbance, cardiovascular system, hypertensive crisis.



УДК 378:378.374

**СОВРЕМЕННЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ  
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ОБРАЗОВАНИЯ И СОДЕЙСТВИЯ  
ТРУДОУСТРОЙСТВУ ВЫПУСКНИКОВ**

*Алексеев Сергей Николаевич, д.м.н., ректор ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия, тел.: 8861268-36-84, E-mail: [Corpus@ksma.ru](mailto:Corpus@ksma.ru), <http://www.ksma.ru/>  
350063 Российская Федерация, Краснодар, ул. Седина, 4*

*Гайворонская Татьяна Владимировна, д.м.н., проректор по учебной и воспитательной работе ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия, тел.: 8861268-54-83,*

*E-mail: [T.Gaivoronskaya@rambler.ru](mailto:T.Gaivoronskaya@rambler.ru), <http://www.ksma.ru/>  
350063 Российская Федерация, Краснодар, ул. Седина, 4*

*Ахеджак-Нагузе Саида Казбековна, к.м.н., руководитель центра содействия трудоустройству выпускников, помощник проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам, доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия, тел. 89182468989 E-mail: [naguzesk@mail.ru](mailto:naguzesk@mail.ru), <http://www.ksma.ru/>  
350063 Российская Федерация, Краснодар, ул. Седина, 4.*

Современные образовательные технологии для повышения качества образования и эффективного продвижения студентов и выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России на рынке труда позволяют включить в процесс содействия трудоустройству все заинтересованные стороны: студентов, выпускников, представителей вуза и работодателей. Они также обеспечивают наиболее полное трудоустройство, позволяют добиться заключения договорных отношений с работодателями, создать модель выпускника с устойчивыми социально-психологическими, адаптивными навыками, конкурентоспособного на рынке труда.

Ключевые слова: трудоустройство, инновационные технологии, качество образования, ярмарка вакансий рабочих мест врачей и провизоров, рынок труда, выпускники.

Подготовка квалифицированных конкурентоспособных специалистов является стратегическим направлением деятельности высшего профессионального образования.

Внутривузовская система мониторинга качества образования разработана в соответствии с требованиями нормативно-правовых документов, регулирующих деятельность образовательных учреждений и определяющих их ответственность за «... обеспечение функционирования системы внутреннего мониторинга качества образования в образовательном учреждении» [6].

Целью исследования явилось изучение уровня образовательной деятельности в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России с применением анкетного и аналитического методов.

В современных условиях образовательный процесс в медицинском вузе направлен на формирование профессиональной компетентности, основные положения которой изложены в квалификационных характеристиках врачей-специалистов [4].

Успех образовательной деятельности ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России определяют:

готовность профессорско-преподавательского состава к изменениям;

привлечение молодых преподавателей и научных сотрудников;

вовлеченность профессорско-преподавательского состава в решение актуальных проблем медицины и образования;

внедрение новых технологий в образовательную, научно-практическую деятельность;

мотивация и нацеленность руководства и всего коллектива университета на успех [4].

В Кубанском государственном медицинском университете в целях повышения качества освоения студентами практических навыков и умений внедряются в учебный процесс новые эффективные технологии обучения, разработана и совершенствуется система контроля качества не только теоретической, но и практической подготовки студентов. В университете проведена значительная работа по подготовке нормативных локальных положений, определяющих структуру, количественную и качественную характеристику учебно-методических комплексов дисциплин, рабочих программ и других методических материалов. Учитывая, что рабочая программа является одним из основных регламентирующих инструментов в обеспечении качества подготовки специалистов, методические комиссии всех факультетов университета при рассмотрении каждой рабочей программы обращали внимание на полноту отражения знаний и умений в соответствии с приобретаемыми компетенциями в целом по подготовке специалистов. Реализация компетентностного подхода должна предусматривать широкое использование в учебном процессе активных и интерактивных форм проведения занятий (компьютерных симуляций, деловых и ролевых игр, разбор конкретных ситуаций, психологические и иные тренинги) в сочетании с вне аудиторской работой с целью формирования и развития профессиональных навыков обучающихся [1-3, 8-10]. Данный подход обеспечивается разработанными профессорско-преподавательским составом учебно-методическими материалами. Введена рейтинговая система для комплексной оценки качества учебной работы студентов при освоении ими образовательных программ. Оценка качества учебной работы студентов является накопительной и используется для управления образовательным процессом. Основными целями введения рейтинговой системы являются: повышение уровня организации образовательного процесса, стимулирование систематической работы студентов, снижение уровня субъективного фактора при сдаче экзаменов, повышение соревновательности в учебе, исключение возможности протезирования не очень способных и не очень прилежных студентов и повышение конкурентоспособности выпускников на российском и международном рынке образовательных услуг. Рейтинговая система позволяет контролировать и анализировать эффективность предпринятых мер для улучшения качества усвоения студентами практических навыков. В учебных журналах введена отдельная графа для выставления оценки по освоению практических навыков по дисциплинам. На каждом занятии преподаватели в соответствии с рейтинговой системой оценивают не только теоретическую подготовку, но и освоение практических навыков и умений, самостоятельную работу с фантомами, пациентами и т.д. В соответствии с программами производственной практики составлен перечень практических навыков, изучаемых и закрепляемых студентами в ходе производственной практики на каждом курсе и факультете, внесены изменения в дневники производственной практики. Постоянно обновляется перечень материально-технического оснащения (фантомов, приборов, оборудования, реактивов и др.), необходимого для повышения качества освоения практических навыков по каждой дисциплине в соответствии с систематизированным перечнем практических навыков и умений.

На заседаниях методических комиссий факультетов и на Центральном методическом совете (ЦМС) заслушивается анализ уровня освоения практических навыков студентами. Ежегодно в весеннем семестре проводится анкетирование студентов выпускных курсов по вопросам овладения практическими навыками и умениями. В зависимости от результатов анкетирования принимается решение о возможных дополнительных занятиях по овладению практическими навыками и умениями на соответствующих кафедрах и в Центре практических навыков (ЦПН).

В КубГМУ все выпускающие кафедры работают на клинических базах ведущих медицинских организаций Краснодара и Краснодарского края, имеется университетская клиника акушерства и гинекологии, стоматологическая поликлиника.

Таким образом, обучение студента профессиональной деятельности (так называемая «практическая подготовка») сразу начинается у постели больного.

В университете с целью совершенствования освоения практических навыков и умений по основным образовательным программам, реализуемым на лечебном, педиатрическом, стоматологическом, медико-профилактическом факультетах, и факультете повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, а также оказания организационно-методической помощи по приему практических навыков и умений в ходе зачетов, курсовых экзаменов, экзаменов по производственной практике и ГИА на базе межкафедрального фантомного класса создан Центр практических навыков с 01.09.2009 года. Занятия на базе ЦПН проводят преподаватели кафедр в соответствии с программой и расписанием, составленными соответствующими деканатами и утвержденными проректором по учебной и воспитательной работе. Также, ежегодно проходит проверка практических умений выпускников — важнейший этап государственной итоговой аттестации, когда студенты демонстрируют полученные за время обучения практические навыки и умения выполнения лечебных и диагностических манипуляций, приемов сердечно-легочной реанимации, владения медицинским инструментарием. Также в ЦПН занимаются студенты, дополнительно изучающие хирургические дисциплины в профильных кружках, проводятся региональные студенческие Олимпиады по разным дисциплинам, проходит подготовка команд к участию в Олимпиадах. Используя технические возможности ЦПН, проводится экзамен с выдачей документа о допуске лиц, не завершивших освоение высшего медицинского или высшего фармацевтического образования, а также лиц с высшим медицинским или высшим фармацевтическим образованием к осуществлению медицинской или фармацевтической деятельностью на должностях среднего медицинского или среднего фармацевтического персонала.

В соответствии с поставленными целями и задачами ЦПН оснащен разнообразными по степени сложности муляжами, фантомами и тренажерами от самых простых до высокотехнологичных, максимально приближенных к человеку и имитирующих различные проявления патологии. Имеются возможности компьютерного моделирования заданных клинических ситуаций, их разбор и контроль. Выполняя задачи, которые были поставлены перед Высшей медицинской школой по подготовке врачей для практического здравоохранения, определены новые направления в работе ЦПН. Учитывая современные подходы к подготовке специалистов с высшим медицинским образованием, ЦПН и его работа претерпели кардинальные изменения. Проведена полная реконструкция имеющихся площадей, появились новые учебные аудитории, общая площадь после реконструкции составляет 1491,5 м<sup>2</sup>, из них учебные помещения учебные помещения занимают 64 % (958,3 м<sup>2</sup>).

В рамках ЦПН организована работа «Виртуальной клиники», созданы специализированные кабинеты и тематические площадки-модули: «Операционная», «Стоматология терапевтическая», «Стоматология ортопедическая», «Стоматология хирургическая», «Акушерство и гинекология», «Сердечно-легочная реанимация», «Уход за больными», «Кабинет врача-терапевта», «Кабинет врача-педиатра», «Обследование больного». Для внедрения принципов «Бережливого производства» выбрано направление - работа регистратуры: 1) «безбарьерная» электронная регистратура; 2) система электронного регулирования очереди с помощью терминалов («инфомат») и информационных табло. Организована работа студентов с программным продуктом «Автоматизированное место врача», программа позволяет отработать различные функции врача на амбулаторном приеме: запись пациентов на прием; ведение электронных карт пациентов; создание программы лечения; работа с шаблонами протоколов; автоформирование отчетов.

Высокая стоимость особенно многофункциональных тренажеров заставляет искать и другие пути повышения качества освоения студентами практических навыков. Одним из таких путей является подготовка и использование учебных видео-пособий по выполнению навыков на тренажерах и реальных пациентах. Неоднократный просмотр таких фильмов способствует подготовке студента к непосредственному контакту с больным. Студенты КубГМУ имеют возможность на профильных кафедрах, в ЦПН, в библиотеке и на сайте [www.studentmedlib.ru](http://www.studentmedlib.ru) – консультант студента (электронная библиотека) неоднократно просматривать учебные видео-пособия по выполнению практических навыков на тренажерах и реальных пациентах.

Самостоятельная деятельность студентов – это основное условие успешной организации учебного процесса. Одно из направлений высшего образования – достижение такого уровня развития студентов, когда они умеют самостоятельно ставить цель деятельности, могут планировать свои действия, корректировать их выполнения, т.е. самостоятельно осуществлять учебную деятельность. Студент должен научиться учиться – это чаще важнее, чем вооружение их конкретными предметными знаниями. В этом направлении одно из важнейших мест принадлежит студенческому научному кружку. Самостоятельная работа студентов в кружке – это средство повышения познавательной деятельности студента, с помощью которого он может осуществить собственное образование, развитие и профессиональную подготовку в соответствии с поставленными перед собой задачами. В КубГМУ на кафедрах, а также в ЦПН работают студенческие научные кружки, работа которых направлена на улучшение формирования профессиональной компетенции, в том числе клинических практических умений и навыков.

Одной из оценочных технологий, основанных на использовании компетентностного подхода, стала активно внедряемая в практику образовательных учреждений технология портфолио (в том числе журнал учета компетенций). Портфолио является одним из методов эффективного продвижения будущих профессионалов на рынке труда [1-3]. В качестве одного из консультантов, к которым может обратиться студент по профильным вопросам формирования портфолио, является Центр содействия трудоустройству выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (в дальнейшем Центр), созданный приказом ректора № 210 от 12.05.2010г.).

Центр является инновационным структурным подразделением ВУЗа, порожденным рыночной экономикой и призванным обеспечивать взаимодействие рынка образовательных услуг и рынка труда. Центр содействия трудоустройству выпускников создан с целью содействия занятости учащейся молодежи и трудоустройству выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России [1-3].

Степень удовлетворенности работодателей качеством подготовки выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России оценивается на основе опросов, официальных отзывов. Для оценки уровня образовательной деятельности в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России был проведен опрос работодателей и студентов, обучающихся в университете, по специально разработанным анкетам, где учитывались уровень (качество) теоретической, практической подготовки, по оказанию неотложной помощи, подготовленности к жизни и труду в современных условиях и т.д.

Степень удовлетворенности работодателей качеством подготовки выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России оценивается на основе опросов, официальных отзывов. Для оценки уровня образовательной деятельности в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России был проведен опрос работодателей, студентов, обучающихся в университете, ординаторов по специально разработанным анкетам, где учитывались уровень (качество) подготовки: теоретической, практической, по оказанию неотложной помощи, подготовленности к жизни и труду в современных условиях и т.д.

Анализ анкетирования по проведенному опросу 22-х медицинских организаций (далее МО) Краснодарского края о качестве образовательной подготовки выпускников

### Секция 3. Информационная образовательная среда

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (апрель 2018г.) показал хороший уровень (качество) образовательной подготовки в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по всем факультетам (табл.1).

Таблица 1

#### Уровень (качество) образовательной подготовки, получаемой студентами-выпускниками в ФГБОУ ВО КУБГМУ Минздрава России

Студенты-выпускники по специальности	Уровень (качество) теоретической подготовки *	Уровень (качество) практической подготовки*	Уровень подготовки по оказанию неотложной помощи*	Уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях*
Лечебное дело	7,9±1,6 (8)**	8,0±1,5 (8)**	7,7±1,7 (8)**	7,6±1,7 (8)
Педиатрия	7,4±1,7 (8)**	7,6±1,5 (8)**	7,6±1,5 (8)**	7,4±1,7 (8)**
Стоматология	7,0±2,0 (7)**	7,5±2,0 (8)**	7,8±2,1 (9)**	7,3±2,1 (8)**
Медико-профилактическое дело	7,3±1,9 (8)**	7,2±2,1 (8)**	7,1±2,0 (7)**	6,9±2,0 (7)**
Фармация	7,0±1,8 (6)**	7,1±2,0 (6)**	6,9±2,0 (6)**	7,1±2,0 (7)**
ИТОГО	7,5±1,7 (8)**	7,6±1,7 (8)**	7,5±1,8 (8)**	7,4±1,8 (8)**

\*Уровень (качество) подготовки

- 9-10 баллов (высокий)
- 7-8 (хороший)
- 5-6 (удовлетворительный)
- 4 -0 (низкий)

\*\* Медиана

При этом уровень (качество) теоретической подготовки составил 7,5 балла, уровень (качество) практической подготовки – 7,6; уровень (качество) подготовки по оказанию неотложной помощи – 7,5; уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях – 7,4.

Сильными сторонами ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России 81,8 % МО (18 МО) отметили профессорско-преподавательский состав, 36,6,1% (8 МО) -уровень учебно-методического и информационного обеспечения занятий, 27,3% (6 МО) отметили организацию производственной практики, 9,1% (2 МО) - организацию воспитательной работы, 27,3% (6 чел.) - организацию научно-исследовательской работы студента.

Наиболее слабой стороной выпускников отметили: способность работать и принимать решения самостоятельно – 31,8% (7 МО), 54,5% (12 МО) – недостаточную уверенность в реализации практической подготовки, 18,0% (4 МО)- коммуникабельность, 27,3% (6 МО) - инициативность в работе, 22,7% (5 МО) - способность работать в команде.

На вопрос как эффективнее организовать трудоустройство 77,3% (17 МО) указали на распределение, 27,3% (6 МО) - на самостоятельный выбор, 31,8% (7 МО) - на ярмарку вакансий.

От МО поступили предложения по улучшению работы ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России:

- продолжить совершенствование:

- материально-технической базы – 36,6 % (8 МО),
  - информационного обеспечения учебного процесса - 18% (8 МО),
  - организации практической подготовки – 63,6% (14 МО),
  - культурно-воспитательной работы – 13,6% (3 МО),
- создать ассоциацию выпускников – 13,6% (3 МО).

Анализ анкетирования по проведенному опросу 665 студентов – выпускников всех факультетов ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России о качестве образовательной подготовки, получаемой в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в апреле 2018г. показал хороший уровень (качество) образовательной подготовки получаемой студентами-выпускниками в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по всем факультетам (табл.2.).

## Уровень (качество) образовательной подготовки, получаемой студентами-выпускниками в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Студенты-выпускники по специальности	Уровень (качество) теоретической подготовки *	Уровень (качество) практической подготовки*	Уровень подготовки по оказанию неотложной помощи*	Уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях*
Лечебное дело	7,4±1,7 (8)**	6,6±1 (6)**	7,1±1 (8)**	7,0±1 (7)**
Педиатрия	8,0±1,6 (8)**	7,4±2,0 (8)**	7,5±1,9 (8)**	7,6±1,7 (8)**
Стоматология	7,2±1,8 (8)**	6,3±2,3 (7)**	6,6±2,3 (7)**	6,7±2,5 (7)**
Медико-профилактическое дело	9,2±1,0 (10)**	9,0±1,2 (9) **	9,2±1,3 (10)	9,0±1,0 (9)**
Фармация	7,6±1,8 (8)**	7,1±2,3 (8)**	7,2±2,4 (8) **	6,7±2,6 (7)**
ИТОГО	7,6 ±1,8 (8)**	6,8 ±2,2 (7)**	7,2± 2,2 (8)**	7,1 ±2,3 (8)

\*Уровень (качество) подготовки

- 9-10 баллов (высокий)
- 7-8 (хороший)
- 5-6 (удовлетворительный)
- 4 -0 (низкий)

\*\* Медиана

Уровень (качество) теоретической подготовки составил 7,6 баллов, уровень (качество) практической подготовки – 6,8; уровень (качество) подготовки по оказанию неотложной помощи – 7,2 ; уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях – 7,1.

При этом, на 9-10 баллов указали 26,9% (179 чел., на 7-8 баллов- 49% (326 чел.), 5-6 баллов -17,7% (118 чел.), 4-0 баллов 6,3% (42 чел.).

Сильными сторонами ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России на всех факультетах 64,4% (428 чел.) студентов отметили профессорско-преподавательский состав, 32,2% (214 чел.) - уровень учебно-методического и информационного обеспечения занятий, 31,1,% (207 чел.) - отметили организацию производственной практики, 32,8% (218 чел.) - организацию воспитательной работы и 12,2% (81 чел.) - организацию научно-исследовательской работы студента.

Наиболее слабой своей стороной выпускники отметили: способность работать и принимать решения самостоятельно – 33,8% (225 чел.), 65,3% (434 чел.) - недостаточную уверенность в реализации своей практической подготовки, 26,3% (175 чел.) - коммуникабельность, 19,7% (131 чел.) - инициативность в работе, 16,8% (112 чел.) - способность работать в команде.

На вопрос как эффективнее организовать трудоустройство 21,1% (140 чел.) указали на распределение, 72,3 % - на самостоятельный выбор, 24,1 % (160 чел.) на ярмарку вакансий.

От студентов поступили предложения по улучшению работы ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России:

- продолжить совершенствование:

- материально-технической базы - 35,6% (237 чел.);
- информационного обеспечения учебного процесса - 36,1% (240 чел.);
- организации практической подготовки - 54,6% (363 чел.);
- культурно-воспитательной работы – 17,6% (117 чел.);
- создать ассоциацию выпускников - 16,8% (112 чел.)

Анализ анкетирования по проведенному опросу 87 ординаторов - выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России о качестве образовательной подготовки, полу-

### Секция 3. Информационная образовательная среда

чаемой в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в апреле 2018 г. показал хороший уровень (качество) образовательной подготовки получаемой студентами-выпускниками в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по всем факультетам (табл.3.).

Таблица 3.

#### Уровень (качество) образовательной подготовки, получаемой студентами-выпускниками в ФГБОУ ВО КУБГМУ Минздрава России

Студенты-выпускники по специальности	Уровень (качество) теоретической подготовки *	Уровень (качество) практической подготовки*	Уровень подготовки по оказанию неотложной помощи*	Уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях*
87 чел.	8,5±1,7 (9)**	7,2±2,2 (7)**	8,2 ±1,8 (8)**	7,7±2,0 (8)**

\*Уровень (качество) подготовки

- 9-10 баллов (высокий)
- 7-8 (хороший)
- 5-6 (удовлетворительный)
- 4 -0 (низкий)

\*\* Медиана

При этом уровень (качество) теоретической подготовки составил 8,5 баллов, уровень (качество) практической подготовки – 7,2; уровень (качество) подготовки по оказанию неотложной помощи – 8,2; уровень подготовленности к жизни и труду в современных условиях – 7,7%.

Сильными сторонами ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России 62,1% (54 чел.) ординаторов отметили профессорско-преподавательский состав, 26,4% (23 чел.) - уровень учебно-методического и информационного обеспечения занятий, 33,3,% (29 чел.) отметили организацию производственной практики, 33,3% (29 чел.) - организацию воспитательной работы и -16,1% (14 чел.) - организацию научно-исследовательской работы студента.

Наиболее слабой своей стороной выпускники отметили: способность работать и принимать решения самостоятельно – 36,8% (32 чел.), 65,5% (57 чел.) - недостаточную уверенность в реализации своей практической подготовки, 26,7% (25 чел.) - коммуникабельность, 24,1% (21) - инициативность в работе, 21,8% (19 чел.) - способность работать в команде.

На вопрос как эффективнее организовать трудоустройство 23,0% (20 чел.) указали на распределение, 78,2 % (68 чел.) - на самостоятельный выбор, 18,4 % (16 чел.) на ярмарку вакансий, 6,6 % (9 чел.) - на другое.

От ординаторов поступили предложения по улучшению работы ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России:

- продолжить совершенствование:

- материально-технической базы- 32,2% (28 чел.);
- информационного обеспечения учебного процесса - 40,2% (35 чел.);
- организации практической подготовки - 56,3% (49 чел.);
- культурно-воспитательной работы – 20,7% (18 чел.);

- создать ассоциацию выпускников - 21,8% (19 чел.).

Для контроля освоения практических умений и навыков к ГИА ежегодно в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в весеннем семестре проводится анкетирование студентов всех выпускных курсов по специальным разработанным анкетам для каждого факультета [1 - 3].

Ежегодно на имя ректора поступают официальные письма, в которых отмечается профессионализм работы выпускников факультетов университета. Высокий и хороший уровни профессиональной подготовки выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России позволяют им занимать ведущие должности в здравоохранении Краснодарского края и других регионов России. Тенденция профессионального роста у значительного количества выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России отмечается не только за счет увеличения стажа работы и профессиональной переподготовки, а также в связи с увеличением вовлечения их в научно-исследовательскую работу. Показатель спроса на выпускников в университете оценивается на основе заказов на выпускников и данных их трудоустройства. В университете ежегодно анализируются показатели спроса выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России: количество заявок на выпускников, число выпускников, работающих по профилю, число выпускников, работающих в регионе.

Сотрудничество ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России с медицинскими организациями (МО) и предприятиями, выступающими в качестве работодателей для студентов и выпускников университета происходит по следующим направлениям: организация заключения договоров о сотрудничестве с целью трудоустройства выпускников; организация мероприятий по привлечению работодателей к участию в учебном процессе и научно-исследовательской работе, обучающихся в университете; оказание помощи учебным подразделениям в организации стажировок и практик, предусмотренных учебным планом.

В целях проведения практической подготовки студентов в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России ежегодно утверждается перечень МО, являющихся базами производственной практики. Руководители, ответственные за производственную практику кафедр ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России: организуют заключение договоров о проведении производственной практики студентов с медицинскими организациями; обеспечивают своевременную подготовку всей необходимой для проведения производственной практики документации; выделяют из числа наиболее опытных преподавателей, ответственных за организацию производственной практики студентов; обеспечивают своевременное прибытие студентов ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в МО для прохождения практики, контроль прохождения практики, проведение итогового экзамена и своевременную сдачу отчета о практике руководителю производственной практики. ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России заключает договоры о проведении производственной практики студентов с МО Краснодарского края. Кафедры, ответственные за проведение производственной практики студентов ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и руководители МО принимают активное участие в организации производственной практики (зимней и летней) студентов университета. Руководители МО Краснодарского края: выделяют из числа наиболее квалифицированных врачей и среднего медицинского персонала медицинских организаций, ответственных за производственную практику студентов в летний и зимний периоды; обеспечивают участие ответственных за практику работников МО в проведении итогового экзамена; в обязательном порядке принимают для прохождения производственной практики всех студентов, имеющих целевое направление из соответствующего муниципального образования.

Работа со студентами и выпускниками ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по содействию трудоустройству выпускников в университете направлена на: организацию временной занятости студентов; информирование студентов и выпускников о состоянии и тенденциях рынка труда (спросе и предложениях). Взаимодействие университета с местными органами власти по содействию трудоустройству выпускников, в том числе с территориальными органами государственной службы занятости населения реализуется путем: обмена информацией о спросе и предложении на рынке труда с органами по труду и занятости населения; участия в мероприятиях по содействию трудоустройству, организованных местными органами власти.



Медицинские организации Краснодарского края испытывают высокую потребность в специалистах. Потребность в кадрах подтверждается на ежегодных ярмарках вакансий, организуемых в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России для выпускников университета.

Удовлетворенность работодателей качеством подготовки специалистов, будучи процессом многоаспектным, формируется также на различных совместных с органами практического здравоохранения мероприятиях, позволяющих выявить требования и запросы работодателей с одной стороны, и возможности и направления подготовки специалистов в вузе, с другой. Система управления качеством подготовки специалистов включает в себя и этап последипломного образования: факультет повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов (ФПК и ППС) [1-3]. ФПК и ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России обеспечивает функционирование системы послевузовской подготовки специалистов и дополнительного образования врачей и провизоров. Структура и состав ФПК и ППС в достаточной мере удовлетворяют потребность практического здравоохранения в высококвалифицированных кадрах. Кафедры, функционирующие в составе ФПК и ППС имеют соответствующие профилю специальностей клинические базы. Это ведущие медицинские организации федерального, краевого и городского уровней. Работа факультета основана на максимальном приближении последипломного образования к месту работы специалистов.

Отзывы практического здравоохранения о качестве подготовки специалистов в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России самые позитивные.

Данные регулярно проводимого мониторинга трудоустройства выпускников свидетельствуют о высокой степени трудоустройства выпускников университета 2014 – 2016 гг.: по данным опроса выпускников: 95-100%, по данным мониторинга деятельности образовательных организаций высшего профессионального образования - 100 % (порог 97%) - 75 % (порог 70%, с учетом новых подходов к мониторингу), 2016 - 75 % (порог 70%). По информации департамента труда и занятости Краснодарского края от 10.10.2013 г. №76.08-5637/13-15 и 05.12.14 № 76.08-7296/14-15, Министерства труда и социального развития Краснодарского края от 13.10.2016 г. №204-22906/16-18.5-22 в органах труда и занятости населения Краснодарского края выпускники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России 2008-2014 годов, 2014 -2016 годов в качестве безработных не зарегистрированы.

Таким образом, авторы считают, что современные образовательные технологии учебного процесса, осуществляемая в КубГМУ, по улучшению качества образовательной деятельности направлены на подготовку конкурентоспособных специалистов в соответствии с существующими и будущими потребностями личности, общества и государства на основе интеграции медицинской науки и здравоохранения, что способствует успешному трудоустройству выпускников университета и обеспечению кадрами медицинских организаций Краснодарского края и России.

#### Литература

1. Алексеенко С.Н. Оптимизация учебного процесса для повышения качества образования и содействия трудоустройству выпускников ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России / С.Н. Алексеенко, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2016 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2016 года. 2016. С. 15-26.
2. Алексеенко С.Н. Использование современных информационно-образовательных технологий в учебном процессе / С.Н. Алексеенко, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2017 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 214-224.
3. Алексеенко С.Н. Инновационные технологии эффективного продвижения выпускников на рынке труда / С.Н. Алексеенко, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы

междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME, 2017. – Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 224-231.

4. Алексеенко С.Н. Основные направления повышения эффективности образовательной деятельности Кубанского государственного медицинского университета / С.Н.Алексеенко // Материалы IX региональной межвуз. учебно-метод. конф. с межд. Участием. 2018. С. 12-14.

5. Ахеджак-Нагузе С.К., Современные инновационные подходы к преподаванию дисциплины «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» студентам ФГБОУ КубГМУ Минздрава России / С.К. Ахеджак-Нагузе, А.Н. Редько // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2017 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 231-234.

6. Гайворонская, Т.В. Анкетирование студентов – фактор повышения качества образовательного процесса в вузе / Т.В.Гайворонская, Э.М.Шадрин // Материалы IX региональной межвуз. учебно-метод. конф. с межд. участием – 2018. – С. 78-80.

7. Ерина, Т.Ф. Интерактивные средства обучения как компонент единой образовательной среды в высшем учебном заведении /Т.Ф.Ерина, И.В. Уварова // Междунар. журнал экспериментального образования. 2016. № 4. С. 118-119.

8. Редько, А.Н. Применение инновационных методов, форм и средств обучения дисциплинам «медицинская информатика», «информационные технологии в науке и медицине» в Кубанском государственном медицинском университете / А.Н. Редько, А.В. Зобенко И.Т. Рубцова, С.В. Губарев // Междунар. журнал экспериментального образования. 2017. №4. С. 225-228.

9. Шильцова Т.А. Роль современных информационных технологий в повышении качества учебного процесса/ Ю.В.Мармулева // Междунар. журнал экспериментального образования. – 2017. № 4 (1). С. 281-282.

10.Шильцова Т.А. Преподавание студентам медицинского вуза основ управления в блоке экономических дисциплин / И.С.Лебедева // Междунар. журнал экспериментального образования. 2016. № 4 (1). С. 314-317.

#### **Modern educational technologies for increasing quality of education and promoting employment of graduates**

*Alekseenko Sergei Nikolaevich, M.D., Rector of FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Health Care of the Russian Federation*

*Gaivoronskaya Tatiana Vladimirovna, M.D, Vice-chancellor of FSBEI HE KubSMU, Ministry of Health Care of the Russian Federation*

*Achedzhak-Naguzes Saida Kazbekovna, Ph.d., Associate Professor, Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment, Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work of FSBEI HE KubSMU, Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, Russia, Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine  
tel: 89182468989 E-mail: naguzesk@mail.ru, <http://www.ksma.ru/>  
350063 Russian Federation, Krasnodar, 4, Sedin str.*

*Innovative technologies for effective promotion of students and graduates at the labour market assist in cooperating of all parties included in the process of employment: students, graduates, University representatives and employers. They are also helpful in complete employment, in concluding labour agreements with employers, in creating the model of a competitive graduate with settled socio-psychological and adaptive skills.*

*Keywords: Keywords: employment, innovative technologies, education quality, career fair for doctors and pharmacists, labour market, graduates.*

УДК 614.2:351.77

**ПРИМЕНЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ  
ПРИ ИЗУЧЕНИИ «ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ И ЗДРАВООХРАНЕНИЯ,  
ЭКОНОМИКИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ»**

*Ахеджак-Нагузе Саида Казбековна, к.м.н., доцент, доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины*

*E-mail: naguzesk@mail.ru*

*http://www.ksma.ru/*

*Редько Андрей Николаевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины*

*E-mail: RedkoAN@ksma.ru*

*ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России*

*http://www.ksma.ru/*

*Использование современных инновационных подходов к преподаванию дисциплины «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» студентам медицинских вузов, базирующихся на внедрении новых достижений в науке и технике, направленная на формирование компетенций, востребованных обществом, повышает качество подготовки выпускников.*

*Ключевые слова: информационные ресурсы, инновационные подходы, качество образования, компетенции, «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения».*

Инновационная деятельность в сфере высшего образования является одной из важнейших составляющих модернизации образовательной системы [1 - 6].

Целью исследования явилось изучение реализации образовательной программы по дисциплине «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» с применением инновационных технологий в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

В целях овладения компетенциями при изучении дисциплины «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» в учебный процесс внедряются инновационные технологии обучения, которые делают образовательный процесс проблемно-исследовательским, практико-ориентированным, прикладным, способствуют активизации самостоятельной работы и улучшению учебной деятельности студентов, применению ими формируемых компетенций для решения многих задач [1 - 6].

В рабочей программе по дисциплине «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения», которая является одним из важных инструментов в обеспечении качества подготовки специалистов, выделены виды профессиональной деятельности, к которым готовятся выпускники: медицинская, организационно-управленческая, научно-исследовательская. Изучение данной учебной дисциплины направлено на формирование у обучающихся общекультурных, общепрофессиональных и профессиональных компетенций.

Межпредметные связи являются одной из особенностей высшего образования, которые заключаются в согласовании рабочих программ дисциплин, так как изучение каждой дисциплины должно основываться на знаниях и умениях, формирующих предшествующими дисциплинами, в свою очередь, становясь базой для освоения последующих дисциплин. В связи с тем, что междисциплинарные связи способствуют разрешению противоречий между разрозненным усвоением знаний и необходимостью их интеграции, комплексного применения на практике в условиях будущей профессиональной деятельности, рабочие программы по всем факультетам по дисциплине «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» согласованы с другими дисциплинами.

Главной системообразующей формой организации учебного процесса в высшей школе является лекция. На кафедре общественного здоровья, здравоохранения и истории

медицины с учетом требований ФГОС ВО, рабочих программ по дисциплине «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» разработаны для каждого факультета электронные учебные пособия в виде презентаций лекций. Использование мультимедийных учебных материалов значительно усиливает педагогическое воздействие лектора на слушателей, способствует реализации творческого потенциала студентов и преподавателей [4, 6, 7, 8].

В условиях увеличения объемов информационных потоков применение инновационных технологий является актуальным. Информационные компьютерные технологии, используемые в организации учебного процесса, при подготовке учебно-методических пособий, методических рекомендаций, лекций, наглядного материала повышают информативность и наглядность, способствует формированию у студентов навыков самостоятельной работы, развитию мышления, способности принимать решения в различных ситуациях. Применение информационно-коммуникационных технологий в учебном процессе позволяет повысить производительность преподавателя, увеличить интенсивность учебного процесса и повысить качество подготовки обучающихся. Все условия и методы активации самостоятельной работы студентов, в первую очередь, побуждают их к развитию учебно-познавательной деятельности. Правильная организация и создание условий этой деятельности развивают у студентов умение самостоятельного поиска решения [3 - 6].

Применение интерактивных досок для проведения учебных занятий, семинаров позволяют объединить экран для отображения информации, обычную маркерную доску и интерактивный монитор. Возможность анимации, изменение и выделение значимых элементов при помощи цвета и шрифта позволяет задействовать визуальные, аудиальные, а также кинестетические каналы усвоения информации.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», включающие электронные библиотеки, ссылки на периодические публикации, электронные учебники способствуют уменьшению времени на поиски нужной информации и повышению результативности обучения [4, 6, 7, 8].

Использование социальных сетей в образовании открывает возможность в организации реально непрерывного обучения. В качестве доступного обучающего материала в социальных сетях используются электронные лекции, фотографии, видео материалы, книги и др. при изучении дисциплины «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения», что позволяет сделать образовательный процесс более наглядным, демонстративным и предоставляет возможность использования восприятия зрительных образов как дополнительный источник информации.

Комплексная оценка качества учебной работы студентов с использованием рейтинговой системы является накопительной и применяется для управления образовательным процессом.

Контрольно-оценочная составляющая образовательного процесса происходит в форме текущего и промежуточного контроля освоения знаний студентами. Система стандартизированных заданий, позволяет автоматизировать процедуру измерения уровня знаний и умений обучающегося, оценить и проанализировать наиболее часто встречающиеся ошибки. Тесты разработаны для программной оболочки «MyTest». Эти компьютерные программы работают как в автономном режиме, так и локально сетевом режиме. Фонд оценочных средств сотрудниками кафедры составлен ко всем темам практических занятий, промежуточному контролю для студентов, ординаторов и аспирантов по всем специальностям. Промежуточный контроль происходит в виде экзамена на лечебном и педиатрическом факультетах.

Мобильные компьютерные классы на базе планшетов нашли активное применение на занятиях у студентов. Сервером информационной обучающей среды, включающей электронные учебно-методические пособия, индивидуальные задания для практических

занятий, контрольные вопросы, тесты, базы архивов тестовых отчетов выступает базовый компьютер – ноутбук преподавателя. Пакет учащегося содержит программы для обучения.

Освоение студентами медицинских электронных информационных систем, автоматизированных рабочих мест врача, электронных систем помощи в принятии решений, доступа к электронным информационным и обучающим ресурсам, применяемых в практическом здравоохранении является актуальным и широко внедряется в учебный процесс [1 - 6].

Таким образом, реализация образовательной программы по дисциплине «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» с применением инновационных технологий в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России направлена на формирование компетенций, востребованных обществом и повышение качества подготовки выпускников.

#### Литература

Алексеев С.Н. Оптимизация учебного процесса для повышения качества образования и содействия трудоустройству выпускников ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России / С.Н. Алексеев, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2016 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2016 года. 2016. С. 15-26.

Алексеев С.Н. Использование современных информационно-образовательных технологий в учебном процессе / С.Н. Алексеев, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2017 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 214-224.

Алексеев С.Н. Инновационные технологии эффективного продвижения выпускников на рынке труда / С.Н. Алексеев, Т.В. Гайворонская, С.К. Ахеджак-Нагузе // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`, 2017.– Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 224-231.

Ахеджак-Нагузе С.К., Современные инновационные подходы к преподаванию дисциплины «Общественное здоровье и здравоохранение, экономика здравоохранения» студентам ФГБОУ КубГМУ Минздрава России / С.К. Ахеджак-Нагузе, А.Н. Редько // Материалы междунар. конф. «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», «New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology» IT + ME`2017 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2017 года. 2017. С. 231-234.

Ерина Т.Ф. Интерактивные средства обучения как компонент единой образовательной среды в высшем учебном заведении / Т.В. Ерина, И.В. Уварова // Междунар. журнал экспериментального образования. 2016. № 4. С. 118-119.

Редько А.Н. Применение инновационных методов, форм и средств обучения дисциплинам «медицинская информатика», «информационные технологии в науке и медицине» в Кубанском государственном медицинском университете / А.В. Зобенко И.Т. Рубцова, С.В. Губарев // Междунар. журнал экспериментального образования. 2017. № 4. С. 225-228.

Шильцова Т.А. Роль современных информационных технологий в повышении качества учебного процесса/ Ю.В.Мармулева // Междунар. журнал экспериментального образования. – 2017. № 4 (1). С. 281-282.

Шильцова Т.А. Преподавание студентам медицинского вуза основ управления в блоке экономических дисциплин / И.С.Лебедева // Междунар. журнал экспериментального образования. – 2016. № 4 (1). С. 314-317.

#### **Application of innovative technologies in the study of "public health and healthcare, health economics**

*Achedzhak-Naguze Saida Kazbekovna, Phd, Associate Professor of the Department of Public Health, Health Care and the History of Medicine of the Kuban State Medical University of the Ministry of Public Health of the Russian Federation*

*Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine*  
**Redko Andrey Nikolaevich**, Doctor of Medicine, Head of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine of the Kuban State Medical University of the Ministry of Public Health of the Russian Federation, Krasnodar, Russia,

*Modern and innovative approaches in teaching discipline «Public health and healthcare, health economics» to the students of medical universities based on the implementation of new achievements in science and technologies aim at the formation of the competences demanded by society. They also improve the quality of specialists' training.*

*Key words: information resources, innovative approaches, education quality, competences, «Public health and healthcare, health economics».*

УДК 339.138:661.12(075.8)

#### **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ МАРКЕТИНГ НА СТАДИИ R&D. ПРОБЛЕМА СИЛЬНОГО РЕШЕНИЯ**

*Николай Иннокентьевич Суслов, д.м.н., проф., заведующий лабораторией фитотерапии и специального питания*

*E-mail: nis-51@mail.ru*

*Сергей Сергеевич Староверов, лаборант исследователь*

*E-mail: Staroverov.ss@ssmu.ru;*

*Кирилл Валерьевич Шапошников, аспирант.*

*E-mail: tehno6111@gmail.com;*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» (НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга)*

*<http://niipharm.ru/>*

*В статье рассматриваются особенности маркетинговой деятельности на стадии R&D разработки новых лекарственных препаратов. Основное внимание уделено закономерностям формирования мотивации потребителя и алгоритму принятия сильного решения, составляющего основу инновационного проекта.*

*Ключевые слова: маркетинг, инновации, мотивация потребителя, сильное решение.*

*Введение. Известный теоретик по проблемам управления Питер Друкер говорил: "Цель маркетинга – сделать усилия по сбыту ненужными. Его цель – так хорошо познать и понять клиента, что товар или услуга будут точно подходить последнему и продавать себя сами". Его поддерживает один из ведущих специалистов по маркетингу Филип Котлер: «Основные усилия эффективного маркетинга сосредоточиваются не на том, чтобы продать товар, который уже создали, а сформулировать требования к товару, который предстоит создать и будет легко продаваться в силу своей функциональности». Таким образом, маркетинг можно определить как вид человеческой деятельности, направленной на удовлетворение нужд и потребностей посредством обмена [1, с. 21]. Это особенно значимо для инновационных разработок, где основная идея проекта часто имеет такое адаптивное значение, что ее часто именуют «сильным решением. При этом перед специалистами по маркетингу стоят две задачи: 1) провести подробный мотивационный анализ поведения покупателя по предполагаемому товару с выявлением наименее удовлетворяемых потребностей и 2) найти сильное решение, которое будет воплощено в конечный продукт разработки данного товара.*

Опыт преподавания фармацевтического маркетинга выявил несколько проблем, неверное понимание которых ведет к неуспешности изначально разумного проекта. Кроме того, отечественным маркетологам традиционно присуще пренебрежительное отношение к маркетинговым исследованиям на стадии R&D проекта, в то время как западные производители этим исследования отводят ведущую роль.

Для инновационного проекта маркетинг, предшествующий стадии разработки имеет ключевое значение. При создании принципиально нового продукта, нельзя идти на поводу у устоявшихся правил и норм. Необходимо выявить те потребности и их отдельные аспекты, которые не находят удовлетворения при использовании существующих на рынке товаров и услугах. При этом неизбежно приходится менять существующие методические подходы к разработке продукта, вводя новые технологии или модифицируя имеющиеся.

Цель работы. Целью данного исследования было обобщение опыта преподавания особенностей маркетинга инновационных проектов в части принятия сильного решения.

Материалы и методы. Методологической основой работы было чтение лекций с последующим контролем усвоенного материала и формированием блока информации, разъясняющей сложные разделы.

Полученные результаты. Инновация, нововведение – это внедрённое новшество, обеспечивающее качественный рост эффективности процессов или продукции, востребованное рынком. Инновация – это не всякое новшество или нововведение, а только такое, которое серьёзно повышает эффективность действующей системы [2]. Ф. Котлер при этом добавляет: «Не товары-подражатели, а изделия, четко отличающиеся от уже существующих и предлагающие потребителям новые выгоды...» [1., с. 21].

Как было сказано, в основе любого инновационного проекта лежит некая идея, которая в корне меняет результативность деятельности – повышает адаптивный потенциал человека. Такую идею часто принято называть сильным решением. Многими слушателями понятие сильного решения воспринимается как некая эмоциональная абстракция, суть и технология которой всем вполне понятны из самого названия. Однако, во-первых, *de facto* это не так, а во-вторых, содержание понятия и алгоритм его принятия достаточно хорошо известны специалистам по менеджменту и маркетингу, однако число публикаций по этому вопросу ограничено. Любая инновация отвечает следующим требованиям:

1. Проект должен кардинально отличаться от того, что существовало до этого в данной области человеческой деятельности, главным образом высоким уровнем креативности. Обычно он нарушает существующие правила поведения в данной сфере производства или иной деятельности.

2. Реализация инновационного проекта должна вести к существенному снижению стоимости результата.

3. Инновационный проект должен быть направлен на удовлетворение наиболее актуальных потребностей потребителей.

4. Потребности должны быть реальными (биологически обоснованными).

5. Проект должен удовлетворять требованиям канона Ллойда Моргана, который гласит: Тот или иной проект нельзя считать инновационным, если его результаты могут быть достигнуты более простым или дешевым способом.

Главную суть сильного решения, его ядро, составляет принцип, охарактеризованный Альбертом Эйнштейном следующим образом: «Самая большая глупость – это делать то же самое и надеяться на другой результат. Невозможно решить проблему на том же уровне, где она возникла. Нужно стать выше этой проблемы, поднявшись на следующий уровень».

На деле это не означает, что инновации могут совершаться только на основе последних достижений науки. Но, многочисленные примеры инноваций показывают, что это вовсе не обязательно. Инновации потому инновации, что они новы – в смысле по-

требности, которую они удовлетворяют, способом, которым они это делают, результатом, который они дают. И это не обязательно сверхсложные и наукоемкие процессы. Примером тому может служить создание «Кока-Колы». Ее состав, применявшийся для лечения похмелья, был позаимствован у индейцев, использующих его в качестве стимулятора работоспособности, хинин для лечения малярии, кокаин в качестве местного анестетика, курареподобные препараты, стрихнин, как стимулятор нервной системы и церебропротектор, были позаимствованы из практики шаманов и охотников, нейролептические свойства хлорпромазина (аминазин) и психотропные свойства LSD, кардиотропные свойства строфантина, противоневротические эффекты микстуры Павлова были открыты случайно. Кстати, сам А.Эйнштейн и не говорит об обязательной высокой наукоемкости проекта.

Другим распространенным заблуждением является то, что, инновации, обеспечивая высокий очевидный результат деятельности, сами пробьют себе дорогу в жизнь. Однако на самом деле любой инновационный проект нуждается в маркетинге не менее остальных проектов и может быть внедрен в жизнь только его средствами.

Справедливость этого утверждения может быть проиллюстрирована множеством примеров, например, изобретение парохода Денисом Папеном. При первой его демонстрации автором в 1707 г. разгневанные судовладельцы уничтожили пароход и чуть не убили его создателя. В дальнейшем на протяжении ста сорока лет пароход изобретался еще 4 раза, с тем же результатом, пока в 1843 году не началось регулярное пароходное сообщение на Гудзоне [3, с. 282].

По иному сложилась судьба изобретения радио. Его фактическими изобретателями одновременно являются Александр Попов, Гульельмо Маркони, Никола Тесла, Генрих Герц, Эрнест Резерфорд. Но именно Маркони проявил себя как истинный маркетинголог. До конца жизни он занимался выявлением возможных потребностей для своего изобретения и модифицировал прибор в соответствии с ними. Он и считается по праву изобретателем радио. Швейная машинка объединила в себе изобретения нескольких человек – Б. Тимонье, Элиаса Хоу, Орсона Фелпса и др. Исаак Зингер внес ряд важных конструктивных изменений в ее конструкцию, но главной его заслугой был маркетинг устройства. Своими действиями Зингер предвосхитил многие современные технологии маркетинга. Благодаря этому как радио, так и швейная машинка Зингера были приняты обществом при жизни их изобретателей.

И наконец, третьим заблуждением является утверждение о том, что для инновационного проекта маркетинг является средством продвижения и внедрения разработки. Маркетинг, в первую очередь, является средством управления самим процессом разработки. Маркетинг же продаж играет второстепенную роль. Именно маркетинг, предшествующий процессу разработки позволяет создать максимально востребованный на рынке препарат.

Что же по своей сути представляет сильное решение, о котором говорил А. Эйнштейн?

Сильным решением называется создание определенной мотивационной системы существенно меняющей стратегию поведения индивида или сообщества, одновременно повышающей эффективность деятельности последних, их адаптационный потенциал. При этом структура мотивации и ее значимость должны быть тщательно верифицированы с помощью мотивационного анализа [4, 5].

В мотивации как функции участвуют три главных аргумента – потребность, декларативная репрезентация (внутренний образ результата, который может удовлетворить эту потребность) и процедурная репрезентация (представления о действиях, которые нужно совершить, чтобы получить этот результат). Величины двух первых аргументов, взаимно усиливая влияние друг друга, положительно сказываются на величине мотивации. Третий аргумент – процедурная репрезентация, – определяя величину затрат, оказывает на величину мотивации отрицательное влияние.



Величина мотивации может быть охарактеризована следующей формулой:

$$M = \frac{D \cdot R}{C}$$

где: M – величина мотивации D (англ. demand) – величина потребности; R (англ. result) – значимость декларативной репрезентации; C (англ. costs) – величина затрат на поведение [6, с. 71; 7, с. 255].

Эффективность разных способов удовлетворения потребности будет зависеть от его (удовлетворения) полноты и затрат на получение результата. В зависимости от частных характеристик указанных аргументов могут быть построены целый ряд «экономических схем» удовлетворения одной и той же потребности. Эти схемы будут отличаться не только структурно, но и по параметрам своей эффективности и, следовательно, обладать разной мотивационной значимостью.

Необходимо обратить внимание на то, что размеры полезного приспособительного результата и затрат на его получение являются величинами прогнозируемыми. Поэтому и уровень мотивации в существенной мере зависит от информационной полноты и точности соответствующих репрезентаций. При недостатке информации по одному из параметров (потребности, декларативной или процедурной репрезентаций) уровень мотивации будет снижаться.

Технологии принятия сильных решений. В любом сколько-нибудь сложном поведении потребность представляет собой не простой факт необходимости чего-то, а сложную систему иерархически связанных элементарных или в разной степени обобщенных потребностей (объединяющих несколько или много элементарных), комплексное удовлетворение которых обеспечивает полноту и качество деятельности. При этом в зависимости от степени обобщения выделяются потребности первого, второго третьего и т.д. уровней. Каждый уровень обладает своей степенью интеграции и специфичности потребностей, а также статусом, отражающим его место в системе потребностей. Конфигурация потребности представляет собой систему взаимосвязей и иерархии потребностей в каком-то виде деятельности, обеспечивающую ее эффективность [8]

Любое заболевание можно трактовать как следствие неблагоприятного воздействия среды. При этом в его развитии можно выделить несколько уровней, определяющих конфигурацию потребностей в ликвидации патологии.

*Первый уровень конфигурации (экологический).* Этот уровень потребности будет связан с необходимостью нормализовать среду обитания. Это могут быть, например высокие концентрации токсичных веществ в воздухе или в воде, ненормальные взаимоотношения на работе или в семье. Воздействие этих факторов определенной длительности и интенсивности приводит к формированию этиологических факторов заболевания.

*Второй уровень конфигурации (этиологический).* Экологические факторы превращаются в этиологические при определенных условиях, которые представлены длительностью воздействия, его интенсивностью, наличием или отсутствием средств защиты или адаптации и т.д. В первом случае это связано с попаданием в организм (и накоплением) вредных веществ, во втором – с формированием состояний стойкого психоэмоционального перенапряжения, вызванного конфликтными отношениями.

*Третий уровень конфигурации (патогенетический).* Данный уровень представлен патогенетическими процессами - механизмами развития заболевания. Реализация механизма патогенеза приводит к формированию локальных (отдельных) проявлений заболевания – симптомам.

*Четвертый уровень конфигурации (симптоматический).* На этом уровне лекарственные средства или иные медицинские технологии противостоят отдельным проявлениям заболевания, не затрагивая самого механизма заболевания или влияя на него косвенно.

Как в этом ключе выглядит инновация с ее восхождением на более высокий уровень? Лекарственное средство, может претендовать на инновационность, работая на четвертом уровне только в том случае, если средства симптоматической терапии данного заболевания отсутствовали полностью или были неэффективными – вновь созданное средство открывает путь лечения заболевания там, где его не было. Так появление кокаина при полном отсутствии местных анестетиков в арсенале врача, вызвало инновационный бум. В эпоху до появления антибиотиков большинство инфекционных заболеваний лечилось чисто симптоматически. Эффект такого лечения был крайне низким, поэтому появление пенициллина, обладающего этиотропным действием (выход на второй уровень конфигурации) произвело переворот в медицине.

Изменение конфигурации потребности может касаться 1) изменения потребности на одном из уровней с заменой всех потребностей на всех нижестоящих уровнях (протез сустава делает ненужными все иные технологии лечения артрозо-артрита); 2) устранения части потребностей за счет введения технических средств достижения интегрального результата (станок с ЧПУ); полный отказ от потребностей, начиная с определенного уровня. Так компьютеры полностью вытеснили пишущую машинку чрезвычайно повысив эффективность технологий работы с текстами и документами.

Есть множество примеров сильных решений в фармацевтической отрасли и в медицинских технологиях. К ним можно отнести использование спреев вместо внутривенного введения лекарств, технологии нейровизуализации, системы дистанционной диагностики с помощью интернета или телефона, когда больной может получить консультацию высококвалифицированного специалиста, находясь в недоступном для последнего месте и т.д. Новыми направлениями являются таргетные препараты и средства контролируемой доставки лекарств.

В заключение нужно сделать еще одно замечание. Социальная среда оказывает сопротивление всему новому, т.к. всегда имеются группы людей, для интересов которых новое таит в себе угрозу, поскольку требует перестройки деятельности и разрушает устойчивые стереотипы производственного поведения. По отношению к традиционным технологиям и продуктам инновация ведет себя агрессивно. По меткому выражению Йозефа Шумпетера (автора концепции инновационной деятельности) инновация – это процесс «созидательного разрушения» поэтому ее внедрение может вызвать встречную агрессию.

**Выводы.** Таким образом, основу успешного инновационного проекта составляет некая формула, именуемая сильным решением и способная существенно оптимизировать мотивационное состояние потребителя в его рыночном поведении. Правильное понимание алгоритма принятия сильного решения способно значительно повысить эффективность разработки новых лекарственных препаратов.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: обоснование необходимости проведения маркетинговых исследований на стадии R&D разработки лекарственного препарата, даны характеристики сильного решения, приведен алгоритм его принятия.

#### Литература

1. Котлер Ф. Основы маркетинга. Краткий курс. Пер с англ. М.: Издательский дом "Вильямс", 2007. 656 с
2. Что такое инновация? <https://dic.academic.ru/>
3. Тиссандье Г. Мученики науки. – М.: Капитал и культура, 1995. 366 с.
4. Давыдов О. Теория сильных решений. [http://davydov.blogspot.ru/2006/10/blog-post\\_16.html](http://davydov.blogspot.ru/2006/10/blog-post_16.html)
5. В.Жартун Сильное решение. <http://bizentropy.biz/>
6. Мак-Фарленд Д. Поведение животных: Психобиология, этология и эволюция: Пер. с англ. М.: Мир, 1988. 520 с.
7. Суслов Н.И. Поведение человека и животных. Томск: Печатная мануфактура, 2012. 400 с.

8. Назаренко Ю. А. Конфигурационное управление: осознанная необходимость. – Харьков, 2003 [http://cdn.aviaforum.ru/images/2009/05/387308\\_b4ea53645497f3368b09edb3b7365e9c.pdf](http://cdn.aviaforum.ru/images/2009/05/387308_b4ea53645497f3368b09edb3b7365e9c.pdf)

**Pharmaceutical marketing at the stage of R&D. The Problem of strong solutions**

*Nikolay Innokentyevich Suslov, professor*

*Sergey Sergeevich Staroverov, laboratory assistant researcher*

*Kirill Valeryevich Shaposhnikov postgraduate*

*Federal state budgetary scientific institution "Tomsk national research medical center of the Russian Academy of Sciences," "Scientific-research Institute of pharmacology and regenerative medicine after E. D. Goldberg"*

*The article deals with the peculiarities of marketing activities at the stage of R&D of new drugs development. The main attention is paid to the regularities of formation of motivation of the consumer and the algorithm of making a strong solution that forms the basis of an innovative project.*

*Keywords: marketing, innovation, customer's motivation, strong solution.*

## МЕХАНИЗМЫ РАБОТЫ ПОВРЕЖДЕННОГО МОЗГА

*Галина Николаевна Болдырева, доктор биол. наук, проф.*

*E- mail: GBoldyreva@nsi.ru*

*Елена Васильевна Шарова, доктор биол. наук, главный научн. сотр.*

*E- mail: esharova@nsi.ru*

*Людмила Алексеевна Жаворонкова, доктор биол. наук., ведущий научн. сотр.*

*E- mail: lzhavoronkova@hotmail.com*

*ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН*

*117485, г. Москва, ул. Бутлерова, д. 5А*

*http://www.ihna.ru*

*Дмитрий Анатольевич Лысачев, студент*

*E- mail: dlysachev@gmail.com*

*София Игоревна Моререску, студентка*

*E- mail: sof.moraresku@gmail.com*

*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова*

*119192, Москва, Ломоносовский пр., д. 27, корп. 1*

*http://www.fbm.msu.ru*

*Елена Михайловна Трошина, канд. биол. наук, зав. лаб.*

*E- mail: ETroshina@nsi.ru*

*Ирина Геннадьевна Скорятина, вед. инженер*

*E- mail: skoriatina@nsi.ru*

*Александр Сергеевич Смирнов, аспирант*

*E- mail: alex.s.smirnof@gmail.com*

*Игорь Николаевич Пронин, академик РАН, зам. директора*

*E- mail: IPronin@nsi.ru*

*ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии*

*им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России*

*125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., д. 16*

*http://www.nsi.ru*

*В статье на основании анализа реактивных перестроек при двигательных нагрузках у больных с опухолем (12 человек) и травматическом (28 человек) церебральным поражением установлено, что отражением механизмов работы поврежденного мозга является диффузность моторных фМРТ-, ЭЭГ-ответов и нарушение их полушарной специфичности.*

*Ключевые слова: опухоли мозга, черепно-мозговая травма, фМРТ, ЭЭГ, двигательные нагрузки.*

*Исследование выполнено за счет РАН (в рамках госзадания ИВНД и НФ РАН) и Гранта РФФИ (проект № 18-013-355).*

**Введение** В изучении структурно-функциональной организации мозга человека важное место занимает использование наиболее современного способа нейровизуализации- функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ), отражающей изменение уровня оксигенации крови в активируемых отделах мозга. Учёт полученных этим способом данных крайне важен при разработке тактики хирургического вмешательства, направленной на сохранение целостности особо значимых структур мозга, прежде всего двигательных и речевых зон. Сочетанное использование фМРТ данных с результатами исследования нейрональных реактивных перестроек (ЭЭГ) представляет принципиально новый подход к изучению механизмов работы мозга. Нашей лабораторией

рией на протяжении последних 10 лет, совместно с отделением нейрорентгенологии Института нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко, проводится фМРТ-ЭЭГ изучение церебральных перестроек при двигательных нагрузках у здоровых людей и больных с разными нозологическими формами поражения мозга.

**Цель работы:** выявить особенности гемодинамических (фМРТ) и нейрональных (ЭЭГ) перестроек мозга при формировании движений у больных с опухолевым и травматическим поражением мозга, сопровождающимся двигательными расстройствами разной степени выраженности.

##### **Материал и методы исследования.**

Обобщены результаты анализа фМРТ-ЭЭГ-реактивных перестроек при выполнении двигательных задач у 12 больных с опухолью лобных отделов мозга (средний возраст  $48.8 \pm 9.5$  года) и 28 пациентов с последствиями тяжелой черепно-мозговой травмы (средний возраст  $33 \pm 5.6$  года). Исследования проводились в дооперационном периоде. Полученные результаты рассматривались с учётом данных неврологического обследования и результатов верификации на основании данных КТ и структурной МРТ. фМРТ-исследование осуществлялось на магнитно-резонансном 3Т томографе GE Healthcare (США). Регистрация сигнала проводилась согласно блоковой парадигме, состоящей из чередования периодов покоя и выполнения двигательной нагрузки длительностью по 30 с. Усреднялись результаты пятикратного применения каждой пробы. Данные фМРТ (+BOLD ответ) обрабатывали с помощью программы SPM8 в среде Matlab 7.0. Коррекция двигательных артефактов выполнялась по стандарту *generalized linear model* (GLM). Определялись MNI- координаты зон активации и их объем с использованием приложения Automated Anatomical Labeling (AAL). Анализировались индивидуальные и групповые данные с кластерной поправкой на множественные сравнения  $p(\text{FWE-corr}) < 0.05$ . В тот же день с фМРТ проводилась 18-канальная монополярная регистрация ЭЭГ на аппарате Nihon Khoden (Япония). Вычислялись спектрально-когерентные характеристики ЭЭГ в фоне и при выполнении двигательных задач. На специализированном программно-вычислительном комплексе Нейрокартограф (МБН, Россия) проводилось топографическое картирование предложенных нами [1] параметров мощности и когерентности для основных физиологических диапазонов ритмов (дельта, тета, альфа, бета); в свою очередь альфа-диапазон был разделен на 3 поддиапазона: альфа1 (7.8-9.0Гц), альфа2 (9.4-10.2Гц), альфа3 (10.5-12.5Гц). Проводились сопоставления индивидуальных и групповых показателей ЭЭГ между фоном и двигательной нагрузкой на основе непараметрического критерия Манна-Уитни. Опорными в оценке фМРТ- и ЭЭГ-ответов при двигательных нагрузках у больных являлись результаты аналогичных исследований, проведённых у 22 здоровых испытуемых (средний возраст  $24.3 \pm 5.6$  года) с отсутствием клинических симптомов заболеваний и без признаков двигательных нарушений. У всех принимавших участие в исследованиях больных и здоровых людей ведущей была правая рука.

##### **Результаты и их обсуждение**

Для здоровых испытуемых характерным при выполнении двигательных задач (сжимания-разжимания пальцев в кулак отдельно правой и левой руки) было, согласно фМРТ-данным, наличие +BOLD сигнала в сенсомоторной области контралатерального по отношению к работающей руке полушария (основной корковый ответ), в дополнительной моторной зоне и ипсилатеральном полушарии мозжечка. Включение в реакцию других корковых, а также подкорковых отделов мозга было выражено в значительно меньшей степени и резко варьировало. Использование парного t-теста показало, что при менее привычной для правшей работе левой рукой фМРТ-ответы характеризовались большей, чем правой рукой, вариативностью, наиболее выраженной для дополнительной моторной зоны и мозжечка. Ответы при левосторонней нагрузке носили менее локальный характер, в частности, активировалось не только ипсилатеральное, но и контралатеральное полушарие мозжечка. Кроме того, при работе левой рукой отмеча-

лась меньшая, по сравнению с правой, интенсивность корковых ответов и большая активация подкорковых структур. В целом фМРТ ответы при левосторонней нагрузке характеризовались большей диффузностью и меньшей полушарной специфичностью включения отдельных церебральных структур в реактивный процесс. Эти различия необходимо учитывать при оценке особенностей изменений двигательных фМРТ-ответов у больных с разной латерализацией поражения мозга.

Сопоставление фМРТ- и ЭЭГ-реакций при двигательной нагрузке обнаружило, что среди разных параметров ЭЭГ зоне основного коркового фМРТ-ответа в наибольшей степени соответствует повышение когерентности альфа-активности. Дробный анализ реактивных перестроек отдельных поддиапазонов альфа-ритма позволил установить, что при двигательных нагрузках на правую руку основному корковому ответу топографически соответствует повышение когерентности высокочастотного альфа-ритма, в полосе альфа3. Этот ритм мы условно обозначили, как «рабочий» альфа-ритм человека [2]. При левосторонней нагрузке «рабочим» ритмом, увеличивающим свою когерентность в зоне основного коркового фМРТ-ответа, являются колебания в полосе альфа2; кроме того, в этой ситуации наблюдается распространение отмеченных изменений ЭЭГ на лобные отделы активированного полушария.

Анализ ответных реакций мозга на двигательные нагрузки у *больных с опухолевым поражением мозга* выявил их значительную вариабельность и разную степень отклонений от нормативных данных. Основное отличие выражалось в нарастании диффузности фМРТ ответов. Эти топографические особенности фМРТ-ответов проявлялось в наличии множественных зон активации как в корковых, так и глубинных отделах мозга, включая структуры, непрямые к обеспечению движений в норме. Как правило, нарастание диффузности ответов сочеталось с ослаблением основных корковых зон активации.

Диффузный характер фМРТ-ответов наиболее резко проявлялся при активации пораженного полушария, отражая в этих случаях большую степень включения в реактивный процесс всего мозга в целом, в том числе и его глубинных структур. Косвенным подтверждением участия в реактивном процессе этих структур являлись особенности ЭЭГ-перестроек, выражающиеся в повышении реактивности генерирующихся этими структурами медленных ритмов. Примечательно, что нарастание когерентности медленных ритмов в пораженном полушарии у больных с выраженной церебральной декомпенсацией отмечалось при движении как правой, так и левой рукой. Это может указывать на доминантный характер развития патологического очага с формированием отличных от нормы систем взаимодействия церебральных структур. Особенности включения других диапазонов ритмов ЭЭГ в выполнение движений определялись степенью церебральной декомпенсации, отраженной в характере реорганизации фоновой ЭЭГ и выраженности двигательного дефекта. Полученные данные свидетельствуют о том, что в основе формирования движения при опухолевом поражении мозга лежат отличные от нормы формы нейродинамических перестроек со специфическими особенностями реагирования пораженного и интактного полушарий [3].

Переход от локальной формы реагирования мозга к диффузной при двигательных нагрузках был характерен и для *больных с последствиями черепно-мозговой травмы*. Причем, эти топографические особенности фМРТ-ответов отмечались не только при нарушениях в двигательной сфере, но и при их отсутствии [4].

В поисках маркеров выраженности двигательных нарушений было установлено, что частота встречаемость фМРТ ответов диффузного типа увеличивалась с нарастанием степени гемипареза. Это было подтверждено сравнительным количественным анализом объемов фМРТ ответов при движении у здоровых людей и травматических больных с гемипарезами [5]. Отмеченным топографическим особенностям двигательных ответов соответствовало нарастание, по данным МРТ, выраженности структурных изменений головного мозга, таких как гидроцефалия и другие дефекты мозговой ткани.

Усиление диффузности фМРТ-ответов у травматических больных было также обнаружено при картировании моторных зон с использованием другой двигательной парадигмы – пассивного сжимания-разжимания пальцев в кулак, осуществляемого с помощью экспериментатора [6]. Корректность использования пассивной двигательной парадигмы у больных с гемипарезами была обоснована результатами предварительного анализа реактивных перестроек при пассивном выполнении движений у здоровых людей, показавших сходство топографии основного коркового фМРТ-ответа и ЭЭГ-перестроек при активном и пассивном выполнении движений [1].

Реактивные изменения когерентности ЭЭГ при пассивной двигательной нагрузке у больных с последствиями черепно-мозговой травмы, в отличие от нормы, не ограничивались преимущественно альфа-диапазоном и характеризовались расширением полосы включения в реактивный процесс разных ритмов ЭЭГ.

Важно подчеркнуть, что наряду с выявленным нарастанием диффузности фМРТ-ответов в условиях патологии, сопоставление реакций фМРТ и ЭЭГ на идентичные двигательные нагрузки у всех исследованных больных выявило отсутствие, свойственной здоровым людям, топографической приуроченности области максимального ЭЭГ-реагирования (ROI region) зоне основного фМРТ-ответа.

### Заключение

Комплексный анализ изменений фМРТ- и ЭЭГ-ответов при двигательных нагрузках у больных с поражением мозга, позволил выявить ряд нейрофизиологических закономерностей формирования движений и особенностей их структурного обеспечения в патологии. Выявленный принципиально иной, менее упорядоченный, по сравнению со здоровыми людьми, тип формирования реактивных перестроек отражает нарушение функциональной специализации мозга и усиление диффузного компонента реакции с выраженной тенденцией дополнительной активации неспецифичных по отношению к двигательной нагрузке отделов мозга. Можно полагать, что выявленные особенности структурно-нейронального обеспечения движений у исследованных больных, проявляющиеся в усилении включения в реактивный процесс глубоких церебральных отделов при нарушении корковой нейродинамики, отражают компенсаторные механизмы работы мозга в условиях патологии. Поскольку описанные особенности фМРТ- и ЭЭГ-ответов при формировании движений были характерны для разных нозологических форм церебральной патологии, можно предположить, что они отражают общебиологические принципы работы повреждённого мозга.

Авторы считают, что в данной работе на основании анализа фМРТ- и ЭЭГ-реактивных перестроек при двигательных нагрузках у больных с опухолевым и травматическим церебральным поражением получены принципиально новые сведения, касающиеся особенностей механизмов работы повреждённого мозга.

### Литература

1. Русинов В.С., Гриндель О.М., Болдырева Г.Н., Вакар Е.М. Биопотенциалы мозга человека. Математический анализ. М.: Медицина. 1987. 254с.
2. Болдырева Г.Н., Шарова Е.В., Жаворонкова Л.А., Челябинка М.В., Дубровская Л.П., Симонова О.А., Смирнов А.С., Трошина Е.М., Корниенко В.Н. ФМРТ и ЭЭГ реакции мозга здорового человека на активные и пассивные движения ведущей рукой //Журн. высш. нервн. деят. 2014. 64(5): 488-499.
3. Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Шарова Е.В., Мигалев А.С., Скорятина И.Г., Букина С.Б., Подопратора А.Е., Пронин И.Н., Корниенко В.Н. фМРТ-ЭЭГ-оценка реакций на двигательные нагрузки при опухолевом поражении мозга //Физиология человека. 2010. 36(5): 66-75.
4. Жаворонкова Л.А., Морареску С.И., Болдырева Г.Н., Шарова Е.В., Купцова С.В., Смирнов А.С., Машеров Е.Л., Пронин И.Н. фМРТ-реакции мозга при выполнении двигательных нагрузок у пациентов с черепно-мозговой травмой //Физиология человека. 2017. 43(2): 191-198.
5. Мухина Т.С., Шарова Е.В., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Смирнов А.С., Куликов М.А., Александрова Е.В., Челябинка М.В., Машеров Е.Л., Пронин И.Н. Особенности нейроанатомии активных движений руки у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой (анализ дан-

ных функциональной магнитно-резонансной томографии) //Журн. неврологии, нейропсихиатрии, психосоматики. 2017. 9(1): 27-33.

6. Шарова Е.В., Лысачев Д.А., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Куликов М.А., Челябинина М.В., Смирнов А.С., Пронин И.Н. ЭЭГ-фМРТ сопоставления в исследовании пассивного движения руки у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой //Вестник клинической нейрофизиологии (научно-практический журнал), специальный выпуск: Материалы 5-й научно-практической Конференции “Клиническая нейрофизиология и нейрореабилитация”, 22-14 ноября 2017г., Санкт-Петербург, с. 41-42.

**Mechanisms of work of the damaged brain (fmrt and eeg data)**

*Galina Nikolaevna Boldyreva, professor, IHNA& NPh RAS, Moscow*

*Elena Vasilyevna Sharova, Chief Researcher, IHNA& NPh RAS, Moscow*

*Ludmila Alexeevna Zhavoronkova, leading science researche, IHNA& NPh RAS, Moscow*

*Dmitry Anatolievich Lysachev D.A., student, Lomonosov Moscow State University*

*Sofia Igorevna Moraresku, master's student, Lomonosov Moscow State University*

*Elena Michailovna Troshina, head of the laboratory, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*Irina Gennadijevna Skoryatina, lead engineer, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*Aleksandr Sergeevich Smirnov, postgraduate, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*Igor Nikolaevich Pronin, academician, deputy director, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*On the basis of the analysis of reactive changes with motor loads in patients with tumor (12 subjects) and traumatic (28 subjects) cerebral lesion, it has been established that the diffusion of motor fMRI- and EEG- responses and the violation of their hemispheric specificity are a reflection of the mechanisms of the functioning of the damaged brain.*

*Keywords: brain tumors, craniocerebral trauma, fMRI, EEG, motor tasks.*

УДК 612.821

**КОМПЕНСАТОРНЫЕ РЕСУРСЫ МОЗГА ПОСЛЕ  
ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

**Купцова Светлана Вячеславовна**, канд. биол. наук, нейропсихолог

*E-mail: svoky@rambler.ru*

ГБУЗ Центр патологии речи и нейрореабилитации ДЗМ

109240, г.Москва, ул. Николоямская 20 с1

**Жаворонкова Людмила Алексеевна**, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник

*E-mail: lzavoronkova@hotmail.com*

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

117485, г. Москва, ул. Бутлерова 5А

**Максакова Ольга Арсеньевна**, канд. мед. наук, старший научный сотрудник

*E-mail: omaksakova@nsi.ru*

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ

125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская, д.16

**Скорятина Ирина Геннадьевна**, вед. инженер

*E-mail: skoriatina@nsi.ru*

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ

125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская, д.16

*В ранние сроки после черепно-мозговой травмы “гиперреактивные” перестройки частых ритмов ЭЭГ могут быть маркером “включения” компенсаторных ресурсов при участии корковых структур. В отдаленные сроки доминирование медленных ритмов может отражать нарастание роли подкорково-коркового взаимодействия.*

*Ключевые слова: черепно-мозговая травма, реактивные перестройки ЭЭГ, компенсаторные ресурсы, двойные задачи*



У людей, перенесших черепно-мозговую травму (ЧМТ), как правило, выявляются нарушения в различных сферах деятельности – двигательной, когнитивной, эмоциональной и др. Нередко даже после ЧМТ средней тяжести, люди теряют возможность вернуться к своей профессии, особенно в том случае, когда она связана с высокоинтеллектуальной деятельностью. Именно поэтому возникает необходимость моделировать такие ситуации для изучения особенностей работы мозга в условиях одновременного восприятия мультиафферентной информации и выполнения различных видов деятельности. Известно, что здоровые люди в повседневной жизни способны одновременно осуществлять две задачи, чаще всего когнитивную и моторную [1]. Ранее было показано, что эта способность обеспечивается пространственно-частотной организацией активации мозговых структур для каждой из компонентов двойных задач [2, 3]. Используемая нами когнитивная проба – счет в уме – сопровождалась преимущественной активацией левого полушария при участии медленных ритмов ЭЭГ. Однако диагностические возможности таких двойных задач для пациентов с ЧМТ ограничены, так как травматическое поражение мозга может сопровождаться дисфункцией как левого, так и правого полушария (или обоих). С учетом этого были разработаны и апробированы специальные когнитивные задачи – вербально-логические, предусматривающие преимущественную активацию левого полушария, и зрительно-пространственные, в большей степени связанные с активацией правого полушария. Важным аспектом изучения последствий ЧМТ является анализ реактивных перестроек мозга в разные сроки после травмы, которые позволяют оценить компенсаторные возможности мозга человека по мере восстановления нарушенных функций. Именно поэтому целью настоящего исследования явилось изучение мозговых механизмов, обеспечивающих выполнение двойных задач пациентами в разные сроки после ЧМТ в сопоставлении с нормой.

В исследовании приняли участие 39 здоровых испытуемых ( $27,6 \pm 0,07$ ) и 21 пациент ( $28 \pm 5,3$ ) с последствиями ЧМТ. У 12-ти пациентов исследования были проведены в ранние сроки после ЧМТ (до 3-х месяцев) и у 9-ми – в отдаленные (6 и более месяцев после ЧМТ). Комплексное исследование включало ЭЭГ и стабิโลграфию, а у пациентов дополнительно использовались количественные клинические шкалы (ММРІ, FIM, SMME и шкала Берга), позволяющие оценить степень нарушения функций в различных сферах. Телеметрическая ЭЭГ (Медикор, Россия), регистрировалась в состоянии покоя и во время выполнения различных задач, что позволяло оценить реактивные перестройки мозга человека в разных условиях функционирования. Процедура эксперимента включала в себя выполнение двух моторных и трех когнитивных задач изолированно и одновременно (двойные задачи). Моторные задачи предусматривали поддержание (M1) и изменение позы (M2) на стабิโลграфической платформе при участии обратной зрительной связи. При выполнении 1-й когнитивной задачи (C1) испытуемому предлагали прослушать ряд высоких и низких звуков и подсчитать в уме количество низких звуков. При выполнении 2-й когнитивной задачи (C2) испытуемому в случайном порядке перечислялись предметы, относящиеся к категории “одежда” или “еда” и он должен был посчитывать количество предметов, относящихся к одной из указанных категорий. При выполнении 3-й задачи (C3) экспериментатор называл время. Испытуемый должен был мысленно представить себе циферблат часов и расположение на нем стрелок в соответствии с названным временем. Если обе стрелки находились в одной и той же половине циферблата, он говорил “да”, а если в разных – молчал. Все задачи выполнялись в течение 60с.

Анализ реактивных перестроек ЭЭГ у здоровых испытуемых при выполнении двух вербально-логических когнитивных задач (C1 и C2) сопровождался значимым увеличением когерентности медленных ритмов ЭЭГ (дельта- и тета-) в левом полушарии, а при выполнении зрительно-пространственной задачи (C3) – дополнительно и в правом. При выполнении моторных задач выявлено увеличение когерентности ЭЭГ

также преимущественно в правом полушарии, но для частых ритмов – альфа-2 и бета-диапазонов. У пациентов в ранние сроки после ЧМТ выявлено более низкое качество выполнения двойных задач по сравнению с нормой. Наиболее отчетливо это проявлялось при выполнении вербально-логических нагрузок у пациентов с большей дисфункцией левого полушария и зрительно-пространственной – при доминировании дисфункции правого полушария. По данным стабิโลграфии у пациентов в ранние сроки после ЧМТ обнаружены более высокие значения скорости колебаний по сравнению со здоровыми людьми, что может отражать большие усилия, необходимые для выполнения двойных задач. Данные ЭЭГ в ранние сроки после ЧМТ соответствовали “гиперреактивным” перестройкам за счет включения большего числа ритмов (преимущественно высокочастотной составляющей альфа-бета-диапазонов) и большего числа областей коры, в большей степени для коротких связей по сравнению со здоровыми испытуемыми, что согласуется с данными других исследователей [4]. Наиболее отчетливо такие гиперреактивные перестройки проявлялись для моторных задач, что может быть связано с нарушениями поддержания вертикальной позы у пациентов после травмы. Это сочеталось со снижением когерентности для длинных диагональных связей, особенно между ассоциативными областями коры (лобными и теменными). Выявленные реактивные перестройки ЭЭГ могут отражать “включение” компенсаторных процессов за счет усиления активации локальных нервных сетей преимущественно коркового генеза в ранние сроки после ЧМТ. В отдаленные сроки после ЧМТ по данным стабילוграфии значения скорости колебаний общего центра давления нередко становилось более низким, чем у здоровых людей. По данным ЭЭГ этому соответствовало доминирование реактивных перестроек преимущественно в медленном диапазоне. Выявленные стабילוграфические и ЭЭГ-перестройки могут отражать ослабление компенсаторных ресурсов у пациентов с течением времени после ЧМТ, которые могут сохраняться длительное время в отсутствие специальных реабилитационных мероприятий, сочетаться с повышенной утомляемостью, сниженной профессиональной активностью и ослабленной адаптацией к сложным условиям социальной среды.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: новые данные о перестройке ритмов ЭЭГ у пациентов в ранние и отдаленные сроки после ЧМТ, свидетельствуют о том, что в ранние сроки после ЧМТ ЭЭГ-реактивные перестройки при выполнении сложных нагрузок у пациентов с последствиями ЧМТ в виде гиперсинхронной активации локальных нервных сетей могут отражать “включение” компенсаторных ресурсов мозга, преимущественно коркового генеза. Доминирующая активация медленных составляющих ЭЭГ может отражать переход на другие компенсаторные механизмы с большим вкладом подкорковых образований в организацию реактивных перестроек мозга. Предложенные двойные задачи могут быть также информативным инструментом для выбора индивидуальных реабилитационных программ для эффективного восстановления нарушенных функций с учетом латерализации преимущественного поражения мозга.

#### Литература

- Schaefer S and Linderberger U.* Thinking and walking: experienced high-heel walkers flexibility adjust their gait. *Frontiers in psychology*. 2013. Vol. 4. No. 6. P. 1-7.
- Low K.A., Leaver E.E., Kramer A.F., et al.* Share or complete? Load-dependent recruitment of prefrontal cortex during dual-task performance. *Psychophysiology*. 2009. Vol. 46. No. 5. P. 1069-1079.
- Жаворонкова Л.А., Кушнир Е.М., Жарикова А.В., Купцова С.В., Шевцова Т.П. и др.* Электроэнцефалографические характеристики здоровых людей с разной успешностью выполнения двойных задач (позный контроль и счет). *Журн. высшей нервн. деят.* 2015. Т. 65. №5. С. 1-10.
- Johnson B., Zhang K., Gay M., Horovitz S., Hallett M., Sebastanelli W., Slobounov S.* Alteration of brain default network in subacute phase of injury in concussed individuals: resting-state fMRI study. *Neuroimage*. 2012. Vol. 59. No.1. P. 511-518.

**Compensatory resources of the brain after traumatic brain injury**

*Kuptsova Svetlana Vyacheslavovna, PhD in biology, neuropsychologist of Center for Speech Pathology and Neurorehabilitation, Healthy Ministry of Moscow*

*Zhavoronkova Ludmila Alexeevna, Doctor of biological sciences, leading science researcher of Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS*

*Maksakova Olga Arsenjevna, PhD in medicine, senior science researcher, National Medical Research Center Neurosurgery to the name of acad. N.N. Burdenko*

*Skorjatina Irina Gennadievna, lead engineer of National Medical Research Center Neurosurgery to the name of acad. N.N. Burdenko*

*“Hyperreactive” changes of fast spectral bands EEG may be as markers of predominant using of cortical compensator resources at the early period after traumatic brain injury (TBI). At the late period after TBI the more reactive changes for slow spectral bands may be reflection the including the other compensator mechanisms using predominantly cortical-subcortical interaction.*

*Key words: cranio-cerebral trauma, EEG reactive changes, compensator resources, dual-tasks*

УДК 612.821.6

**ПОСТИНСУЛЬТНАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ МОЗГА ПРИ СЕНСОРНОЙ АФАЗИИ**

*Майорова Лариса Алексеевна, к.м.н., научный сотрудник ИВНД РАН, ГБУЗ ЦПРиН ДЗМ*

*E-mail: major\_@bk.ru*

*Алферова Вера Вадимовна, д.м.н., невролог-консультант ГБУЗ ЦПРиН ДЗМ*

*E-mail: valferova@mail.ru*

*Петрушевский Алексей Гарриевич, врач-рентгенолог ГБУЗ ЦПРиН ДЗМ*

*E-mail: shevsky@mail.ru*

*E-mail: Варламов Сергей Александрович, аспирант*

*E-mail: sv-kanino@mail.ru*

*Выявлены специфические паттерны функциональной реорганизации структур головного мозга у пациентов с сенсорной афазией, характерные для процесса раннего восстановления импрессивного компонента речи, что в дальнейшем позволит определить структуры мозга для направленного воздействия в рамках реабилитационного процесса.*

*Ключевые слова: фМРТ, odd-ball, функциональная коннективность, негативность рассогласования, речевой гнозис, сенсорная афазия*

**Введение**

Сенсорная афазия - представляющая собой нарушение способности понимать родную речь, вследствие (чаще всего) ишемических изменений в области коры головного мозга, отвечающей за восприятие речи. Данный вид постинсультных осложнений считается одним из самых тяжелых, поскольку пациент лишается не только возможности понимать обращенную к нему речь, но также, из-за отсутствия слухо-речевого самоконтроля, теряет способность понятно высказываться (в неврологической практике – симптом речевого «салата»). В крайних проявлениях речь таких больных становится совершенно непонятной. Клинические наблюдения показали, что при такой патологии происходит нарушение способности в достаточной степени различать фонемы, например, «ба», воспринимается как «па» и т.д., так называемая, фонематическая агнозия, при этом пациенты, по наблюдению А.Р. Лурия, все-таки ощущают разницу, которую они не в состоянии уяснить.

Пациенты с синдромом афазии составляют достаточно большую популяцию среди пациентов с ишемическим инсультом. Частые неблагоприятные функциональные исходы заболевания среди пациентов с когнитивными нарушениями, в том числе с

синдром афазии, оборачиваются значимыми социально-экономическими потерями для общества.

Актуальность настоящей работы определяется необходимостью разработки и совершенствования методик восстановления речевого гнозиса у пациентов после инсульта. Кроме того, нейрональный базис и механизмы распознавания речи остаются до конца не изученными, а сенсорная афазия являясь изолированной утратой способности различать фонемы родного языка, сама по себе представляет модель для исследования сетей мозга, отвечающих за различения звукового речевого сигнала. Полученные в ходе таких исследований знания об организации речевых сетей могут быть приложены, например, к решению проблемы создания эффективных алгоритмов распознавания речи.

### **Цель работы**

Целью настоящего исследования было выявить специфические паттерны функциональной реорганизации структур головного мозга у пациентов с сенсорной афазией, характерные для процесса раннего восстановления импрессивного компонента речи.

### **Материалы и методы**

Работа проводилась на базе Центра патологии речи и нейрореабилитации (ЦПРН). В исследовании принимали участие 15 пациентов с постинсультной сенсорной афазией в диагнозе (10 мужчин, 5 женщин), правши, средний возраст –  $61.9 \pm 9.8$  лет, давность ишемического инсульта – 3-4 месяца, локализация очагового поражения мозга – преимущественно в теменно-височной области. Все пациенты и при поступлении, и при выписке прошли подробное нейропсихологическое обследование по 10-балльной шкале оценки нейропсихологической симптоматики [2,1] до и после курса восстановительной терапии. Степень афазии при поступлении составила 5.6,  $SD \pm 1.18$  баллов.

Пациенты проходили фМРТ сканирование два раза – при поступлении и при выписке (среднее время между исследованиями составило  $42.6 \pm 12.8$  дня). Процедура сканирования включала сбор структурных данных, а также сбор функциональных данных с применением слухоречевой стимуляции с использованием фонем, поскольку современные исследования подтверждают, что в основе неспособности пациента понимать обращенную речь в первую очередь лежит дефицит фонологической обработки [3]. использовалась пассивная парадигма odd-ball со случайным предъявлением блоков, направленная на выделение компонента НР на фонемы и адаптированная для фМРТ. Каждый блок парадигмы содержал 10 слуховых стимулов – слогов длительностью около 330 мс и громкостью 85 дБ каждый. Слоги «ба» использовались в качестве стандартных, «па» - в качестве девиантных (предъявляемых с частотой 20% внутри блока). В 1/3 последовательностей 2 из 10 стимулов являлись девиантными, в другой 1/3 блоков все 10 стимулов были стандартными, последняя 1/3 блоков предназначалась для измерения базового уровня активации без предъявления каких-либо звуков.

Анализ фМРТ-данных проводили с помощью пакета статистической обработки SPM12 [4] на платформе MATLABR2012b (MathWorks, Natick, MA, USA) на индивидуальном и групповом уровнях. Для построения индивидуальных карт активации использовали контраст, направленный на выявление компонента НР, т.е. производили вычитание стандартных последовательностей из девиантных (D-S), а также контраст, направленный на выявление активации в ответ на оба типа стимулов (S+D). Для группового анализа применялся одновыборочный t-test, а также попарный t-test для сравнения активации до и после госпитализации с порогом статистической значимости  $pFDR_{corr} < 0.05$ . Область прироста активации использовалась затем в качестве зоны интереса для дальнейшего анализа изменения функциональной коннективности. Для создания шаблона зоны интереса использовалось программное приложение MarsBaR (MRCCognitionandBrainSciencesUnit, Cambridge, UnitedKingdom). Для анализа функциональной коннективности использовалось программное приложение CONN[5].

## Результаты

По данным нейропсихолога в группе пациентов при выписке имел место статистически значимый прирост импрессивного компонента речи, выраженного в баллах по результатам тестирования, проводимого по методике А.Р. Лурия и по 10-балльной оценке Шкловского, Репина. У пациентов при выписке отмечалось достоверное увеличение значений теста на понимание слов, инструкций и флективных отношений.

При попарном сравнении активационных карт фМРТ-эквивалента негативности рассогласования (контраст на индивидуальном уровне (D-S)) у пациентов до и после госпитализации получен прирост активации в правой НЛИ (parsopercularis, 44 поле по Бродману) при выписке из стационара (контраст на групповом уровне «после>до») ( $T > 3.78$ ,  $p_{FDRc} < 0,05$ ). Полученные в ходе анализа данные о локализации прироста активации использовались (в качестве зоны интереса) для анализа изменений функциональной коннективности по мере восстановления импрессивного компонента речи. Анализ функциональной коннективности полученной зоны активации (покрышечной области правой НЛИ) выявил при выписке из стационара увеличение синхронизации BOLD-ответа со следующими областями мозга: правая гемисфера мозжечка, правая ВВИ, правая надкраевая извилина, правая веретенообразная извилина, а также угловая и надкраевая извилины, скорлупа и островковая доля слева (табл.1).

Таблица 1

Анализ источников (seed-to-voxel analysis), прирост функциональной коннективности зоны интереса (RIFGoper) при повторном обследовании пациентов. Локализация кластеров, координаты в MNI-пространстве

seed	контраст	кластер	MNI (mm)	k	T	p
R IFG oper	после>до	R cerebellum	36 -78 -22	32	8	0,000012
		L putamen	-24 -2 -8	51	7,22	0,000013
		R STG	44 -28 2	29	7,22	0,000013
		L insula	-36 0 -6	27	6,51	0,000031
		L AG	-66 -46 20	23	5,91	0,000068
		R a/pSMG	54 -32 36	25	5,72	0,00008
		R fusG	54 -60 -20	42	5,17	0,00017
		WM	-32 -4 38	31	5,14	0,00017
		L aSMG	-54 -30 26	27	4,49	0,00051

*k*-количество активированных вокселей, значение *T*-критерия, уровень значимости. *R cerebellum* – правая гемисфера мозжечка, *L putamen* – левая скорлупа, *R STG* – правая верхняя височная извилина, *L insula* – левая островковая доля, *L AG* – левая угловая извилина, *R a/pSMG* – правая надкраевая извилина (передняя/задняя часть), *R fusG* – правая веретенообразная извилина, *WM* – белое вещество, *L aSMG* – левая передняя надкраевая извилина.

## Выводы

У пациентов с сенсорной афазией в раннем восстановительном периоде инсульта клиническое улучшение импрессивного компонента речи сопровождается: усилением активации покрышечной области *правой нижней лобной извилины* при прослушивании фонем с оппозиционными согласными; ростом функциональной коннективности этой области с зонами мозга, связанными с выполнением функции распознавания речи в норме (*левая надкраевая и угловая извилины, левый островок*), их правосторонними гомологами (*правые верхневисочная и угловая извилины*), а также с *правой гемисферой мозжечка, правой веретенообразной извилиной и левой скорлупой*. Дальнейшая работа по тематике позволит уточнить результаты и доработать методики направленного воздействия на ранних этапах на ключевые структуры мозга, участвующие в восстановлении речевого гнозиса у пациентов с сенсорными нарушениями после инсульта.

## Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

- в раннем восстановительном периоде инсульта клиническое улучшение импрессивного компонента речи сопровождается усилением активации покрывной области правой нижней лобной извилины при прослушивании фонем с оппозиционными согласными в режиме odd-ball;

- также клиническое улучшение восприятия речи ассоциировано с ростом функциональной коннективности покрывной области правой нижней лобной извилины с зонами мозга, связанными с выполнением функции распознавания речи в норме (*левая надкраевая и угловая извилины, левый островок*), их правосторонними гомологами (*правые верхневисочная и угловая извилины*), а также с *правой гемисферой мозжечка, правой веретенообразной извилиной и левой скорлупой*.

*Работа выполнена при поддержке Российской академии наук и Российского научного фонда (грант № 16-15-10419).*

#### Литература

1. Цветкова Л.С., Ахутина Т. В. П.Н.М. Методика оценки речи при афазии. – М. 1981. 67 с.
2. Лурия А.Р. Схема нейропсихологического обследования / Под ред. А.Р. Лурия. М.: МГУ. 1973. 60 с.
3. Robson H., Pilkington E., Evans L., et al. Phonological and semantic processing during comprehension in Wernicke's aphasia: An N400 and Phonological Mapping Negativity Study // *Neuropsychologia*. 2017. Vol. 100. P. 144–154.
4. Friston K.J., Holmes A.P., Worsley K.J., et al. Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach // *Hum. Brain Mapp*. 1994. Vol. 2.
5. Whitfield-Gabrieli S., Nieto-Castanon A. Conn: A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks // *Brain Connect*. 2012. Vol. 2, № 3. P. 125–141.

#### Post stroke brain plasticity in patients with sensory aphasia

*Mayorova Larisa, Ph.D., research fellow IHNA RAS, CSPNR*

*Alferova Vera, M.D., Ph.D., neurologist CSPNR*

*Petrushevsky Aleksey, radiologist CSPNR*

*Varlamov Sergey, Ph.D. student*

*Specific patterns of functional reorganization of brain structures associated with early recovery of an impressive component of speech in patients with sensory aphasia have been identified. These new data will allow to determine brain structures for directed impact within the rehabilitation process.*

**Key words:** *fMRI, odd-ball, functional connectivity, mismatch negativity, speech recognition, sensory aphasia*

УДК 616.832:616.74-007.23(075.8)

#### ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАММЫ ПРИ РЕДКОМ ГЕНЕТИЧЕСКОМ СОЧЕТАНИИ ПОНТОЦЕРЕБЕЛЛЯРНОЙ ГИПОПЛАЗИИ

*Рыбалко О.Н., аспирант кафедры педиатрии, физиотерапии и курортологии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского Министерства образования и науки РФ ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»  
doctorneonat@gmail.com*

*Янина Т.Ю., к.мед.н., зав. отделением функциональной диагностики ГБУЗ Республики Крым «Республиканская Детская Клиническая Больница» г.Симферополь,  
t\_yanina@mail.ru*

*Понтоцеребеллярная гипоплазия – группа редких взаимосвязанных нейродегенеративных нарушений. В мире известно десять типов понтоцеребеллярной гипоплазии. Все они характеризуются нарушением развития головного мозга, тяжелыми задержками развития, проблемами с движениями и умственными недостатками. Аномалии головного мозга, как правило, присутствуют с рождения. В данной статье мы представляем уникальный случай сочетания нескольких типов (комбинация 2 и 4 типов) понтоцеребеллярной гипоплазии у одного ребенка. Нами продемонстрированы элек-*

*троэнцефалографические особенности мозга при сочетании врожденного проказа развития головного мозга с нарушениями клеточной дифференцировки нервной ткани.*

*Ключевые слова: понтоцеребеллярная гипоплазия, неонатальные судороги, врожденные пороки ЦНС, неонатология, электроэнцефалография*

### Введение

Понтоцеребеллярная гипоплазия представлена гетерогенной группой заболеваний, которая характеризуется аномально маленьким мозжечком и стволом мозга. Понтоцеребеллярная гипоплазия II типа (OMIM 277470) характеризуется прогрессирующей микроцефалией с рождения и сочетается с экстрапирамидной дискинезией, хореей, эпилепсией, и нормальными структурами спинного мозга [1]. Чаще наблюдается ауто-сомно-рецессивный тип наследования данной патологии. Понтоцеребеллярная гипоплазия вызывается мутациями в нескольких генах. Понтоцеребеллярная гипоплазия II типа вызывается мутациями в генах TSEN2, TSEN34, SEPSECS и VPS53 [2,3]. Мутации в гене TSEN54 вызывают IV тип (OMIM 225753) понтоцеребеллярной гипоплазии [4].

Гены, связанные с понтоцеребеллярной гипоплазией, играют существенную роль в развитии нервных клеток (нейронов). Многие из этих генов, как известно, участвуют в синтезе и обработке молекул РНК. Полностью обработанные молекулы РНК имеют важное значение для нормального функционирования всех клеток, в том числе и нейронов. Исследователи указывают, что аномальный процесс синтеза РНК, вероятно, лежит в основе понтоцеребеллярной гипоплазии, хотя точный механизм развития неизвестен. Исследователи также предполагают, что процесс развития нейронов в определенных областях мозга может быть особенно чувствительным к проблемам в обработке РНК [5,6].

### Редкий клинический случай

Ребенок 3.3., от 1 беременности, протекавшей с угрозой прерывания в 1 и 3 триместре. Роды 1 в сроке 37 недель. Вес при рождении 3110, длина 50 см. Закричала сразу. К груди приложена в родильном зале. В период новорожденности находилась на обследовании и лечении в отделение патологии новорожденных ГБУЗ РК «РДКБ». В период новорожденности обращали на себя внимание следующие фенотипические признаки: прогрессирующая микроцефалия, аномальные зрительные реакции, слабость сосания и глотания, мышечная дистония. На грудном вскармливании до 2 месяцев.

Ребенок не привит. Из перенесенных инфекций: ОРВИ.

Электроэнцефалографическая картина: в фоновой записи регистрировалась нерегулярная медленноволновая активность преимущественно в дельта-диапазоне (амплитуда 35-90 мкВ, частота 1,5-3 Гц) и тета-диапазоне (амплитуда 20-35 мкВ, частота 5 Гц), на которые наслаивалась быстроволновая активность в альфа- и бета-диапазоне. Отмечались периоды ареактивной кривой длительностью 1-1,2 сек.

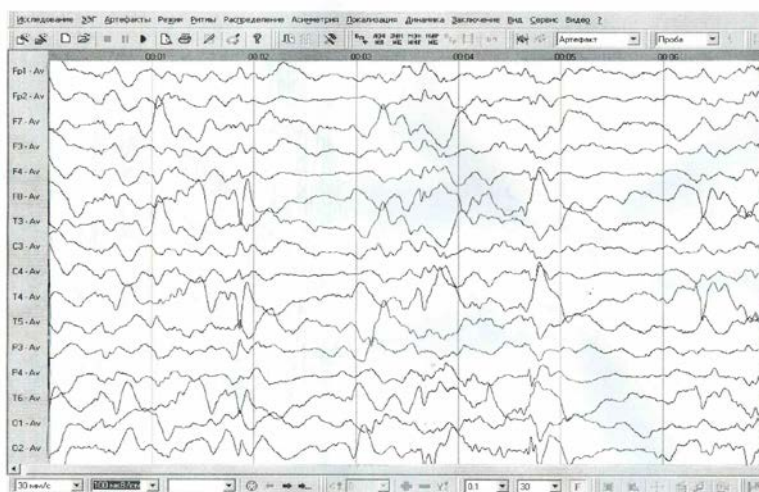


Рис.1

Также регистрировалась региональная эпилептиформная активность в виде острых волн в лобно-височном отведении справа. Организация электроэнцефалографических стадий сон/бодрствование была нарушена.

С 2,5 месяцев появились приступы судорог. С 3 месячного



## Секция 4. Нейронауки, неврология и клиническая нейрофизиология

возраста находилась на стационарном лечении в психоневрологическом отделении ГБУЗ РК «РДКБ», в связи с частыми полиморфными приступами до 30 эпизодов в сутки, которые проявлялись в виде тонического напряжения конечностей, эпизодов апноэ. Ребенку были проведены следующие обследования:

-Рентгенография. Обнаружены следующие аномалии: Тимомегалия. Аномалия развития грудного отдела позвоночника. Рахишизис Th4.

-УЗИ органов брюшной полости: почки расположены типично, не увеличены. Капсула и паренхима уплотнены. ЧЛС не изменена. Мочевой пузырь не изменен. Печень и селезенка без особенностей, размеры в пределах возрастной нормы.

-ЭКГ: Синусовый ритм учащенный. ЭОС смещена вправо. Признаки преобладания биопотенциалов миокарда правого желудочка.

-МРТ головного мозга: МР-картина синдрома Денди-Уокера. Агенезия мозолистого тела. Смешанная гидроцефалия. На рисунке 2 продемонстрированы наиболее значимые особенности патологических структур головного мозга.

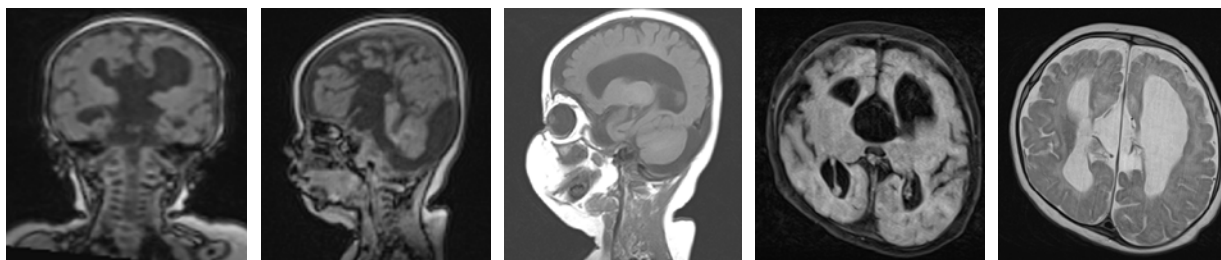
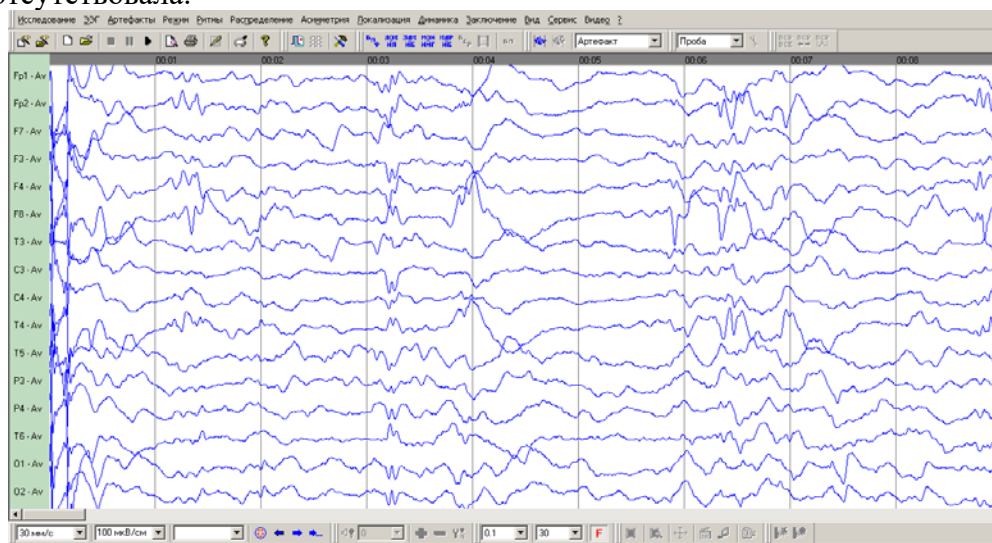


Рис.2

-Секвенирование ДНК (панель «Наследственная эпилепсия»): выявлена гетерозиготная мутация в 8 экзоне гена TSEN54 (описана у пациентов с понтоцереbellарной гипоплазией), в первом экзоне гена EXOSC3, приводящая к замене аминокислоты в 31 позиции белка.

На электроэнцефалограмме в динамике через 2 месяца (рис. 3) регистрировалась медленноволновая активность более низкой амплитуды преимущественно в дельта-диапазоне (амплитуда 25-45 мкВ, частота 1,5-2 Гц) и тета-диапазоне (амплитуда 15-25 мкВ, частота 5 Гц), на которые наслаивалась быстроволновая активность. Увеличилась периоды ареактивной кривой (амплитудой менее 5-15 мкВ, длительность до 4-5 сек.) В составе медленноволновой активности регистрировались асинхронные разряды заостренных полиморфных дельта-волн в лобно-височном отведении справа. Реактивность кривой на внешние стимулы отсутствовала. Периоды чередований сон/бодрствование не регистрировались. Пространственная организация коркового ритма отсутствовала.





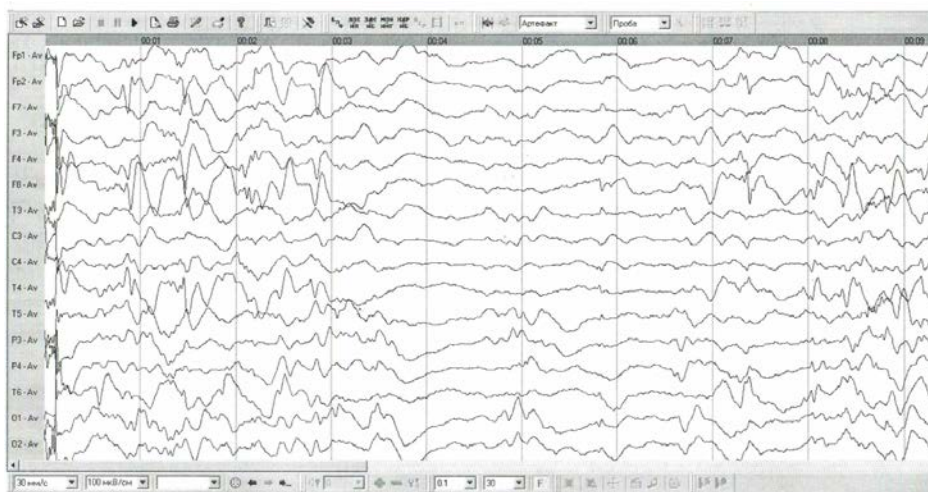


Рис.3

В динамике отмечалась задержка двигательного и психо-эмоционального развития. На фоне диффузной мышечной гипотонии, навыки отсутствовали (голову не удерживала, не переворачивалась, не гулила, взгляд не фиксировала, реакция на мать отсутствовала). Большую часть времени спала. В неврологическом статусе отмечалась очаговая симптоматика в виде птоза правого века, отсутствия самостоятельного глотания (питание через зонд), сухожильная гиперрефлексия. Получала комбинированную АЭП-терапию: вальпроевая кислота, карбамазепин, кеппра, ламиктал. Приступы продолжались и усугублялись на фоне текущей соматической патологии (рецидивирующая пневмония, ВПС (ДМЖП, ООС)).

При последнем обращении родителей состояние ребенка тяжелое, за счет неврологической симптоматики (частые приступы судорог, центральный тетрапарез, псевдобульбарный синдром). Уровень сознания: вегетативное состояние – на осмотр реагирует двигательным беспокойством, гримаса плача, плач беззвучный, спонтанное открывание глаз, взгляд не фиксирует. Фотореакция зрачков вялая. Кожные покровы бледные, отечность мягких тканей лица и кистей. Самостоятельное дыхание поверхностное. При санации ВДП – большое количество вязкой мокроты. Через 5 часов после поступления в ОАР на фоне приступа судорог механика дыхания неадекватная, интубация трахеи, перевод на ИВЛ. В связи с отсутствием динамики состояния переведена на паллиативную койку.

За время нахождения в отделении на паллиативных койках состояние ребенка оставалось тяжелым, нестабильным, обусловленным течением рецидивирующей полисегментарной пневмонии, ДН 2 степени на фоне ВПР ЦНС, псевдобульбарного синдрома, эпилептической энцефалопатии, симптоматической эпилепсии, центрального тетрапареза. Отмечалось резкое ухудшение состояния, на фоне незавершенного приступа судорог, остановка дыхания, генерализованный цианоз. После санации ВДП редкие дыхательные движения, брадипноэ, сатурация O<sub>2</sub> 68%. Экстренно переведена в ОАР с признаками ДН 3 степени, острой сердечно-сосудистой недостаточностью, нарушением сознания. На фоне полного комплекса интенсивной терапии, в связи с прогрессированием полиорганной недостаточности, произошла остановка сердечной деятельности. Реанимационные мероприятия на фоне ИВЛ с FiO<sub>2</sub> неэффективны, констатирована биологическая смерть.

По данным патологоанатомического вскрытия, были выявлены следующие множественные врожденные пороки развития: микроцефалия, микрогирия, гипоплазия лобных долей, агенезия мозолистого тела, двусторонняя смешанная гидроцефалия, рахишизис в грудном отделе позвоночника, атрофия вещества головного мозга, ВПР ССС (ДМЖП). Стигмы дизэмбриогенеза. Дисплазия тимуса.

**Выводы**

Таким образом, впервые выявленная у одного ребёнка сочетанная понтоцеребеллярная гипоплазия нескольких типов (в комбинации мутации II и IV типов), играет существенную роль в развитии летального исхода. Смерть ребенка наступила в результате отека и набухания вещества головного мозга, декомпенсации венозно-ликворного дисциркуляторного синдрома, энцефалопатии, на фоне ВПР ЦНС, частых резистентных к терапии приступов.

**Литература**

Namavar, Y., Barth, P. G., Kasher, P. R., van Ruissen, F., Brockmann, K., Bernert, G., Writzl, K., Ventura, K., Cheng, E. Y., Ferriero, D. M., Basel-Vanagaite, L., Eggens, V. R. C., and 12 others. Clinical, neuroradiological and genetic findings in pontocerebellar hypoplasia. *Brain* 134: 143-156, 2011. [PubMed: 20952379, related citations] [Full Text]

Budde, B. S., Namavar, Y., Barth, P. G., Poll-The, B. T., Nurnberg, G., Becker, C., van Ruissen, F., Weterman, M. A. J., Fluiter, K., te Beek, E. T., Aronica, E., van der Knaap, M. S., and 26 others. tRNA splicing endonuclease mutations cause pontocerebellar hypoplasia. *Nature Genet.* 40: 1113-1118, 2008. [PubMed: 18711368, related citations] [Full Text]

Cassandrini, D., Biancheri, R., Tessa, A., Di Rocco, M., Di Capua, M., Bruno, C., Denora, P. S., Sartori, S., Rossi, A., Nozza, P., Emma, F., Mezzano, P., Politi, M. R., Laverda, A. M., Zara, F., Pavone, L., Simonati, A., Leuzzi, V., Santorelli, F. M., Bertini, E. Pontocerebellar hypoplasia: clinical, pathologic, and genetic studies. *Neurology* 75: 1459-1464, 2010. [PubMed: 20956791, related citations] [Full Text]

Graham, J. M., Jr., Spencer, A. H., Grinberg, I., Niesen, C. E., Platt, L. D., Maya, M., Namavar, Y., Baas, F., Dobyns, W. B. Molecular and neuroimaging findings in pontocerebellar hypoplasia type 2 (PCH2): is prenatal diagnosis possible? *Am. J. Med. Genet.* 152A: 2268-2276, 2010. [PubMed: 20803644, images, related citations] [Full Text]

Cassandrini, D., Biancheri, R., Tessa, A., Di Rocco, M., Di Capua, M., Bruno, C., Denora, P. S., Sartori, S., Rossi, A., Nozza, P., Emma, F., Mezzano, P., Politi, M. R., Laverda, A. M., Zara, F., Pavone, L., Simonati, A., Leuzzi, V., Santorelli, F. M., Bertini, E. Pontocerebellar hypoplasia: clinical, pathologic, and genetic studies. *Neurology* 75: 1459-1464, 2010. [PubMed: 20956791, related citations] [Full Text]

Namavar, Y., Barth, P. G., Kasher, P. R., van Ruissen, F., Brockmann, K., Bernert, G., Writzl, K., Ventura, K., Cheng, E. Y., Ferriero, D. M., Basel-Vanagaite, L., Eggens, V. R. C., and 12 others. Clinical, neuroradiological and genetic findings in pontocerebellar hypoplasia. *Brain* 134: 143-156, 2011. [PubMed: 20952379, related citations] [Full Text]

**Encephalographic peculiarities rare genetic combination of pontocerebellar hypoplasia in pediatrics**

*Rybalko Olga, postgraduate*

*Yanina Tatyana, Ph.D*

*Pontocerebellar hypoplasia represents a heterogeneous group of disorders characterized by an abnormally small cerebellum and brain stem. Ten different types of pontocerebellar hypoplasia were described. Their common features are brain malformations, neurological-developmental delay and seizures. This article demonstrated the unique combination 2 and 4 types of pontocerebellar hypoplasia in one child. We demonstrated encephalographic peculiarities rare genetic combination in this case report and highlight correlation brain malformations with neuron disorders.*

*Keywords: pontocerebellar hypoplasia, congenital defects of the central nervous system, neonatology, electroencephalography.*

УДК 612.825.3

**ОСОБЕННОСТИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА  
У ПАЦИЕНТОВ С КАВЕРНОМАМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА, ПРОТЕКАЮЩИМИ  
С ЭПИЛЕПТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ**

*Ольга Борисовна Сазонова, к.м.н., в.н.с., доцент*

*E-mail: Osazonova@nsi.ru*

*Елена Михайловна Трошина, к.б.н., заведующий лабораторией*

*E-mail: Etroshina@nsi.ru*

*Анастасия Филипповна Стечкина, ординатор*

*E-mail: emt@inbox.ru*

*ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии*

*им.ак.Н.Н.Бурденко» Минздрава России*

*125047, г. Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., д. 16*

*<http://www.nsi.ru>*

*Настоящая работа посвящена исследованию особенностей организации биоэлектрической активности головного мозга у пациентов с каверномами, протекающими с эпилептическим синдромом. В ходе работы был проведен анализ клинических и нейрофизиологических признаков каверном головного мозга с помощью статистических методов. исследование вошли 76 пациентов с каверномами головного мозга, госпитализированных в институт нейрохирургии, у которых был диагностирован хотя бы один эпилептический приступ. Всем больным проводились неврологическое, МРТ и ЭЭГ исследования. Проанализированы особенности организации БЭАМ у пациентов с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом. Проведено сопоставление данных ЭЭГ с результатами МРТ. Сравнение проводится с использованием статистического непараметрического критерия, не зависящего от характера распределения - точного критерия Фишера.*

*Показано, что для данной группы больных характерно наличие в ЭЭГ медленной и эпилептической активности как в области расположения каверномы, так и за ее пределами. Лобной локализации каверном свойственна распространенность ЭЭГ-признаков за зону непосредственного местонахождения каверномы. Для височной локализации более характерно точное совпадение ЭЭГ-признаков с анатомическим расположением каверномы. Сопоставление данных ЭЭГ с результатами МРТ-исследования выявило, что в большинстве случаев результаты, полученные с помощью электроэнцефалографии совпали у 65 (85%) пациентов.*

*Ключевые слова: биоэлектрическая активность мозга, ЭЭГ, эпилептический синдром, каверномы головного мозга*

*Введение. Каверномы являются одной из форм врожденных сосудистых мальформаций мозга и составляют от 17% до 31% среди всех уродств развития сосудов головного мозга, занимая второе место по распространенности. Они представляют собой плотно прилегающие друг к другу тонкостенные полости, заполненные кровью. Каверномы могут быть частично тромбированы, содержать кальцификаты, стенки их, как правило, гиалинизированы. Клинически каверномы проявляют себя эпилептическими приступами, внутричерепными кровоизлияниями, развитием переходящей или стойкой неврологической симптоматики [1,5,6]. Выявляются каверномы в основном у людей 30-40 лет, в трудоспособном возрасте. Совершенствование диагностических возможностей, использование для диагностики каверном целого комплекса методов, включающего КТ (компьютерная томография), МРТ (магнитно-резонансная томография) [2,3], АГ (ангиография), гамма-топографию, ЭЭГ (электроэнцефалография) позволяет определять и, соответственно, начинать профилактическое лечение на все более ранних этапах [4,6].*

#### Секция 4. Нейронауки, неврология и клиническая нейрофизиология

В то же время, следует учитывать, что МРТ и КТ являются дорогостоящими методами, зачастую недоступными населению. ЭЭГ же является сравнительно недорогим и доступным методом исследования, и может быть использована в плановых обследованиях.

В настоящее время в доступной нам литературе, не было найдено ни одного исследования, посвященного статистическому анализу результатов ЭЭГ у пациентов с каверномами, с сопутствующим эпилептическим синдромом, и не были составлен диагностический алгоритм исследования.

**Цель исследования.** Целью настоящей работы являлась оценка особенностей ЭЭГ у больных с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом.

**Задачи исследования.** Для достижения поставленной цели потребовалось решение следующих задач:

- проанализировать особенности организации биоэлектрической активности мозга у пациентов с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом.

- показать роль ЭЭГ в выявлении очагов эпи-активности у больных с каверномами головного мозга, что необходимо при планировании оперативного вмешательства с целью удаления патологического образования и эпилептогенной зоны.

- провести сопоставление данных ЭЭГ с результатами МРТ.

**Материалы и методы.**

В исследование вошли 76 пациентов с каверномами головного мозга, госпитализированных в институт нейрохирургии, у которых был диагностирован хотя бы один эпилептический припадок. Возраст больных варьировал от 2 до 56 лет, средний возраст - 29 лет, из них женщин - 35 (46.1%), мужчин - 41 (53.9%) 2).

У большинства больных, по данным МРТ, каверномы располагались в височных (32 пациента) и лобных (30 пациентов) областях, реже - в теменных – у 12 пациентов и у 2-х - в затылочных областях (таблица 1). Верификация осуществлялась во время операции.

Таблица 1

Данные о локализации каверном у пациентов в выборке.

Локализация по областям	слева	справа
Височная	22 больных (28,9 %)	10 больных (13,2%)
Лобная	13 (17,1 %)	17 (22,4%)
Теменная	9 (11,8%)	3 (3,9%)
Затылочная	1 (1,3%)	1 (1,3%)
Всего	76 больных (100%)	

Всем больным проводились неврологическое, МРТ и ЭЭГ исследования. Магнитно-резонансная томография головного мозга осуществлена с помощью томографов различных фирм и модификации. Исследование проводилось в T1- и T2-взвешенных режимах. Оценивались фронтальные, сагиттальные и аксиальные срезы, внимание обращалось на интенсивность сигнала каверномы и прилегающей мозговой паренхимы.

ЭЭГ регистрировали на 19-ти канальном электроэнцефалографе «Nihon Kohden» (Япония) с параллельной записью на компьютер по программе МБН (Москва) с целью последующей математической обработки полученных данных.

Для оценки БЭАМ был использован визуальный анализ, что позволяет определить размеры каверномы и ее локализацию. В ЭЭГ больных с каверномами отмечались как диффузные, так и локальные признаки, указывающие на зону или сторону поражения.

Большинство больных с каверномами подверглись операции удаления мальформации, с целью предотвратить возможность повторных кровоизлияний и убрать очаг эпилептической активности. В ходе операции осуществлялось слежение за динамикой

функционального состояния мозга и очага раздражения. Для этих целей более информативной является ЭЖоГ. С её помощью определяют фокус эпилептической активности, который, после удаления каверномы, иссекают вместе с измененной мозговой тканью, над которой регистрируется эпилептическая активность.

В послеоперационном периоде также осуществлялось наблюдение за изменениями ЭЭГ в динамике – проводились повторные исследования с целью контроля эффективности хирургического лечения, а также для коррекции противосудорожной терапии.

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программного обеспечения, разработанного доцентом Киликоским В.В. Данное программное обеспечение позволяет сравнивать группы данных, организованные самим исследователем, друг с другом. Сравнение проводится с использованием статистического непараметрического критерия, не зависящего от характера распределения - точного критерия Фишера.

Результаты и их обсуждение.

В ЭЭГ при визуальном анализе отмечались диффузные изменения в виде дезорганизации корковой активности, за счет нарушения регулярности альфа- ритма, наличия диффузных частых колебаний, негрубых медленных волн и эпилептической активности. Эпи-активность чаще всего имела вид острых импульсов и эпилептиформных потенциалов, реже- типичных форм эпи-активности. Отмечались также признаки раздражения стволовых структур в виде всплесков колебаний разной модальности, как в лобно- центральных областях, так и генерализованного характера, что связано, вероятно, с раздражением срединных структур, обусловленным перенесенным кровоизлиянием, нарушением ликвординамики, а также влиянием самого патологического процесса на мозговые структуры, при его расположении в отделах мозга, оказывающих регулирующее влияние на корковую активность. Наряду с этим, выявлялись локальные изменения в ЭЭГ в виде преобладания медленных волн и эпилептоидной активности в зоне локализации патологического процесса. Вместе с тем, эпилептоидная активность не всегда соответствовала зоне расположения процесса, полученной на МРТ, но имела более широкое распространение.

Полученные в ходе визуального анализа заключения по ЭЭГ были внесены в таблицу, структурированы и приведены в вид, удовлетворяющий требованиям программы STATISTICA 6.0.

Для работы были отобраны следующие параметры электроэнцефалограмм: частота альфа-ритма, место регистрации альфа-ритма, организованность альфа-ритма, сохранность регионарных отличий, реакция активации коры на внешние раздражители, вид медленных волн, место регистрации медленных волн, первичные и вторичные очаги медленных волн, первичные и вторичные очаги эпилептической активности, тип эпилептической активности, данные о гипервентиляции, совпадение локализации каверномы и ЭЭГ-признаков.

Данные, полученные при клиническом и электрофизиологическом исследованиях, были сведены в таблицу, и с помощью двустороннего точного критерия Фишера каждая выделенная группа факторов сравнивалась с совокупностью остальных по числу наблюдений в каждой градации.

Особый интерес представлял фактор «совпадение или не совпадение локализации каверномы, полученной при МРТ- исследовании, и локализации очаговых проявлений на ЭЭГ. Его мы сравнивали поочередно со всеми остальными факторами. В ходе работы были получены следующие результаты по данному фактору: у 11 (8%) пациентов локализация каверномы по МРТ, в последствии подтвержденная в ходе оперативного вмешательства, не совпала с данными ЭЭГ-исследования, у 16 (12%) пациентов совпала четко, без распространения патологической биоэлектрической активности за пределы очага каверномы, у 49 (80%) наблюдалось распространения патологической активности за пределы каверномы.

## Секция 4. Нейронауки, неврология и клиническая нейрофизиология

Был рассмотрен признак совпадения - не совпадения в зависимости от локализации патологического процесса. (табл. 2). В таблице сравниваются два признака: 1. основной для сравнения «совпадение ЭЭГ-признаков с достоверно определенной локализацией каверномы» и 2. «локализация каверномы».

Таблица 2. Сравнение признаков: 1.«совпадение ЭЭГ-признаков с достоверно определенной локализацией каверномы» и 2.«локализация каверномы».

локализация каверномы по МРТ	левая височная область	правая височная область	левая лобная область	правая лобная область	левая теменная область	правая теменная область	левая затылочная область	правая затылочная область	всего
нет совпадения	1 (9.1%)	2 (18.2%)	3 (7.3%)	2 (8.2%)	3 (27.3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	11 (100%)
полное совпадение	10 (62.5%)	4 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (6.3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (6.3%)	16 (100%)
совпадение с распространением	11 (22.4%)	4 (8.2%)	10 (0.4%)	15 (30.6%)	5 (10.2%)	3 (6.1%)	1 (2%)	0 (0%)	49 (100%)
все группы	22 (28.9%)	10 (13.2%)	13 (17.1%)	17 (22.4%)	9 (11.8%)	3 (3.9%)	1 (1.3%)	1 (1.3%)	76 (100%)

Из таблицы видно, что существует достоверная связь между локализацией каверномы в левой височной области и четким, без распространения, совпадением ЭЭГ-признаков и локализации каверномы и не характерно распространение патологической биоэлектрической активности на соседние структуры. Таблица показывает также, что существует достоверная связь между расположением каверномы в правой лобной области и распространением патологической БЭАМ за пределы анатомической локализации каверномы. Практически никогда не встречается четкий, без распространения, очаг медленных волн и эпи-активности в зоне каверномы, что было подтверждено с помощью статистического анализа.

Таким образом, было показано, что проведение ЭЭГ у пациентов с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом является необходимым, т.к. в отличие от МРТ, позволяет определить не только анатомическое расположение каверномы, но и локализацию эпилептогенного очага, что необходимо при планировании оперативного доступа и проведения самого вмешательства.

В ходе операции необходимо проведение ЭКОГ для определения фокуса эпилептической активности. После удаления каверномы очаг иссекают вместе с теми участками мозговой ткани, над которыми регистрируется эпилептическая активность.

В послеоперационном периоде рекомендуется проведение ЭЭГ в динамике – как для оценки результатов оперативного вмешательства, так и для определения тактики лечения.

Выводы.

1. Проанализированы особенности организации БЭАМ у пациентов с каверномами головного мозга, протекающими с эпилептическим синдромом. Показано, что для данной группы больных характерно наличие в ЭЭГ медленной и эпилептической активности как в области расположения каверномы, так и за ее пределами.

2. Лобной локализации каверном свойственна распространенность ЭЭГ-признаков далеко за зону непосредственного местонахождения каверномы. Для височной локализации более характерно точное совпадение ЭЭГ-признаков с анатомическим расположением каверномы.

3. Сопоставление данных ЭЭГ с результатами МРТ-исследования выявило, что в большинстве случаев результаты, полученные с помощью электроэнцефалографии, совпали у 65 (85%) пациентов.

**Литература**

1. Awad I.A., Robinson J.R., Mohanty S., Esters M.L. Mixed vascular malformations of the brain: clinical and pathogenetic considerations. *Neurosurgery*, 1993, 44, P.179-188.
2. Brunereau L., Levy C., Laberge S., Houtteville J., Labauge P. De novo lesions in familial form of cerebral cavernous malformations: clinical and MR features. *Surgical Neurology*, 2000, 53, P.475-482.
3. Clatterbuck R.E., Moriarty J.L., Elmaci I., Lee R.R., Breiter S.N., Rigamonti D. Dynamic nature of cavernous malformations: a prospective magnetic resonance imaging study with volumetric analysis. *Journal of Neurosurgery*, 2000, 93, P.981-986.
4. Cohen D.S., Zubay G.P., Goodman R.R. Seizure outcome after lesionectomy for cavernous malformations. *Journal of Neurosurgery*, 1995, 83, P.237-242.
5. Houtteville J.P. Brain cavernoma: a dynamic lesion. *Surg Neurol.*, 1997, Dec.48(6), P.610-614.
6. Kraemer D.L., Griebel M.L., Lee N., Friedman A.H., Radtke R.A. Surgical outcome in patients with epilepsy with occult vascular malformations treated with lesionectomy. *Epilepsia*, 1998, Jun.39(6), P.600–607.

**Features of bioelectrical activity of the brain in patients with cavernoma brain that occur epileptic syndrome**

*Olga Borisovna Sazonova, PhD, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*Elena Michailovna Troshina, head of the laboratory, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*Anastasya Filippovna Stechkina, postgraduate, N.N. Burdenko NSPCN, Moscow*

*This work is devoted to the study of the organization of bioelectric activity of the brain (BEAM) in patients with caverns, flowing with epileptic syndrome. In the course of work the analysis of clinical and neurophysiological signs by cavern of a brain by means of statistical methods was carried out. The study included 76 patients with cerebral cavernomas admitted to the Institute of neurosurgery, who were diagnosed with at least one epileptic seizure. All patients underwent neurological, MRI and EEG studies. The features of BEAM organization in patients with cerebral cavernomas with epileptic syndrome, are analyzed. The comparison of EEG with the results of MRI is carried out. The comparison is made with the use of statistical nonparametric criterion, independent of the nature of the distribution - the exact Fisher criterion.*

*It is shown that this group of patients is characterized by the presence of slow and epileptic activity in the EEG both in the area of location of the cavernoma and beyond. Frontal localization of the caverns characteristic of the prevalence of EEG signs for the immediate area of the location cavernoma. The temporal localization is more typical of the exact coincidence of the EEG signs with the anatomical location of the cavernoma. Comparison of EEG data with the results of MRI studies revealed that in most cases the results obtained by electroencephalography coincided in 65 (85%) patients.*

*Keywords: bioelectrical brain activity, EEG, epileptic syndrome, cavernomas of the brain*

УДК 616.091.818 - 577.23+577.334

**СИГНАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ ОКСИДА АЗОТА**

*Жигачева Ирина Валентиновна, д.б.н., ведущий научный сотрудник*

*E-mail: zhigacheva@mail.ru*

*Васильева Светлана Васильевна, д.б.н., главный научный сотрудник*

*E-mail: zhigacheva@mail.ru*

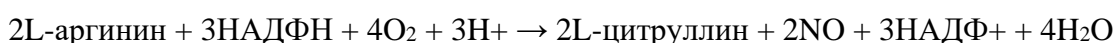
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук  
119334 г. Москва, ул. Косыгина, 4

*В мини обзоре рассматриваются литературные данные о роли NO в регуляции метаболизма клетки. Показано, что биологические эффекты NO имеют концентрационную зависимость. Низкие (нМ/нМ) концентрации NO способствуют пролиферации, тогда как высокие (мкМ/мМ) вызывают остановку деления, старение и гибель клеток.*

*Ключевые слова: оксид азота, антиоксидантная, про-оксидантная активность, апоптоз, посттрансляционная модификации белков.*

В настоящее время одной из актуальных задач в медицинской биофизике и медицинской химии является изучение процессов, в которых участвуют активные короткоживущие молекулы, являющиеся внутриклеточными мессенджерами. К таким соединениям, в первую очередь, относятся оксид азота (NO) и его производные. Интерес исследователей к этому соединению возрос с конца XX-го столетия благодаря идентификации NO в качестве эндотелиального фактора релаксации и открытия его как молекулы- мессенджера нового типа для всех организмов. Оксид азота стал феноменальной молекулой для всех областей микробиологии, генетики, физиологии, иммунологии и медицины в целом [30, 73]. Биологические эффекты NO обусловлены его малым размером, способностью к диффузии и высокой реакционной способностью. Области активности NO многочисленны, и в настоящее время довольно широко исследуются, особенно те, которые связаны с возможностью использования доноров NO в практической медицине [34,28; 30,73].

В организме животных и человека оксид азота образуется в результате окисления атомом кислорода L-аргинина с помощью цитохром P-450- подобных гемопротеинов – NO-синтаз (КФ 1.14.13.39, NOS).



Отметим, что у бактерий функционируют отличные пути синтеза NO [16,31584;24,1582]. Молекулы NO-синтаз млекопитающих содержат домены с оксигеназной и редуктазной активностью. По характеру индукции и действию они подразделяются на 3 типа: Ca<sup>2+</sup>-независимая (индуцибельная, iNOS) (2 тип) и конститутивные Ca<sup>2+</sup>-зависимые и кальмодулин зависимые NO-синтазы – нейрональная (1 тип, nNOS) и эндотелиальная (3 тип, eNOS) изоформы. Изоформа nNOS – цитозольный белок, eNOS – мембраносвязанный белок. Индуцибельная NOS не является мембранным белком. Это цитозольный фермент [7,1]. Она синтезируется в ответ на определенное внешнее воздействие на клетку и проявляет активность через 6–8 часов после внешнего воздействия. Это время необходимо для активации генов. Кроме того, в митохондриях находится mtNO-синтетаза, которая локализована во внутренней мембране, контактных сайтах и, возможно, в матриксе [20,397]. Наличие этого фермента во внутренней мембране описано для митохондрий печени [33,11044; 19,11038], тимуса [13, 239], мозга [31, 139]. Возможность образования митохондриями оксида азота показана опытами на изолированных митохондриях, выделенных из различных тканей [13, 239; 23, 1609]. Вопрос о том, что представляет собой mtNOS — отдельную изоформу фермента или же



модифицированную во время трансляции или после нее индуцибельную NOS, остается открытым и по-разному трактуется авторами [8,38].

Молекула оксида азота имеет неспаренный электрон на внешней  $\pi$ -орбитали, обладает свойствами свободного радикала, что обеспечивает высокую химическую реактивность и короткий полупериод жизни. Среднее время жизни NO *in vivo* составляет от 5 до 30 секунд [10, 228]. За это время происходит его взаимодействие с мишенями (тиолами и переходными металлами). NO является липофильной молекулой, которая легко диффундирует через мембраны, что важно для мессенджера, участвующего в управлении внутриклеточными и межклеточными процессами [5, 33].

При этом действие NO как сигнальной молекулы тесно сопряжено такими важными интермедиатами, как кальций, активные формы кислорода, салициловая кислота (для растений) [6, 166]. Таким образом, оксид азота находится в центре многих адаптивных и патологических процессов [27,1237;17 ,155].

В качестве сигнального посредника между оксидом азота и геномом в биосистемах выступает цГМФ. Активация гуанилатциклазы происходит при взаимодействии NO с гемом этого фермента [11, 294], который в клетках растений не активируется оксидом азота [26, 6490]. Таким образом, ферменты растений, производящие цГМФ в ответ на действие NO, существенно отличаются от таковых у животных [28, 25]. цГМФ обладает способностью активировать некоторые протеинкиназы, открывать катионные каналы и регулировать активность фосфодиэстераз [11, 294].

Еще одним важным посредником действия оксида азота в растительных и животных клетках является цАДФ-рибоза, сигнальная функция которой связана со стимуляцией кальциевых каналов, усилением его входа в цитоплазму и активацией  $Ca^{2+}$ -зависимых протеинкиназ [28, 25].

Нитрозилирование - один из способов модификации белков NO. Этот механизм может быть как элементом NO-сигнализации, так и способом регулирования содержания оксида азота в клетках. Нитрозилирование может быть прямым и опосредованным, с предварительным взаимодействием оксида азота с глутатионом с образованием GSNO [28,25]. Некоторые авторы считают возможным за счет S- нитрозилирования изменение состояния факторов регуляции транскрипции [18,1., 2008]. При этом установлено, что среди S-нитрозилируемых белков могут быть MAP-киназы [36,622]. Отметим, что глутатион-S-трансфераза и глутатионпероксидаза являются целевыми белками S-нитрозилирования [25, 921], что рассматривается как один из защитных эффектов оксида азота, направленных на активацию антиоксидантной системы при действии стрессоров [18, 1].

Оксид азота мощный про- и одновременно антиоксидант. Исследования молекулярных механизмов регуляции NO начались с мультифункционального SoxRS-регулона *in vitro* [35, 4197, 1990; 22, 20908]. Молекулярный двухэтапный механизм сигнальной трансдукции с участием SoxRS-регулона инициируется нитрозилированием Fe-S центров в регуляторном белке SoxR и формированием ДНКЖ - «затравок» из экзогенного NO и свободного железа с (подтверждением ЭПР- исследованиями и регистрацией в клетках сигналов с анизотропным фактором  $g=2,03$  [4,103]. Эти белок-связанные ДНКЖ, возникающие в клетках в результате переноса  $Fe(NO)_2$  групп на тиоловые (SH) либо Fe-S группы различных клеточных белков, имеют общий сигнал ЭПР с  $gI=2.04$  и  $gII=2.014$  («сигнал  $g=2,03$ »). Второй этап трансдукции сигнала включает дезинтеграцию SoxR[2Fe-2S] кластеров ДНКЖ- затравками и регуляцию транскрипции гена *soxS* SoxRS-регулона с сигма70 РНК- полимеразой. Впервые сформулирована гипотеза, что именно ДНКЖ являются эндогенными донорами и переносчиками NO в клетках и тканях животных и человека [1, 581; 3,1]. Уровень *soxS* экспрессии изменяет устойчивость клетки к метаболическим оксидантам и окислительному стрессу. При использовании высрких концентраций доноров оксида азота (0,05-1мМ) наблюдалось

усиление *soxS* экспрессии сопоставимое или даже превышающее эффект 0,5 мМ менадиона.

Биологические функции NO имеют концентрационную зависимость. Точные клеточные ответы дифференциально регулируются определенной концентрацией NO.

При низких концентрациях NO инактивирует путем S-нитрозилирования каспазу-3, AP-1, транскриптазу (TGase), и повышает экспрессию антиапоптотических протеинов и ферментов Bcl-2, гемоксигеназу-1 (HO-1) и Hsp70 [29,147; 12, 255; 32, 736].

При более высоких концентрациях наблюдается торможение пролиферации и ростовых процессов, что ведет с течением времени либо к репарации, либо к апоптозу. В этом случае активируются различные пути апоптоза: усиление экспрессии лигандов APO-1/Fas и TRAIL/APO-2, и инактивация XIAP приводит к активации пути апоптоза через каспазы 8 и 3; нитрозилирующая активность ONOO<sup>-</sup> и повышенная экспрессия Вах приводит к активации пути апоптоза по митохондриальному пути, а S-нитрозилирование GAPDH активирует GAPDH-Siah1-путь 48 развития апоптоза [15, 20267; 14, 3905; 9, 105] (рис 1).

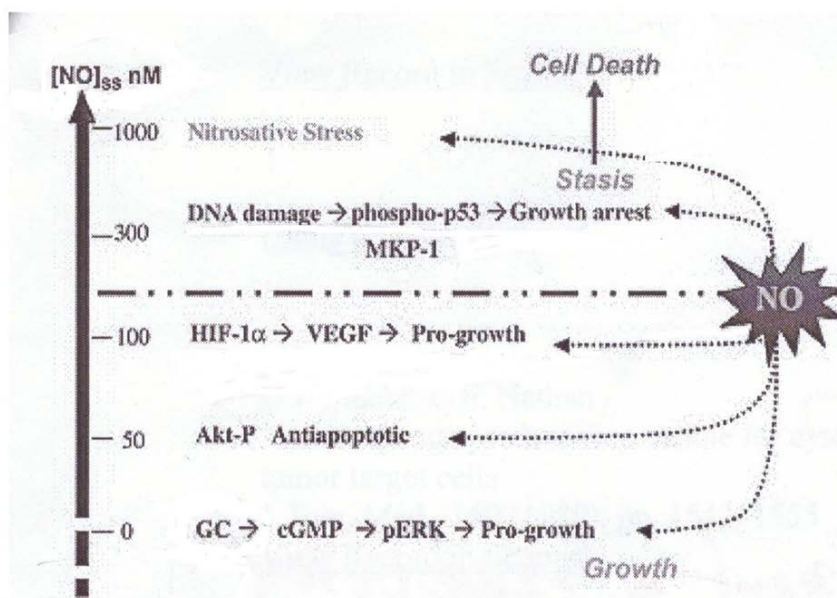


Рис.1. Корреляция между концентрацией NO клеточной пролиферацией и гибелью клетки [34, 28].

### Заключение

Именно с экспериментального получения *in vitro* стабильных соединений (ДНКЖ), способных длительно донировать NO, начался «золотой век» для фундаментальных и прикладных (в первую очередь, медицинских) исследований. [1, 581; 2, 220; 3, 1; 4, 103]. При этом необходимо учитывать концентрационную зависимость биологической активности оксида азота. В настоящее время выделяют пять основных уровней NO активности: образование цГМФ, способствующего ангиогенезу и пролиферации ( $[NO] < 1-30$  нМ); фосфорилирование Akt ( $[NO] = 30-100$  нМ), стабилизация HIF-1 $\alpha$  ( $\sim NO = 100-300$  нМ); фосфорилирование p53 ( $[NO] > 400$  нМ); нитрозативный стресс (1 мкМ). В целом, более низкие концентрации NO способствуют выживанию и пролиферации клеток, тогда как более высокие уровни приводят к остановке клеточного цикла, апоптозу и старению [30, 73]. Следует принять во внимание, что взаимодействие оксида азота и АФК с образованием пероксинитрита снижает концентрацию NO, что, изменяет процесс NO сигнализации, ослабляя ее, или увеличивая реакции окислительного и нитрозативного стресса.

Литература

1. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа – эндогенные сигнальные агенты в клетках и тканях животных и человека. Биофизика 2004.Т.49. № 4. С. 581-586.
2. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: Физикохимия, биология, медицина, Москва-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2015, 220 с
3. Васильева С.В., Мошкова Е.Ю., Санина Н.А, Руднева Т.Н., Куликов А.В., Алдошин С.М. Формирование динитрозильных комплексов железа – необходимый этап в реализации генетической активности тетранитрозильного комплекса с тиосульфатом  $[Na_2 [Fe_2 (m-S_2O_3)_2 (NO)_4] \times 4H_2O]$ . Доклады РАН. 2005.Т.402. №5. С.1-4.
4. Васильева С.В, Стрельцова Д.А, Романова Ю.М., Толордава Э.Р. Монография «Фундаментальные науки – медицине: Биофизические медицинские технологии.. Под ред. А.И. Григорьева и Ю.А. Владимирова, Москва: МАКС Пресс, 2015 . С. 103-134
5. Глянко А.К., Митанова Н.Б., Степанов А.В. Физиологическая роль оксида азота (NO) у растительных организмов. J. Stress Physiol. & Biochem. 2009. V. 5.№ 3. P. 33-52.
6. Колупаев Ю.Е. Роль основных сигнальных интермедиатов в формировании адаптивных реакций растений к действию абиотических стрессов. Физиология растений: проблемы и перспективы развития, К.: Логос, 2009. Т. 2. С. 166-194.
7. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г, Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4. С. 1-6.
8. Новиков В.Е, Левченкова О.С., Пожилова. Е.В. Митохондриальная синтаза оксида азота и ее роль в механизмах адаптации клетки к гипоксии. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016. Т.14. №2 С. 38-46.
9. Рязанцева, Н.В., Старикова Е.Г, Таширева Л.П., Степовая Е.А., Стариков Ю.В., Осихов И.А., Новицкий В.В. Внутриклеточные газовые посредники оксид азота, монооксид углерода и сульфид водорода участвуют в регуляции апоптоза. Цитология. 2012. Т.54. №.2. С.105-111.
10. Соловьева А.Г., Кузнецова, В.Л., Перетягин С.П, Диденко Н.В., Дударь А.И. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2016. Т.1.№ 53. С. 228-233
11. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений, М: Наука, 2002. 294 с
12. Черешнев, В.А., Цыган В.Н., Одинак М.М., Иванов А.М., Бубнов В.А. Цыган Н.В. Фармакологическое регулирование программированной гибели клеток. СПб.: Наука, 2011. 255 с
13. Bustamante J, Bersier G, Romero M, Badin RA, Boveris A. Nitric oxide production and mitochondrial dysfunction during rat thymocyte apoptosis. Arch.Biochem. Biophys., 2000. V. 376. P. 239–247
14. Calcerrada, P., Peluffo G, Radi R, Calcerrada, P. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: molecular targets, cellular responses and therapeutic implications. Curr. Pharm. Des. 2011. V..17. N.35. P.3905-3932.
15. Chao J.I., Kuo, P.C. Hsu T.S. Down-regulation of surviving in nitric oxide-induced cell growth inhibition and apoptosis of the human lung carcinoma cells. J. Biol. Chem. 2004. V.279. N.19. P.20267-20276.
16. Corker H., Poole R.K. Nitric oxide formation by *Escherichia coli*: Dependence on nitrite reductase, the NO-sensing regulator Fnr, and flavohemoglobin Hmp. J. Biol. Chem. 2003. V. 278. № 34. P. 31584-31592.
17. Courtois C., Besson A., Dehan J., Bourque S, Dobrowolska G, Pugin A, Wendehenne D. Nitric oxide signalling in plants: interplays with Ca<sup>2+</sup> and protein kinases. J. Exp. Bot., 2008. V. 59. P. 155-163.
18. Erdei L., Kolbert Z. Nitric oxide as a potent signaling molecule in plants . Acta Biol. Szegeiensis. 2008. V. 52.№ 1. P. 1-5.
19. Giulivi C., Poderoso J.J., Boveris A. Production of nitric oxide by mitochondria. J. Biol. Chem. 1998, V. 273. P.11038–11043.
20. Giulivi C. Characterization and function of mitochondrial nitric oxide synthase. Free Rad. Biol. Med. 2003. V. 34. P. 397–408
21. Hara M.R.I., Snyder S.H. Nitric-oxide-GAPDH-Siah: a novel cell death cascade Cell Mol. Neurobiol. 2006. V.26. N.4-6. P.527-538.
22. Hidalgo E., Bollinger J.M., Jr., Bradley T.M., Walsh C.T., Demple B. Binuclear [2Fe-2S] clusters in the *Escherichia coli* SoxR protein and role of the metal centers in transcription. J. Biol. Chem. 1995. V. 270.№ 36.P. 20908-20914
23. Lacza Z., Puskar M., Figueroa J.P., Zhang J., Rajapakse N., Busija D.W. Mitochondrial nitric oxide synthase is constitutively active and is functionally upregulated in hypoxia. Free Radic. Biol. Med. 2001. V. 31. P.1609–1615
24. Landry A.P., Duan X., Huang H., Ding H. Iron-sulfur proteins are the major source of protein-bound dinitrosyl iron complexes formed in *Escherichia coli* cells under nitric oxide stress. Free Radic. Biol. Med. 2011. V. 50. № 11. P. 1582–1590.
25. Lindermayr C., Saalbach G., Durner J. Proteosomic identification of S-nitrosylated proteins in *Arabidopsis* . Plant Physiol. 2005. V. 137. P. 921-930.

26. Ludidi N., Gehrid C. Identification of a novel protein with guanylyl cyclase activity in *Ara-bidopsis thaliana*. / J. Biol. Chem. 2003. V. 278, P. 6490-6494
27. Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hurst R.D., Hancock J.T. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. J. Exp. Bot. 2002, V. 5., P. 1237—1247.
28. Neill S., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Wilson I. Nitric oxide evolution and perception. J. Exp. Bot. 2008. V. 59. № 1. P. 25-35.
29. Razavi, H.M. J.A. Hamilton, Q. Fenq. Modulation of apoptosis by nitric oxide: implications in myocardial ischemia and heart failure. Pharmacol. Ther. 2005. V.106.N.2. P.147-162
30. Ridnour L.A., Thomas D.D., Switzer C., Flores-Santana W., Isenberg J.S., Ambs S., Roberts D.D., Wink D.A. Molecular mechanisms for discrete nitric oxide levels in cancer. Nitric Oxide and Cancer: Clinical and Therapeutic Implications. 2008. V.19 № 2. P.73-76.
31. Rioby N.A., Clementi E., Melani M., Boveris A., Cadenas E., Moncada S., Poderoso J.J. Nitric oxide inhibits mitochondrial NADH-ubiquinone reductase activity through peroxynitrite formation. Biochem. J. 2001. V. 359. P.139–145.
32. Shahani N., Sawa A. Protein S-nitrosylation: role for nitric oxide signaling in neuronal death. Biochem. Biophys. Acta. 2012. V.1820. N.6. P.736-742.
33. Tatoyan A, Giulivi C. Purification and characterization of a nitric-oxide synthase from rat liver mitochondria. J. Biol. Chem.1998. V. 273. P. 11044–11048.
34. Tinajero - Trejo M, Jesse H.E., Poole R.K Gasotransmitters, poisons, and antimicrobials: it's a gas, gas, gas!. F1000Prime Rep. 2013. № 5. P. 28
35. Tsaneva I.R., Weiss B. SoxR, a locus governing a superoxide response regulon in *Escherichia coli* K-12. J. Bacteriol. 1990. V.172. №8. P.4197-4205.
36. Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T. Nitric oxide synthesis and signalling in plants. Plant Cell Environ. 2008. V. 31. P. 622-631.

#### **Signal functions of nitrogen oxide**

*Zhigacheva Irina Valentinovna, Leading Scientist, N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences*

*Vasilyeva Svetlana Vasilievna, Project Leader, N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences*

*The mini review deals with literature data on the role of NO in the regulation of cell metabolism. It is shown that the biological effects of NO have a concentration dependence. Low (pM / nM) concentrations of NO promote proliferation, while high (μM / mM) causes fission to stop, aging and cell death.*

*Key words: nitric oxide, antioxidant, pro-oxidant activity, apoptosis, post-translational modifications of proteins*

616:546.172.6:615.849.11“313”(045)

#### **АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ТЕРАГЕРЦОВОЙ ТЕРАПИИ НА ЧАСТОТАХ ОКСИДА АЗОТА**

*Светлана Серафимовна Паршина, д.м.н., профессор,*

*E-mail: [Iparshinasvetlana@mail.ru](mailto:Iparshinasvetlana@mail.ru)*

*Татьяна Николаевна Афанасьева, к.м.н., ассистент,*

*E-mail: [protegetmoi18@mail.ru](mailto:protegetmoi18@mail.ru)*

*Вера Дмитриевна Петрова, к.м.н., доцент*

*E-mail: [petrova.vd@yandex.ru](mailto:petrova.vd@yandex.ru)*

*Татьяна Ивановна Капланова, к.м.н., доцент*

*E-mail: [mari1276@list.ru](mailto:mari1276@list.ru)*

*Марина Валерьяновна Потапова, к.м.н., ассистент*

*E-mail: [marin9@bk.ru](mailto:marin9@bk.ru)*

*ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Россия, 410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112; <http://www.sgmu.ru>*

*Проанализированы отдаленные результаты лечения больных стабильной стенокардией с помощью электромагнитного излучения терагерцового диапазона на частотах оксида азота (ЭМИ ТГЧ-NO или ТГЧ-терапия-NO) (150,176 ... 150,664 ГГц). Выявлено нарастание антиангинального эффекта ЭМИ ТГЧ-NO в течение 1 мес. после выписки из стационара, не связанное с показателями центральной гемодинамики.*

*Ключевые слова: электромагнитное излучение, терагерцовый диапазон, оксид азота, стенокардии, отдаленный результат.*

Введение. Использование электромагнитного излучения терагерцового диапазона на частотах оксида азота (ЭМИ ТГЧ-NO или ТГЧ-терапия-NO) (150,176 ... 150,664 ГГц) хорошо зарекомендовало себя в лечении больных как стабильной, так и нестабильной стенокардией [1, с. 5]. По мнению ряда современных авторов, при облучении ЭМИ ТГЧ-NO может не только возрастет синтез эндогенного оксида азота и повышаться его реакционная способность, но и увеличиваться продолжительность существования оксида азота в клетках [2, с. 95].

Применение ЭМИ ТГЧ-NO у больных стенокардией позволяет снизить количество приступов стенокардии и суточную потребность в нитроглицерине, нормализовать артериальное давление, улучшить показатели гемокоагуляции и гемореологии. Именно поэтому актуальным является вопрос о длительности сохранения достигнутого эффекта и о сроках проведения повторного курса ТГЧ-NO.

Цель: оценить отдаленный эффект лечения ЭМИ терагерцового диапазона на частотах оксида азота у больных стабильной стенокардией.

Объекты и методы исследования. Эффективность ТГЧ-терапии-NO на фоне общепринятого медикаментозного лечения проанализирована у 96 пациентов со стабильной стенокардией напряжения III ф.к. (СС).

В группу сравнения (ГС) вошли пациенты, которые получали только стандартную медикаментозную терапию аспирином, нитратами,  $\beta$ -адреноблокаторами, ингибиторами АПФ и др. (63 чел.).

Облучение ЭМИ ТГЧ-NO проводилось с помощью аппарата «Орбита». Использовался прерывистый режим воздействия «3/15» (3 мин. - облучение, 15 мин. - перерыв, общая длительность сеанса 39 мин.). Локализация облучения - область мечевидного отростка грудины. Курс лечения - 10 сеансов.

Антиангинальный эффект лечения оценивали в баллах по относительному изменению количества приступов стенокардии в сутки и суточной потребности в нитроглицерине. Клиническая эффективность считалась высокой (отличной) при полном исчезновении приступов стенокардии (3 балла), хорошей – при уменьшении числа болевых приступов и суточной потребности в нитроглицерине на 75% и более от исходного уровня (2 балла). При уменьшении числа стенокардитических болей и суточной потребности в нитроглицерине в пределах 50 – 75% эффект оценивался как умеренный (1 балл). Отсутствие антиангинального эффекта оценивалось как «0 баллов», ухудшение состояния – как «- 1 балл». Проводилась оценка частоты сердечных сокращений (ЧСС), систолического и диастолического артериального давления (АД).

Клиническое состояние пациентов оценивалось по 3-м точкам: при поступлении и выписке из стационара, а также в отдаленные сроки – через 1 мес. после выписки из стационара.

Результаты. При выписке из стационара в обеих группах отмечалось существенное уменьшение частоты приступов стенокардии и суточной потребности в нитроглицерине ( $p < 0,05$ ), при этом показатели в группе с использованием ТГЧ-терапии-NO были статистически достоверно ниже, чем в ГС ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Динамика показателей «количество приступов стенокардии в неделю» и «потребность в нитроглицерине в неделю» была аналогичной (таблица 6).

## Секция 5. Оксид азота и продукты его метаболизма в биологических системах

При этом антиангинальный эффект лечения на стационарном этапе был выше при использовании терагерцовой терапии и составил в группе ЭМИ ТГЧ-NO  $2,75 \pm 0,16$  балла, в ГС -  $1,31 \pm 0,24$  балла ( $p < 0,05$ ).

В отдаленные сроки наблюдения (через 1 мес.) после проведения ТГЧ-терапии-NO антиангинальный эффект был более выражен, чем при выписке из стационара, по данным показателей «количество приступов стенокардии в неделю» и «потребность в нитроглицерине в неделю» ( $p < 0,05$ ) (таблица 1). Таким образом, выявлено «отсроченное» антиангинальное действие ЭМИ ТГЧ-NO, позволяющее пролонгировать и даже увеличивать достигнутый в стационаре антиангинальный эффект лечения в отдаленные сроки – через 1 мес. наблюдения.

В ГС через 1 мес. параметры «количество приступов стенокардии в неделю» и «потребность в нитроглицерине в неделю» соответствовали показателям по окончании стационарного лечения ( $p > 0,05$ ) (таблица 1), дальнейшего нарастания антиангинального эффекта, в отличие от группы ТГЧ-NO, не отмечалось.

Таблица 1

Динамика клинических показателей у больных стабильной стенокардией при использовании ТГЧ-терапии-NO ( $M \pm m$ )

Показатели	Сроки наблюдения	Метод лечения СС	
		ТГЧ-терапия-NO (n=96)	ГС (n=63)
Кол-во болевых приступов в неделю	До лечения	$35,0 \pm 9,8$	$41,5 \pm 6,8$
	После лечения	$2,3 \pm 0,9$ * ■	$12,6 \pm 1,7$ *
	Через 1 мес.	$1,0 \pm 0,02$ * ♦ ■	$15,8 \pm 1,9$ *
Потребность в нитроглицерине в неделю (табл.)	До лечения	$51,8 \pm 9,5$	$51,3 \pm 6,9$
	После лечения	$7,2 \pm 1,9$ * ■	$14,8 \pm 1,8$ *
	Через 1 мес.	$1,0 \pm 0,02$ * ♦ ■	$18,1 \pm 1,7$ *

Примечание: \* - различие с показателем “до лечения” статистически достоверно,  $p < 0,05$ ;

♦ - различие с показателем “после лечения” статистически достоверно,

$p < 0,05$ ;

■ - различие с ГС статистически достоверно,  $p < 0,05$ .

Динамики ЧСС до и после лечения ЭМИ ТГЧ-NO, а также в отдаленные сроки наблюдения не выявлено ( $p > 0,05$ ) (таблица 2). Таким образом, дополнительного пульсурежающего эффекта при использовании ТГЧ-терапии-NO не получено и описанное ранее антиангинальное действие нельзя объяснить снижением потребности в кислороде за счет уменьшения ЧСС ни на стационарном этапе лечения, ни в отдаленные сроки наблюдения.

Показатели систолического и диастолического АД при лечении ЭМИ ТГЧ-NO при выписке были ниже, чем при поступлении ( $p < 0,05$ ). Через 1 мес. гипотензивный эффект сохранялся на достигнутом уровне (таблица 2), что свидетельствует о стабильности полученного результата. Вместе с тем дальнейшего нарастания антигипертензивного действия терагерцовых волн в течение 1 мес. после выписки не отмечено, следовательно, дальнейшее усиление в течение этого срока наблюдения антиангинального эффекта не связано с показателями центральной гемодинамики.

Таблица 2

Показатели гемодинамики у больных стабильной стенокардией при использовании ТГЧ-терапии-NO ( $M \pm m$ )

Показатели	Сроки наблюдения	Метод лечения СС	
		ТГЧ-терапия-NO (n=96)	ГС (n=63)
ЧСС, уд/мин.	До лечения	72,6±4,2	78,9±5,3
	После лечения	62,6±1,6	66,7±4,7
	Через 1 мес.	69,3±4,8	70,5±5,4
АД сист., мм рт. ст.	До лечения	137,3±3,9	141,0±5,3
	После лечения	125,6±3,5 *	128,3±5,4 *
	Через 1 мес.	122,7±2,7 * ■	132,3±5,6
АД диаст., мм рт. ст.	До лечения	86,9±1,0	87,0±3,2
	После лечения	80,4±2,6 *	78,3±3,1 *
	Через 1 мес.	81,0±1,9 *	82,0±3,3

Примечание: \* - различие с показателем “до лечения” статистически достоверно,  $p < 0,05$ ;

■ - различие с ГС статистически достоверно,  $p < 0,05$ .

В ГС при выписке отмечено снижение систолического и диастолического АД в сравнении с исходными значениями ( $p < 0,05$ ), однако через 1 мес. амбулаторного наблюдения достигнутый эффект утрачивался ( $p > 0,05$ ) (таблица 2).

В отдаленные сроки наблюдения систолическое АД после проведения курса ТГЧ-терапии-NO было статистически достоверно снижено в сравнении с аналогичным показателем в ГС ( $p < 0,05$ ).

Выводы. Присоединение к медикаментозной терапии ЭМИ ТГЧ-NO усиливает антиангинальный эффект общепринятого лечения не только на стационарном этапе, но и в отдаленные (через 1 мес.) сроки наблюдения, способствуя дальнейшему снижению частоты приступов стенокардии и потребности в нитроглицерине, что свидетельствует о наличии “отсроченного” антиангинального действия ЭМИ ТГЧ-NO. Антигипертензивный эффект ТГЧ-терапии-NO, достигнутый на стационарном этапе, сохраняется и через 1 мес. после выписки, в то время как антигипертензивный эффект медикаментозного лечения через 1 мес. после выписки утрачивается. Таким образом, ЭМИ ТГЧ-NO способствует стабилизации гипотензивного эффекта стационарного лечения в отдаленные сроки наблюдения.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: дальнейшее – в течение 1 мес. - нарастание антиангинального эффекта, полученного на стационарном этапе лечения при использовании ЭМИ ТГЧ-NO, не связано с изменением показателей центральной гемодинамики и может, вероятно, объясняться пролонгацией активации цикла оксида азота.

### Литература

1. Паршина С.С., Головачева Т.В., Киричук В.Ф. и др. Эффективность использования электромагнитного излучения терагерцового диапазона на частотах молекулярного спектра оксида азота у больных стабильной и нестабильной стенокардией // Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2008. № 1. С. 5-26.

2. Киричук В.Ф., Креницкий А.П., Майбородин А.В. и др. Оксид азота и электромагнитное излучение КВЧ // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2002. №10. С. 95–108.

### Topical questions of terahertz therapy on the nitrogen oxide frequencies

*Svetlana Serafimovna Parshina, professor, Saratov State Medical University n.a. B.I. Razumovsky,*



*Tatyana Nikolaevna Afanasyeva, Second Ph.D., assistant, Saratov State Medical University n.a. B.I. Razumovsky,*

*Vera Dmitriyevna Petrova, associate professor, Saratov State Medical University n.a. B.I. Razumovsky,*

*Tatyana Ivanovna Kaplanova, associate professor, Saratov State Medical University n.a. B.I. Razumovsky,*

*Marina Valeryanovna Potapova, Second Ph.D., assistant, Saratov State Medical University n.a. B.I. Razumovsky*

*Long-term results of patients with a stable angina are analyzed, with the help of electromagnetic radiation of terahertz band on the nitrogen oxide frequencies (EMR THz-NO or THF-therapy-NO) (150,176 ... 150,664 GHz). An increase of antianginal effect of the EMR THF-therapy-NO had been noted during a month after discharge from the hospital, the increase was not connected with the parameters of a central haemodynamics.*

*Key words: electromagnetic radiation, terahertz band, nitrogen oxide, angina, long-term results.*

УДК 616.12.-009.72-085.849.11(045)-611.018.8

**ВОЗДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ГЛУТАМАТА (GLU) И NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ (NaNO<sub>2</sub>) НА МОЗЖЕЧОК ЛЯГУШКИ**

*Валентин Палладиевич Реутов, д-р. биол. наук, вед. науч. сотр.*

*E-mail: valentinreutov@mail.ru*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН*

*http://www.ihna.ru*

*Нина Васильевна Самосудова, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.*

*E-mail: nsamos@iitp.ru*

*ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН*

*http://www.iitp.ru*

*Елена Геннадьевна Сорокина, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.*

*E-mail: sorokelena@mail.ru*

*ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Министерства здравоохранения РФ*

*http://www.nczd.ru*

*Исследовали механизмы воздействия различных доз (от физиологических до токсических) Glu и NO-генерирующего соединения (NaNO<sub>2</sub>) на мозг и мозжечок лягушки, в том числе на зернистые клетки мозжечка, клетки Пуркинью и глиальные клетки.*

*Ключевые слова: мозжечок лягушки, зернистые клетки, клетки Пуркинью, глиальные клетки, глутамат, NO-генерирующие соединения*

**Работа выполнена при поддержке РАН**

**Введение**

В настоящее время мозжечок рассматривают как орган, способный приобретать опыт. Клеточные механизмы формирования памяти и процессов обучения в коре мозжечка стали наиболее популярными темами обсуждения среди нейрофизиологов. Две уникальные особенности мозжечка предопределили наш интерес к этому отделу мозга. Одна особенность мозжечка состояла в том, что преобладающим элементом в нейронной сети коры мозжечка являются зернистые клетки (клетки-зерна). Другая особенность состояла в том, что мозжечок занимает ведущее положение по содержанию NO в ЦНС. Glu и NO в настоящее время рассматривают как основные мессенджеры пре- и постсинаптических нейронов. Биохимические и морфологические (цитохимические) исследования этих нейронов при воздействии различных концентраций Glu и NO могут



быть весьма полезными и эффективными для изучения физиологических (памяти и обучения) и патофизиологических (инсультов) процессов.

Согласно установленным представлениям формирование следа памяти обусловлено способностью нервных связей к пластичности. В этих механизмах NO (при физиологических концентрациях этого соединения) играет существенную роль. Это обусловлено тем, что NO является индуктором пространственного перераспределения белков в клетках (нейронах) из растворимого в мембранно-связанное состояние. Благодаря этой особенности NO способен модифицировать синапсы нейронов (активные зоны) – места контактов пресинаптических и постсинаптических нейронов, где осуществляются процессы передачи информации от одного нейрона к другому.

Ведущим патогенетическим фактором повреждения нейронов при инсультах является гиперстимуляция Glu-рецепторов. В ходе этого процесса происходит деэнергизация митохондрий, нарушается ионный гомеостаз, повышается внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+}$  и активируются конститутивные NO-синтазы. При этом увеличивается содержание NO и продуктов их превращения, которые участвуют в механизме отрицательной обратной связи от постсинаптических нейронов к пресинаптическим, и влияют на биохимические процессы и морфологические изменения нейронов и глиальных клеток.

*Кора мозжечка лягушки* наиболее просто устроена. Она представлена тремя основными слоями: *молекулярным, слоем клеток Пуркинье и зернистым* [1, 2]. Самый поверхностный слой – *молекулярный* – состоит из параллельных волокон и разветвлений дендритов, а также аксонов нейронов нижележащих слоев. Считается общепризнанным, что кора мозжечка всех позвоночных животных имеет развитый молекулярный слой. В мозжечке лягушки молекулярный слой, в отличие от мозжечка млекопитающих, не содержит корзинчатых клеток. Вместо этих клеток в молекулярном слое коры мозжечка лягушки присутствуют поверхностные звездчатые клетки, которые, однако, не образуют “корзиночек вокруг клеток Пуркинье”, как в мозжечке млекопитающих. Как звездчатые клетки, так и корзинчатые клетки представляют собой интернейроны молекулярного слоя коры мозжечка [1–6]. Ниже молекулярного слоя находятся тела клеток Пуркинье, которые представляют собой крупные нейроны грушевидной формы с диаметром от 20 до 30 мкм. Эти клетки, ориентированы вертикально по отношению к поверхности коры мозжечка. Их дендриты, поднимаются вверх и ветвятся в молекулярном слое. Они имеют специальные выросты – шипики (от 4 до 5) на один мкм длины, образующие синапсы с параллельными волокнами гранулярных клеток. Каждая клетка Пуркинье получает входы, примерно, от 200 000 параллельных волокон гранулярных клеток [1–6]. Выход из коры мозжечка формируется аксонами клеток Пуркинье, образующих синапсы на нейронах глубоких и вестибулярных ядер мозжечка. Общее количество клеток Пуркинье у разных позвоночных животных составляет от сотен тысяч до миллиона. Подсчитано, что до 200 000 параллельных волокон создают столб дендритного дерева клеток Пуркинье. Каждое параллельное волокно имеет один “перекрестный” синаптический контакт с одной клеткой Пуркинье. В месте контакта параллельные волокна утолщаются и приобретают везикулы. Шипиковые выросты дендритов клеток Пуркинье инвагинируются этими выпячиваниями. Уникальной особенностью этих клеток является обособленность дендритного дерева каждой клетки Пуркинье [3–6].

*Зернистые клетки мозжечка.* За слоем клеток Пуркинье следует *зернистый* слой. Толщина этого слоя составляет около 200-300 мкм. Этот слой содержит большое количество тел клеток-зерен, или гранулярных клеток. По некоторым данным их число может достигать у разных животных от сотен миллионов до десятков-сотен миллиардов ( $10^8$ - $10^{11}$ ). Гранулярные клетки посылают аксоны в наружный молекулярный слой, образуя систему *параллельных волокон*, каждое из которых тянется до нескольких мм. В слое гранулярных клеток присутствуют также *клетки Гольджи*, формирующие тор-

мозжные синапсы на гранулярных клетках [1–7]. В настоящее время культура зернистых клеток мозжечка широко используется для изучения механизмов токсического действия глутамата,  $\text{Ca}^{2+}$ , NO-генерирующих соединений, нарушения энергетической функции митохондрий [8–34].

*Глиальные клетки мозжечка.* Популяция глиальных клеток в центральной нервной системе (ЦНС) представлена *астроглией, олигодендроглией и микроглией* [1–6]. Астроциты – макроглиальные клетки эктодермального происхождения, являются наиболее многочисленной популяцией глиоцитов в ЦНС, они количественно превосходят нейроны часто в пропорции 10:1 и занимают от 25 % до 50 % объема мозга [3–6]. Основным иммуногистохимическим маркером астроцитов является глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP). Экспрессия этого белка в нервной системе присуща только астроцитам. Астроциты активируются при нейрональных повреждениях и претерпевают биохимические и морфологические изменения, включая повышение активности белка фосфатазы – кальциневрина (protein phosphatase calcineurin) [1–6].

*Протоплазматические и волокнистые астроциты.* Различают два вида астроцитов: протоплазматические и волокнистые. Протоплазматические астроциты морфологически сходны с нейронами. Они имеют размер 15–25 мкм и представляют собой самые крупные клетки нейроглии. Астроциты этого вида находятся в сером веществе ЦНС и характеризуются множеством сильно разветвленных коротких отростков, лежащих преимущественно в одной плоскости [1–3]. Волокнистые астроциты располагаются большей частью в белом веществе мозга, диаметр их тел – 7–11 мкм. Эти клетки имеют 20–40 гладкоконтурированных, длинных, слабо ветвящихся отростков [35–40]. Астроциты являются электрически-невозбудимыми клетками. Количество глиальных клеток превышает число нейронов, по крайней мере, в 10 раз. Диаметр глиальных клеток составляет от 5 до 9 мкм. По некоторым данным их число может достигать от сотен миллионов до сотен миллиардов ( $10^8$ - $10^{11}$ ) [35–42].

*Астроциты, как регуляторы гомеостаза.* Астроциты вместе с церебральными эндотелиальными клетками образуют гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), участвуют в процессе ремиелинизации и роста аксонов [3–6]. Астроциты утилизируют глутамат из синаптических щелей, а также регулируют энергетический метаболизм в мозге. Кроме того, астроциты выполняют функции иммунокомпетентных клеток: принимают участие в инициации и регуляции иммунного и воспалительного ответов при повреждении и патологических состояниях (нейродегенеративные заболевания) мозга [285-290].

*Олигодендроциты.* В белом веществе МЖ находятся фиброзные астроциты – олигодендроциты. Они окружают и миелинизируют крупные аксоны, обладают способностью плотно облепать небольшие аксоны (менее 1 мкм в диаметре), не формируя при этом миелинового слоя.

*Мозжечок лягушки, как модель для исследования гиперстимуляции Glu-рецепторов при инсультах.* В работе были исследованы и проанализированы ультраструктурные изменения одного из простейших по своей структуре мозжечка (мозжечка лягушки) в присутствии различных концентраций глутамата (Glu, 0.1 мМ – 5 мМ) и NO-генерирующего соединения ( $\text{NaNO}_2$ , 0.1 мМ – 5 мМ). Анализ ультраструктурных изменений нейронов при воздействии токсических доз глутамата и нитрита позволяет указать, как общие, однонаправленные тенденции в характере этих изменений, так и отличительные особенности. К общим изменениям можно отнести просветление цитоплазмы нейронов, уменьшение количества синаптических пузырьков, разрушение митохондрий и усиление осмиофильности в примембранной области. К отличительным особенностям можно отнести разный характер повреждения целостности мембран в каждом конкретном случае. Наличие разных по характеру мембранных повреждений в условиях избыточных концентраций глутамата и NO-генерирующего вещества позволяет предположить существование различных механизмов повреждающего действия этих веществ. Статистический анализ показал, что в среде с избытком глу-

тамата (1 mM) превалирует бутоны, инкапсулированные шипиками, а в среде с избытком NO-генерирующего вещества (1 mM NaNO<sub>2</sub>) превалируют шипики, инкапсулированные бутонами. Эти данные свидетельствуют о том, что в присутствии избытка глутамата наблюдается увеличение объема шипиков, возможно, их набухание, а в среде с избытком NO-генерирующего вещества более значительно увеличивается объем бутон, которые инкапсулируют шипики. Набухание шипиков и бутон может происходить вследствие деэнергизации митохондрий и нарушения ионного гомеостаза, за счет снижения активности Ca<sup>2+</sup> и Na<sup>+</sup>-АТФ-аз в условиях дефицита АТФ и снижения мембранного потенциала. Повышение содержания ионов Na<sup>+</sup>, как известно, всегда влечет за собой отек клеток. Количественные результаты инкубации мозжечка в растворе Рингера с глутаматом практически не отличаются от контроля. Однако число синапсов по сравнению с нормой снижалось на 30%, бутон – на 21%, шипиков – на 33%. Совсем иной была картина ультраструктурных изменений при инкубации мозжечка в растворе Рингера с NaNO<sub>2</sub>. В этих опытах инкубация вызывала снижение количества всех структурно-функциональных параметров по сравнению с контролем, чего не наблюдалось при инкубации в растворе глутамата. При этом число синапсов по сравнению с нормой снижалось на 55%, бутон – на 40%, а шипиков – на 53%. Полученные данные позволяют предположить, что в условиях воздействия NO-генерирующего соединения в нейронах и глии образуется больше весьма активного диоксида азота (NO<sub>2</sub>) и пероксинитритов, вновь распадающихся на NO<sub>2</sub> и ОН-радикалы, чем в условиях глутаматной нейротоксичности. Диоксид азота, способен повреждать ненасыщенные жирные кислоты [82, 139, 140], входящие в состав фосфолипидов мембран и обладает, прежде всего, повреждающим действием на мембраны нейронов и глии [125, 152] что приводит к уменьшению числа синапсов, бутон и шипиков, а также к локальному повреждению глиальных «обкруток» вокруг зон повреждения нейронов глии и капилляров. Повреждения мембран нейронов, а также субклеточных их структур, приводят к выходу протеаз и фосфолипаз, которые могут расщеплять белки и фосфолипиды мембран клеток и приводить к указанному выше снижению числа синапсов, бутон и шипиков.

Во всех случаях повреждения плазматических мембран нейронов и/или глиальных клеток высокими концентрациями Glu и NO-генерирующим соединением в течение первого часа были обнаружены структурные изменения нервных и глиальных клеток, которые можно отнести к защитным или компенсаторно-приспособительным реакциям. Основными проявлениями действия этих механизмов были следующие: *пластические изменения структуры синапсов; слияние клеток-зёрен; изменение структуры синаптических пузырьков*, которые являются основными поставщиками нейромедиатора Glu в мозге; *активация астроцитов, образующих защитные структуры – «обкрутки» вокруг синапсов и их составляющих – бутон и шипиков; и формирование нейроглиальных контактов при повреждении нервных клеток*. Согласно развиваемым представлениям эти механизмы могут способствовать сохранению или восстановлению структуры и функции, как нейронов, так и глиальных клеток мозга, что хорошо согласуется с данными литературы. Однако эта модель была не единственной в наших работах [43–150]. Исследования, проведенные на мозжечке лягушки [112–132], в дальнейшем были продолжены на зернистых клетках [43, 44, 46–50, 53–56] и на нейронах улитках [133, 134]. Во всех исследованиях были обнаружены общие закономерности [43, 44, 72, 106, 107], которые были проанализированы и вошли в новые обобщающие концепции [105–111, 135–138]. На основании полученных данных, анализа литературы и результатов предыдущих исследований сформулирована новая концепция, объединяющая нервную регуляцию кровообращения вместе с глутаматергической системой мозга и системами генерации оксида азота.

*Новая обобщающая концепция.* На протяжении длительного времени ученые полагали, что нейроны – единственные клетки в мозге и других отделах нервной системы, способные генерировать электрические импульсы (потенциалы действия), которые

распространяются от тела нейрона через длинный аксон к аксонным терминалям. Эти терминали высвобождают в синаптическую щель молекулы посредника – нейротрансмиттера, которые достигают соответствующих рецепторов на коротких ветвящихся дендритах другого нейрона. Глия (глиальные клетки), которых приблизительно в 10 раз больше, чем нейронов, заполняет пространство между нейронами, аксонами и дендритами соседних клеток. В последние десятилетия установлено, что клетки глиии обмениваются сигналами как между собой, так и с нейронами. Установлено, что показателем активации глиальных клеток являются поглощение ими ионов  $Ca^{2+}$  и увеличение синтеза NO конститутивными NO-синтазами, которые наблюдаются в ответ на синаптические импульсы в нейронах. Известно было, что клетки глиии способны изменять нейронные сигналы на уровне синаптических контактов между нейронами и влиять на образование синапсов.

Анализ данных литературы и полученные нами данные позволили предложить новую концепцию, суть которой сводится к тому, что *нейроны, глиа и кровеносные сосуды, включая капилляры, функционируют посредством модульных ансамблей, где цикл оксида азота играет роль интегрирующего элемента в этом ансамбле. Активно работающие нейроны и глиа обеспечивают себя кислородом и глюкозой через кровеносные сосуды, расширенные NO. Это повышает содержание окси-Hb в местах активно работающих нейронов и глиии. Строение и расположение нейронов, глиии (глиальных клеток) и цереброваскулярной системы в модульном ансамбле максимально приспособлено для своевременной доставки питательных веществ функционально активным нейронам и глиальным клеткам и удаления продуктов их обмена. По данным литературы время эффективного действия NO в цитоплазме нейронов Пуркинье составляет около 50 мс, однако в окружающем межклеточном веществе оно еще меньше – порядка 10 мс. За это время молекулы NO успевают заполнить сферическое пространство нейрона радиусом 10 – 15 мкм. В то же время наибольшее расстояние от нервной клетки до кровоснабжающих их капилляров составляет около 25 мкм, что в 2 – 2.5 раза больше радиуса эффективного действия NO в этих условиях. Имеются основания предполагать, что увеличение радиуса эффективного действия NO в мозге обусловлено работой цикла оксида азота. Эффективность этого механизма многократно увеличивается в условиях гипоксии/ишемии, когда гемсодержащие белки переходят в дезокси-форму, и начинают активно восстанавливать ионы  $NO_2^-$  в NO. Учитывая способность NO индуцировать пространственное перераспределение белков из растворимого в мембранно-связанное состояние [149, 150] можно понять механизм модификации синапсов при умеренной гипоксии и эффект улучшения памяти в этих условиях [151]. Однако в условиях высокой продукции NO, когда появляется возможность для образования диоксида азота ( $NO_2$ ) [82, 139, 140], повреждаются мембраны клеток и субклеточных структур, в том числе и мембраны синаптических пузырьков в аксонах пресинаптических нейронов или в бутонах – варикозных расширениях аксонов [125, 152]. А это нарушает механизм синаптической передачи сигнала и ведет к ухудшению запоминания и обучения в этих условиях. Таким образом, предложенный нами механизм позволяет понять, каким образом NO участвует в модуляции молекулярных механизмов синаптической пластичности, обнаруженный в простых системах [153].*

*Заключение.* Клеточные механизмы формирования памяти и процессов обучения в коре мозжечка стали наиболее популярными темами обсуждения среди нейрофизиологов в последние десятилетия. В работе проанализировали данные литературы и результаты собственных исследований механизмов воздействия различных доз (от физиологических до токсических) Glu и NO-генерирующего соединения ( $NaNO_2$ ) на мозг и мозжечок лягушки, в том числе на зернистые клетки мозжечка лягушки, клетки Пуркинье и глиальные клетки. Анализ данных литературы и полученных нами данных позволили предложить новую концепцию, суть которой сводится к тому, что *нейроны, глиа и кровеносные сосуды, включая капилляры, функционируют посредством модульных ан-*

самблей, в которых цикл оксида азота играет роль одного из интегрирующих элементов.

### **Литература**

3. *Larsell O.* The cerebellum. A review and interpretation // Arch. Neurol. Psychiatr. (Chicago). 1937. V. 58. P. 580-607.
4. *Sotelo C.* Ultrastructural aspects of the cerebellar cortex of the frog. // Proceedings of the First International Symposium. Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development. Ed. by R. Llinas. 1969. P.327-372.
5. *Калиниченко С.Г., Мотавкин П.А.* Кора мозжечка. М.: Наука. 2005. 319 с.
6. *Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю.* Самоорганизация нейронных систем и модульная архитектура головного мозга // Тихоокеанский медицинский журнал. 2010. №4. С.8-11.
7. *Калиниченко С.Г.* Модульная парадигма и проблема структурно-функциональной организации мозжечка // Тихоокеанский медицинский журнал. 2016. №2. С.42-48.
8. *Калиниченко С.Г., Охотин В.Е.* Униполярные кисточковые клетки – новый тип возбуждающих интернейронов коры мозжечка и улитковых ядер мозгового ствола // Морфология. 2003. Т.124. №6. С.7-21.
9. *Артюхина Н.И.* Структурно-функциональная организация нейронов и межнейронных связей. М.: Наука, 1979.
10. *Большаков А.П.* Исследование митохондриальной деполяризации и кальциевой дизрегуляции, индуцируемой возбуждающим медиатором глутаматом в нейронах мозга // Автореферат ... дисс. канд. физ.-мат. наук. М.: МФТИ. 2007. 21 с.
11. *Исаев Н.К.* Механизмы повреждения и способы защиты культивированных нейронов головного мозга при действии возбуждающих аминокислот // Автореферат дисс... докт. биол. наук. М.: 2003. НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ. 33 с.
12. *Исаев Н.К., Зоров Д.Б., Лыжин А.А. и др.* Глутамат вызывает понижение мембранного потенциала митохондрий в культивированных клетках-зернах мозжечка // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1994. Т. 117. №2. С. 226-229.
13. *Исаев Н.К., Стельмашук Е.В., Плотников Е.Ю. и др.* Роль ацидоза, NMDA-подтипа глутаматных рецепторов и кислоточувствительных ионных каналов (ASIC1A) в развитии нейрональной гибели при ишемии // Биохимия. 2008. Т.73. №11. С.1461-1466.
14. *Исаев Н.К., Узбеков Р.Э., Стельмашук Е.В. и др.* Токсическое воздействие глутамата вызывает повреждение митохондрий в клетках-зернах диссоциированных культур мозжечка крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1995. Т.119. №4. С. 378-380.
15. *Пинелис В.Г., Сорокина Е.Г., Реутов В.П. и др.* Влияние токсического воздействия глутамата и нитрита на содержание циклического ГМФ в нейронах и их выживаемость // Докл. РАН. 1997. Т. 352. № 2. С. 259–261.
16. *Стельмашук Е.В., Исаев Н.К., Зоров Д. Б., Викторов И.В.* Кальций вызывает снижение мембранного потенциала митохондрий клеток-зерен мозжечка крыс при токсическом воздействии глутамата // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1997. №4. С. 378-380.
17. *Сторожевых Т.П., Пинелис В.Г., Винская Н.П. и др.* Ведущая роль Ca<sup>2+</sup>-АТФазы плазматической мембраны в восстановлении кальциевого гомеостаза нейронов после глутаматного удара // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т.135. №2. С.162-165.
18. *Сурин А.М., Горбачева Л.Р., Савинкова И.Г. и др.* Исследование изменений [АТФ] в цитозоле при развитии глутамат-индуцированной дизрегуляции кальциевого гомеостаза // Биохимия. 2014. Т.79. №2. С.196-208.
19. *Хаспеков Л.Г.* Механизмы и факторы нейродеструктивного действия возбуждающих аминокислот на нейроны головного мозга *in vitro* // Автореф. дис... докт. биол. наук. М.: Институт мозга. 1995. 75 С.
20. *Ходоров Б.И., Сторожевых Т.П., Сурин А.М. и др.* Митохондриальная деполяризация играет доминирующую роль в механизме нарушения нейронального кальциевого гомеостаза, вызванного глутаматом // Биологические мембраны. Журнал мембранной и клеточной биологии. 2001. Т.18. С.421.
21. *Choi D.W.* Ionic dependence of glutamate neurotoxicity // J. Neurosci. 1987. V.7. P.369-379.
22. *Choi D.W.* Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system // Neuron. 1988. V.1. P.623-634.
23. *Choi D.W.* Excitotoxic cell death // J. Neurobiol. 1992. V.23. P.1261-1276.

24. *Choi D.W.* Ischemia-induced neuronal apoptosis // *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996. V.6. P.667-672.
25. *Choi D.W.* Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system // *Neuron.* 1998. V.1. P.623-634.
26. *Dubinsky J.M.* Intracellular calcium levels during the period of delayed excitotoxicity // *J. Neurosci.* 1993. V.13. P.623 – 631.
27. *Duchen M.R.* Ca<sup>2+</sup>-dependent changes in the mitochondrial energetics in single dissociated mouse sensory neurons. // *Biochem. J.* 1992. V.283. P.41-50.
28. *Duchen M.R.* On the involvement of a cyclosporin A sensitive mitochondrial pore in myocardial reperfusion injury // *Cardiovasc. Res.* 1993. V.27. P.1790-1794.
29. *Duchen M.R.* Contribution of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signaling and cell death // *J. Physiol.* 1999. V.516. (Pt.1). P.1-17.
30. *Duchen M.R.* Mitochondria, calcium-dependent neuronal death and neurodegenerative disease // *Pflugers Arch.* 2012. V.464. №1. P.111-121.
31. *Duchen M.R., Valdeolmillos M., O'Neill S.C., Eisner D.A.* Effects of metabolic blockade on the regulation of intracellular calcium in dissociated mouse sensory neurones // *J. Physiol.* 1990. V.424. P.411-426.
32. *Khodorov B.* Glutamate-induced deregulation of calcium homeostasis and mitochondrial dysfunction in mammalian central neurons // *Progress in Biophysics & Molecular Biology.* 2004. V.86.№2. P.279-351
33. *Khodorov B., Pinelis V., Storozhevych T. et al.* Blockade of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake by mitochondrial inhibitors amplifies the glutamate-induced calcium response in cultured cerebellar granule cells // *FEBS Letters.* 1999. V.458. №2. P.162-166.
34. *Khodorov B., Vergun O., Vinskaya N. et al.* Dominant role of mitochondria in protection against a delayed neuronal Ca<sup>2+</sup> overload induced by endogenous excitatory amino acids following a glutamate pulse // *FEBS Letters.* 1996. V.393. №1. P.135-138.
35. *Khodorov B., Vergun O., Pinelis V. et al.* Mitochondrial deenergization underlies neuronal calcium overload following a prolonged glutamate challenge // *FEBS Letters.* 1996. V.397. №2-3. P.230-234.
36. *Stout A.K., Raphael H.M., Kanterewicz B.I. et al.* Glutamate-induced neuron death requires mitochondrial calcium uptake // *Nature Neuroscience.* 1998. V.1. No.5. P.366-373.
37. *Apps R., Hawkes R.* Cerebellar cortical organization: a one map hypothesis // *Nature Rev. Neurosci.* 2009. V.10. №9. P.670-681.
38. *Armstrong C.L., Hawkes R.* Pattern formation in the cerebellar cortex // *Biochem. Cell Biol.* 2000. V.78. P. 551-562.
39. *Barmack N.H., Yakhnisa V.* Function of interneurons in mouse cerebellum // *J. Neurosci.* 2008. V.78. P.551-562.
40. *Cerminara N.L.* Cerebellar modules: individual or composite entities? // *J. Neurosci.* 2010. V.30. P.16065-16067.
41. *Cerminara N.L., Apps R.* Behavioural significance of cerebellar modules // *Cerebellum.* 2013. V.10. P.484-494.
42. *D'Angelo E., Mazzarello P., Prestori F. et al.* // The cerebellar network: from structure to function and dynamics // *Brain Res. Rev.* 2011. V.66. P.5-15.
43. *Eccles J.C., Ito M., Szentagothai J.* The cerebellum as a neuronal machine. NY: Springer-Verlag, 1967. 97 p.
44. *Garwicz M.* Micro-organization of cerebellar modules controlling forelimb movements // *Prog. Brain Res.* 2000. V.124. P.187-199.
45. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г. и др.* Резистентность нервных клеток к действию токсических доз соединений нитрита натрия у теплокровных и холоднокровных животных // *Вести национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук.* 2003. №1. С.75-78.
46. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В.* Повреждение мембран клеток и субклеточных структур при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения – следствие нарушения циклических регуляторных механизмов, связанных с циклами оксида азота и супероксидного анион-радикала // *Евразийское научное объединение.* 2016. Т.1. №6(18). С.20-29.

47. Реутов В.П., Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Кошелев В.Б., Рясина Т.В., Левшина И.П., Шуйкин Н.Н., Косицын Н.С., Айрапетянц М.Г. Развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к судорожным припадкам, при действии NO-генерирующего соединения и блокатора NO-синтазы. // Вести национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2002. №1. С.5-10.

48. Sorokina E.G., Reutov V.P., Granstrem O.K., Fadyukova O.E., Obrezchikova M.N., Krushinsky A.L., Koshelev V.B., Dambinova S.A. Participation of nitric oxide in damage of glutamate receptors at seizures. // J. of Neurochemistry. 1998. Vol.71. Suppl.1. P.88.

49. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Фадюкова О.Е., Обрезчикова М.Н., Крушинский А.Л., Кошелев В.Б., Дамбинова С.А., Пинелис В.Г. Участвует ли оксид азота в повреждении глутаматных рецепторов при эпилепсии? // В кн.: Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности. Минск: ПолиБиг. 1999. С.204-206.

50. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Косицын Н.С., Гранстрем О.К., Дамбинова С.А., Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Кошелев В.Б., Винская Н.П., Гордеева Г.Ф., Пинелис В.Г. Нитритная гипоксия вызывает повреждение глутаматных рецепторов у крыс. // В кн.: Функциональная роль монооксида азота и пуринов. Минск: Национальная академия наук Беларуси, Бизнессофтсет, 2001. С. 167-168.

51. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Фадюкова О.Е., Обрезчикова М.Н., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Дамбинова С.А., Пинелис В.Г. Возможная роль оксида азота в повреждении глутаматных рецепторов при эпилепсии // Вести национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2002. №1. С.18-22.

52. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Пинелис В.Г., Винская Н.П., Гранстрем О.К., Дамбинова С.А., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Фадюкова О.Е., Косицын Н.С., Кошелев В.Б. Роль оксида азота в образовании аутоантител к рецепторам глутамата. // Нейроиммунология. Исследования, клиника, лечение. Санкт-Петербург. 2002. С.267-269.

53. Reutov V.P., Sorokina E.G., Pinelis V.G., Samosudova N.V., Larionova N.P., Filippova N.A., Kositzin N.S. Different Resistance of Nervous Cells to Toxic Doses of a Nitric Oxide-Generating Compound in Homeothermal and Poikilothermal Animals. // Medico-Biological Problems of Thermophysiology. Minsk: Institute of Physiology NAN Belarus, Bisnessoftset, 2002. P.129-131.

54. Пинелис В.Г., Юрявичус А.И., Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Винская Н.П., Сторожевых Т.П., Сурин А.А., Вергун О.В., Арсеньева Е.Н., Ходоров Б.И. Влияние NO-генерирующих соединений и глутамата на внутриклеточное содержание ионов  $Ca^{2+}$  и энергетическую функцию митохондрий нейронов мозжечка крыс // В кн.: Пурины и монооксид азота. Регуляторная функция в организме. Минск: Технопринт. 2003. С.95-97.

55. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Косицын Н.С., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Фадюкова О.Е., Дамбинова С.А., Пинелис В.Г. Изучение механизмов образования аутоантител при эпилепсии и гипоксии. // Нейроиммунология. 2003. Т.1. №2. С.137

56. Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Винская Н.П., Сторожевых Т.П., Пинелис В.Г. Частичное ингибирование цитохромоксидазы митохондрий в нейронах мозжечка защищает их от повреждений при действии токсических доз глутамата и нитрита // Вести национальной академии наук Беларуси 2003. №2. С.59-63. (News of Biomedical Sciences. 2003. №2. P. 41-44). ISSN 1680-6387.

57. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г., Самосудова Н.В., Ларионова Н.П., Филиппова Н.А., Косицын Н.С. Резистентность нервных клеток к действию токсических доз нитрита натрия у теплокровных и холоднокровных животных // Вести национальной академии наук Беларуси 2003. №1. С.75-77. (News of Biomedical Sciences. 2003. №1. P. 62-64). ISSN 1680-6387.

58. Реутов В.П., Самосудова Н.В., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Влияние глутамата и NO-генерирующего соединения на ультраструктурные характеристики нейронной сети мозжечка // Новости медико-биологических наук. 2004. №1. С.57-60. (News of Biomedical Sciences. 2004. №1. P. 40-43). ISSN 1680-6387.

59. Кошелев В.Б., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П. Снижение под влиянием ингибитора NO-синтазы защитного эффекта от барокамерной адаптации к гипоксии у крыс линии Крушинского-Молодкиной // Новости медико-биологических наук. 2004. №1. С.41-44. (News of Biomedical Sciences. 2004. №1. P. 32-35). ISSN 1680-6387.

60. Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П., Кошелев В.Б., Алесенко А.А., Сорокина Е.Г., Косицын Н.С. Влияние L-аргинина на развитие стрессорных повреждений у крыс линии

Крушинского-Молодкиной // Новости медико-биологических наук. 2004. №1. С.61-64. (News of Biomedical Sciences. 2004.№1. P. 52-55). ISSN 1680-6387.

61. *Koshelev V.B., Krushinsky A.L., Kuzenkov V.S., Reutov V.P.* Protective Effect of Hypoxic Preconditioning on Stress Resistance of Krushinsky-Molodkina Rats Genetically Prone to Audiogenic Epilepsy // *Hypoxia Med. J.* 2004. Vol.12, №3-4, P.51-54.

62. *Фадюкова О.Е., Кузенков В.С., Реутов В.П., Крушинский А.Л., Буравков С.В., Кошелев В.Б.* Антистрессорное и ангиопротекторное влияние оксида азота на крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии // *Российский Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2005. Т.90. №1. С.89-96.

63. *Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г., Реутов В.П., Семенова Ж.Б., Базарная Н.В., Мещеряков С.В., Сторожевых Т.П., Сенилова Я.Е., Рошаль Л.М.* Аутоиммунные механизмы в защите нейронов при гипоксических и травматических повреждениях мозга // *Материалы XV Международной конференции и дискуссионного научного клуба "Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии"* 2007. С. 112-114.

64. *Крушинский А.Л., Реутов В.П., Кузенков В.С., Сорокина Е.Г., Кошелев В.Б., Фадюкова О.Е., Байдер Л.М., Куроптева З.В., Жумабаева Т.Т., Комиссарова Л.Х., Рясина Т.В., Косицын Н.С., Пинелис В.Г.* Оксид азота участвует в защитном эффекте от акустического стресса при кратковременной адаптации крыс линии Крушинского-Молодкиной к гипоксии // *Изв. РАН. сер. биол.* 2007. №3. С.329-335.

65. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Сенилова Я.Е., Ходоров Б.И., Пинелис В.Г.* Изменение содержания АТФ в зернистых клетках мозжечка при гиперстимуляции глутаматных рецепторов: возможное участие NO и нитритных ионов // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2007. №4. С. 419- 422.

66. *Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Базарная Н.В., Мещеряков С.В., Реутов В.П., Гранстрем О.К., Пинелис В.Г., Рошаль Л.М.* Аутоантитела к глутаматным рецепторам и метаболические продукты оксида азота в сыворотке крови детей в остром периоде черепно-мозговой травмы // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2007. спецвыпуск. Инсульт. Приложение к журналу. *Материалы II Российского Международного конгресса "Цереброваскулярная патология и инсульт".* 17-20 сентября 2007. С.384.

67. *Реутов В.П., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г., Косицын Н.С., Свинов М.М., Байдер Л.М., Куроптева З.В.* Протекторный эффект активации цикла NO при геморрагических инсультах // *Материалы XV Международной конференции и дискуссионного научного клуба "Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии"* 2007. С. 105-106.

68. *Реутов В.П., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Гранстрем О.К.* Влияние кортексина на выживаемость, площадь кровоизлияний и уровень аутоантител к глутаматным рецепторам у крыс линии Крушинского-Молодкиной // *Психофармакология и биологическая наркология* 2007. Т. 7. спецвыпуск (сентябрь). Ч.2. 2-1916.

69. *Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Базарная Н.А., Мещеряков С.В., Реутов В.П., Горюнова А.В., Пинелис В.Г., Гранстрем О.К., Рошаль Л.М.* Аутоантитела к рецепторам глутамата и продукты метаболизма оксида азота в сыворотке крови детей в остром периоде черепно-мозговой травмы // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2008. Т.108. №3. С.67-72.

70. *Реутов В.П., Самосудова Н.В., Филиппова Н.А., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Сорокина Е.Г., Пинелис В.Г., Гранстрем О.К., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М.* Кортиксин и нитрит в сочетании с кортексином уменьшают отек и разрушение нейронов мозжечка при геморрагическом инсульте // *ДАН* 2009. Т.426. №3. С.410-413.

71. *Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П., Кошелев В.Б., Сорокина Е.Г.* Нитрат натрия снижает развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной // *Вестник МГУ.* 2009. Сер.16. Биология. N1. С. 14-17.

72. *Байдер Л.М., Реутов В.П., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Сорокина Е.Г., Кошелев В.Б., Фадюкова О.Е., Жумабаева Т.Т., Комиссарова Л.Х., Пинелис В.Г., Косицын Н.С., Куроптева З.В.* Исследование методом ЭПР влияния гипоксии на образование оксида азота (NO) в крови крыс линии Крушинского-Молодкиной // *Биофизика.* 2009. Т.54. №5. С. 894-900.



73. Sorokina E.G., Semenova Zh.B., Bazarnaya N.A., Meshcherykov S.V., Reutov V.P., Gorbunova A.V., Pinelis V.G., Granstrem O.K., Roshal L.M. Autoantibodies to glutamate receptors and products of nitric oxide metabolism in serum in children in the acute phase of craniocerebral trauma // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2009. V.39. N4. P.329-334.

74. Lundberg JO, Gladwin MT, Ahluwalia A, Benjamin N, Bryan NS, Butler A, Cabrales P, Fago A, Feelisch M, Ford PC, Freeman BA, Frenneaux M, Friedman J, Kelm M, Kevil CG, Kim-Shapiro DB, Kozlov AV, Lancaster JR Jr, Lefer DJ, McColl K, McCurry K, Patel RP, Petersson J, Rassaf T, Reutov VP, Richter-Addo GB, Schechter A, Shiva S, Tsuchiya K, van Faassen EE, Webb AJ, Zuckerbraun BS, Zweier JL, Weitzberg E. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics // *Nat Chem Biol.* 2009 Dec;5 (12):865-869.

75. Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Дьяконова В.Е., Реутов В.П. Влияние ингибиторов индуцибельной и нейрональной NO-синтазы на развитие аудиогенных стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2010. Т.150. №7. С.38-41.

76. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Роль гликогена отростков глиальных клеток мозжечка в условиях его повреждения нитритом натрия // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2010. Т.150. №8. С. 212-215.

77. Кузенков В.С., Реутов В.П., Крушинский А.Л., Кошелев В.Б., Сорокина Е.Г., Байдер Л.М., Куроптева З.В., Комиссарова Л.Х. Оксид азота вносит положительный вклад в протекторное действие кратковременной адаптации к гипоксии на развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной // *Вестник Московского университета.* 2010. Серия 16. Биология. №1. С.3-7.

78. Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Гранстрем О.К., Карасева О.В., Мецзяков С.В., Реутов В.П., Сушкевич Г.Н., Пинелис В.Г., Рошаль Л.М. Белок S100B и аутоантитела к нему в диагностике повреждений мозга при черепно-мозговой травме у детей // *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2010. №8. С. 25-30.

79. Реутов В.П., Байдер Л.М., Куроптева З.В., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Молдалиев Ж.Т., Гранстрем О.К. Экспериментальный геморрагический инсульт: влияние пептидного препарата кортексина на образование Hb-NO комплексов и других парамагнитных центров в крови // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2011. Т.111. № 8. вып 2. С. 56-61.

80. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние нитрата натрия на развитие неврологического дефицита у крыс при неполной глобальной ишемии мозга // *Вестник Московского университета. Биология.* 2011. Серия 16. №1. С.3-6.

81. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Слияние клеток-зерен мозжечка лягушки при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // *Морфология.* 2011. Т.140. №4. С.13-17.

82. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Сорокина Е.Г. Влияние двигательной активности на ультраструктуру нейронов мозжечка, неврологические нарушения и выживаемость крыс линии Крушинского—Молодкиной при развитии у них геморрагического инсульта // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* 2012. Т.153, №6. С.806-811.

83. Есипов Д.С., Есипова О.В., Зиневич Т.В., Горбачева Т.А., Невредимова Т.С., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П. // Анализ содержания 8-оксо-2'-дезоксигуанозина в ДНК клеток мозга крыс при изучении защитного действия кортексина // *Вестник МИТХТ,* 2012, т.7, № 1 с. 59-63.

84. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние нитрата калия на неврологические нарушения при экспериментальной ишемии мозга // *Вестн. Моск. Ун-та.* 2012. Сер.16. Биология. №4. С. 3-6.

85. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалев В.Н., Космачевская О.В., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Свинов М.М., Косицын Н.С. Возможная роль диоксида азота, образующегося в местах бифуркации сосудов, в процессах их повреждения при геморрагических инсультах и образовании атеросклеротических бляшек // *Успехи физиологических наук.* 2012. Т.43. №4. С. 72-91.

86. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Аутотипические септальные контакты глиальных клеток мозжечка как компенсаторно-приспособительная реакция в условиях токсического воздействия глутамата и NO-генерирующего соединения // *Биологические мембраны.* 2013. Т.30. № 1. С.14-20.

87. Салькина М.А., Сорокина Е.Г., Красильникова И.А., Реутов В.П., Пинелис В.Г. Влияние селективных ингибиторов нейрональной и индуцибельной NO-синтаз на содержание АТФ и выживаемость культивируемых нейронов мозжечка крысы при гиперстимуляции глутаматных рецепторов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т.155. №1. С.47-50.

88. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние типа катиона и концентрации нитратов на неврологические нарушения, вызванные экспериментальной ишемией мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. №6. С.710-713.

89. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние нитратов на исход острого экспериментального ишемического инсульта // Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт. 2012. №12. С.35-39. (Эта работа не входила в отчет 2012 г., сведения о ее появлении в печати поступили в 2013 г.)

90. Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Дьяконова В.Е., Реутов В.П. Влияние ингибиторов нейрональной и индуцибельной NO-синтаз на развитие геморрагического инсульта в эксперименте // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2014. Т.114. №8. Вып.2. С.21-27.

91. Сорокина Е.Г., Карасева О.В., Иванова Т.Ф., Семенова Ж.Б., Реутов В.П., Пинелис В.Г., Рошаль Л.М. Содержание эритропоэтина в крови детей, перенесших черепно-мозговую травму // Российский нейрохирургический журнал имени профессора А.Л. Поленова. 2014. Т.6. №4. С.378-380.

92. Швалев В.Н., Реутов В.П., Рогоза А.Н., Сергиенко В.Б., Аншелес А.А., Ковалев В.П. Развитие современных представлений о нейрогенной природе кардиологических заболеваний // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. №1. С.10-14.

93. Швалев В.Н., Реутов В.П., Рогоза А.Н., Сергиенко В.Б., Сосунов А.А., Ковалев В.П. Морфофункциональные исследования нейрогенной природы заболеваний сердечно-сосудистой системы // Морфологические ведомости. 2014. №1. С.6-20.

94. Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Дьяконова В.Е., Реутов В.П. Ингибиторы нейрональной и индуцибельной NO-синтаз усиливают протекторный эффект кратковременной адаптации к гипоксии у крыс линии Крушинского-Молодкиной // Известия РАН. Серия биол. 2015. №1. С.77-85.

95. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Пластические перестройки ультраструктуры мозжечка при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2015. Т.148. №5. С. 32-37.

96. Дубинин А.Г., Реутов В.П., Свинов М.М., Трошин Г.И., Швец-Тэнэта-Гурий Т.Б. Двойственность природы электрических сигналов головного мозга (электрической и электрохимической), отведенных поляризуемыми электродами из инертных металлов // Успехи физиологических наук. 2015. Т.46. №2. С. 23-43.

97. Гусакова С.В., Ковалев И.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г., Носарев А.В., Петрова И.В., Медведев М.А., Орлов С.Н., Реутов В.П. Газовая сигнализация в клетках млекопитающих // Успехи физиологических наук. 2015. Т.46. №4. С.53-73.

98. Реутов В.П., Черток В.М. Новые представления о роли вегетативной нервной системы и систем генерации оксида азота в сосудах мозга // Тихоокеанский медицинский журнал. 2016. №2. С. 10-20.

99. Сукманский О.И., Реутов В.П. Газотрансмиттеры: физиологическая роль и участие в патогенезе заболеваний // Успехи физиологических наук. 2016. Т.47. №3. С.30-58.

100. Швалев В.Н., Реутов В.П., Сергиенко В.Б., Рогоза А.Н., Масенко В.П., Аншелес А.А. Механизмы развития кардиологических заболеваний при возрастных нарушениях состояния нервной системы // Казанский медицинский журнал. 2016. Т.97. №4. С.598-606.

101. Shvalev V.N., Reutov V.P., Sergienko V.B., Rogozha A.N., Masenko V.P., Ansheles A.A. Mechanisms of development of cardiovascular diseases in age-related disorders of the nervous system // Kazanskiy meditsinskiy zhurnal 2016. №4.P.598-606. DOI: <http://dx.doi.org/10.17750/KMJ2016-598>.

102. Samosudova N.V., Reutov V.P. Plastic Rearrangements of Synapse Ultrastructure in the Cerebellum in Toxicity due to glutamate and NO-Generating Compounds // Neuroscience and Behavioral Physiology. 2016. V. 46. №7. P.843-848. [doi:10.1007/s11055-016-0320-z](https://doi.org/10.1007/s11055-016-0320-z)

103. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Пластические перестройки ультраструктуры мозжечка при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2015. Т.148. №5. С. 32-37.
104. Куроптева З.В., Реутов В.П., Байдер Л.К., Крушинский А.Л. Комплексы оксида азота с гемоглобином и парамагнитные металлоферменты в мозге млекопитающих после кратковременной гипоксии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2016. Т.116. №8. вып.2 –Инсульт. С.8-15.
105. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В., Захарчук Н.В. Гемодинамика мозга: глутаматергическая система и цикл оксида азота в регуляции мозгового кровообращения // Тихоокеанский медицинский журнал. 2017. №3. С. 38 – 46.
106. Швалев В.Н., Рогоза А.Н., Тарский Н.А., Сергиенко В.Б., Аниелес А.А., Реутов В.П., Юдаев А.А. Внезапная сердечная смерть и морфофункциональная диагностика предшествующих возрастных нейродистрофических изменений организма // Тихоокеанский медицинский журнал 2017. №1. С.42 – 51.
107. Гусакова С.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г., Ковалев И.В., Носарев А. (В.), Петрова И.В., Реутов В.П. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и H<sub>2</sub>S в гладкомышечных клетках и влияние NO-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни // Успехи физиологических наук. 2017. Т.48. №1. С.24 – 52.
108. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В. Оксид азота и цикл оксида азота в системе нейронов, глии и кровеносных сосудов мозга в норме и при инсультах // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т.1. №4 (26). С.73 – 81.
109. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В., Перфилова В.Н., Тюренков И.Н., Лычкова А.Э. Высокая чувствительность тканей мозга к гипоксии/ишемии: причины и следствия // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т.1. № 3.(25). С.46 - 53.
110. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В., Сукманский О.И., Швалев В.Н., Лычкова А.Э., Свинов М.М., Косицын Н.С. Гомеостаз, вегетативная нервная система и циклы оксида азота и супероксидного анион-радикала // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т.1. №7 (29). С.41 – 51.
111. Реутов В.П. Эволюция, рекапитуляция, диссолюция. // Евразийское научное объединение. 2017. Т.1. №7(29). С.33 – 41.
112. Реутов В.П. На пути к созданию теории влияния космической погоды на организм человека: новая концепция. Мишени для гелио- и геомагнитных вариаций: возможная роль Fe<sup>2+</sup> - содержащих белков и SH-содержащих низкомолекулярных соединений и белков/ферментов, участвующих в процессах дыхания, образования АТФ, циклических превращениях газотрансмиттеров // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т.1. №8 (30). С.42 – 53.
113. Реутов В.П. Физиологический и клинический нервизм: от классиков науки до наших дней // Евразийское Научное Объединение. 2017. №9 (31). С.34 -47.
114. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М. Сравнительный анализ пластичности нейро-нейронных и нейро-глиальных инкапсулирующих взаимодействий молекулярного слоя изолированного мозжечка лягушки в условиях избытка L-глутамата и NO-генерирующего соединения // Докл. РАН. 2003. Т. 393. № 5. С. 698–702.
115. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М. Два типа реакции глиальных клеток на стимуляцию параллельных волокон на фоне NO-генерирующего соединения как морфологическое проявление физиологической активности двух типов астроцитов в мозжечке лягушки // Докл. РАН. 2005. Т. 401. № 3. С. 419–423.
116. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М. Glu- и NO-комплементарность межклеточного взаимодействия в главных синапсах изолированного мозжечка лягушки // Морфология. 2006. Т. 129. № 2. С. 53–54.
117. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.П., Чайлахян Л.М. Нейроглиальный химический синапс в мозжечке взрослой лягушки // Докл. РАН. 2010. Т. 432. №2. С. 276–280.
118. Ларионова Н.П., Самосудова Н.П., Реутов В.П., Чайлахян Л.М. Сравнительное исследование изменения количественных характеристик структуры молекулярного слоя мозжечка лягушки *Rana temporaria* под влиянием L-глутамата и NO-генерирующего соединения // Докл. РАН. 1999. Т. 369. № 6. С. 836 – 839.
119. Ларионова Н.П., Самосудова Н.В., Реутов В.П., Чайлахян Л.М. Сравнительное исследование изменений структуры нейрон-нейронного взаимодействия в молекулярном слое

- мозжечка под влиянием L-глутамата и NO-генерирующего соединения // Докл. РАН. 2001. Т. 376. № 5. С. 701–706.
120. Самосудова Н.В., Ларионова Н.П., Реутов В.П., Чайлахян Л.М. Изменение молекулярного слоя мозжечка лягушки *Rana temporaria* под влиянием NO-генерирующего соединения // Докл. РАН СССР. 1998. Т. 361. № 5. С. 704–708.
121. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Аутотипические септальные контакты глиальных клеток мозжечка как компенсаторно-приспособительная реакция в условиях токсического воздействия глутамата и NO-генерирующего соединения // Биологические мембраны. 2013. Т.30. № 1. С.14–20.
122. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Пластические перестройки ультраструктуры мозжечка при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2015. Т.148. №5. С. 32–37.
123. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Крушинский А.Л. и др. Влияние двигательной активности на ультраструктуру нейронов мозжечка, неврологические нарушения и выживаемость крыс линии Крушинского—Молодкиной при развитии у них геморрагического инсульта // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2012. Т. 153. № 6. С. 806–811.
124. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Оксид азота как модулятор контрастности основных элементов цитоскелета // Цитология. 2000. Т. 42. № 1. С. 72–78.
125. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Нейрон-глиальные взаимодействия в условиях повреждения нейронной сети мозжечка под влиянием глутамата и оксида азота // Известия ТГРУ. 2001. № 4. С. 369–370.
126. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Нейро-глиальные контакты в молекулярном слое мозжечка при стимуляции параллельных волокон в присутствии оксида азота (модель инсульта) // Морфология. 2006. Т. 129. № 2. С. 84.
127. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Изменение ультраструктуры синаптических пузырьков глутаматергических синапсов под воздействием NO-генерирующего соединения  $\text{NaNO}_2$  // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2008. Т. 146. № 7. С. 13 – 17.
128. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Роль гликогена отростков глиальных клеток мозжечка в условиях его повреждения нитритом натрия // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2010. Т. 150. № 8. С. 212–215.
129. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Слияние клеток-зерен мозжечка лягушки при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2011. Т.140. № 4. С. 13–17.
130. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Возможное участие оксида азота в межнейронном взаимодействии // Докл. РАН. 2001. Т. 378. № 3. С. 417–420.
131. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. О возможной защитной роли аутотипических контактов при повреждении нейронной сети мозжечка токсическими дозами NO-генерирующего соединения // Цитология. 2005. Т. 47. № 3. С. 214–219.
132. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Нейро-глиальные контакты, образующиеся в мозжечке при электрической стимуляции в присутствии NO-генерирующего соединения // Морфология. 2007. Т. 131. № 2. С. 53–58.
133. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Образование нейроглиальных контактов при электрической стимуляции и воздействии NO-генерирующего соединения // Актуальные вопросы транспортной медицины. 2007. Т. 9. № 3. С. 127–134.
134. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Слияние клеток-зерен мозжечка лягушки при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2011. Т.140. №4. С.13–17.
135. Дьяконова Т.Л., Реутов В.П. Нитриты блокируют  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимое привыкание нейронов на уровне электровозбудимой мембраны: возможная роль окиси азота // Вопр. мед. химии. 1994. Т.40. №.6. С. 20–25.
136. Дьяконова Т.Л., Реутов В.П. Влияние нитрита на возбудимость нейронов мозга виноградной улитки // Росс. Физиол. Журн. Им. И.М. Сеченова. 1998. Т. 84. №11. С. 1264–1272.
137. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих М.: Наука. 1997. 156 с.
138. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих М.: Наука. 1998. 156 с.

139. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Косицын Н.С., Охотин В.Е.* Проблема оксида азота в биологии и медицине и принцип цикличности. М.: УРСС. 2003 б. 94 с.
140. *Реутов В.П., Шехтер А.Н.* Как в XX в. физики, химики и биологи отвечали на вопрос: что есть жизнь? // Успехи физических наук. 2010. Т.180. №4. С. 393-414.
141. *Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П.* Изучение методом электронного парамагнитного резонанса продуктов взаимодействия окислов азота с некоторыми органическими соединениями // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. 1978. №9. С.299-301.
142. *Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П.* Исследование парамагнитных центров, возникающих при взаимодействии двуоксида азота с олеиновой кислотой и тирозином // Докл. АН СССР. 1978. Т.241. №6. С.1375-1377.
143. *Ажипа Я.И., Реутов В.П., Каюшин Л.П., Никишкин Е.И.* Конформационные изомеры комплексов гемоглобина с окисью азота, возникающие в крови при действии нитрита натрия. //Изв. АН СССР. сер. биол. 1983. №2. С.240-250.
144. *Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П.* Кислород как ингибитор нитритредуктазной активности гемоглобина // Изв. АН СССР. сер. биол. 1983. №3. С.408-418.
145. *Kayushin L.P., Reutov V.P., Sorokina E.G., Filippova N.A.* Mechanism of proteins' redistribution from soluble to membrane-bound state in mammals' cells // FEBS SPECIAL MEETING BIOLOGICAL MEMBRANES. Abstract book. 1994. 300.
146. *Фадюкова О.Е., Кузенков В.С., Реутов В.П. и др.* Антистрессорное и ангиопротекторное влияние оксида азота на крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенной эпилепсии // Российский Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2005. Т.90. №1. С.89-96.
147. *Реутов В.П., Самосудова Н.В., Филиппова Н.А. и др.* Нитрит в сочетании с кортексином и кортексин уменьшают отек и разрушение нейронов мозжечка при геморрагическом инсульте // Нейроиммунология. 2009. Т.7. №1. С.88-89.
148. *Реутов В.П., Самосудова Н.В., Филиппова Н.А. и др.* Кортексин и нитрит в сочетании с кортексином уменьшают отек и разрушение нейронов мозжечка при геморрагическом инсульте // ДАН 2009. Т.426. №3. С.410-413.
149. *Реутов В.П., Кузенков В.С., Крушинский А.Л. и др.* Гипоксия, активация цикла NO и кортексин защищают крыс Крушинского-Молодкиной от неврологических нарушений при геморрагическом инсульте // Патогенез. 2008. №3. С. 84.
150. *Реутов В.П., Охотин В.Е., Шуклин А.В. и др.* Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты // Успехи физиологических наук. 2007. Т.38. №4. С. 58-78.
151. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.П., Родионов А.А.* Окись азота как индуктор пространственного перераспределения белков в клетках млекопитающих при гипоксии // Успехи физиологических наук, 1994, т.25, №4, С.36 - 37.
152. *Kayushin L.P., Reutov V.P., Sorokina E.G., Filippova N.A.* Mechanism of proteins' redistribution from soluble to membrane-bound state in mammals' cells // FEBS SPECIAL MEETING BIOLOGICAL MEMBRANES. Abstract book. 1994. 300.
153. *Косицын Н.С., Реутов В.П., Свинов М.М. и др.* Механизм морфо-функциональных изменений клеток тканей млекопитающих при гипоксии // Мол. биол. 1998. Т. 32. № 2. С. 369–370.
154. *Самосудова Н.В., Реутов В.П.* Ультраструктурные изменения мозга лягушки в присутствии высоких концентраций глутамата и NO-генерирующего соединения // Биофизика. 2018. Т.63. №3. С.528–543.
155. *Балабан П.М., Коршунова Т.А.* Сетевые, клеточные и молекулярные механизмы пластичности в простых нервных системах // Успехи физиологических наук. 2011. Т.42. №4. С.3-19.

**Action of various doses of glutamate (Glu) and NO-generating compound (NaNO<sub>2</sub>) on cerebellar of frog**

*Valentin Palladievich Reutov, PhD., Doct. Biol. Sci., Leading Researcher, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences;*

*Nina Vasil'evna Samosudova, PhD, Leading Researcher, A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems of Russian Academy of Sciences;*

*Elena Gennad'evna Sorokina, PhD., Leading Researcher, National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the Russian Federation*

*The mechanisms of the action of various doses (from physiological to toxic) of the Glu and NO-generating compound (NaNO<sub>2</sub>) on the brain and the cerebellum of the frog, including on granular cells of the cerebellum, Purkinje cells and glial cells, were investigated.*

*Key words: cerebellum of the frog, granular cells, Purkinje cells, glial cells, glutamate, NO-generating compounds.*

УДК 546.72-06 +546.72+548.3

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ МИМЕТИКОВ НИТРОЗИЛЬНЫХ ФЕРРЕДОКСИНОВ - ДОНОРОВ NO**

*Н.А. Санина, профессор, доктор химических наук, заведующая отделом Строения вещества*

*sanina@icp.ac.ru*

*ИПХФ РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики Российской академии наук (ИПХФ РАН),*

*http://www.icp.ac.ru*

*В работе представлены экспериментальные данные по исследованию молекулярно-генетических механизмов фармакологического действия перспективных представителей нового семейства высокоэффективных NO донирующих агентов - миметиков нитрозильных [1Fe-S]ферредоксинов.*

*Ключевые слова: монооксид азота, динитрозильные комплексы железа (ДНИК), тиомочевина, миелопероксидаза, митохондриальный потенциал, цитотоксичность*

Разработка новых способов профилактики и лечения социально-значимых заболеваний является приоритетной задачей современной медицины. Для эффективной борьбы с ними необходимо не только регулярное пополнение семейств новых терапевтических и профилактических агентов, но и создание принципиально новых стратегий, направленных на активный поиск эффективных препаратов и лекарственных средств, действующих через различные клеточные факторы и оказывающих ингибирующее влияние на репликацию патогенов и/или стимулирующих иммунный ответ. Одним из преимуществ подобных лекарственных средств должен стать широкий спектр их функциональной активности и практически полное отсутствие развития к ним резистентности.

Терапия монооксидом азота (“NO-терапия”) – современная биомедицинская стратегия, открывающая перспективы эффективного лечения различных социально-значимых заболеваний. Накоплен большой экспериментальный материал, демонстрирующий связь NO как с развитием патологических процессов, так и с их коррекцией химиотерапевтическими методами [1,2].

Миметики [2Fe-2S] нитрозильных негемовых белков как новейший класс соединений, легко генерирующих монооксид азота (NO) в физиологических условиях и элементарных человеческому организму [3,4], согласно полученным нами данными, обладают кардиотропной [5,6], противоопухолевой [7-15] и антисептической [16,17] активностью. Недавно нами синтезированы новые малотоксичные водорастворимые моноядерные динитрозильные комплексы железа (ДНИК) катионного типа с функциональными серосодержащими лигандами ряда тиомочевины [12]. Исследование молекулярно-генетических механизмов фармакологического действия перспективных представителей этого семейства высокоэффективных NO – донирующих агентов для лече-

ния и профилактики социально-значимых заболеваний различной этиологии приоритетны и востребованы не только в России, но и за рубежом.

Для понимания механизма действия этого нового семейства ДНИК, как перспективных соединений для терапии сердечно-сосудистых заболеваний необходима идентификация их молекулярной мишени. Фермент миелопероксидаза по данным исследований последних лет [18] является биомаркером развития сердечно-сосудистых заболеваний. Высокий уровень этого фермента ассоциируется с наличием коронарных артериальных заболеваний (ишемия, атеросклероз, инфаркт миокарда, острая грудная боль, острый коронарный синдром, внезапная смерть и др.). Низкое содержание миелопероксидазы является наследственным заболеванием, которое сопровождается предрасположенностью к иммунодефициту. Кроме основного физиологического субстрата миелопероксидазы - перекиси водорода, субстратом может служить также и NO, который, при этом, выступает лигандом для гемовой группы [19].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния ряда соединений семейства катионных ДНИК - доноров NO (см. рис.1), на активность миелопероксидазы и оценки эффективности их действия.

По результатам исследований установлено, что миелопероксидаза является молекулярной мишенью катионных ДНИК. Показано, что соединения **3** и **4** семейства катионных ДНИК достаточно эффективно ингибируют ее активность. Сравнительная оценка двух соединений показала, что соединение **4** является более эффективным ингибитором, чем соединение **3**. Оценивая полученные данные с практической точки зрения, можно сделать вывод о том, что соединение **4** является перспективным кандидатом для дальнейших фармакологических исследований.

Известно, что снижение производства NO является одной из причин дисфункции эндотелия при артериальной гипертензии, сердечной недостаточности, кардиомиопатии, миокардида и др. [20]. Сердечная недостаточность часто развивается при лечении онкологических больных из-за высокой токсичности противоопухолевых препаратов. Поэтому синтез лекарственных препаратов, понижающих токсичное действие химиотерапии, и усиливающих жизнеспособность нормальных клеток организма (фибробласты, кардиомиоциты), является важной задачей в кардиологии и онкологии.

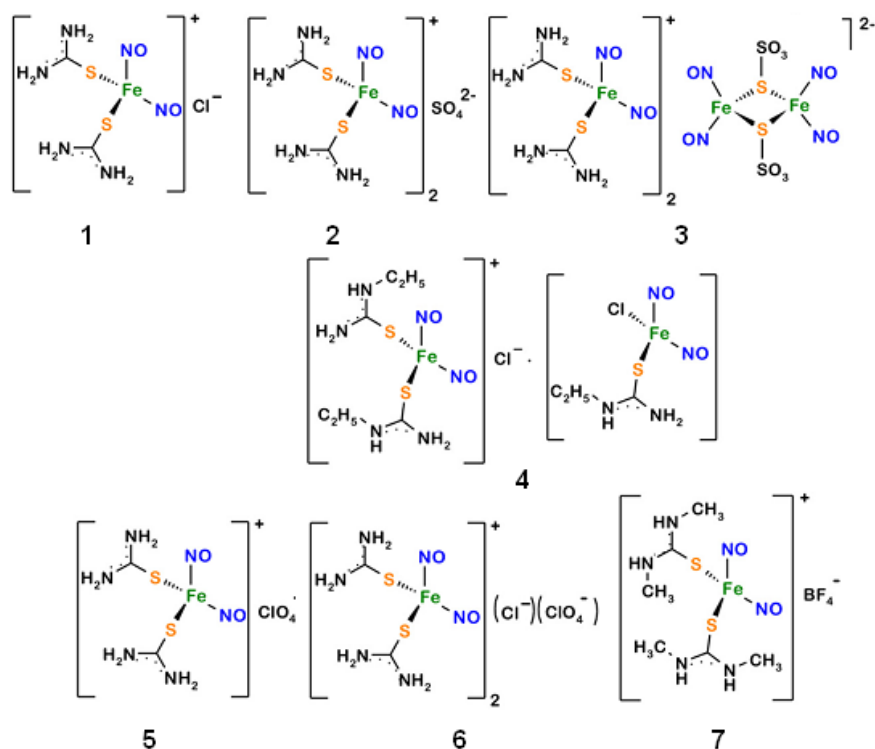


Рис.1 Катионные ДНИК с тиомочевинной и ее производными (1-7).



В задачи исследований также входило изучение цитопротекторных свойств синтезированных ДНИК *in vitro*, в частности, влияние на жизнеспособность и метаболические процессы фибробластов легких человека и оценка эффективности их действия. В качестве тестируемых соединений использовали комплексы **3**, **4** и **6**. Результаты показали, что ДНКЖ можно отнести к соединениям, химическая структура которых, вероятно, позволяет им избирательно накапливаться в митохондриях и снижать избыточный митохондриальный потенциал. Эти соединения не нарушают жизненно важных метаболических процессов в клетке, а наоборот, оказывают защитный эффект и повышают жизнеспособность фибробластов. Это указывает на то, что эти соединения имеют потенциал для лечения ишемии, инсульта и кардиологических заболеваний онкологических больных.

Проведено исследование цитотоксичности комплекса **4** на моделях нормальных (FetMSC, Vero) и опухолевых клеток (линии BT-20, BT-474, Hs578T, A431, HepG2, Caco2, A-172, PANC-1, M-Hela и MCF7) и определены значения доз IC50 для клеток всех изученных линий. Показано, что клетки FetMSC в 1.4-1.8 раза менее чувствительны к действию цисплатина и сатраплатина, чем клетки A-172, а для комплекса **4** различия в чувствительности опухолевых и нормальных клеток значительны и составляют почти четыре порядка величины. По действию на клетки линии Vero исследуемое соединение можно охарактеризовать как низкотоксичное. Обнаружено, что исследуемые клеточные линии существенно различались по чувствительности к комплексу. Наиболее устойчивы к **4** клетки линии протоков поджелудочной железы PANC-1 (IC50 составляет более 600 мкМ). Наиболее чувствительными к комплексу оказались клетки глиобластомы A-172 (IC50 составляет около 400 нМ). Данные микроскопии и изучения цитотоксичности показали, что ДНИК **4** вызывает гибель клеток всех исследуемых линий. Получены экспериментальные сравнительные данные на культурах опухолевых клеток человека M-Hela и MCF7, подтверждающие, что высокая активность комплекса **4** не уступает по противоопухолевой активности таким препаратам-аналогам, как цисплатин и сатраплатин. По своему противоопухолевому потенциалу для терапии глиобластомы комплекс **4** значительно превосходит препараты сравнения – цисплатин и сатраплатин. Таким образом, комплекс **4** может оказаться перспективным соединением для терапии глиобластомы, в то время как в терапии гепатоклеточной карциномы, эпидермоидной карциномы, гормонезависимой карциномы молочной железы и карциномы протоков поджелудочной железы его эффективность будет низкой.

По нашим предварительным данным исследуемый комплекс **4** вызывает гибель опухолевых клеток по пути апоптоза. Выявлена ядерная транслокация белка p53 в опухолевых клетках при действии соединения **4**. Ингибирование ядерной транслокации белка p53 не оказывает существенного влияния на процесс накопления активных форм кислорода, цитотоксические свойства комплекса, а также процесс клеточной гибели. Соединение **4** вызывает повышение активности ряда генов антиоксидантной системы, в то время как ингибирование белка p53 приводит к снижению их экспрессии. Установлено, что действие комплекса **4** сопровождается ядерной транслокацией белка NRF2, что доказывает его активацию в опухолевых клетках. Ингибирование белка p53 подавляет процесс импорта белка NRF2 в клеточное ядро, что говорит о p53-зависимом механизме активации транскрипционного фактора NRF2 и регулируемых им процессов.

Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют участие транскрипционного фактора p53 в регуляции антиоксидантной системы и предполагают, что сохранение функций p53 может вызывать снижение побочных эффектов при противоопухолевой химиотерапии, в то время как блокирование активности p53 может способствовать подавлению NRF2-опосредованных механизмов антиоксидантной защиты клеток и, возможно, лекарственной устойчивости опухолей.



Работа выполнена при финансовой поддержке Программы РАН № 38 «Исследование фундаментальных проблем структуры и свойства синтеза и зависимости» с целью создания новых веществ и материалов».

### **Литература**

1. Chemistry of Nitric Oxide Relevant to Biology. [Text] / J. A. McCleverty // Chem. Rev. – 2004. – Vol.104. - Issue 2. – P.403-418.
2. Nitric Oxide: Cancer Target or Anticancer Agent. [Text] / S. Mocellin // Curr. Cancer Drug Targets. - 2009. - Vol. 9. - Issue 2. - P.214-236.
3. Metals in medicine. [Text] / Dabrowiak J.C. // John Wiley & Sons. - Ltd. - Chichester. - UK.- 2009.
4. Функциональные нитрозильные комплексы железа – новый класс доноров монооксида азота для лечения социально значимых заболеваний [Текст] / Алдошин С.М., Санина Н.А. // Фундаментальные науки – медицине: Биофизические медицинские технологии. – Москва.- МАКС Пресс.- Том 1. ред. А.И. Григорьев, Ю.А. Владимиров.-2015, с.72-102.
5. Применение биядерного сера - нитрозильного комплекса железа анионного типа в качестве вазодилаторного лекарственного препарата. [Text] / Санина Н.А., Серебрякова Л.И., Шульженко В.С., Писаренко О.И., Руднева Т.Н., Алдошин С. М. // Патент РФ N 2437667. – 2011.
6. Применение биядерного сера - нитрозильного комплекса железа катионного типа в качестве вазодилаторного лекарственного препарата. [Text] / Санина Н.А., Серебрякова Л.И., Шульженко В.С., Писаренко О.И., Руднева Т.Н., Алдошин С. М. // Патент РФ № 2460531. – 2012.
7. Water-Soluble Binuclear Nitrosyl Iron Complexes with Natural Aliphatic ThiolyIs Possessing Cytotoxic, Apoptotic and NO Donor Activity. [Text] / N.A. Sanina, K A. Lysenko, O.S. Zhukova, T.N. Roudneva, N.S. Emel'yanova, S.M.Aldoshin. // Patent No. US 8 – 067 – 628 -B2 – 2011.
8. Применение тетранитрозильного комплекса железа с тиофенолом в качестве противоопухолевого лекарственного средства. [Text] / Санина Н.А., Жукова О.С., Алдошин С.М., Емельянова Н.С., Герасимова Г.К. // Патент РФ № 2429242 - 2011.
9. Биядерные нитрозильные комплексы железа с бензазагетероциклическими производными, способ их получения. [Text] / Санина Н. А., Жукова О. С., Смирнова З. С., Руднева Т.Н., Шилов Г.В., Алдошин С. М., Давыдов М.И. // Патент РФ № 2441872 - 2012.
10. Моноядерные динитрозильные комплексы железа, способ получения моноядерных динитрозильных комплексов железа. [Text] / Санина Н. А., Козуб Г. И., Кондратьева Т.А., Алдошин С. М. // Патент РФ № 2494104 - 2013.
11. Binuclear nitrosyl-iron complexes with benzo-trans-heterocyclic derivatives and a method for the production thereof [Text] / Sanina N.A., Zhukova O.S., Smirnova Z.S., Roudneva T.N., Shilov G.V., Aldoshin S.M.// Patent of India № 268939.- 2015.
12. Моноядерные динитрозильные комплексы железа, способ их получения, донор монооксида азота. [Text] / Н.А. Санина, Н.Ю. Шматко, С.М. Алдошин. // Патент РФ № 2014115252 - 2015.
13. Synthesis, structure, NO donor activity of iron-sulfur nitrosyl complex with 2-aminophenol-2-yl, its antiproliferative activity against human cancer cells. [Text] / N.A. Sanina G.I. Kozub, O.S. Zhukova, N.S. Emel'yanova, T.A. Kondrat'eva, D.V. Korchagin, G.V. Shilov, N.S. Ovanesyan, S.M. Aldoshin. // Journal of Coordination Chemistry. – 2013. – V.66. - Issue 20. – P.3602-3618.
14. A new member of cationic dinitrosyl iron complexes family with N-ethylthiourea as an effective NO donor agent against human HeLa and MCF-7 tumor cell lines. [Text] / Nataliya A. Sanina, Natal'ya Yu. Shmatko, Denis V. Korchagin, Gennadii V. Shilov, Alexey A. Terent'ev, Tatyana S. Stupina, Anastasiya. A. Balakina, Natal'ya.V. Komleva, Nikolay S. Ovanesyan, Alexander V. Kulikov and Sergey M. Aldoshin. // Journal of Coordination Chemistry. 2016. – V.69. - Issue 5. - P.812-825.
15. NO-Donor Iron Nitrosyl Complex with N-Ethylthiourea Ligand Exhibits Selective Toxicity to Glioma A172 Cells. [Text] / Nataliya Sanina, Natal'ya Shmatko, Tatiana Stupina, Anastasiya Balakina, Alexei Terent'ev. // Molecules. – 2017. – V.22. - Issue 9. - P. 1426.
16. Оксид азота участвует в регуляции сборки Fe-S-кластеров белков и формировании биопленок клетками Escherichia coli. [Text] / С.В. Васильева, Д.А. Стрельцова, И.А. Старостина, Н.А. Санина. // Изв. РАН. Сер. Биол. – 2013. – Том 40. - №. 4. – С.398-404.

17. Бис(4-нитробензолтиолат) тетранитрозилдижелеза: синтез, строение и фармакологическая активность нового донора оксида азота (NO). [Текст] / Н.А. Санина, Г.И. Козуб, Т.А. Кондратьева, А.А. Терентьев, В.А. Мумятова, П.Ю. Барзилович, Н.С. Ованесян, С.М. Алдошин. // Известия АН. Сер. Хим. – 2017. - № 9. – С.1706-1711.

18. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. [Текст] / Lau D., Baldus S. // Pharmacol. Ther. - 2006. - V.111. - Issue 1. - P.16-26.

19. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. [Текст] / Abu-Soud H.M., Hazen S.L. // J. Biol. Chem. – 2000. - V. 275. – Issue 48. - P.37524-32.

20. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. [Текст] / Miyamoto Y., Saito Y., Kajiyama N., Yoshimura M., Shimasaki Y., Nakayama M., Kamitani S., Harada M., Ishikawa M., Kuwahara K., Ogawa E., Hamanaka I., Takahashi N., Kaneshige T., Teraoka H., Akamizu T., Azuma N., Yoshimasa Y., Yoshimasa T., Itoh H., Masuda I., Yasue H., Nakao K. // Hypertension. - 1998. - V.32. - Issue 1. - P. 3-8.

### **Molecular mechanisms of action of nitrosyl ferredoxins mimetics as NO donors**

*Nataliya A. Sanina, Professor, Doctor of Chemistry,  
Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Acad. Semenov av., 1. Moscow Region, 142432 Chernogolovka, Russian Federation. Tel. 8(096)5221168, Fax: 8(096)5223507,  
E-mail: sanina@icp.ac.ru*

*The paper presents of experimental data on the investigation of molecular genetic mechanisms of the pharmacological action of promising representatives of a new family of highly effective NO donating agents, namely mimetics of nitrosyl [1Fe-S] ferredoxins.*

УДК 616.82

### **РОЛЬ АУТОИММУННЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКОМ И ТРАВМАТИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ МОЗГА У ДЕТЕЙ**

*Елена Геннадьевна Сорокина, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.,  
e-mail: sorokelena@mail.ru;*

*ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр. 2; <http://www.nczd.ru>;  
НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20  
<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Жанна Борисовна Семенова, д-р мед. наук, руководитель отделения нейротравмы,  
e-mail: j.seman@mail.ru;*

*НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20  
<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Ольга Витальевна Карасева, д-р мед. наук, зам директора института,  
e-mail: karaseva.o@list.ru;*

*НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20  
<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Оксана Валерьевна Глоба, канд. биол. наук, старший науч. сотр., e-mail: [globa@nczd.ru](mailto:globa@nczd.ru)  
ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр. 2; <http://www.nczd.ru>;  
Константин Евгеньевич Хмельницкий, врач, зав. клинико-диагностической лабораторией,  
e-mail: [wiolowan@mail.ru](mailto:wiolowan@mail.ru);*

## **Секция 5. Оксид азота и продукты его метаболизма в биологических системах**

---

*НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20*

*<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Валентин Палладиевич Реутов, д-р биол. наук, вед. науч. сопр., e-mail: valentinreutov@mail.ru;*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,*

*117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А; <http://www.ihna.ru>*

*Леонид Михайлович Рошаль, д-р мед. наук, профессор, почетный директор института, e-mail: lmroshal@mail.ru*

*НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20*

*<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Всеволод Григорьевич Пинелис, д-р биол. наук, профессор, главн. науч. сопр.,*

*e-mail: pinelis@mail.ru*

*ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр. 2; <http://www.nczd.ru>;*

*НИИ неотложной детской хирургии и травмы, Москва, ул. Большая Полянка, 20*

*<http://www.doctor-roshal.ru>*

*Исследованы механизмы повышения уровня аутоантител к рецепторам глутамата (GluRc) – NMDA(NR2) и АМРА(GluR1) подтипов, а также продуктов деградации этих рецепторов (пептидов) у детей с судорожными состояниями и черепно-мозговой травмой. В клинике, а также в экспериментах in vivo и in vitro обсуждается роль оксида азота в инициации аутоиммунных процессов с участием глутаматных рецепторов.*

*Ключевые слова: аутоантитела к глутаматным рецепторам, черепно-мозговая травма, эпилепсия, оксид азота*

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 17-15-0148717) и Российского Фонда Фундаментальных исследований (грант № 18-015-00450).*

Активация аутоиммунного процесса после судорожного припадка и черепно-мозговой травмы (ЧМТ) происходит вследствие развития гипоксии, воспаления, повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и выброса в кровь через поврежденный ГЭБ различных структурных компонентов нервных и глиальных клеток. Увеличение содержания в крови фрагментов функционально значимых рецепторов мозга и аутоантител (аАТ) к различным мишеням мозга в посттравматическом периоде ЧМТ, прежде всего, свидетельствует о повреждении «забарьерных» антигенных структур, которые в значительной степени представлены различными мембранными рецепторами нейрофункциональных белков [1, 2]. Некоторые аАТ в начальном периоде заболевания способны выполнять компенсаторные функции, экранируя поврежденный рецептор и, таким образом, облегчать течение травмы мозга [3, 4]. Однако известны и такие аАТ, которые вызывают дополнительное повреждение различных структурных компонентов ткани мозга, усиливая отек и воспаление [5]. В настоящее время все больше исследователей приходят к выводу о том, что для более глубокого изучения аутоиммунных процессов, происходящих при ЧМТ, необходимо проведение исследований содержания аАТ к возможно большему числу нейрофункциональных белков. Такие работы могут способствовать лучшему пониманию патогенетических механизмов посттравматического периода и в будущем привести к созданию новых подходов для лечения больных с ЧМТ.

Гипоксия мозга, сопровождающая нарушения мозгового кровообращения, эпилепсию и черепно-мозговую травму (ЧМТ) включает в себя развитие «глутаматного каскада» повреждений нейронов, опосредуемого рецепторами глутамата (GluRcs). Оксид азота (NO) занимает центральную роль в «глутаматном каскаде», внося существенный вклад в оксидативный стресс, повреждение энергетических систем клеток, нару-

шение структуры ДНК и нарушение  $\text{Ca}^{2+}$  гомеостаза. Генерация NO и экспрессия различных синтаз NO (NOS) играет важную роль при ЧМТ [6, 7]. Показано, что все три изоформы (nNOS, eNOS и iNOS) увеличивают свою активность в посттравматическом периоде [8]. Активацию eNOS рассматривают как фактор, направленный на улучшение кровообращения в зоне пенумбры, а активацию nNOS – как повреждающий механизм, аналогичный тому, который наблюдается при запуске «глутаматного каскада» [9]. Экспрессия iNOS и генерация больших количеств NO рассматриваются в качестве ключевых моментов развития вторичных повреждений мозга в посттравматическом периоде [10]. Повышению концентрации NO способствует также белок S100b, который увеличивает активность iNOS [11]. NO так же, как и Glu, называют «двуликим Янусом», способным в зависимости от концентрации опосредовать как физиологические и нейропротекторные, так и различные нейропатологические эффекты [12]. Высокая реакционная способность NO связана с наличием одного неспаренного электрона, благодаря чему NO может, как активировать цепные свободно-радикальные реакции, так и ингибировать их. Увеличение содержания NO является одним из основных факторов, вызывающих повреждение нейронов при заболеваниях мозга, сопровождающихся гипоксией и гиперстимуляцией рецепторов Glu. В связи с тем, что ингибирование эндогенного синтеза NO уменьшало гипоксические/ишемические нейрональные повреждения как *in vitro*, так и *in vivo*, с начала 90-х годов XX века NO стали рассматривать как медиатор Glu-нейротоксичности [13]. Вслед за этими исследованиями появились работы, в которых была выявлена нейропротекторная роль NO [14, 15]. Противоречивые данные о значении NO при Glu-нейротоксичности объясняются, прежде всего, двойственной ролью NO – способностью в разных концентрациях, в разное время и в разных условиях как повреждать, так и защищать нейроны. NO является короткоживущей молекулой. В этой связи приписываемое NO действие часто связано с образующимися высокореакционными соединениями. Часть этих веществ являются так же короткоживущими и обладают высокой токсичностью (двуокись азота ( $\text{NO}_2$ ), OH-радикал, пероксинитрит), а другая часть представлена такими стабильными метаболитами, как нитраты и нитриты. Действие последних на нейроны практически не изучено. Однако по нашим данным и данным других исследователей нитриты являются активными продуктами, способными в гипоксических условиях вновь превращаться в NO [16-18]. Одним из последствий токсического действия Glu при гипоксии является развитие аутоиммунного ответа, что выражается в возрастании уровня аутоантител к AMPA- и NMDA-типам GluRcs [19, 20].

Цель настоящей работы состояла в изучении механизмов увеличения уровня аАТ в клинике детей с ЧМТ и судорожными состояниями, а также в экспериментах на животных и лимфоцитах крови человека и животных.

#### **Методы и материалы**

В работе исследовали содержание 2х типов аутоантител (аАТ) к рецепторам глутамата (GluRc) – NMDA(NR<sub>2</sub>) и AMPA(GluR1) подтипов, продуктов деградации этих рецепторов - пептидов, соответствующих N-концевым участкам соответствующих глутаматных рецепторов, а также содержание NO ( $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ) и 3-нитротирозина (NT) в крови детей с различной степенью тяжести и различными исходами ЧМТ и судорожными состояниями. Тяжесть ЧМТ определяли по шкале комы Глазго (ШКГ), исходы ЧМТ по шкале исходов Глазго. Основной группой сравнения служила группа детей с легкой ЧМТ, в которую входили пациенты с сотрясением мозга (ЛЧМТ, ШКГ = 15). Концентрация указанных показателей в сыворотке/плазме крови определяли иммуноферментными и колориметрическими методами с помощью диагностических наборов отечественных и зарубежных производителей (Герофарм, Вектор Бест, CanAg, R&G Systems, Gold Dot). Определение содержания аАТ к рецепторам Glu и пептидных фрагментов к NR<sub>2</sub> субъединице NMDA рецепторов и GluR1 AMPA рецепторов определяли

по методике, разработанной Дамбиновой С.А. и соавторами. Все результаты представлены в  $M \pm m$ .

### **Результаты**

В настоящей работе исследовали роль NO в повышении аАТ к GluRc при экспериментальной эпилепсии, а также при эпилепсии и черепно-мозговой травме (ЧМТ) у детей. В работе также изучали действие нитритов на образование аАТ к GluRcs и действие NO-генерирующих веществ на уровень аАТ в крови. С целью изучения роли NO в активации эффекторных клеток иммунной системы исследовали воздействие 2х NO-генерирующих соединений на уровень АТФ в лимфоцитах крови человека.

Проведенные нами экспериментальные исследования показали, что крысы линии КМ, предрасположенные к судорожной активности, имеют повышенный уровень NO в тканях и в ответ на судорожный припадок дают повышение содержания аАТ к АМРА-типу GluRcs. Было показано, что пептидный препарат кортексин снижает продукцию NO в ткани мозга и при этом способствует снижению уровня аАТ в крови. Следовательно, можно было предположить, что в стимуляции продукции аАТ к GluRcs NO играет существенную роль.

У детей с судорожными синдромами было показано, что повышение в сыворотке крови уровня аАТ к АМРА(GluR1) типу GluRc сопровождается существенным увеличением содержания сGMP. Поскольку уровень сGMP может отражать концентрацию NO, то это означает, что судорожная активность сопровождается возрастанием концентрации NO.

У детей, перенесших ЧМТ различной степени тяжести, в сыворотке крови наблюдался рост содержания аАТ к NMDA и АМРА GluRcs в первые 15 дней после травмы. Определение суммарного содержания нитритов и нитратов (NOx) в сыворотке крови детей с ЧМТ показало, что у 46% детей с легкой ЧМТ (ЛЧМТ) среднее содержание продуктов NO в плазме превышало верхние границы нормы, Среднее содержание NOx при ЛЧМТ составляло  $18,42 \pm 1,77$  мкМ, при среднетяжелой ЧМТ (СТЧМТ) –  $31,59 \pm 7,17$  мкМ (при норме  $16,0 \pm 5,0$  мкМ). 25% детей при легкой травме головы имели повышенный уровень 3-NT уже в первые сутки после травмы ( $12-165$  нМ). При СТЧМТ уровень 3-NT достигал  $574,0$  нМ при том, что в норме этот маркер в крови отсутствует. У детей с тяжелой ЧМТ уровень метаболитов NO в сыворотке крови в десятки раз превышал как их контрольный уровень, так и их содержание при легкой ЧМТ. Наиболее высокий уровень продуктов метаболизма NO отмечался у детей с летальным исходом ЧМТ. При этом, именно в случаях летальных исходов тяжелой ЧМТ уровень аАТ к NMDA рецепторам Glu сразу после ЧМТ (1-2й день) был наиболее низким. Таким образом, чем более тяжелую ЧМТ перенесли пациенты, тем более высокий уровень продуктов NO в 1–2-й дни после травмы сопровождал сниженный аутоиммунный ответ в отношении NMDA рецепторов глутамата. Более низкий уровень аАТ в сыворотке крови у детей с тяжелой ЧМТ может объясняться высоким уровнем токсических форм NO (двуоксида азота и пероксинитрита), реактивными формами кислорода и продуктами перекисного окисления липидов в первые сутки после тяжелой ЧМТ. Все дети с ЛЧМТ (сотрясением мозга), за исключением 3-х, имели значительное превышение уровня аАТ к NMDA GluRcs в 1-е сутки после травмы –  $13,13 \pm 1,58$  нг/мл (при норме до  $2,0$  нг/мл сыворотки крови). В группе детей с СТЧМТ повышение уровня аАТ наблюдали у значительно меньшего числа детей, при этом среднее значение в этой группе составило  $4,57 \pm 0,54$  нг/мл (в  $2,87$  раз меньше чем при ЛЧМТ). Наименьший уровень аАТ к NMDA GluRcs сразу после травмы отмечали у детей с летальным исходом тяжелой ЧМТ (до  $3,0$  нг/мл). В отличие от аАТ к NMDA GluRc, уровень аАТ к АМРА GluRc в 1-й день не имел достоверных отличий между контрольной группой и группами детей с ЛЧМТ и СТЧМТ: при верхней границе нормы =  $0,450$  Е.О.П. значения в группе ЛЧМТ составляли  $0,457 \pm 0,129$  Е.О.П., а в группе СТЧМТ  $0,308 \pm 0,068$  Е.О.П.

Исследование содержания продуктов деградации N-концевой части GluRcs – NR2 и AMPA пептидов показало, что наибольшие изменения касаются AMPA пептидов. Так, если уровень NR2 пептида в 1-й день при ЛЧМТ увеличивался у 5 из 35 детей, то уровень AMPA пептида – у 33 из 35 детей. В группе детей с ЛЧМТ среднее содержание NR2 пептидов составило  $0,583 \pm 0,320$  нг/мл, а группе детей с СТЧМТ –  $0,384 \pm 0,147$  нг/мл при норме до 0,5 нг/мл. Содержание AMPA пептидов при ЛЧМТ соответствовало  $1,49 \pm 0,19$  нг/мл, при СТЧМТ –  $0,727 \pm 0,242$  нг/мл (при верхней границе нормы – до 0,4 нг/мл), т.е. отмечалось достоверное повышение содержания AMPA пептидов в крови детей сразу после ЧМТ.

Долгое время глутаматные рецепторы считались прерогативой нейронов. Обнаружение NMDA GluRc в лимфоцитах (Lombardi et al., 2001; Boldyrev et al., 2004) заставляет задуматься о центральной роли этих рецепторов во взаимодействии нервной и иммунной систем организма. В таком случае NO и стимулируемое этой молекулой образование аАТ к GluRc может выступать в качестве механизма, участвующего в регуляции нейро-иммунных взаимодействий.

Наши исследования показали, что NO и продукты его метаболизма инициируют аутоиммунный ответ, повышая уровень аАТ к рецепторам глутамата (GluRcs) в сыворотке крови. Введение животным нитрита натрия ( $\text{NaNO}_2$ ), способного превращаться в NO, приводило на 2-3-й день после введения к существенному увеличению содержания аАТ к GluR1- субъединице AMPA- и NR2-субъединице NMDA-GluRcs. Повышение уровня аАТ имело дозозависимый характер и начиналось уже при введении нетоксических концентраций  $\text{NaNO}_2$ . Однако, как показали эксперименты *in vitro*, высокие токсические концентрации NO приводят к снижению уровня аАТ к GluRcs в крови. В экспериментах *in vitro* было показано, что добавление токсических концентраций Glu и NO-генерирующих соединений ( $\text{NaNO}_2$  и S-нитрозоцистеина – SNOC) к цельной крови с заведомо повышенным содержанием аАТ к NMDA GluRc приводило к снижению содержания аАТ к GluRc. Подобное снижение уровня аАТ наблюдалось при инкубации указанных соединений с цельной кровью, а не с сывороткой. Эти данные свидетельствуют о способности токсических концентраций Glu, NO и нитритов вызывать повышенную адсорбцию аАТ к GluRcs на форменных элементах крови.

Исследования, проведенные в клинике показали, что у детей, перенесших тяжелую ЧМТ, при неблагоприятном исходе отмечается высокий уровень продуктов NO и низкий уровень аАТ к GluRcs. Наиболее высокий уровень продуктов метаболизма NO отмечался у детей с летальным исходом ЧМТ. Более низкий уровень аАТ в сыворотке крови у детей с тяжелой ЧМТ может объясняться высоким уровнем токсических форм NO (двуоксида азота и пероксинитрита), реактивными формами кислорода и продуктами перекисного окисления липидов в первые сутки после травмы.

Другое важное свойство NO и его продуктов может реализовываться путем способности NO влиять на содержание не только нейрональной, но и лимфоцитарной АТФ, что обеспечивает активность и иммунный ответ лимфоцитов. Изучение действия экзогенного NO и нитритов показало, что в малых концентрациях они способны увеличивать содержание АТФ, как в нейронах, так и в лимфоцитах. В больших концентрациях NO-генерирующие вещества приводят к резкому снижению содержания внутриклеточной АТФ, что приводит к гибели клеток и развитию дегенеративных процессов в нервной и иммунной системах. Тот факт, что многие препараты, применяемые для лечения и предупреждения повреждений мозга при ЧМТ, направлены на нормализацию энергетического состояния свидетельствует о ведущей роли сохранности энергетического метаболизма в предупреждении осложнений при ЧМТ. Повреждающее действие NO при ЧМТ направлено на истощение энергетических запасов в связи с активацией PARP-реакции, активацией каспаз и развитием апоптоза, а также повреждением мембранных структур в связи с активацией перекисного окисления липидов [21-23]. Направленность лекарственных препаратов на эти звенья патогенеза определяет стра-

тегию предупреждения осложнений при ЧМТ. В экспериментах на животных показан положительный эффект следующих препаратов и воздействий:

- Меркаптоэтидилгуанидина – обладает комплексным воздействием на iNOS, циклооксигеназу (COX-2), а также является ловушкой для пероксинитрита;
- Антиапоптотических агентов – ингибиторов каспаз IGF-1 ZVAD-fmk;
- Ингибиторов нейрональной NO-синтазы, nNOS;
- Ингибиторов poly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1);
- Активаторов iNOS;
- Антиоксидантов: ингибиторов высвобождения глутамата (riluzole) и ингибиторов перекисного окисления липидов (tirilazad);
- Ингибиторов фосфолипазы A<sub>2</sub>;
- Факторов роста нейронов;
- Мягкой гипотермии.

Заслуживают большого внимания попытки лечения последствий ЧМТ путем воздействия на иммунную систему. Разработка этих подходов невозможна без изучения нейро-иммунологических взаимосвязей, в которых значительную роль занимают нейротрансмиттер Glu, рецепторы Glu и газотрансмиттер NO.

**Заключение.** Полученные данные о взаимосвязи уровня аАТ к рецепторам возбуждающего медиатора Glu, продуктов превращения NO и тяжести ЧМТ в дальнейшем могут способствовать развитию новых подходов к терапии последствий ЧМТ. Обнаруженное значительное повышение аАТ к NMDA рецепторам Glu в первые сутки после легкой ЧМТ свидетельствует о быстро наступающей секреции иммуноглобулинов врожденно-подобными (innate-like) В-лимфоцитами. Активацию таких лимфоцитов могут вызывать продукты распада тканей – DAMPs (danger-associated molecular patterns), а также медиаторы активированных клеток микроглии, которые, в свою очередь, стимулируются газотрансмиттером NO.

### **Литература**

1. *Archelos J.J., Hartung H.P.* Pathogenic role of autoantibodies in neurological diseases // Trends Neurosci. 2000. V. 23. P. 317-327.
2. *Pleasure D.* Diagnostic and pathogenic significance of glutamate receptor autoantibodies // Arch. Neurol. 2008. V.65. No. 5. P. 589-592.
3. *Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Базарная Н.В. и др.* Аутоантитела к рецепторам глутамата и продукты метаболизма оксида азота в сыворотке крови детей в остром периоде черепно-мозговой травмы // Ж. неврол. и психиатрии им. Корсакова. 2008; 208: 3: 67—72.
4. *Сорокина Е.Г., Сторожевых Т.П., Сенилова Я.Е., Гранстрем О.К., Реутов В.П., Пинелис В.Г.* Действие антител к AMPA (GluR1) рецепторам глутамата на нейроны мозга в первичных культурах мозжечка и гиппокампа // Бюлл. Эксп. Биол. и Мед. 2006.Т. 142. №7. С. 59-62.
5. *Whitney K.D., McNamara J.O.* GluR3 Autoantibodies destroy neuronal cells in a complement manner modulated by complement regulatory proteins // J. of Neuroscience. 2000. V. 20. P. 7307-7316.
6. *Faden A.I.* Neuroprotection and traumatic brain injury: theoretical option or realistic proposition // Current option in Neurology. 2002. V. 15. P. 707-712.
7. *Gahm C., Danilov A., Holmin S., Wiklund P.N., Brundin L., Mathiesen T.* Reduced neuronal injury after treatment with NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) or 2-sulfo-phenyl-N-tert-butyl nitrone (S-PBN) following experimental brain contusion // Neurosurgery. 2005. V. 57. P.1272-1281.
8. *Gahm C., Holmin S., Mathiesen T.* Nitric oxide synthase expression after human brain contusion. // Neurosurgery. V. 50. P. 1319-13-26.
9. *Liu P.K, Robertson C.S, Valadka A.* The association between neuronal nitric oxide synthase and neuronal sensitivity in the brain after brain injury // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2002. V.962. P. 226-41.
10. *Pacher P., Beckman J., Liaudet L.* Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // Physiol. Rev. 2007. V. 87. No.1. 315–424.
11. *Hu J., Ferreira A., Van Eldik L.J.* S-100 $\beta$  induces neuronal cell death through nitric oxide release from astrocytes. // J. of Neurochem. 1997. V. 69. P. 2294-2301.



12. *Contestabile A., Ciani E.* Role of nitric oxide in the regulation of neuronal proliferation, survival and differentiation // *Neurochemistry international*. V. 45. No. 6. P. 903-914.
13. *Dawson T.M., Gonzales-Zulueta M., Kusel J., Dawson V.L.* Nitric oxide: diverse actions in the central and peripheral nervous system // *Neuroscientist*. 1998. v. 4. P. 96-112.
14. *Gegg M.E., Beltran B., Salas-Pino S., Bolanos J.P., Clark J.B., Moncada S., Heals S.J.* Differential effect of nitric oxide on glutathione metabolism and mitochondrial function in astrocytes and neurons: implications for neuroprotection/neurodegeneration? // *J. Neurochem*. 2003. V. 86. No. 1. P. 228-237.
15. *Mannick J.B., Schonhoff Ch., Papeta N., Ghafourifar P., Szibor M., Fang K., Gaston B.* S-Nitrosylation of mitochondrial caspases // *The J. Of Cell Biology*. 2001. V. 154. No. 6. P. 1111-1116.
16. *Реутов В.П.* Цикл окиси азота в организме млекопитающих. // *Успехи биол. химии*. 1995. Т. 35. С. 189-228.
17. *Реутов В.П.* Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // *Вестник РАМН*. 2000. № 4. С. 35-41.
18. *Cosby K., Partovi K.S., Grawford J.H., Patel R.P., Reiter Ch.D., Martyr S. et al.* Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation // *Nature Medicine*. 2003. V. 9. No. 12. P. 1498- 1505.
19. *Дамбинова С.А., Изыкенова Г.А.* Аутоантитела к подтипам глутаматных рецепторов – маркеры функционального поражения головного мозга: их диагностическое значение для выявления пароксизмальной активности и ишемии // *Ж. высшей нервн. деят.* 1997. Т. 47, № 2, С. 439-446.
20. *Dambinova S.A., Khunteev G.A., Izykenova G.A., Zavolokov I.G., Ilychina A.I., Skoromets A.A.* Blood test detecting autoantibodies to N-methyl-D-aspartateneuroreceptors for evaluation of patients with transient ischemic attack and stroke // *Clinical Chemistry*. 2003. V. 49. No. 10. P.1752-1762.
21. *Daemen M.A.R.C., van 't Veer C., Denecker G., Heemskerk V.H. et al.* Inhibition of apoptosis induced by ischemia-reperfusion prevents inflammation // *The J. of Cniical Investigation*. 1999. V. 104. No. 5. P. 541-549.
22. *Besson V.C., Croci N., Boulu R.G., Plotkine M., Marchand-Verrecchia C.* Deleterious poly(ADP-ribose)polymerase-1 pathway activation in traumatic brain injury in rat // *Brain Res*. V. 989. P. 58-66.
23. *Hull E.D., Detloff M.R., Johnson K., Kupina N.C.* Peroxynitrite-mediated protein nitration and lipid peroxidation in a mouse model of traumatic brain injury // *J. Neurotrauma*. 2004. V. 2. P. 9-20.

### **Role of autoimmune processes in hypoxic and brain trauma injury in children**

*Elena Gennad'evna Sorokina, PhD., Leading Researcher, National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the Russian Federation;*

*Janna Borisovna Semenova, MD, professor, Scientific Research Institute of Urgent Pediatric Surgery and Traumatology;*

*Olga Vital'evna Karaseva, MD, professor, Scientific Research Institute of Urgent Pediatric Surgery and Traumatology;*

*Oksana Valer'evna Globa, PhD., Senior Researcher, National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the Russian Federation;*

*Konstantin Evgen'evich Khmelninitsky, professor Scientific Research Institute of Urgent Pediatric Surgery and Traumatology;*

*Valentin Palladievich Reutov, PhD., Doct. Biol. Sci., Leading Researcher, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences;*

*Leonid Mikhailovich Roshal, MD, professor, Scientific Research Institute of Urgent Pediatric Surgery and Traumatology;*

*Vsevolod Grigor'evich Pinelis, MD, professor National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the Russian Federation.*

*Mechanisms of elevation of autoantibodies (aAb) content to glutamate receptors – NMDA(NR2) and AMPA (GluR1) subtypes and their degradation products (peptides) were investigated in blood of children with seizures and traumatic brain injury. In clinic and experiments in vivo and in vitro the role of nitric oxide in initiation of immunological processes is discussed.*

*Key words: autoantibodies to glutamate receptors, craniocerebral trauma, epilepsy, nitric oxide*



УДК 664.951:658.562.012.7

**ОБОСНОВАНИЕ ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ КРИТЕРИЕВ (МАРКЕРОВ)  
РЫБНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ВЫЯВЛЕНИЯ ФАЛЬСИФИКАЦИИ**

*Абрамова Любовь Сергеевна, д.т.н., профессор, заместитель руководителя Центра организации лабораторных исследований, тел. +7-499-264-35-91, E-mail*

*[abramova@vniro.ru](mailto:abramova@vniro.ru)*

*Козин Андрей Валерьевич, к.х.н., старший научный сотрудник, тел. +7-499-264-17-33,*

*E-mail [kozin82a@gmail.com](mailto:kozin82a@gmail.com)*

*Сытова Марина Владимировна, к.т.н., ученый секретарь, тел. +7-499-264-93-65, E-*

*mail [nauka@vniro.ru](mailto:nauka@vniro.ru)*

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»,*

*107140, г. Москва, ул. В.Красносельская, 17, тел./факс 8-499-264-93-87,*

*<http://www.vniro.ru>*

*В статье обсуждается проблема фальсификации рыбного сырья и комплексного подхода к оценке идентификационных критериев (маркеров) рыбы с использованием метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Метод ЯМР рекомендуется для качественной и количественной оценки метаболического профиля рыбного сырья и выявления метаболитов, которые могут являться маркерами видового состава рыбы.*

*Ключевые слова: рыбное сырье, фальсификация, идентификация, ЯМР-спектроскопия, маркеры вида рыбы.*

**Введение.**

Проблема фальсификации пищевой рыбной продукции беспокоит не только отечественных производителей и потребителей, но и актуальна во всем мире. Объективных причин, которые побуждают производителя заменять один вид рыбы другим видом, как правило, всего две. Первая связана с чисто экономическим вопросом: более дешевые пикшу или минтай, легко выдать за треску, так как эти виды рыб незначительно отличаются по внешнему виду и вкусу, при этом разница в себестоимости продукта будет существенной. Вторая – это нехватка сырья. Недобросовестная конкуренция вредит как честным и ответственным производителям, так и обычным покупателям. И, как следствие, снижает доверие к отечественному продукту в целом и понижает уровень его потребления.

Согласно данным исследований «Осеана», крупнейшей международной некоммерческой организации, которая занимается вопросами оценки рынка, около 30% рыбной продукции не соответствуют содержанию, которое заявлено на этикетке. Например, недорогой пангасиус, продается как треска, а вместо голубого тунца в 95% случаев были обнаружены более дешевые варианты, такие как большеглазый (bigeye tuna) или желтоперый тунец (yellowfin tuna).

Лаборатория молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО» с 2007 года первая в России начала заниматься проблемами анализа фальсификации рыбной продукции. За последнее время исследовано около 70 видов рыбного сырья, из них 20 не соответствовало заявленному виду, то есть около 30% образцов. Это свидетельствует о сохранении мировой тенденции в области фальсификации. Установлено, что фальсификация осуществляется в основном путем подмены более дорогого сырья на дешевое: кета заменяется горбушей; треска – минтаем или пикшей; семга – форелью, кетой или горбушей; форель – кетой; палтус – макрурусом, а вместо краба предлагается его имитация.

Достоверная информация о видовом составе и происхождении рыбы является важным условием обеспечения надлежащего контроля качества и безопасности, особенно с точки зрения защиты потребителей. Зачастую использовать

морфологические характеристики рыбного сырья, такие как голова, плавники, кожа или кости, невозможно, так как целый ряд технологий изготовления продукции предусматривает глубокую переработку сырья. В связи с введением в действие в Российской Федерации Технических регламентов ТР ЕАЭС 040/2016, ТР ТС 021/2011, маркировка продукции должна содержать информацию о зоологическом наименовании сырья, о принадлежности к району добычи, извлечения (вылова) или к объектам аквакультуры, чтобы гарантировать прозрачность рынка.

В связи с этим совершенствуются и актуализируются методы, основанные на анализе ДНК, белка, иммунологические методы, все шире применяются методы протеомного анализа [1, с. 2-21; 2, с. 928]. Однако необходимость быстрого скрининга большого количества образцов требует проведения научных исследований, направленных на развитие высокотехнологичных подходов с минимальным потреблением времени, низкими затратами, высокой точностью и чувствительностью, которые могли бы успешно использоваться.

В этом отношении спектроскопия ядерного магнитного резонанса является универсальным и перспективным методом для анализа рыбного сырья, так как позволяет получать данные быстрее, чем химические методы, не требует сложной пробоподготовки, является не деструктивным, обладает высокой воспроизводимостью, а также позволяет параллельно получить структурную и количественную информацию качественных характеристик рыбного сырья [3, с. 471-480; 4, с. 729-747; 5, с. 51-59].

В связи с этим проведены исследования по установлению возможности использования метода ЯМР для решения вопросов идентификации видового состава рыбного сырья.

**Цель работы.**

Научное обоснование идентификационных критериев (маркеров) рыбы с использованием спектроскопии ядерного магнитного резонанса для целей выявления фальсификации рыбного сырья.

**Материалы и методы.**

В качестве объектов исследования использовали мороженые образцы лосося атлантического (*Salmo Salar*), горбуши (*Oncorhynchus gorbuscha*), трески (*Gadus morhua*), минтая (*Theragra chalcogramma*) и пикши (*Melanogrammus aeglefinus*) мороженые.

Водорастворимые полярные метаболиты экстрагировали 7,5% раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ), как описано в работе [6, с. 542-553]. Для этой цели 25 г гомогенизированной мышечной ткани заливали 50 мл 7,5% раствор ТХУ, перемешивали в гомогенизаторе и фильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат нейтрализовали 9 М раствором КОН до значения pH 7,8. Раствор фильтровали через бумажный фильтр (№ 1) и хранили при температуре минус 25°C до проведения измерений.

Для записи ЯМР-спектров образцы размораживали, добавляли D<sub>2</sub>O и снимали на приборе Bruker AV-600 (Германия) при 303 К с TSP (3-(trimethylsilyl)-propionic-2,2,3,3-*d*<sub>4</sub> acid sodium salt) в качестве внутреннего стандарта. Все отмеченные на спектрах метаболиты были идентифицированы с использованием одномерной (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) спектроскопии ЯМР, а также литературных данных [6, с. 542-553; 7, с. 12-22]. Обработку спектров проводили с использованием стандартного программного обеспечения фирмы Bruker (TopSpin 3.5 p17). Исследования выполнены в ООО «ИОХ-Акрус».

**Полученные результаты.**

Согласно данным анализа фальсифицированной продукции важной проблемой является установление идентификационных признаков или маркеров видового состава рыбного филе одного семейства, в частности тресковых, наиболее массовых на потребительском рынке, таких как филе трески, пикши и минтая. Это обусловлено тем,

## Секция 6. Проблемы, методы и продукты современной биотехнологии

что данные виды филе близки по внешнему виду, цвету и запаху, поэтому более дорогую треску зачастую подменяют пикшей или минтаем.

Для обоснования идентификационных критериев для трески, пикши и минтая проведен качественный и количественный сравнительный анализ метаболического профиля  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов в ТХУ мышечной ткани указанных видов рыбного сырья. Хорошо известно, что показателем качества рыбного сырья может являться триметиламиноксид (ТМАО), который, как известно, в случае микробиологической порчи превращается в триметиламин (ТМА) - летучее соединение, придающее специфический неприятный запах рыбному сырью, или в процессе хранения в мороженом состоянии под действием фермента триметиламин-N-оксидиметилазы может трансформироваться в диметиламин (ДМА), а затем в формальдегид [8, с. 814-818; 9, с. 49-56; 10, с. 6889-6895]. Сравнительные исследования  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров образцов трески, пикши и минтая показали, что в спектрах трески и минтая можно увидеть выраженный пик в области 2,74 ppm, который характерен для ДМА, в то время как в спектре пикши он отсутствует. Результаты анализа  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров приведены в таблице. Полученные данные хорошо согласуются с литературными данными, которые подтверждают, что образование ДМА в процессе хранения при пониженных температурах характерно для трески и не наблюдается в образцах пикши [11, с. 49-56; 12, с. 907-915].

Таблица

Значения интегральной интенсивности сигналов метаболитов  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов в ТХУ мышечной ткани трески, пикши и минтая

№ образца	Наименование филе рыбы	Дата заготовки, (хранение при температуре минус 18°C)	Интегральная интенсивность сигнала при химическом сдвиге, относительные единицы			
			2,55 ppm $\beta$ -аланин	2,74 ppm диметиламин	2,89 ppm триметил-амин	3,26 ppm триметил-аминоксид
1	Треска	24.05.2017	10,35	1,98	< ПО*	745,50
2	Треска	02.06.2016	2,82	15,02	1,68	521,56
3	Пикша	01.06.2017	< ПО*	< ПО*	1,92	385,98
4	Минтай	20.06.2017	-	19,89	4,02	1428,09

\*предел обнаружения (ПО)

Накопление ДМА в треске и минтае при хранении в мороженом виде позволяет сделать предположение о возможности использования ДМА в качестве маркера для отличия трески и минтая от пикши. Кроме того, вторым отличительным признаком пикши может являться наличие  $\beta$ -аланина, которой, как было установлено из анализа  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров, практически отсутствует в спектрах пикши и содержится в значительном количестве в треске и минтае.

Таким образом, можно сделать предварительное заключение, что в качестве характерного маркера пикши для отличия ее от трески и минтая, очень близких по внешнему виду и вкусу, может быть использован такой показатель, как содержание в  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрах ДМА и  $\beta$ -аланина. Однако необходимо иметь больше статистического материала для убедительного подтверждения данного вывода.

В области проведении исследований по установлению отличительных идентификационных признаков видового состава продукции аквакультуры и дикой рыбы накоплен определенный опыт. Большую информацию несет жирнокислотный состав жира, который часто берется за основу при определении отличия продукции аквакультуры от дикой рыбы, так как он непосредственно определяется кормовой базой рыбы. Метод ЯМР использовали в качестве аналитического инструмента для определения полного метаболического профиля морского окуня, выращенного в аквакультуре по сравнению с диким. Кроме жирнокислотного состава жира проведен анализ содержания водорастворимых метаболитов, принадлежащих к разным классам, таких как сахара, аминокислоты, дипептиды и органические кислоты [13, с. 433–444].

Предварительные результаты показали, что различие между диким и культивированным морским окунем может установлено не только с использованием жирнокислотного состава жира рыбы, но также по содержанию холестерина и фосфатидилэтаноламина и некоторых водорастворимых метаболитов, таких как триметиламиноксид, холин, глутамин, фумаровая и яблочная кислоты.

Согласно проведенным нами исследованиям, анализ  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов мышечной ткани аквакультурного атлантического лосося в ТХУ показал, что независимо от времени и условий хранения не происходит трансформация триметиламиноксида в ДМА, что подтверждается отсутствием на спектрах характерного пика ДМА. Анализ приведенных в литературных источниках  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов мышечной ткани атлантического лосося аквакультурного происхождения показал, что в при хранении, как в охлажденном, так и в замороженном виде, отсутствует ДМА [14, с. 693–703; 7, с. 12-22]. Следовательно, можно полагать, что наличие такого метаболита, как диметиламин в рыбном сырье является специфической особенностью дикой рыбы. Комплексный анализ  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов в ТХУ мышечной ткани горбуши и кеты подтвердил данное предположение. В образцах горбуши и кеты различных сроков хранения и биологического состояния (серебрянка и с нерестовыми изменениями) был обнаружен диметиламин. Можно сделать заключение, что анализ метаболического профиля  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов мышечной ткани лососевых рыб, выращенных в условиях аквакультуры и извлеченных из естественной среды обитания позволяет сделать заключение о происхождении рыбы.

Однако необходимо проанализировать больше образцов, чтобы выявить дополнительные маркеры, кроме ДМА, для отличия аквакультурного атлантического лосося от дальневосточных лососевых рыб.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

метод ЯМР может быть рекомендован для качественной и количественной оценки метаболического профиля трески, минтая и пикши;

в качестве характерного маркера пикши для отличия ее от трески и минтая, очень близких по внешнему виду и вкусу, может быть использован такой показатель, как содержание диметиламина и  $\beta$ -аланина в  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрах экстрактов в ТХУ мышечной ткани рыбы;

в мышечной ткани атлантического лосося аквакультурного происхождения не происходит трансформация триметиламиноксида в диметиламин;

наличие в метаболическом профиле  $^1\text{H}$ -ЯМР спектров экстрактов в ТХУ мышечной ткани лососевых рыб такого метаболита, как диметиламин, является специфической особенностью дикой рыбы.

### Литература

1. Angers A., Ballin N.Z., Hofherr J., Kagkli D. M., Lievens A., Maquet A., Martinsohn J.T., Paracchini V., Petrillo M., Puertas-Gallardo A., Enhancing fish species identification using novel markers and emerging technologie // Technical Report – 2017. – P. 2-21
2. Leo M.L. Nollet, Fidel Toldra. Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. 2009. P. 928
3. Ericson U., Standal I., Aursand I. et al. Use of NMR in fish processing optimization: a review of recent progress // Magn. Reson. Chem. 2012. – V. 50. –P. 471-480.
4. Marccone M. F., Wang S., Albabish W., Nie S., Somnarain D., Hill A / Diverse food-based applications of nuclear magnetic resonance (NMR) technology // Food Research International. – 2013. – V. 51. – Issue 2. – P. 729-747.
5. Simmler C., Napolitano J. G., McAlpine J. B., Chen Shao-Nong., Pauli G. F. Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples // Current Opinion in Biotechnology. –2014. – V. 25. P. 51-59.

6. Ciampa A., Picone G., Laghi L., Nikzad H., Capozzi F. Changes in the Amino Acid Composition of Bogue (Boopsboops) Fish during Storage at different Temperatures by <sup>1</sup>H- NMR Spectroscopy // *Nutrients*. – 2012. – N 4(6). – P. 542-553.
7. Shumilina E., Ciampa A., Capozzi F., Rustad T., Dikiy A. NMR approach for monitoring post-mortem changes in Atlantic salmon fillets stored at 0 and 4°C // *Food Chemistry*. – 2015. – V. 184. – P. 12-22.
8. Ang J. F., Hultin, H. O. Denaturation of cod myosin during freezing after modification with formaldehyde // *J. Food Sci.* 1989. – V.54. – P. 814-818.
9. Gill T. A., Paulson A. T. Localization, characterization and partial purification of TMAO-ase // *Comp. Biochem Physiol.* 1982. – 71.B. – P. 49-56.
10. Iciar Martinez I., Bathen T., Standal I. B., Halvorsen J., Aursand M., Gribbestad I.S., and Axelsson D.E. Bioactive Compounds in Cod (*Gadus morhua*) Products and Suitability of <sup>1</sup>H NMR Metabolite Profiling for Classification of the Products Using Multivariate Data Analyses // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – V.53 (17). – P. 6889-6895.
11. Howell N., Shavila Y., Grootveld M., Williams S. High-Resolution NMR and Magnetic Resonance Imaging (MRI) Studies on Fresh and Frozen Cod (*Gadus morhua*) and Haddock (*Melanogrammus vaeglefinus*) // *J. Sci. Food Agric.* - 1996. –V.12. - P. 49-56.
12. Heude C., Lemasson E., Elbayed K., Piotta M. Rapid Assessment of Fish Freshness and Quality by <sup>1</sup>H HR-MAS NMR Spectroscopy // *Food Anal. Methods*. – 2015. – V.8(4). - P. 907-915.
13. Mannina, L., Sobolev A.P., Capitani D., Iaffaldano N., Rosato M.P., Ragni P., Reale A., Sorrentino E., D'Amico I., Coppola R. NMR metabolic profiling of organic and aqueous sea bass extracts: Implications in the discrimination of wild and cultured sea bass // *Talanta*. – 2008. – V. 77. – P. 433–444.
14. Castejon D., Villa P., Calvo M.M., Santa-María G., Marta Herraizb M., Antonio Herreraa A. <sup>1</sup>H-HRMAS NMR study of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) // *Magn. Reson. Chem.* – 2010. – V.48. – P. 693–703.

**Justification of identification criteria (markers) of fish raw materials for purpose of falsification**

*Liubov Sergeevna Abramova, doctor of Technical Science, professor, Deputy Head of the Center for Organization of Laboratory Research, Russian*

*Andrey Valerievich Kozin, PhD in Chemical sciences, Senior Researcher ,*

*Sytova Marina Vladimirovna, Ph.D., Scientific Secretary*

*Federal Research Institute of Fisheries & Oceanography*

*V. Krasnoselskaya, 17, Moscow, Russia, 107140, tel./fax +7(499)264-91-98*

*The article discusses the problem of falsification of fish raw materials and an integrated approach to the assessment of identification criteria (markers) of fish using the nuclear magnetic resonance (NMR) method. The NMR method is recommended for the qualitative and quantitative assessment of the metabolic profile of fish raw materials and the identification of metabolites that may be markers of the species composition of fish.*

*Key words: fish, falsification, identification, NMR spectroscopy, markers of the species of fish.*

УДК 612.392

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ, ОБОГАЩЕННЫЕ  
ПОЛИФЕНОЛАМИ И/ИЛИ ЭКДИСТЕРОИДАМИ**

*Петров Никита Александрович, аспирант<sup>1</sup>*

*petrov-nikita-y@mail.ru*

*Зорин Сергей Николаевич, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов<sup>1</sup>*

*zorin@ion.ru*

*Володин Владимир Витальевич, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией биохимии и биотехнологии<sup>2</sup>*

*volodin@ib.komisc.ru*

## **Секция 6. Проблемы, методы и продукты современной биотехнологии**

---

*Володина Светлана Олеговна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии<sup>2</sup>*

[volodina@ib.komisc.ru](mailto:volodina@ib.komisc.ru)

*Киселева Татьяна Леонидовна, д.ф.н., проф., старший научный сотрудник лаборатории алиментарной коррекции нарушений метаболизма<sup>1</sup>*

[kiselevatl@yandex.ru](mailto:kiselevatl@yandex.ru)

*Кочеткова Алла Алексеевна, д.т.н., проф., заведующий лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов<sup>1</sup>*

[kochetkova@ion.ru](mailto:kochetkova@ion.ru)

*Мазо Владимир Кимович, д.б.н., проф., ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов<sup>1</sup>*

[mazo@ion.ru](mailto:mazo@ion.ru)

<sup>1</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»*

[www.ion.ru](http://www.ion.ru)

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук*

<https://ib.komisc.ru/rus/>

*Представлены два методических подхода к получению функциональных пищевых ингредиентов антидиабетического действия: концентрата фитоэкдистероидов из экстракта листьев шпината и пищевой матрицы (муки коричневой гречки), обогащенной полифенолами экстракта листьев черники.*

*Ключевые слова: диабет, функциональные пищевые ингредиенты, фитоэкдистероиды, шпинат, полифенолы, экстракт листьев черники*

**Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-36-00041).**

Целью сообщения являются предлагаемые и апробированные в наших исследованиях методические подходы, направленные на получение функциональных пищевых ингредиентов (ФПИ) на основе экстрактов листьев черники и шпината.

Как отмечается в монографии [1] рост распространенности сахарного диабета характеризуется неуклонным ростом числа больных и развитием тяжелых инвалидизирующих осложнений этого заболевания. Очевидна актуальность исследований, направленных на разработку и расширение ассортимента специализированных пищевых продуктов (СПП), предназначенных не только для пациентов с нарушениями углеводного и жирового обмена, которым уже поставлен диагноз «сахарный диабет 2 типа», но и для широкого круга потребителей - с целью профилактики нарушений углеводного и жирового обмена.

На протяжении последних лет наши исследования были связаны с проблемой разработки и доклинической оценки эффективности СПП с выраженной биологической активностью на основе традиционно используемых пищевых и лекарственных растений, эффективность и безопасность применения которых в лечении и профилактике сахарного диабета сегодня уже не вызывает сомнений [2]. По современным научным представлениям, их антидиабетическая активность может быть обусловлена как прямым гипогликемическим эффектом находящихся в их составе конкретных биологически активных веществ (БАВ), так и реализацией одного из основных принципов фитотерапии – одновременного совокупного действия на пораженный орган и сопряженные системы организма, а также на все стороны обмена веществ в целом [3, 4]. При этом, относительно часто этим БАВ растительного происхождения присуши

адаптогенные свойства. Необходимо, тем не менее, отметить, что в отличие от экспериментов *in vitro* на результаты клинических исследований априори может существенно влиять то обстоятельство, что часто содержание действующего БАВ в продукте недостаточно для проявления благоприятного клинического эффекта. В случае полифенольных соединений это также связано с их низкой биодоступностью [5]. Соответственно целенаправленное включение в состав продукта ингредиентов с высоким содержанием полифенолов – это необходимое условие для создания СПП антидиабетической направленности [6]. Существенный интерес представляет также выявление возможного использования в профилактике и коррекции нарушений углеводного обмена фитоэкдистероидов – полигидроксильированных стероидов, являющихся структурными аналогами гормонов линьки и метаморфоз членистоногих. Они обнаружены не только в лекарственных, но и в пищевых растениях, то есть могут рассматриваться как минорные компоненты пищи. 20-гидроксиэкдизон (20E), обладающий адаптогенным действием, был выделен из таких растений как левзея сафлоровидная, серпуха венценосная, а также шпинат [7].

Ниже представлены два варианта разработанных и апробированных нами в лабораторных условиях методических подхода к получению концентратов полифенолов и/или фитоэкдистероидов на основе растительных экстрактов для дальнейшего использования в качестве ФПИ.

### 1. Получение концентрата фитоэкдистероидов из листьев шпината

Шпинат огородный (*Spinacia oleracea*) – однолетнее травянистое растение из семейства маревых (*Chenopodiaceae*). В пищу употребляются, в основном, листья этого растения, которые содержат белок, сахара, аскорбиновую кислоту, витамины группы В, каротин, лютеин, полифенолы, органические кислоты, фитоэкдистероиды, минеральные соли (железо, магний, калий, фосфор, натрий, кальций, йод). Шпинат рекомендуется вводить в рацион здоровых людей для повышения функциональных резервов человека в периоды гиповитаминоза, при переутомлении, при интенсивных физических нагрузках, а также для регуляции углеводного и липидного обмена лицам с диабетом 2 типа.

Содержание фитоэкдистероидов в шпинате относительно низкое, при этом в шпинате содержится большое количество оксалатов, которые противопоказаны людям, страдающим или предрасположенным к почечнокаменной болезни, ревматизму и подагре (допустимая суточная норма оксалатов 50 мг). Известен способ получения функционального продукта, обогащенного минорными компонентами пищи, из листьев шпината [8]. Способ получения обогащенных экстрактов шпината заключается в добавлении к водному экстракту листьев шпината пищевого масла, получении водной и масляной фазы, их разделении. Недостатком данного способа получения обогащенного продукта является то, что предложенный способ не учитывает достижение необходимого концентрирования фитоэкдистероидов в конечном продукте и не предполагает удаление из целевой водной фазы экстракта оксалатов.

Нами разработан и апробирован в лабораторных условиях метод получения обогащенного фитоэкдистероидами экстракта из листьев шпината, позволяющий, многократно (от 10 до 100 раз) обогатить фитоэкдистероидами конечный экстракт и полностью удалить из экстракта оксалаты с помощью ультрафильтрации на мембранах с последующей твердофазной экстракцией или *batch*-хроматографией с применением гидрофобных сорбентов. Метод относительно нетрудоемок и неэнергозатратен, а, конечный продукт не содержит оксалатов.

Высушенные измельченные листья шпината экстрагируют водой, получаемый водный экстракт отделяют от биомассы центрифугированием. Водный экстракт подвергают ультрафильтрации для удаления взвешенных и коллоидных веществ. Затем фильтрат пропускают через слой гидрофобного сорбента, связывающего экдистероиды и не удерживающего оксалаты, или сорбент непосредственно добавляют в экстракт и сорбцию проводят в варианте *batch*-хроматографии. Десорбцию фитоэкдистероидов с

сопутствующими веществами проводят водными растворами низших спиртов с концентрацией спирта от 5 по 80 объемных процентов, в частном случае, 70%-ным этанолом. Полученный экстракт упаривают и лиофильно высушивают. Содержание 20-гидроксиэкдизона в сухом обогащенном продукте варьирует от 1,0 до 20,0 мг на 1 грамм сухого препарата в зависимости от объемной доли низшего спирта в растворителе, применяемом на стадии десорбции экдистероидов. Содержание оксалатов не превышает 0,01% [9].

## **2. Получение пищевой матрицы, обогащенной полифенолами из экстракта листьев черники**

Черника имеет традиции широкого применения в народной медицине для уменьшения симптомов сахарного диабета, вследствие широкого спектра полифенолов, содержащихся как в ягодах, так и листьях [10]. Основными антоцианинами, найденными в ягодах и листьях черники, являются дельфинидины 15,17%, цианидины 8,36%, петунидины 6,64%, мальвидины 5,43%, пеонидины 1,87%. Листья черники содержат дубильные вещества (до 20%), арбутин (1-2%), гидрохинон (1%), миртиллин (1-2%), кверцетин и другие флавоноиды, тритерпеновые сапонины - урсоловую и олеоноловую кислоты, аскорбиновую кислоту (до 250 мг%). Традиционно для снижения сахара в крови листья черники применяют в составе различных растительных сборов. Не являясь заменителем инсулина, экстракт из листьев черники может быть использован как вспомогательное средство, не обладающее побочным нежелательным действием, при лечении диабета. Корректирующее влияние полифенолов в составе экстрактов листьев черники на жировой обмен показано в ряде исследований, например, экстракт листьев черники предотвращал ожирение, вызванное потреблением мышами линии C57BL/6 в течение 10 недель высокожирового рациона. Через 5 недель после начала потребления высокожирового рациона мыши опытной группы в течение последующих 5 недель получали 2% экстракт листьев черники *ad libitum*. Это привело к значительному замедлению увеличения массы тела, снижению уровня триглицеридов в плазме крови и степени перекисного окисления липидов в печени. Имело место снижение размеров адипоцитов, ингибирование их дифференциации и значительное снижение аккумуляции липидов, посредством снижения экспрессии адипоцит-специфичных транскрипционных факторов: рецептора пролиферационной активности пероксисомы и ацетил-коэнзим А пероксилазы и повышения экспрессии мРНК адипонектина. Потребление экстракта также способствовало повышению чувствительности к инсулину [11]. При изучении влияния водного экстракта листьев черники и его фракций, содержащих флавонолгликозиды и проантоцианидины, на метаболизм липидов у крыс с ожирением линии OLETF было показано, что включение в течение 4 недель в полусинтетический рацион этих животных экстракта листьев черники (2% к рациону) снижало уровень липидов и С-реактивного белка в сыворотке крови и уменьшало накопление триглицеридов печени [12]. Фракции цельного экстракта листьев черники снижали аккумуляцию триглицеридов в печени и этот гиполипидемический эффект, по мнению авторов исследования, мог быть связан с повышением интенсивности липолиза в печени. Потребление лиофилизированного порошка из листьев черники достоверно снижало уровень холестерина в печени Sprague-Dawley крыс, потреблявших рацион с добавлением холестерина, а гистопатологический анализ тканей печени показал снижение аккумуляции жира [13]. В плане повышения эффективности использования полифенолов в составе диетических профилактических и диетических лечебных продуктов значительный интерес представляют исследования сорбционной способности различных видов муки по отношению к фенолам в составе соков и растительных экстрактов, результаты которых представлены в серии публикаций [14, 15, 16]. Предложенный авторами этих работ процесс сорбции направлен на получение обогащенных белком пищевых ингредиентов, содержащих в концентрированном виде



растительные биологически активные вещества без избытка легкоусвояемых простых углеводов, жиров и воды.

Извлечение и целенаправленное концентрирование полифенольных соединений из экстракта листьев черники было осуществлено нами путем сорбции на пищевом матриксе - муке коричневой гречки.

В ходе экспериментов определены оптимальные условия сорбции (при различных соотношениях в растворе концентраций полифенолов и муки, а также при различных значениях pH и времени адсорбции, параметров микроструктуры белкового матрикса). Пищевую матрицу получали путем инкубации 2% раствора экстракта листьев черники (pH 3,6) с навеской гречневой муки (прошедшей измельчение на ножевой мельнице) в соотношении 1г/50мл раствора в течение 30 мин при 25°C. Количественно определено содержание адсорбированных общих полифенольных соединений, выраженное в грамм-эквивалентах галловой кислоты, а также индивидуальных полифенольных соединений. Содержание общих полифенолов в матрице составило 25,4±0,7 мг-экв. галл. к-ты / г муки.

**Заключение.** Авторы считают, что в работе получены новые результаты, представляющие определенный научно-практический интерес для специалистов в области нутрициологии, разрабатывающих перспективные технологические подходы к расширению ассортимента функциональных пищевых ингредиентов антидиабетической направленности

### Литература

1. Теоретические и практические аспекты диетотерапии при сахарном диабете 2 типа/ под редакцией академика РАН В.А. Тутельяна, доктора мед. Наук Х.Х. Шарафетдинова, доктора тех наук А.А. Кочетковой.-М.: Библио-Глобус, 2016-244с.
2. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия/ под редакцией академика РАН В.А. Тутельяна, профессора Т.А. Киселевой, профессора А.А. Кочетковой.-М.: Библио-Глобус, 2016-422с.
3. Блинков И.Л. Алгоритм использования пищевых растений в лечебных целях // Лечебные свойства пищевых растений / Под общ. ред. Киселевой Т.Л. М.: Изд-во ФНКЭЦМДЛ Росздрава, 2007. С. 80-101.
4. Bedekar A., Shah K., Koffas M. Natural products for type II diabetes treatment // *Adv. Appl. Microbiol.* 2010; 71: 21-73.
5. Bohn T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutr Rev.* 2014;72(7):429-452
6. Grace M.H., Guzman I., Roopchand D.E., Moskal K., Cheng D.M., Pogrebnyak N., Raskin I., Howel A., Lila M.A. Stable Binding of Alternative Protein-enriched Food Matrices with Concentrated Cranberry Bioflavonoids for Functional Food Applications. *J Agric Food Chem.* 2013 July 17; 61(28): 6856–6864
7. Володин В.В., Матаев С.И. Экидистероидсодержащие растения-источники новых адаптогенов, //Вестник Биотехнологии, 2011.- Т.7.-.№2.- С.52-59
8. Патент № 2011149200/15, 04.05.2010, конвенционный приоритет 04.05.2009, Дюваль Ш. Способ приготовления полифенольных экстрактов из листьев шпината // Патент России № 2519640. 2014. Бюл. № 17
9. Патент РФ № 2015138745, 11.09.2015, Володин В.В., Мазо В.К., Зорин С.Н., Володина С.О., Сидорова Ю.С., Тутельян В.А. Экстракт из листьев шпината и способ его получения // Патент России № 2627450. 2017. Бюл. № 22
10. Ehlenfeldt M, Prior R. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. *J Agric Food Chem.* 2001;49(5):2222-2227. doi:10.1021/jf0013656.
11. Lee I, Kim D, Choi B. Antioxidative Activity of Blueberry Leaf Extract Prevents High-fat Diet-induced Obesity in C57BL/6 Mice. *Journal of Cancer Prevention.* 2014;19(3):209-215. doi:10.15430/jcp.2014.19.3.209.
12. Inoue N, Nagao K, Nomura S et al. Effect of *Vaccinium ashei* reade Leaf Extracts on Lipid Metabolism in Obese OLETF Rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.* 2011;75(12):2304-2308. doi:10.1271/bbb.110451.
13. Yuji K, Sakaida H, Kai T et al. Effect of dietary blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) leaves on serum and hepatic lipid levels in rats. *Journal of Oleo Science.* 2013;62(2):89-96. doi:10.5650/jos.62.89

14. Roopchand D, Grace M, Kuhn P et al. Efficient sorption of polyphenols to soybean flour enables natural fortification of foods. *Food Chemistry*. 2012;131(4):1193-1200. doi:10.1016/j.foodchem.2011.09.103.
15. Roopchand D, Kuhn P, Poulev A et al. Biochemical Analysis and in Vivo Hypoglycemic Activity of a Grape Polyphenol–Soybean Flour Complex. *J Agric Food Chem*. 2012;60(36):8860-8865. doi:10.1021/jf300232h.
16. Roopchand D, Kuhn P, Rojo L, Lila M, Raskin I. Blueberry polyphenol-enriched soybean flour reduces hyperglycemia, body weight gain and serum cholesterol in mice. *Pharmacological Research*. 2013;68(1):59-67. doi:10.1016/j.phrs.2012.11.008.

**Functional food ingredients enriched with polyphenols and/or ecdysteroids**

*Nikita Aleksandrovich Petrov, postgraduate, Federal Research Centre of Food and Biotechnology*

*Sergey Nikolaevich Zorin, PhD, Federal Research Centre of Food and Biotechnology*

*Vladimir Vitalyevich Volodin, professor, Institute of Biology of Komi*

*Svetlana Olegovna Volodina, PhD, Institute of Biology of Komi*

*Tatyana Leonidovna Kiseleva, professor, Federal Research Centre of Food and Biotechnology*

*Alla Alekseevna Kochetkova, professor, Federal Research Centre of Food and Biotechnology*

*Vladimir Kimovich Mazo, professor, Federal Research Centre of Food and Biotechnology*

*Two methodological approaches for production of antidiabetic functional food ingredients are presented: the concentrate of phytoecdysteroids from spinach leaves extract and food matrix (brown buckwheat flour), enriched with polyphenols from blueberry leaves extract.*

*Keywords: diabetes, functional food ingredients, phytoecdysteroids, spinach, polyphenols, blueberry leaves extract*

УДК 581.192.546

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРОСКОПИИ  
ВНУТРЕННЕГО ОТРАЖЕНИЯ**

*Янина Вячеславовна Саванина, кбн, нс<sup>1</sup>,  
E-mail: v.savanin@gmail.com*

*Евгений Львович Барский, кбн, внс<sup>1</sup>,  
E-mail: gene\_b@mail.ru*

*Ирина Алексеевна Фомина, соискатель<sup>2</sup>,  
E-mail: irinafomina.net@mail.ru*

*Елена Сергеевна Лобакова, дбн, проф.<sup>1</sup>  
E-mail: elena.lobakova@gmail.com*

<sup>1</sup>*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119899, Москва, Ленинские горы, д.1, корп.12, тел.: (495) 939-41-69, e-mail: gene\_b@mail.ru*

<sup>2</sup>*Департамент Федеральной службы по надзору в сфере природопользования по Центральному федеральному округу, 117105, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 39а, e-mail: irinafomina.net@mail.ru*

*Рассмотрены возможности подхода с использованием диффузионной культуры цианобактерий. при биотестировании почвы и донных грунтов, дополняющего мониторинг загрязнений водотоков. Метод оценки основан на измерении разности дихроичных отношений полос поглощения белков клеток и их внешних структур (показатель  $\Delta P$ ), регистрируемых посредством ИК-спектроскопии внутреннего отражения.*

*Ключевые слова: цианобактерии, микроводоросли диализное культивирование, водная токсикология, биотестирование, спектроскопия внутреннего отражения.*

**Введение.** Почва с неоднородностью ее органо-минеральной матрицы и сложным комплексом гуминовых веществ, представляется достаточно сложным объектом для разработки систем оценки воздействия факторов внешней среды, включая антропогенное воздействие. Гетерогенность почвенной среды по составу и свойствам

служит одним из факторов устойчивости почвенных микробных сообществ к нарушениям. Эта же гетерогенность затрудняет разработку конкретных нормативов загрязняющих веществ в почвах. Как правило, из всего многообразия действующих факторов оценивается преимущественно химическая составляющая почв [1]. Почвенные микроорганизмы играют исключительную роль в ключевых экосистемных процессах, включая процессы минерализации и трансформации разнообразных природных веществ и ксенобиотиков. Унифицированных методик, используемых в практике биологического мониторинга, пока крайне мало. Методики биотестирования часто используются в последние десятилетия для токсикологического контроля сред с неопределенным или сложным составом, включая сточные и загрязненные природные воды.

**Цель работы.** В наших экспериментах по тестированию природных водотоков выявленная в течение года зависимость гидрохимических показателей исследуемых вод от уровня поверхностного смыва [2], а также появление колиформных бактерий в пробах фитопланктона, отобранных в мае [3] привели к необходимости исследовать сопредельные среды - донный грунт, а также близлежащие почвы.

**Материалы и методы.** В качестве тест-объектов использовали культуры одноклеточной цианобактерии *Synechococcus sp.* PCC 6301 (далее в тексте *Synechococcus* 6301). В экспериментах использовали 9-11 суточную диализную (диффузионную) культуру цианобактерии, инкубируемую в мешках фирмы Serva как описано ранее [4].

При исследовании донного грунта использовали пробы из Бутовского пруда. Отбор проб проводился в июле и октябре 2013 г. [4]. Клетки тест-культуры в лабораторных условиях инкубировали при температуре 20° С и освещенности 1500 лк с пробами воды из пруда в течение 2 сут. При исследовании почвенных проб в качестве модельных были выбраны две точки, заведомо отличающиеся по уровню загрязнения: в лесу и в районе ж/д станции. Образцы почв отбирали титановым почвенным буром с глубины до 15 см. Оба образца измельчали вручную и вносили в колбы, содержащие 200 мл стерильной воды.

Состояние тест-культуры оценивали по общему числу клеток, величине окислительно-восстановительного потенциала ( $E_h$ ) среды [4]. Основным измеряемым параметром при оценке состояния клеток цианобактерии-биоиндикатора служила величина разности дихроичных отношений полос поглощения белков целых клеток цианобактерий и их внешних структур (показатель  $\Delta P$ ) при использовании метода спектроскопии внутреннего отражения в ИК диапазоне в поляризованном свете [5].

Для оценки влияния бактерий из почв и донного грунта на трансформацию содержащихся в грунте веществ использовали предварительное кондиционирование сред, как описано ранее [2]. Исследуемые пробы в данном варианте заливали стерильной водой и выдерживали 4 сут. при 20° С, и круглосуточном освещении (1500 лк) в присутствии диализной культуры цианобактерий *Synechococcus* 6301, находящейся в логарифмической фазе роста, в контрольный вариант диализную культуру не вносили. Затем в тестируемые среды помещали диализную тест-культуру, время тестирования также составляло 2 сут. Оценивали количество клеток внутри и вне диализного мешка, показатель  $\Delta P$  тест-культуры, а также величину  $E_h$  среды культивирования в качестве дополнительной характеристики роста бактерий [5].

**Результаты и их обсуждение.** Почвенные микроорганизмы являются чуткими индикаторами различных изменений в среде, при этом анализ почвенных микробных сообществ признается одним из наиболее сложных разделов локального экологического мониторинга. Одним из факторов, затрудняющих анализ, является то, что 90-95% микроорганизмов относится к «некультивируемой» группе [1]. Способность клеток, сконцентрированных в диализном мешке, обмениваться метаболитами с «внешней средой» позволяет рассматривать диализное культивирование в качестве одного из вариантов кондиционирования сред вторичными метаболитами микроорганизмов и, следовательно, как возможность «пробуждения» покоящихся форм [3].

## Секция 6. Проблемы, методы и продукты современной биотехнологии

В исходной серии опытов мы сопоставляли физиологические характеристики *Synechococcus* 6301 после 2-сут. воздействия проб воды и донного грунта из Бутовского пруда, отобранных в июле и сентябре, а также почвенных проб, заведомо отличающихся по уровню загрязнения, т.е. проверяли действие водной вытяжки из тестируемых почв. Наименьшие значения параметра  $\Delta P$  тест-культуры наблюдаются в сентябрьской пробе воды и почвенной пробе с ж/д станции. Для пробы из пруда это связано как с сезонным поверхностным смывом, так и с понижением температуры в осенний период – при этом снижается рост автохтонного фитопланктона, поглощающего некоторое количество загрязнителей [3].

Значения  $\Delta P$  при тестировании проб донного грунта, отобранных одновременно с пробами воды, как в июле так и в сентябре, несколько выше. Вода в рыболовном пруду характеризуется в значительной степени эвтрофикационными загрязнениями. Ранее было показано, что влияние сроков инкубации (2 или 5 сут.) тест-культуры в воде из Бутовского пруда в отличие от лабораторно моделированных загрязнений, содержащих отдельные вещества, статистически значимо [2].

Наличие бактерий во внешней среде на данном этапе фиксируется только по изменениям  $E_h$  среды вне диализного мешка, свидетельствующим о бактериальной активности. Наименьшее значение биомассы тест-культуры наблюдается в июльской пробе, наибольшее - в сентябрьской пробе (Табл. 1).

Известно, что часть поступающих в водоемы веществ, включая токсиканты, накапливается в донных грунтах. Содержащиеся в донном грунте бактерии способны к трансформации загрязнителей. Дополнительная серия экспериментов была связана с оценкой роста бактерий и возможного уровня трансформации бактериями токсикантов почвенного и донного грунта для чего использовали предварительно кондиционирован-ные диализной культурой среды, в контрольный вариант диализную культуру не вносили.

Таблица 1

Изменения количества клеток диализной тест-культуры и бактерий во внешней среде, значений  $E_h$  и  $\Delta P$  в зависимости от уровня загрязнения исследуемой среды

Варианты и условия опыта	Время инкубации 2 сут			
	Кол-во кл/мл в диализном мешке $\times 10^6$	Кол-во кл/мл в среде $\times 10^6$	$E_h$ , мВ	$\Delta P$
1.Контроль, среда "С"	1,4	-	240	0,32
2.Пруд Бутово, вода, июль	1,0	-	400	0,16
3.Пруд Бутово, грунт июль	1,3	-	370	0,25
4.Пруд в Бутово вода сентябрь	1,6	-	380	0,12
5.Пруд Бутово, грунт сентябрь	1,5	~ 0,1	400	0,17
6.Лесная почва	1,2	~ 0,1	320	0,19
7.Почва у ж/д насыпи	1,4	~ 0,1	300	0,13

Примечание: объем пробы (внешней среды) составлял 0,2 л; исходная концентрация клеток тест- культуры на среде "С" составляла  $10^6$  кл/мл, а величины  $E_h$  и показателя  $\Delta P$  – 350 мВ и 0,32 соответственно.

После 4 сут. инкубации исследуемых почвенных проб в водной среде в колбы помещали диализную тест-культуру. После 2 сут. инкубации изменения значений  $E_h$  среды, свидетельствующие о бактериальной активности, мы наблюдали во всех вариантах (Табл. 2). При этом на некондиционированных средах накопление бактерий не превышало  $\sim 10^7$  кл/мл, а на кондиционированных средах оно составляло до  $2-4 \times 10^7$  кл/мл.

## Секция 6. Проблемы, методы и продукты современной биотехнологии

Наименьшие значения биомассы тест-культуры *Synechococcus* 6301 ( $10^6$  кл/мл) наблюдаются при тестировании проб с ж/д станции и сентябрьских проб грунта из Бутовского пруда. Наименьшие значения  $\Delta P$  *Synechococcus* 6301 определены для почвы с ж/д станции и составляют 0,13 и 0,11 для некondиционированной и кондиционированной среды соответственно, т.е. лесная почва «благоприятнее» для диализной тест-культуры, чем почва, взятая у ж/д насыпи.

Диализная мембрана не препятствует обмену метаболитами с внешней средой. В наших экспериментах ранее было показано, что диализная культура цианобактерий в логарифмической фазе роста, используемая для кондиционирования сред, выделяет как стимуляторы роста, так и поддерживающие метаболизм бактерий низкомолекулярные углеводы [2]. Бактерии, в свою очередь оказывают влияние на трансформацию содержащихся в тестируемых почвах веществ и окислительно-восстановительный потенциал ( $E_h$ ) среды, в которой находится диализная тест-культура цианобактерий.

Снижение  $E_h$  связано с повышенным содержанием тиоловых соединений, увеличение свидетельствует об окислительных процессах. В нормальных условиях это может быть связано с использованием тиоловых соединений на биосинтетические процессы в растущей культуре. В загрязненных средах увеличение  $E_h$  до 320-400 мВ однозначно указывает на окислительные процессы. На кондиционированных диализной культурой средах значения  $E_h$  ниже на 30-50 мВ, чем в некondиционированных вариантах. Сопоставление данных  $E_h$  среды и показателя  $\Delta P$  тест-культуры для кондиционированных и некondиционированных сред свидетельствуют как о стимуляции роста почвенного микробного сообщества, так и о возможности трансформации им накапливающихся загрязнителей (Табл.2).

Таблица 2. Влияние диализной культуры на рост бактерий и трансформацию токсикантов в почве и донном грунте.

Варианты и условия опыта	Время инкубации 2 сут			
	Кол-во кл/мл в диализном мешке, $\times 10^6$	Кол-во кл/мл вне мешка, $\times 10^6$	$E_h$ , мВ	$\Delta P$
1.Контроль, среда "С"	1,4	-	240	0,32
2.Пруд Бутово, грунт июль	1,3	~ 0,1	370	0,16
3.Пруд Бутово, грунт июль	1,2	0,3	310	0,17
4.Пруд Бутово, грунт сентябрь	1,2	~ 0,1	400	0,17
5.Пруд Бутово, грунт сентябрь	1,1	0,3	330	0,16
6.Лесная почва	1,3	~ 0,1	370	0,15
7.Лесная почва	1,2	0,4	320	0,13
8.Почва у ж/д насыпи	1,0	~ 0,1	410	0,13
9.Почва у ж/д насыпи	1,4	0,2	380	0,11

Примечание: объем пробы (внешней среды) составлял 0,2 л; исходная концентрация клеток тест- культуры на среде "С" составляла  $10^6$  кл/мл, а величины  $E_h$  и показателя  $\Delta P$  – 350 мВ и 0,32 соответственно.

В вариантах 3,5, 7 и 9 среда кондиционирована диализной культурой.

В качестве контроля производился высев водной вытяжки указанных выше проб почв и донного грунта на твердые среды (глюкозо-пептон 1%). В первой серии экспериментов (2 сут.) признаки роста бактерий не обнаружены. При высеве водной вытяжки после 4 сут. инкубации исследуемых почв в водной среде зафиксировано появление колоний бактерий, при этом в вариантах, кондиционированных диализной

культурой цианобактерий *Synechococcus* 6301, наблюдается увеличение как общего количества, так и разнообразия колоний бактерий (виды не определяли).

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

Метод биотестирования с использованием диализной культуры цианобактерий, основанный на измерении разности дихроичных отношений полос поглощения белков клеток цианобактерий и их внешних структур (показатель  $\Delta R$ ), может применяться в мониторинге загрязнений как водоемов, так и сопредельных сред – донных грунтов и прилегающих почв

Использование диализной аксеничной культуры цианобактерий может быть эффективно применено как в биотестировании водной вытяжки почв, так и в анализе почвенного микробного сообщества.

Подход, основанный на измерении показателя  $\Delta R$ , дополняет существующий набор биотестов, т.к. отражает не только прямое токсикологическое воздействие отдельных загрязняющих веществ, но и косвенный эффект: взаимодействие и превращение загрязняющих веществ, влияние неконтролируемых загрязнителей, что расширяет возможности для оценки уровня загрязнения водных объектов.

### Литература

1. Труды Междунар конф. «Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред». М.:БИНОМ. Лаборатория знаний. 2013. 296 с.

2. Фомина И.А., Саванина Я.В., Барский Е.Л., Панченко Л.А. Лобакова Е.С. Сравнительная оценка уровня загрязнения водотоков методом спектроскопии внутреннего отражения в ИК-диапазоне клеток диализной культуры цианобактерий и методами химического контроля. "Проблемы региональной экологии". 2017. № 3. С. 22-26.

3. Саванина Я.В., Барский Е.Л., Фомина И.А., Лобакова Е.С. Биотестирование с использованием спектроскопии внутреннего отражения и биоиндикации. Материалы XXV Международн. конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». М.: ООО «Новые информационные технологии», 2017. С. 105-114.

4. Барский Е.Л., Саванина Я.В., Фомина И.А., Лобакова Е.С. Оценка качества водной среды с использованием цианобактерий. // Материалы XXIV Международн. конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». Изд-во ООО «Новые информационные технологии», 2015. С. 224-233.

5. Фомина И.А., Саванина Я.В., Барский Е.Л., Панченко Л.А. Лобакова Е.С. Метод ИК-спектроскопии внутреннего отражения клеток цианобактерий и их внешних структур для оценки уровня загрязнения водотоков. "Проблемы региональной экологии". 2016. № 6, с. 18-22.

6. Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л. 2002. Изменения редокс-потенциала и содержания углеводов в среде при периодическом и диализном культивировании цианобактерии *Anacystis nidulans* и бактерии *Pseudomonas diminuta*. // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. Изд-во Моск. ун-та. № 2. С. 24-29.

### Soil biotesting by using internal reflection spectroscopy

*Savanina Yanina Viatcheslavovna, PhD, School of Biology, M.V.Lomonosov Moscow State University*

*Barsky Eugenij Livovitch, PhD, School of Biology, M.V.Lomonosov Moscow State University*

*Fomina Irina Alekseevna, postgraduate*

*Lobakova Elena Sergeevna, DS, prof. School of Biology, M.V.Lomonosov Moscow State University*

*The possibilities of the approach using diffusion culture of cyanobacteria are considered. When biotesting soil and bottom soils, supplementing the monitoring of watercourses pollution. The estimation method is based on measuring the difference between the dichroic ratios of the absorption bands of cell proteins and their external structures (the  $\Delta R$  index) registered by IR internal reflection spectroscopy.*

*Keywords: cyanobacteria, dialysis cultivation, water toxicology, biotesting, IR-spectroscopy of internal reflection.*

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ  
ПРОИЗВОДНОГО ПИПЕРИДИНМОНОМЕТИЛТИАЗОЛОКСАНТИНА  
В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ**

*Гурто Роман Владимирович, канд. мед. наук., вед. научный сотрудник*

*E-mail: roman.gurto@pharmso.ru*

*Яновская Елена Анатольевна, к.б.н., младший научный сотрудник*

*E-mail: elena.yanovskaya@pharmso.ru*

*Брюшинина Ольга Сергеевна, канд. биол. наук, научный сотрудник*

*E-mail: olga.brushinina@pharmso.ru*

*НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ*

*www.pharmso.ru*

*Белоусов Михаил Валерьевич, д-р. фарм. наук, зав. кафедрой фармации ФПК и ППС*

*E-mail: myb63@mail.ru*

*ГБОУ ВПО «СибГМУ»*

*www.ssmu.ru*

*Разработана и валидирована методика количественного определения пиперидинмонометилтиазолоксантина. Проведена апробация методики количественного определения пиперидинмонометилтиазолоксантина после его однократного введения крысам самцам в дозе 35 мг/кг, выполнена оценка основных фармакокинетических параметров.*

***Ключевые слова:** пиперидинмонометилтиазолоксантин, ВЭЖХ-МС/МС, валидация, фармакокинетика*

**Введение**

В настоящем исследовании рассматривается новое лекарственное средство на основе производного пиперидинометилтиазолоксантина - 6,8-диметил-2-пиперидинометил-2,3-дигидротиазоло[2,3-F]ксантина (ДПДТК), являющееся индуктором монооксигеназной системы гепатоцитов, нормализующее детоксицирующую функцию печени и повышающее эффективность лечения хронических гепатитов различного генеза [1]. Изучение фармакокинетики являются неотъемлемой частью доклинических исследований, подтверждающих эффективность и безопасность новых лекарственных веществ [2]. Фармакокинетические исследования базируются на изучении концентраций лекарственного вещества и его метаболитов в биологических тканях и жидкостях [3, 4]. В связи с этим актуальным является разработка методик, позволяющих проводить количественную оценку целевых молекул в сложных биологических матрицах. Высокоэффективная жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия является приоритетным инструментом при постановки подобных методик [5], однако для получения достоверных данных, которые будут приняты мировым сообществом, масс-спектрометрические методики необходимо валидировать.

**Цель работы**

Целью настоящей работы явилось разработка и валидация биоаналитической методики определения пиперидинмонометилтиазолоксантина в плазме крови лабораторных животных для проведения фармакокинетического исследования.

**Материалы и методы**

Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1 августа 2016 N 199н.

Эксперименты поставлены на половозрелых конвенциональных аутбредных крысах самцах (возраст – 3 месяца, масса тела крыс 290 – 320 г), стока CD разводки отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга

Разработку метода количественного определения лекарственного вещества на основе ДПДТК в биологических образцах животных проводили хромато-масс-спектрометрическим методом. Исследование было проведено с использованием жидкостного хроматографа LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) и масс-спектрометрического детектора AB Sciex 3200 Q Trap (AB Sciex, США), оснащенного гибридной линейной ловушкой. Источник ионизации – электроспей Turbo V (ESI). Обработку хроматографических данных проводили с помощью программного обеспечения “Analyst”.

Для проведения жидкость-жидкостной экстракции использовали автоматический пробирочный встряхиватель (вортекс) MSV-3500 фирмы BioSan (Латвия). Для разделения фаз использовали центрифугу SL 16R (Thermo Scientific, США).

Количественную оценку проводили методом внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали венлафаксин.

Условия хроматографического анализа и масс-спектрометрического детектирования были оптимизированы для обеспечения максимальной чувствительности детектора в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) с использованием источника ионизации распылением в электрическом поле (ESI+). Давление газа-распылителя-азот составило (GS1) – 40 psi, турбо газа для пробоввода (GS2) – 50 psi; температура турбо газа – 400 °C; напряжение на распылителе – 2,4 кВ; газовая завеса – 10 psi. Для детектирования использовали MRM-переходы: ДПДТК – 336,0/251,0 (DP=66, EP=5,5, SE=25), венлафаксин – 278,0/58,0 (DP=26, EP=7,5, SE=35)

Для количественной оценки в плазме крови использовали следующие калибровочные образцы – 10; 25; 50; 250; 500; 1250; 2500; 3750, 5000 нг/мл. Приготовление калибровочных образцов проводили путем добавления 20 мкл калибровочных растворов разной концентрации (100; 250; 500; 2500; 5000; 12500; 25000; 37500, 50000 нг/мл) к 180 мкл плазмы. Калибровочные и рабочие растворы (1, 10, 250 мкг/мл) готовили в водно-ацетонитрильной смеси (70:30, v/v).

Валидационные процедуры проводили аналитическими циклами. Аналитический цикл состоял из холостого образца (подвергнутый обработке образец матрицы, не содержащий аналита или внутреннего стандарта (BC)), нулевого образца (обработанная матрица, содержащая BC), калибровочных стандартов для не менее чем 6 концентраций, образцов КК. Все образцы (холостые, нулевые, калибровочные и образцы КК) были подвержены обработке и экстракции как единая серия образцов в порядке, в котором они были включены в анализ. Методика прошла валидацию в соответствии с СОП лаборатории МСР/Е/13 «Валидация биоаналитического метода».

Процедура пробоподготовки плазмы крови животных для хроматографического анализа:

Образцы плазмы крыс объемом 200 мкл помещали в пластиковые пробирки объемом 2 мл, добавляли 100 мкл 50 mM NaOH, 50 мкл внутреннего стандарта (C=500 нг/мл) и 700 мкл этилацетата. Затем пробирки тщательно перемешивали на вихревом встряхивателе при 3500 об/мин в течение 5 мин и центрифугировали при 13000 g в течение 5 минут, после чего верхнюю, этилацетатную фракцию отбирали для хроматографического анализа.

Пробы крови у крыс после однократного внутрижелудочного введения ДПДТК в дозе 35 мг/кг отбирали до введения лекарственного средства и через 10, 20, 30, 40 минут и 1; 3; 6; 12 и 24 часа после введения. После эвтаназии в CO<sub>2</sub> камере у животных отбирали образцы крови (4 мл) из сердца. Образцы крови собирали в гепаринизированные пробирки и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. Отобранная плазма помещалась в пластиковые пробирки и хранилась при температуре -26 °C до проведения аналитического этапа работы.



**Результаты**

Масс-спектрометрический анализ стандартного образцов растворов аналитов с концентрацией 1 мкг/мл в режиме сканирования позволил выявить основные ионы действующих веществ ДПДТК и венлафаксина – 336,0 m/z и 278,0 m/z соответственно, а также ионы продукты, для идентификации в режиме MRM (Рис. 1 и 2). Для детекции ДПДТК и венлафаксина в режиме MRM были выбраны ионные пары 336,0/251,0 (DP=66, EP=5,5, SE=25), венлафаксин – 278,0/58,0 (DP=26, EP=7,5, SE=35). Были подобраны оптимальные условия хроматографического анализа для идентификации аналитов. Хроматографическое разделение аналита проводили на колонке ProntoSIL 120-3-C18 (ЗАО «ЭкоНова», Россия) Скорость потока была установлена 0,25 мл/мин, температура колонки 40 °С, в качестве элюента А использовали 2 mM формиат аммония (pH=2,8), элюента В – ацетонитрил. Перед хроматографическим анализом подвижную фазу дегазировали на ультразвуковой бане и фильтровали. Хроматографический анализ проводили в градиентном режиме, объем инъекции– 1 мкл. Среднее время удерживания ДПДТК составляло 1,13±0,2 мин. Образец хроматограммы ДПДТК и венлафаксина представлены на рис. 3. Анализ образцов приготовленных для процедуры валидации показал, что разработанная методика является пригодной для определения ДПДТК в плазме крови лабораторных животных в диапазоне концентраций от 10 до 5000 нг/мл. Краткий обзор результатов валидации представлен в таблице 1.

Таблица 1

Краткий обзор результатов валидации:

Диапазон калибровочной кривой:	10 – 5000 нг/мл
Коэффициент корреляции калибровочной зависимости	$r_{\text{среднее}}^2 \geq 0,99794$
Внутрисерийная точность:	93,88 – 112,49% от номинальных значений
Внутрисерийная прецизионность	2,60 – 18,64%
Межсерийная точность	99,63 – 110,76% от номинальных значений
Межсерийная прецизионность	6,87-14,80%
Нижний предел количественного определения	10 нг/мл с соотношением сигнал/шум, равным 16,15
Результаты оценки кратковременной стабильности аналита в матрице при комнатной температуре	Среднее изменение точности, %: 8,07 и -1,46
Результаты оценки кратковременной стабильности аналита в растворе при комнатной температуре	Среднее изменение точности, %: 3,18 и -0,72
Результаты оценки долговременной стабильности аналита в матрице при -24 °С (2 месяца)	Среднее изменение точности, %: 1,95 и -3,24
Результаты оценки стабильности при замораживании и оттаивании при -24 °С (2 цикла)	Среднее изменение точности, %: -9,51 и 2,44
Эффект переноса	≤ 20% величины НПКО
Эффект матрицы	Коэффициент вариации фактора матрицы: 11,1% и 11,4%
Линейность отклика при разведении в 2 раза/ 4 раза	Точность: 103,43/98,50%, КВ: 4,58/2,54%

Разработанная и валидированная методика была апробирована в эксперименте на животных после однократного внутрижелудочного введения ДПДТК с целью определения основных фармакокинетических параметров. В табл. 2 представлены результаты определения концентраций ДПДТК в плазме крови животных на протяжении 24 часов с момента введения.

Таблица 2

Значения концентраций ДПДТК в плазме крови крыс после однократного  
внутрижелудочного введения в дозе 35 мг/кг

№	Время, час
---	------------

## Секция 7. Проблемы фармакологии

	0.17	0.33	0.5	0.67	1	3	6	12	24
<b>Значения концентраций, нг/мл</b>									
<b>1</b>	6593.7	6337.2	4966.9	3861.7	2136.2	1648.6	503	679.1	269.8
<b>2</b>	3426.4	7821.6	7565.7	3220.8	2205.7	2072.3	998.7	322.3	299.9
<b>3</b>	1234.2	4212.4	3927.3	1961.4	1425.2	1082.4	455.3	661.4	307.5
<b>4</b>	1507.8	5754.1	2197.3	3168.7	2388	1263.1	786.1	493.1	289.6
<b>5</b>	3108.3	6065.2	4682.3	2972	1971.1	1482.9	740.4	580.9	278.4
<b>Mean</b>	<b>3174.08</b>	<b>6038.10</b>	<b>4667.90</b>	<b>3036.92</b>	<b>2025.24</b>	<b>1509.86</b>	<b>696.70</b>	<b>547.36</b>	<b>289.04</b>
<b>SD</b>	<b>2139.01</b>	<b>1292.76</b>	<b>1945.46</b>	<b>687.82</b>	<b>367.24</b>	<b>380.76</b>	<b>221.87</b>	<b>145.84</b>	<b>15.35</b>
<b>CV, %</b>	<b>67.39</b>	<b>21.41</b>	<b>41.68</b>	<b>22.65</b>	<b>18.13</b>	<b>25.22</b>	<b>31.85</b>	<b>26.64</b>	<b>5.31</b>

Групповой фармакокинетический профиль представлен на рисунке 4. На основании полученных значений концентраций были произведены расчеты основных фармакокинетических параметров максимальной концентрации ( $C_{max}$ ), время достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ), площадь под фармакокинетической кривой (AUC), константа элиминации ( $K_{el}$ ), клиренс (Cl) и период полувыведения ( $T_{1/2}$ ). Расчетные значения параметров приведены в таблице 3.

Таблица 3

Значения основных фармакокинетических параметров

$K_{el}$ , 1/ч	$T_{1/2}$ , ч	$T_{max}$ , ч	AUC, нг×ч/мл	MRT, ч	Cl, л/(ч·кг)
0,46	10,95	0,16	20215,26	12,12	1,27

### Выводы

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

- Разработана методика количественного определения пиперидинмонометил-тиазолоксантина с помощью масс-спектрометрического метода в диапазоне концентраций 10 – 5000 нг/мл
- Выполнена валидация масс-спектрометрической методики количественного определения пиперидинмонометилтиазолоксантина.
- Проведена оценка основных фармакокинетических параметров пиперидинмонометилтиазолоксантина после однократного внутрижелудочного введения у крыс-самцов в дозе 35 мг/кг.

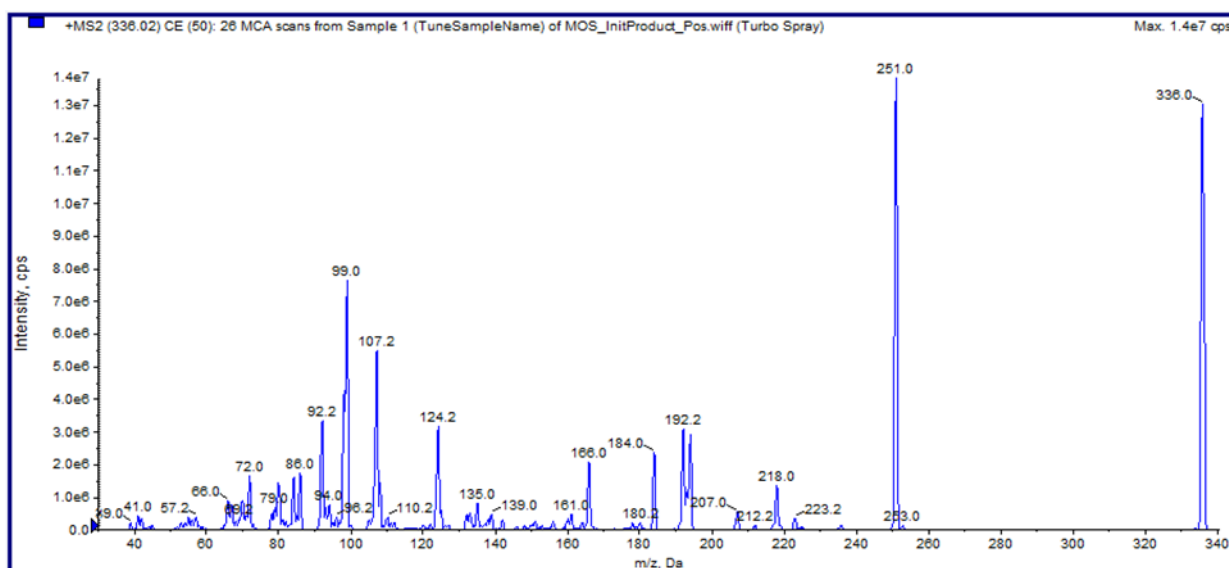


Рис. 1. Масс-спектр ДПДТК.

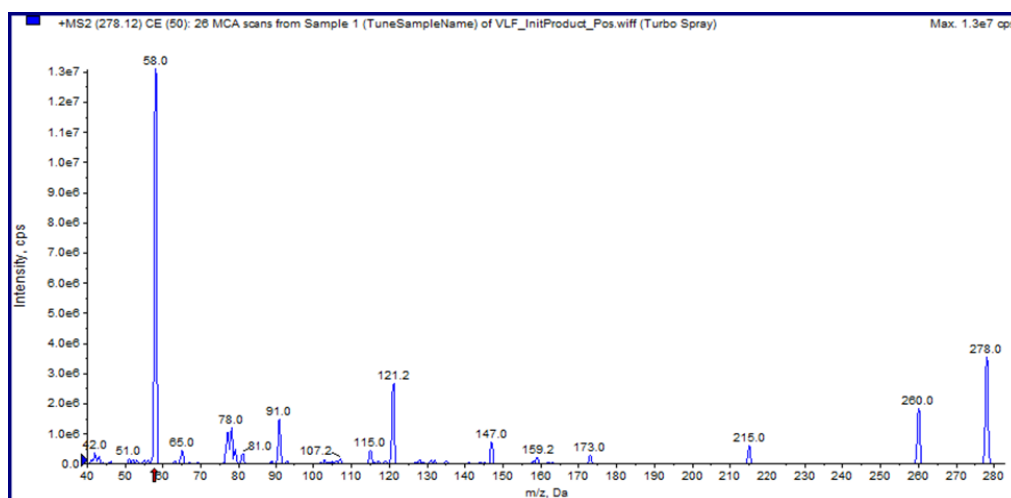


Рис. 2. Масс-спектр венлафаксина.

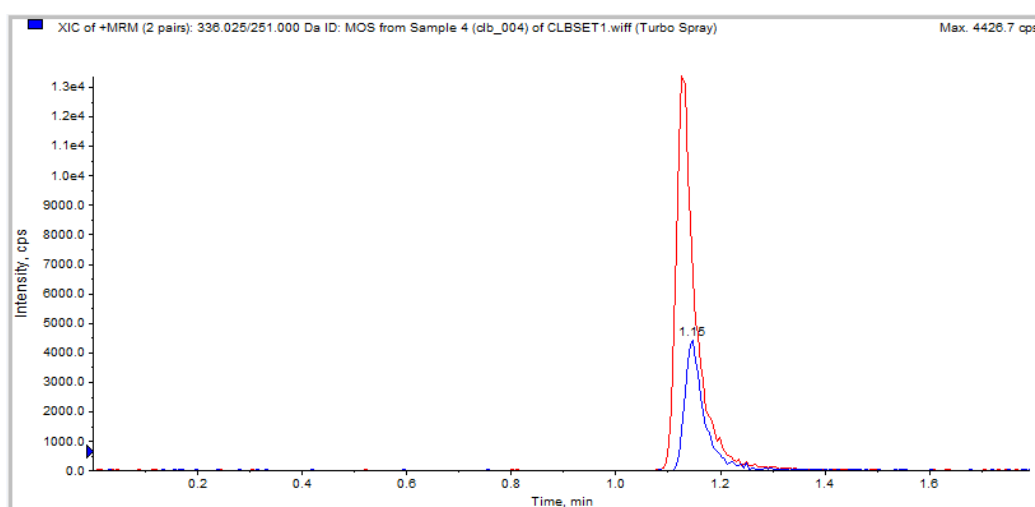


Рис. 3. Хроматограмма калибровочного образца ДПДТК концентрацией 250 нг/мл и внутреннего стандарта венлафаксина

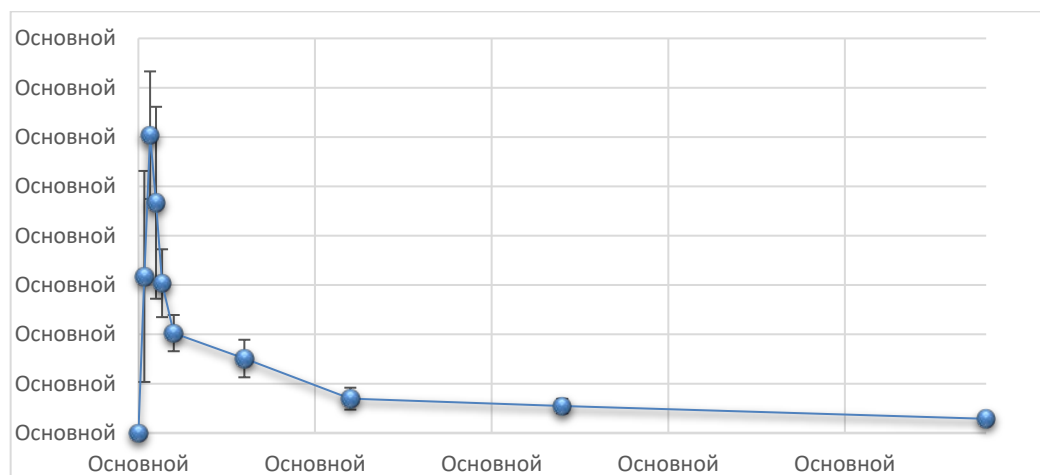


Рис. 4. Групповой фармакокинетический профиль ДПДТК в плазме крови крыс после однократного внутривенного введения в дозе 35 мг/кг

### Литература

1. Никитина И.Л. Поиск и фармакология новых индукторов монооксигеназной системы – производных азолов: Автореф. дисс. д-ра мед. наук/ И.Л. Никитина. Волгоград, 2004. – 50 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова [и др.] – Москва: Гриф и К, 2013. – 944 с.

3. Мирошниченко И.И. Основы фармакокинетики / И.И. Мирошниченко. – Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 192 с.
4. Сергиенко В.И. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение / В.И. Сергиенко, Р. Джеллифф, И.Б. Бондарева. – М.: Издательство РАМН, 2003. – 208 с.
5. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А.Т. Лебедев. – Москва: БИ-НОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 493 с.

**Investigation of anti-inflammatory activity of an innovative hexasasiosyurcytane**

Curto Roman Vladimirovich, PhD; Yanovskaya Elena Anatolievna, PhD; Brushinina Olga Sergeevna, PhD, Belousov Mikhail Valerievich, MD.

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC, Tomsk, 3 Lenina Ave.

Siberian State Medical University, Tomsk, 2 Moskovsky trakt; e-mail: rector@ssmu.ru

*Development and validation of the method for the quantitative determination of piperidinomethylthiazoloxanthine. Approbation of the procedure for the quantitative determination of piperidinomethylthiazoloxanthin after its single administration to rats in males at a dose of 35 mg / kg. The evaluation of the main pharmacokinetic parameters.*

**Key words:** piperidinomonethylthiazoloxanthine, HPLC-MS / MS, validation, pharmacokinetics.

УДК 004.81

**ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ КРОВОПОТЕРИ И ВВЕДЕНИИ  
ИОНИЗИРОВАННОЙ ЖИДКОСТИ С ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ ОВП**

*Желудев Алексей Анатольевич, аспирант, каф. госпитальной хирургии  
alexei-zheludev@yandex.ru*

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко  
394036, Воронеж, Студенческая, 10  
<http://vrngmu.ru>*

*В работе представлены материалы характеризующие антиоксидантное действие католита в эксперименте в послеоперационном периоде на показатели крови в условиях кровопотери.*

*Ключевые слова:* католит, кишечный шов, кровопотеря, ОВП.

Кровотечение – одно из самых тяжелых осложнений различных заболеваний и повреждений. Кровотечения представляют непосредственную угрозу жизни больного и всегда требуют незамедлительных действий. Несмотря на огромные успехи современной хирургии, проблема желудочно-кишечных кровотечений (ЖКК) и сегодня остается одной из наиболее актуальных. Общество несет большие социальные и экономические потери от широко распространенных заболеваний пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, осложненных кровотечением разной степени тяжести. Летальность при гастродуоденальных кровотечениях составляет 3,3–20%, а послеоперационная летальность может достигать 12,0–35,0%, увеличиваясь при рецидивах до 30,0–80,0% [1–3]. Частота острых кровотечений при синдроме Мэллори–Вейсса составляет 5–15%, общая летальность 5–10%, а частота рецидивных кровотечений 20–35%.

Доля эрозивно-геморрагических поражений верхних отделов ЖКТ составляет 2,1–15,5%, летальность достигает 50–80%. Химические ожоги слизистой оболочки верхних отделов ЖКТ обуславливают кровотечения в 10–32% случаев, при этом частота ранних кровотечений варьирует от 6,3 до 100%, поздних — от 1 до 2% [4]. Летальность при различных хирургических заболеваниях, осложненных кровотечением, остается

на высоком уровне и составляет 10-15% при язвенной болезни и достигает 50-60% — при портальной гипертензии. От современного врача требуется такое лечение, которое помогает организму пациента максимально использовать собственные механизмы физиологической защиты от острой кровопотери [2]. В этой связи наше внимание привлекли электроактивированные водные растворы (ЭАВР). Работами С.А. Алёхина, И.М. Байбекова, Д.С. Гариба, Ш.Н. Назарова (1998) показан широкий спектр уникальных биологических свойств ЭАВР, а также простота и дешевизна их приготовления. Известна их малая токсичность как при приёме внутрь, так и при инъекционном введении. Известно (В.И. Прилуцкий, В.М. Бахир, 1997 и др.), что католит оказывает анаболическое действие, стимулирует процессы роста, физиологической и репаративной регенерации, а одним из хорошо изученных эффектов анолита является антисептическое действие. Благодаря этим свойствам ЭАВР находят всё большее применение в медицинской практике. Исследование применения ЭАВР в послеоперационном периоде с острой кровопотерей ранее не проводилось.

**Цель.** Установить эффективность применения ЭАВР при острой кровопотери в эксперименте.

**Материалы и методы.** Животные содержались в стандартных условиях вивария, кормление осуществлялось в соответствии с ГОСТ Р 50258-92. Все манипуляции на животных проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123, по состоянию на 18 октября 2006 года) и Национальным стандартом РФ «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р 53434-2009 – идентичен GLP OECD). Эвтаназию экспериментальных и контрольных животных осуществляли утром, натощак. Под глубоким эфирным наркозом вскрывали грудную клетку, стерильным шприцом пунктировали сердце и забирали 5 мл крови для биохимических исследований. Исследования сыворотки крови проводились на базе ЦНИЛ ВГМА им. Н.Н. Бурденко на биохимическом полуавтоматическом анализаторе Stat Fax 1904 (США), применялись наборы реактивов фирмы «DiaSys» (Германия). При проведении экспериментов учитывались требования Комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального Комитета по биоэтике наук и этические нормы, изложенные в «Международных рекомендациях по проведению медикобиологических исследований с использованием животных» (1989г.).

В эксперименте использовано 45 крыс, самцы, массой 250-300 г., которые были распределены на следующие группы:

1-я интактные животные 15 крыс которым не проводилось каких-либо манипуляций.

2-я группа – контрольная (оперированные животные) у которых была смоделирована острая кровопотеря без применения ЭАВР 15 крыс.

3-я группа – оперированные животные у которых была смоделирована острая кровопотеря с использованием ЭАВР - 15 крыс.

Методика моделирования острой кровопотери проводилась за сутки до операции. Крысам внутрибрюшинно вводилось 15 МЕ гепарина, после чего через 5-10мин отсекали кончик хвоста. Кровь собирали в мензурку для оценки объема кровопотери. Контроль уровня гемоглобина осуществляли с помощью гемометра Сали на месте: в градуированную пробирку наливают до деления 0,1 н. раствор HCl, затем набирают кровь 0,4 мл в капиллярную пипетку и опускают ее в пробирку с 0,1 н. HCl. Пробирку несколько раз встряхивают и ставят в штатив на 5 мин. Через 5 мин гемометр поднимают до уровня

## Секция 7. Проблемы фармакологии

глаз и сравнивают цвет испытуемой жидкости с цветом стандартов. Затем к испытуемому раствору приливают по каплям дистиллированную воду, перемешивают стеклянной палочкой и сравнивают со стандартом.

Методика проведения операции: Подготовка к операции: перед операцией была выбрита передняя брюшная стенка. Подкожно ввели цефтриаксон 0,002 г, для наркоза применялся препарат «Золетил» внутривнутрибрюшинно 0,04 г. (на 300г белой крысы.)

Ход операции; передняя брюшная стенка двухкратно обработана водным раствором хлоргексидина биглюконата 0,05%. Проводилась срединная лапаротомия. Извлекалась петля тонкого кишечника. Затем произведена резекция тонкой кишки на протяжении 1,5 см и формирование кишечного анастомоза по типу конец в конец двухрядным швом по Альберту – Ламберу. Первый ряд швов накладывался викрилом 7/0, второй ряд швов полипропиленом 7/0. После наложения анастомоза брюшная стенка была ушита непрерывным обвивным брюшинно-апоневротическим, а затем и кожными швами. Учитывая данные [1] о противомикробном действии анолита брюшина и зона операции обрабатывалась анолитом рН 6,0-6,8, ОВП + 710-770 мВ.

Взятие биологического материала (кровь, стенка тонкого кишечника) проводилось на 5 и 15 сутки. Забор венозной крови для исследования осуществляли в пробирки «Vacuette», «Greiner bio-one», Австрия, для получения сыворотки (определение биохимических параметров и оценка антиоксидантного статуса) и цитратной плазмы (определение общего анализа крови и уровня тиоловых групп). Исследование проводили в день забора биоматериала. Для фиксации стенки тонкого кишечника использовался нейтральный формалин 10%.

Использовался катодит с параметрами РН = 8,5-9,0, ОВП - минус 510-570 мВ. Он применялся per os в качестве питья ежедневно в течение всего периода наблюдения вместо питьевой воды.

**Полученные результаты.** На основании результатов общего анализа крови, исследования фагоцитарной активности, уровня иммуноглобулинов была сделана попытка установить влияние лечебного процесса на процессы воспаления. В таблице 1 представлены результаты общего анализа крови во всех группах эксперимента.

Таблица 1

Динамика некоторых показателей общего анализа крови при острой кровопотери в послеоперационном периоде.

Значение	1 группа	2 группа		3 группа	
		5 сутки	15 сутки	5 сутки	15 сутки
Эритроциты 10 <sup>11</sup> /л	5,95±0,41	4,09±0,24*	5,1±0,73	5,35±0,2#	5,59±0,85
Гемоглобин г/л	124,4±7,05	85,5±3,6*	107,67±3,5*	116,5±4,2#	132,8±9,8#
Тромбоциты 10 <sup>9</sup> /л	542±57,2	350±41,2*	427,3±94,6	436,8±77,7#	561,8±50,5
Лейкоциты 10 <sup>9</sup> /л	10,4±1,94	7,7±0,7	10,8±0,7	9,12±1,08	9,94±0,2
Палочкоядерные %	1,125±0,58	1,6±0,6	3±0,7*	1,2±0,3	1,6±0,5#
Сегментоядерные %	29,5±4,9	10,3±2,4*	18,3±3,6*	17,2±3,8*#	21,2±4,03
Моноциты %	1,5±1,05	7,3±2,4*	5,2±0,6*	10±1,4*	10,8±1,6*#
Лимфоциты %	67,75±2,86	79,7±4,3*	68,8±2,3	67,7±4,5#	70,2±5,1
СОЭ мм/ч	1,25±0,49	4,6±1,65*	1,6±0,7	2,5±0,8#	7,4±2,1*#

Примечание:

\* отличия значений 2 и 3 групп от интактной достоверны (уровень значимости P<0,05)

# отличия значений 3 группы от 2 группы достоверны (уровень значимости P<0,05)

Во 2 группе на 5 сутки в послеоперационном периоде уровень эритроцитов уменьшился в 1,5 раза без применения католита. На 15 сутки уровень эритроцитов в 3 группе увеличился в 1,3 по сравнению со 2 группой. Так же уровень гемоглобина на 5 сутки уровень гемоглобина уменьшился по сравнению с 1 группой на 31,3% и на 15 сутки уровень гемоглобина уменьшился по сравнению с 1 группой на 13,4%. При применении католита уровень гемоглобина на 5 сутки в 3 группе увеличился по сравнению со 2 группой на 36% и на 15 сутки также уровень гемоглобина в 3 группе увеличивается 23,5% по сравнению со 2 группой. Уровень тромбоцитов на 5 сутки во 2 группе уменьшается в 1,5 раза в послеоперационном периоде. При применении католита уровень тромбоцитов на 5 сутки в 3 группе увеличивается по сравнению со 2 группой в 1,2 раза. Во 2 группе уровень палочкоядерных лейкоцитов увеличивается по сравнению с 1 группой в 1,9 раза. В 3 группе при применении католита уровень палочкоядерных лейкоцитов уменьшается на 1,9 раза. Уровень сегментоядерных лейкоцитов уменьшается на 5 во 2 группе по сравнению с 1 группой в 2,9 раза и на сутки во 2 группе уменьшается в 1,6 раза. При применении католита на 5 сутки уровень сегментоядерных лейкоцитов уменьшается по сравнению с 1 группой в 1,7 раза. При применении католита на 5 сутки в 3 группе уровень сегментоядерных лейкоцитов увеличивается в 1,7 раза по сравнению со 2 группой.

Моноциты во 2 группе на 5 сутки увеличиваются в 5 раз и на 15 сутки увеличиваются в 3,5 раза по сравнению с 1 группой. И при применении католита в 3 группе на 5 сутки увеличиваются в 6,7 раза и на 15 сутки 7,2 раза по сравнению со 2 группой.

Уровень лимфоцитов на 5 сутки во 2 группе на 5 сутки увеличивается на 18% по сравнению с 1 группой. На 5 сутки в 3 группе уровень лимфоцитов уменьшается на 14,5% по сравнению со 2 группой. На 5 сутки в 3 группе уровень СОЭ уменьшается в 1,8 раза по сравнению со 2 группой затем увеличивается на 15 сутки в 4,6 раза по сравнению со 2 группой.

Уровень СОЭ на 5 сутки 2 группы увеличивается в 3,7 раза по сравнению с 1 группой и в 3 группе 15 сутки увеличивается в 6 раз по сравнению с 1 группой.

Таблица 2

Динамика показателей фагоцитарной активности при медикаментозной коррекции заживления кишечного анастомоза.

1 группа	2 группа		3 группа		
	5 сутки	15 сутки	5 сутки	15 сутки	
Фаг. активность	58,9±10,6	49±3,8	29,3±6,6*	45,3±7,3	13,8±2,8*#
Фаг. индекс	8,1±1,8	7,6±1,9	3,85±0,49*	5,4±0,9	2,86±0,7*

Примечание:

\* отличия значений 2 и 3 групп от интактной достоверны (уровень значимости  $P < 0,05$ )

# отличия значений 3 группы от 2 группы достоверны (уровень значимости  $P < 0,05$ ).

Фагоцитарная активность во 2 группе на 15 сутки уменьшается в 2 раза по сравнению с 1 группой. И в 3 группе фагоцитарная активность на 15 сутки уменьшается в 4,3 раза. В 3 группе на 15 сутки фагоцитарная активность меньше в 1,4 раза по сравнению со 2 группой.

Фагоцитарный индекс во 2 группе 15 сутки уменьшается в 2,1 раза по сравнению с 1 группой, а на 15 сутки в 3 группе уменьшается в 2,8 раза по сравнению со 2 группой.

Таблица 3

Динамика некоторых показателей гуморального иммунитета при медикаментозной коррекции заживления кишечного анастомоза.

Показатели мг/дл	1 группа	2 группа		3 группа	
		5 сутки	15 сутки	5 сутки	15 сутки
Иммуноглобулин G	40,18±0,79	98,3±0,73*	143,3±14,3*	84±2,5*#	103,3±5,1*#
Иммуноглобулин A	13,49±0,47	24±0,25*	8,67±2,87*	46,3±5,2*#	23±3,8*#

## Секция 7. Проблемы фармакологии

Иммуноглобулин М	3,24±0,12	11±0,76*	9,67±1,43*	16±2,5*#	15,7±1,4*#
------------------	-----------	----------	------------	----------	------------

Примечание:

\* отличия значений 2 и 3 групп от интактной достоверны (уровень значимости  $P < 0,05$ )

# отличия значений 3 группы от 2 группы достоверны (уровень значимости  $P < 0,05$ )

На 5 сутки 2 группы уровень иммуноглобулина G увеличивается в 3,4 раза и на 15 сутки тоже увеличивается в 3,6 раза по сравнению с 1 группой. В 3 группе на 5 сутки уровень иммуноглобулина G увеличивается 2,1 раза и на 15 сутки увеличивается в 2,6 раза по сравнению с 1 группой. На 5 сутки 3 группы уровень иммуноглобулина G уменьшается в 1,2 раза и на 15 сутки уменьшается в 1,4 раза по сравнению со 2 группой.

Уровень иммуноглобулина А на 5 сутки 2 группы увеличивается в 1,8 раза и на 15 сутки увеличивается в 1,6 раза по сравнению с 1 группой. В 3 группе уровень иммуноглобулина А на 5 сутки увеличивается в 3,4 раза и на 15 сутки увеличивается в 1,7 раза по сравнению с 1 группой. На 5 сутки в 3 группе уровень иммуноглобулина А увеличивается в 1,9 раза и на 15 сутки увеличивается в 2,6 раза по сравнению со 2 группой.

Уровень иммуноглобулина М на 5 сутки 2 группы увеличивается в 3,4 раза и на 15 сутки в 3 раза по сравнению с 1 группой. В 3 группе уровень иммуноглобулина М на 5 сутки увеличивается в 4,9 раза и на 15 сутки увеличивается в 4,8 раза по сравнению с 1 группой. На 5 сутки в 3 группе увеличивается в 1,5 раза, на 15 сутки в 1,6 раза по сравнению со 2 группой соответственно.

**Выводы:** Автор считает, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

- Католит положительно влияет на эритропоз в послеоперационном периоде.
- Католит снижает фагоцитарную активность в условиях острой кровопотери в послеоперационном периоде.
- Католит положительно влияет на гуморальный иммунитет у анемизированных крыс.

### Литература

1. Казанский медицинский журнал, 2010 г., том 91, № 3 Об эффективности современных методов лечения больных с острыми кровотечениями из верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Игорь Сергеевич Малков, Гузелия Рависевна Халикова
2. Современные технологии лечения острой кровопотери Н.А. Кузнецов.
  1. Вербицкий В.Г., Кузьмич А.А. Консервативное лечение желудочно-кишечных кровотечений / Хирургич. гастроэнтерол. — М.: Медицина, 2001. — С. 94–108.
  2. Гостищев В.К., Евсеев М.А. Острые гастродуоденальные язвенные кровотечения: от стратегических концепций к лечебной тактике. — М.: Анта-Эко, 2005. - 352 с.
  3. Евсеев М.А. Антисекреторные препараты в неотложной хирургической гастроэнтерологии. — М., 2009. — 173 с.
  4. Луцевич Э.В., Белов И.Н., Семёнов М.В. Пятидесятилетний опыт лечения больных с желудочно-кишечными кровотечениями: с эндоскопией и без неё / Проблемы неотложной помощи в клинической практике. — М.: Талант, 2001. — С. 52–57.
  5. Тимен Л.Я., Хаит Б.А., Черепанин А.И. Кровопотеря. Возможности эндоскопического гемостаза и значение эндоскопии в выборе тактики при лечении гастродуоденальных кровотечений // Мед. консульт. — 1995. — №3. — С. 8–15.

### **Blood indicators in blood potential and introduction of ionized liquid with negative orp**

*Zheludev Alexey Anatolyevich, graduate student*

*The paper presents materials characterizing the antioxidant effect of catholyte in an experiment in the postoperative period on blood indices in conditions of blood loss.*

*Key words: catholyte, intestinal suture, hemorrhage, ORP.*



УДК 616-036.14:615.322:581.19

**СКРИНИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЖИВОТНЫХ В ОНКОФАРМАКОЛОГИИ. ПРАВО НА СУЩЕСТВОВАНИЕ**

*Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., заведующий лабораторией  
e-mail: zep0929@mail.ru*

*Разина Татьяна Георгиевна, д.б.н., старший научный сотрудник  
e-mail: razinatg22@gmail.com*

*Амосова Евдокия Наумовна, д.б.н., старший научный сотрудник  
e-mail: amosova.en@pharmso.ru*

*Лопатина Ксения Александровна, к.м.н., научный сотрудник  
k.lopatina@pharmso.ru*

*Рыбалкина Ольга Юрьевна, к.б.н., научный сотрудник  
e-mail: olgatomsk87@gmail.com*

*Сафонова Елена Андреевна, к.м.н., научный сотрудник  
e-mail: safonova\_7@mail.ru*

*ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга»  
www.pharmso.ru*

*В статье обсуждается эффективность систем скрининга потенциальных противоопухолевых препаратов *in vitro* и *in vivo*. Отдельное внимание уделяется системе отбора новых препаратов для повышения эффективности цитостатической терапии злокачественных опухолей.*

*Ключевые слова: скрининг противоопухолевых препаратов, цитостатическая терапия, средства природного происхождения*

Со времен начала развития экспериментальной онкологии на разработку систем скрининга веществ с противоопухолевой активностью направлены усилия исследователей всего мира. Постоянное совершенствование эффективности отбора на этапе доклинического изучения новых субстанций связано с оптимизацией скрининга с целью максимального выявления средств, ингибирующих развитие опухолей. К сожалению, именно несовершенство существующих систем доклинического скрининга является одной из причин провала потенциальных противоопухолевых препаратов на стадии клинических испытаний [1].

В настоящее время можно выделить три этапа отбора противоопухолевых агентов: предварительный скрининг *in vitro*; изучение влияния препаратов на развитие перевиваемых опухолей животных; исследование на индуцированных опухолях животных и гетеротрансплантатах человека на бестимусных мышях [2].

Что касается применения культур клеток и тканей для скрининга противоопухолевых препаратов *in vitro*, то наибольшее развитие эта методология получила в профильных ведущих зарубежных центрах и институтах. В посвященном этой проблеме обзоре Р.Н. Мигалеевой с соавт. (2013) приводятся ссылки на 67 статей, и авторы всех – только зарубежные исследователи [1]. Простота технического исполнения экспериментов с использованием клеточных культур позволяет поставить первичный скрининг на поток, рационально его организовать и существенно снизить экономические затраты. Так, в Национальном Институте Рака (США) с 1990 года действует протокол, включающий тестирование веществ на 60 клеточных линиях опухолей человека различного гистогенеза [3]. Каждая из используемых в этом тесте линий позволяет определить специфический ответ исследуемого вещества, который впоследствии можно сравнить с эффектами пре-

паратов с уже известной биологической активностью и, следовательно, сделать предположения о механизмах действия новых объектов. Все используемые в протоколе 60 клеточных линий объединены в 9 групп, в зависимости от типов злокачественных новообразований, из которых они получены: лейкоз, опухоли центральной нервной системы, рак почки, легких, предстательной железы, толстой кишки, яичников, молочной железы, меланомы. Однако тестирование на полной панели начинается лишь в том случае, когда подавление роста или гибель клеток *in vitro* отмечается хотя бы на одной из высокочувствительных линий: MCF-7 (карцинома молочной железы), NCI-H460 (карцинома легких) и SF-268 (глиома).

Какой же практический выход от использования этой системы быстрого скрининга потенциальных противоопухолевых препаратов? Сообщается, что ежегодно в Национальном Институте Рака в тестировании участвует около 2500 соединений, но до скрининга на животных доходит лишь 2 %. Можно предположить, что часть соединений, которые могут проявить активность *in vivo*, на первом этапе могут быть ошибочно отсеяны. Таким образом, вещества, показавшие высокую эффективность на клеточных линиях, не всегда демонстрируют таковую на животных.

Поскольку по многим параметрам монослойные культуры клеток отличаются от опухолей, развивающихся в организме, применяются и разрабатываются модели, позволяющие частично имитировать их микроокружение, учитывать такие факторы, как межклеточная коммуникация, взаимодействие клеток с трехмерным внеклеточным матриксом [4]. Сведения о возможностях этого направления исследований с использованием псевдодвухмерных моделей, модифицированной камеры Бойдена, микрофлюидных систем, трехмерных моделей клеточных культур, их достоинства и недостатки хорошо представлены в обзоре [1].

Обобщая сказанное, следует констатировать, что ни одна из модельных систем *in vitro* не позволяет в полной мере воспроизводить развитие опухоли *in vivo*, этим и объясняется необходимость 2 и 3 этапа доклинических исследований потенциальных цитостатиков.

В Российской Федерации разработаны Руководства по проведению доклинических исследований новых фармакологических веществ и лекарственных средств, регламентирующие изучение их безопасности и эффективности [5, 6]. Ведущие ученые – специалисты в области экспериментальной и клинической онкологии участвовали в создании Методических рекомендаций по изучению противоопухолевой активности лекарственных средств [7,8], по изучению фотоиндуцированных противоопухолевых свойств лекарственных средств [9], соединений для лечения гормоночувствительных опухолей и опухолей головного мозга [10, 11], способных ингибировать рецидивирование [12]. Постоянно продолжается работа по оценке прогностической значимости моделей перевиваемых опухолей, на которых полученные в эксперименте результаты коррелируют с наблюдаемыми в клинике.

Следует отметить, что все предложенные системы скрининга направлены на выявление цитостатиков, но не позволяют отбирать средства, повышающие эффективность существующих методов лечения злокачественных новообразований и ингибирующие развитие процесса диссеминации опухолей. Определенный вклад в разработку общих подходов к выявлению веществ этой группы внесли ученые Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ [13, 14, 15]. Подробное описание этой системы скрининга, позволяющей не только определить действие тестируемых объектов на развитие опухолей и эффективность цитостатического и хирургического лечения, но и оценить возможность снижения токсических проявлений химиотерапии, приводится в «Методических рекомендациях по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повы-

шать эффективность цитостатической терапии опухолей» [13]. Цель создания этого документа – получение сопоставимых и информативных результатов, полученных в различных научных коллективах.

В НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга в течение ряда лет ведется исследование растений Сибири и Дальнего Востока, биологически активных соединений природного происхождения, с целью создания препаратов, которые могут быть использованы в комплексной терапии больных со злокачественными новообразованиями [4, 9]. В таблице демонстрируется действие некоторых экстрактов и выделенных из растений биологически активных веществ на развитие карциномы легких Льюис при их изолированном введении и на фоне цитостатика циклофосфана. Преимуществом этой системы скрининга является возможность определения того этапа, применительно к клинической ситуации, где проявившееся активное средство может быть использовано с наибольшим позитивным эффектом, а также стратегии углубленного изучения механизмов наблюдаемых эффектов у препаратов – кандидатов на клинический этап исследования. Так, экстракты плодов рябины обыкновенной и аронии черноплодной, обогащенные антоцианами, игибируя рост опухоли и развитие процесса диссеминации, повышали эффективность цитостатической терапии, при этом в дополнительных исследованиях проявили способность препятствовать развитию доксорубин-индуцированного анемического синдрома, мобилизуя функциональную активность клеток-предшественников эритропоэза. Таким образом, использование названных экстрактов в период цитостатического лечения может способствовать снижению его гематотоксичности. Водорастворимые полисахариды мать-и-мачехи обыкновенной и аира болотного, увеличивая эффективность циклофосфана, проявили свойства снижать гематологическую и гастроинтестинальную токсичность, уменьшали активность печеночных ферментов, могут быть исследованы в онкологической клинике как снижающие побочное действие химиотерапии опухолей. Обращаем внимание, что выявление подобных корректорных свойств препаратов возможно только с использованием экспериментов на животных с трансплантируемыми опухолями.

А приверженцам перехода в системах отбора на модели *in vitro* либо к компьютерному прогнозированию, считающим, что фармакологический скрининг на животных – это «идеология и методология прошлого века, затратная и малоэффективная», «пристрелка в небо», «попытка – не пытка», «приятная случайность», «метод проб и ошибок», напомним, что других доказательных и объективных методических подходов к доклиническим исследованиям любых лекарственных препаратов не существует. Фармакологический скрининг на животных был, есть и будет.

### Литература

1. Мингалеева Р.Н., Соловьева В.В., Блат Н.Л., Ризванов А.А. Применение культур клеток и тканей для скрининга противоопухолевых препаратов *in vitro* // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – Т. VIII, № 2. – 2013. – С.20-28.
2. Герасимова Г.К., Апрышко Г.Н. Развитие систем и методов отбора веществ с противоопухолевыми свойствами в РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН // Экспериментальная онкология на рубеже веков / Под ред. М.И.Давыдова, А.Ю.Барышникова. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, 2003. – С. 59-84.
3. Shoemaker R.H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat. Rev. Cancer*. 2006; 6(10): 813–23.
4. Elliott N.T., Yuan F. A review of three-dimensional *in vitro* tissue models for drug discovery and transport studies. *J. Pharm. Sci.* 2010; 100(1): 59–74.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под. общ. ред. А.Н.Миронова. – М.: Гриф и К, 2013. – 944 с.
7. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – С.637-651.
8. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению противоопухолевой активности лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – С.642-656.
9. Якубовская Р.И., Казачкина Н.И., Кармакова Т.А. и др. Методические рекомендации по изучению фотоиндуцированных противоопухолевых свойств лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2013. – С.657-671.
10. Смирнова З.С., Герасимова Г.К., Родионова Ю.В. и др. Экспериментальные опухоли мозга в системе доклинического изучения новых противоопухолевых препаратов // Высокие технологии в онкологии. – Казань, 2000. – Т.1. – С.214-217.
11. Смирнова З.С., Герасимова Г.К., Гарин А.М., Соколова А.С. Методические указания по изучению специфической активности фармакологических веществ, предлагаемых для лечения гормонозависимых опухолей // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – С.652-668.
12. Козлов А.М., Перетолчина Н.М., Киселев С.М. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению средств, способных ингибировать рецидивирование злокачественных опухолей // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – С.669-674.
13. Зуева Е.П., Козлов А.М., Герасимова Г.К. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии опухолей // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. – С.674-682.
14. Дыгай А.М., Зуева Е.П., Разина Т.Г. и др. Система отбора природных соединений для использования в онкологической практике. Опыт работы института фармакологии СО РАМН. Тихоокеанский медицинский журнал. 2010. № 2. С.10-15.
15. Растения в комплексной терапии опухолей / Е.Д.Гольдберг, Т.Г.Разина, Е.П.Зуева, Е.Н.Амосова, С.Г.Крылова, В.Е.Гольдберг. М.: Изд-во РАМН, 2008. 232 с.

### **Animal screening in oncopharmacology. The right to existence**

*Zueva Elena Petrovna, PhD, Razina Tatiana Georgievna, Ph.D., Amosova Evdokiya Naumovna, Ph.D., Lopatina Ksenya Aleksandrovna, PhD; Rybalkina Olga Yuryevna, Ph.D., Safonova Elena Andreevna, Ph.D.*

*Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC, Tomsk, 3 Lenina Ave.; e-mail: pharm@tnimc.ru*

*The article discusses the effectiveness of screening systems for potential antitumor drugs in vitro and in vivo. Special attention is paid to the system of selection of new drugs for increasing the effectiveness of cytostatic therapy of malignant tumors.*

*Key words: screening of antitumor drugs, cytostatic therapy, natural origin*

Влияние фитопрепаратов и их биологически активных веществ (БАВ) на развитие карциномы легких Льюис и эффективность цитостатического лечения. Фармакологическая активность

Название растения (химический состав), изученные фитопрепараты и БАВ	Ингибирующее влияние		Повышение эффективности химиотерапии		Фармакологическая активность (собственные наблюдения; *по данным литературы)
	на опухоль	на метастазы	на опухоль	на метастазы	
Мать-и-мачеха обыкновенная (горькие гликозиды, <u>три萜пеновые сапонины</u> , органические кислоты (галловая, яблочная, винная, аскорбиновая), стеролы (ситостерин, стигмастерин и др.), флавоноиды (рутин, <u>гиперозид</u> ), полисахариды (инулин, декстрин), <u>каротиноиды</u> ) Полисахариды (в/бр)	-	-	+	+	*Противовоспалительная, антибактериальная, <u>спазмолитическая</u> .  Повышение активности клеток п/узлов, <u>снижение гематокритности, гепатопротекторная</u> активность, снижение гастроинтестинальной токсичности, снижение <u>генотоксичности</u> .
Аир болотный (эфирное масло, дубильные вещества, смолы, органические кислоты, стеролы, флавоноиды, алкалоиды, углеводы, аскорбиновая кислота, гликозид акорин, кумарины, сапонины) Экстракт аира болотного (рег. д.) Полисахариды (рег. д.) Полисахариды (в/бр)	+	-	-	-	*Противовоспалительная, антиоксидантная, антиагрегантная, <u>гиполипидемическая</u> , <u>антипролиферативная</u> активность.  Повышение активности клеток п/узлов, гемостимулирующая активность, <u>гиполипидемическая, гепатопротекторная, гастропротекторная</u> , анти PDL-1 на клетках опухоли
Рябина обыкновенная, плоды (фенольные соединения - фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, в т.ч. антоцианы, дубильные вещества; полисахариды - лектитовые вещества и свободные сахара; <u>пигментные</u> соединения; органические кислоты; микро- и макроэлементы, комплекс витаминов - С, В <sub>1</sub> , Е, <u>каротиноиды</u> ). Экстракт плодов рябины обыкновенной	+	+	-	+	*Желчегонное, мочегонное, <u>противо-воспалительное</u> , кровоостанавливающее, <u>капилляроукрепляющее</u> , вяжущее, легкое слабительное, потогонное действие, нормализация обмена веществ, понижение кровяного давления, повышение свертываемости крови, снижение содержания холестерина.  Препятствует развитию <u>доксорубин</u> -индуцированного анемического синдрома; мобилизация <u>эритроидных</u> клеток-предшественников костного мозга, угнетенного цитостатическим воздействием.
Арония черноплодная, плоды (витамины группы В, С, А, Е, К, Р, бета-каротин, сахара, дубильные вещества, антацины, микроэлементы, органические кислоты, пектины, флавоноиды, катехины). Экстракт плодов аронии черноплодной	+	+	+	+	* Антиагрегантное, <u>капилляроукрепляющее</u> , спазмолитическое, гипотензивное, диуретическое, желчегонное, <u>патопротекторное</u> , <u>гастропротекторное</u> , <u>бактериостатическое</u> действие, снижение содержания холестерина.  Препятствует развитию <u>доксорубин</u> -индуцированного анемического синдрома; мобилизация <u>эритроидных</u> клеток-предшественников костного мозга, угнетенного цитостатическим воздействием.

Примечание: «+» - наличие или « - » отсутствие ингибирующего эффекта; ст. – стимуляция роста опухоли или метастазов

УДК 577.114.5:616-006.6:547.458

### ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ГЕКСАЗОИЗОВЮРЦИТАНА

Лопатина Ксения Александровна, к.м.н., научный сотрудник  
k.lopatina@pharmso.ru

Крылова Светлана Геннадьевна, д.б.н., ведущий научный сотрудник  
krylova5935@gmail.com

Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., заведующая лабораторией  
zer0929@mail.ru

Поветьева Татьяна Николаевна, д.б.н., проф., ведущий научный сотрудник  
ptn@bk.ru

Нестерова Юлия Владимировна, к.м.н., научный сотрудник  
nes-yuliya@yandex.ru

Афанасьева Ольга Геннадьевна, научный сотрудник  
olgaafanasjeva@yandex.ru

Кульпин Павел Валерьевич, младший научный сотрудник  
pavellevar@inbox.ru

Сулов Николай Иннокентьевич, д.м.н., проф., заведующий лабораторией  
nis-51@mail.ru

ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга»;

www.pharmso.ru

*На модели острого каррагенинового воспаления у крыс показано, что тиовюрцин обладает противовоспалительным действием. Препарат не проявлял эффективности в условиях хронического пролиферативного воспаления.*

*Ключевые слова: тиовюрцин, воспаление, противовоспалительное действие, анальгетик, гексаазоизовюрцитан*

**Введение.** Многие острые и хронические заболевания, травмы и медицинские вмешательства сопряжены с болью, резко снижающей качество жизни и требующей применения анальгетических средств. Более 90% заболеваний ассоциированы с болью, именно болевой синдром является одной из причин обращения людей за врачебной помощью [1, 2]. В ИПХЭТ СО РАН были синтезированы молекулы – перспективные кандидаты на лекарственное средство на основе нового фармакофора – производных 2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло [5,5,0,03,11,05,9] додекана, из которых после скрининговых исследований выбрано для дальнейшего изучения соединение 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,03,11,05,9]додекана (тиовюрцин) для создания на его основе конкурентоспособного препарата. На моделях острой висцеральной и соматической глубокой боли тиовюрцин проявлял выраженную анальгетическую активность, преимущественную относительно референс-препарата диклофенака [3]. Потенциальные анальгетические препараты могут оказывать тормозящее влияние на развитие любого рода воспалительных реакций вне зависимости от характера повреждающего фактора, фазы и стадии процесса. При оценке противовоспалительной активности анальгетика любого происхождения целесообразным является исследование его действия на моделях острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления [4, 5].

**Цель работы.** Целью настоящей работы явилось исследование антиэкссудативной и антипролиферативной активности тиовюрцина на моделях острого каррагенинового и хронического пролиферативного воспаления.

**Материалы и методы.** Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол IACUC № 96092015) и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1 августа 2016 N 199н.

В работе были использованы крысы стока CD, полученные из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ.

Первая серия экспериментов проведена на 54 аутбредных крысах-самцах. Хроническое пролиферативное воспаление моделировали имплантацией под кожу спины стерильного ватного тампона массой 13 мг. Тиовюрцин (100, 200 мг/кг) и диклофенак натрия (5 мг/кг) вводили внутривентрикулярно через зонд однократно ежесуточно в течение 7 дней. Животные контрольных групп получали растворители (воду очищенную и 9 % ДМСО) в аналогичном объеме и режиме. Первое введение тестируемых веществ производили за 1 ч до имплантации. На 8-е сутки животных забивали, ватные тампоны с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах и высушивали в термостате до постоянной массы при 37°C. Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой ватного тампона. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулемы.

Следующие серии экспериментов проведены на 75 аутбредных крысах-самцах. Острое воспаление вызывали инъекцией в апоневроз задней лапы раствора каррагенина [5]. Тиовюрцин применяли внутривентрикулярно через зонд однократно ежесуточно в дозах 50 и 100, 200 мг/кг профилактическим курсом в течение 4 дней (2 серия), последнее введение приходилось за 1 ч до инъекции флогогена. В 3 серии экспериментов тиовюрцин вводили внутривентрикулярно через зонд 4-кратно ежесуточно в дозе 200 мг/кг, последнее

введение приходилось за 1 ч до инъекции флогогена. В качестве референс препарата использовали диклофенак натрия в терапевтической дозе 5 мг/кг в аналогичном режиме введения. Средний прирост отека лапы крысы (%) определялся на пике воспаления через 3 ч (2 серия) и через 1 ч (3 серия) после введения флогогена. Оценивали средний прирост экссудативного отека лапы животного (по разнице между лапой с отеком и лапой без отека) на пике воспаления через 1 и/или 3 ч после введения флогогена [5].

Для всех данных применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего. Межгрупповые различия оценены с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. При  $p < 0,05$  различия считали достоверными.

**Результаты.** При развитии хронического пролиферативного воспаления у животных контрольных групп, получавших воду очищенную и 9% ДМСО, не отмечалось статистически значимых отличий по основным параметрам развития гранулематозно-фиброзной ткани (табл. 1). На фоне выраженных пролиферативных процессов диклофенак натрия (5 мг/кг) способствовал значительному снижению гранулематозной инфильтрации. В группе животных, получавших НПВС, отмечались минимальные значения массы сырой ( $P < 0,01$ ) и высушенной гранулемы ( $P < 0,05$ ), экссудативного отека ( $P < 0,01$ ). Референс-препарат эффективно угнетал гранулематозную пролиферацию на 39,4% ( $P < 0,05$ ) относительно водного контроля. При этом снижение экссудации составило 26,9% ( $P < 0,01$ ) относительно аналогичного значения у животных, получавших дистиллированную воду (табл. 1).

Таблица 1. Влияние тиовюрцина на экссудативную и пролиферативную фазы воспаления в тесте «фетровая гранулема» у крыс.

Группа наблюдения, доза (мг/кг) (количество животных)	Масса сырой гранулемы ( $X \pm m$ ), мг	Масса сухой грануляционно-фиброзной ткани ( $X \pm m$ ), мг	Разница между массой сухой гранулемы и тампона ( $X \pm m$ ), мг	Масса экссудата ( $X \pm m$ ), мг
1. Контроль, вода очищенная (n=10)	297,90± 24,19	116,80± 15,40	103,80± 15,40	181,70± 9,94
2. Контроль, 9% ДМСО, (n=9)	276,33± 21,38	120,22± 13,23	107,22± 13,23	155,67± 16,88
3. Диклофенак 5 (n=11)	208,82± 19,47 1-3P<0,01 2-3P<0,05	75,91± 11,57 1-3P<0,05 2-3P<0,01	62,91± 11,57 1-3P<0,05 2-3P<0,01	132,91± 8,51 1-3P<0,01
4. Тиовюрцин, 100 (n=11)	259,55± 31,17	99,22± 17,19	86,36± 17,19	160,18± 14,25
5. Тиовюрци, 200 (n=11)	254,73± 21,26	94,00± 10,01	78,36± 9,08	164,64± 15,25 3-5P<0,05

Примечание: в таблице перед уровнем значимости P указаны номера сравниваемых групп

Введение тиовюрцина в дозах 100 и 200 мг/кг приводило к уменьшению сухой грануляционно-фиброзной массы в 1,2 и 1,3 раза относительно контроля. Однако данное изменение носило характер тенденции.

На модели острого каррагенинового воспаления у крыс тиовюрцин, назначаемый превентивно, проявил умеренный противовоспалительный эффект в дозе 200 мг/кг (рис. 1). Профилактическое введение тиовюрцина в дозе 200 мг/кг приводило к статистически достоверному снижению массы воспаленной лапы и экссудативного отека ( $P < 0,05$ ) относительно соответствующих значений контрольной группы в раннюю фазу развития экссудации (через 1 ч после введения каррагенина) (рис. 1), при этом противовоспалительный эффект тиовюрцина (200 мг/кг) через 3 ч после введения каррагенина сохранялся и не отличался от такового в группе, получавшей диклофенак.

**Выводы.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

- На модели острого воспаления у крыс, вызванного субплантарным введением

карагенина, было выявлено противовоспалительное действие нового препарата тиовюрцин в дозе 200 мг/кг.

- Противовоспалительный эффект тиовюрцина был выявлен на ранней фазе воспаления (через 1 час после введения флогогена) и сохранялся на пике воспаления (через 3 часа после введения карагенина).

- Тиовюрцин при семидневном лечебном внутрижелудочном через зонд введении (100, 200 мг/кг) аутбредным крысам-самцам CD не проявлял противовоспалительную и антиэкссудативную активность в условиях модели хронического пролиферативного воспаления.

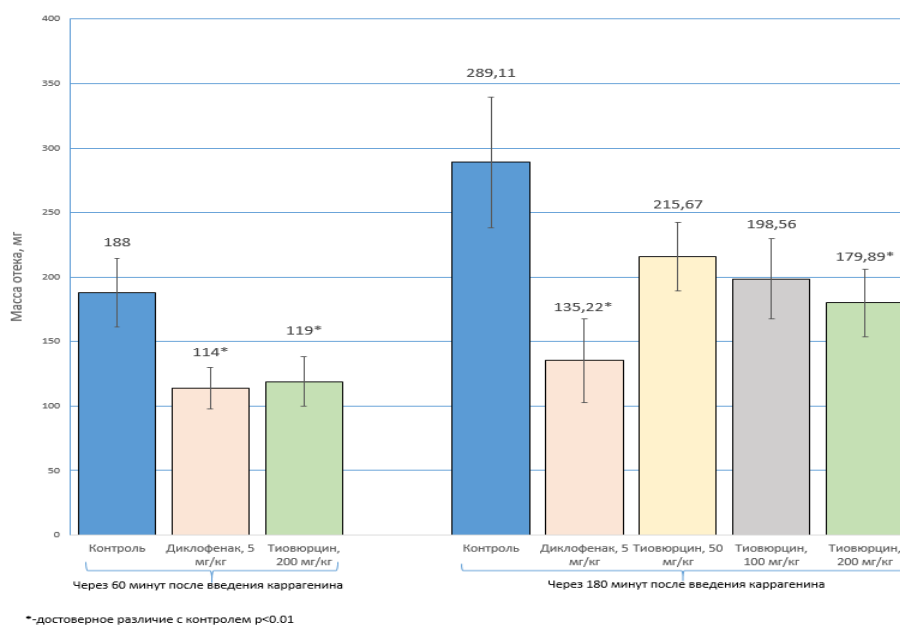


Рисунок 1. Влияние тиовюрцина на развитие карагенинового отека у крыс.

### Литература

1. Семченко Ф.М., Руфанов К.А., Тохмахчи В.Н. и др. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 1(14). – С. 196–206.
2. Давыдов О.С. Распространенность болевых синдромов и их влияние на качество жизни в мире и в России, по данным исследования глобального бремени болезней за период с 1990 по 2013 г. // Российский журнал боли. – 2015. – № 3–4. – С. 11–18.
3. Патент РФ №2014146024/04, 17.11.2014. 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0,3,11,05,9]додекан в качестве анальгетического средства и способ его получения // Патент России №2565766. 2015. Бюл. № 29. / Крылова С.Г., Амосова Е.Н., Зуева Е.П., Разина Т.Г. [и др.].
4. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents // Neuroscience. – 2012. – 211. – P.39-50.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова [и др.] – Москва: Гриф и К, 2013. – 944 с.

### Investigation of anti-inflammatory activity of an innovative hexasasiosyurcytane

Lopatina Ksenya Aleksandrovna, PhD; Krylova Svetlana Gennadyevna, PhD; Zueva Elena Petrovna, PhD, Povetyeva T.N., PhD, Nesterova Y.V., PhD, Afanasieva O.G., PhD, Kulpin P.V., Suslov N.I., PhD. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMС, Tomsk, 3 Lenina Ave.; e-mail: [pharm@tmimc.ru](mailto:pharm@tmimc.ru)

*The results of experiments conducted on rats are discussed in the article. It is shown that thiowurtzine has an anti-inflammatory effect in the conditions of acute experiment, but it is not effective in conditions of chronic inflammation.*

*Key words: thiowurtzine, inflammation, anti-inflammatory action, analgesic*



УДК 616.9-022.7-08:533.9

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА - ПОТЕНЦИАЛ ДЛЯ НУЖД ФАРМАКОЛОГИИ**

(информационный обзор)

*Андрей Яковлевич Мухачев, н.с., E-mail: andreymja@gmail.com,*

*Константин Борисович Громов, мл.н.с., E-mail: Konstantinhiv@bk.ru*

*Лариса Николаевна Глинкина, н.с., E-mail: laress@mail.ru*

*Галина Генриховна Миллер, д.б.н., вед.н.с.опр E-mail: galinamiller@gmail.com.*

*ФГБУ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им.Гамалеи МЗ РФ 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18.*

*В обзоре представлены современные сведения о применении физических явлений в качестве альтернативных путей создания лечебных или протективных средств борьбы с инфекционными агентами, путем таргетного воздействия на молекулярном уровне на вирусы, микробы и клетки, а так же в стратегии противораковой терапии.*

Введение. Цель обзора - обобщить современное состояние проводимых исследований и перспектив практического применения нового альтернативного направления в инфекционной патологии, биотехнологии и биоинженерии - «молекулярной физики».

В эпоху глобального наступления инфекционных болезней различной этиологии все больше ожесточается противостояние тандема «паразит — хозяин». Первый в геометрической прогрессии эволюционно увеличивает свое разнообразие и адаптивные функции, в то время как второй значительно отстает в приобретении арсенала эффективных средств противодействия. Эти вызовы постоянно понуждают специалистов в различных областях развивать новые подходы к сдерживанию и ликвидации паразитов и создавать новые технологии для самосохранения и выживания.

Освоение ранее удовлетворительной превентивной борьбы с инфекционными агентами с помощью протективных или лечебных вакцин, а так же значительного арсенала специфических лечебных препаратов в виде многочисленных антибиотиков и микробицидов сегодня оказалось совершенно недостаточным по ряду причин.

Первая состоит в истощении биологических субстратов для создания новых антибиотиков и приходится констатировать постепенное угасание этого вида защиты от патогенов. Более того, к используемым долгие годы известным антибиотикам и химическим микробицидам быстро развивается резистентность практически у всех микробных патогенов. Не говоря уже о том, что для облигатных внутриклеточных паразитов, какими являются многочисленные вирусы, и в особенности те, которые признаны этиологическими агентами хронических и медленных инфекций, действующих специфических антибиотиков не существует вообще.

Вторая причина заключается в быстрой изменчивости самих облигатных внутриклеточных патогенов, среди которых в первую очередь следует назвать такие, как вирус гриппа или вирус приобретенного иммунодефицита человека (ВИЧ). При этом последний стоит на переднем крае самого быстрого приобретения резистентности к лечебным препаратам, поскольку все его структурные компоненты подвергаются мутациям, по скорости превосходящим даже вирус гриппа, а так же его беспрецедентной эволюционной селекцией в природе. Понятно, что при таком активном и динамичном существовании патогенных факторов окружающей среды необходим постоянный поиск путей эффективного сдерживания их пагубного давления на человека и на его природное окружение. Казалось, что альтернатива антибиотикам и химическим микробицидам сегодня найдена среди физических явлений, которые зарекомендовали себя в качестве антимикробных средств. Положительно в этом хотя бы то, что в ответ на выбранный эффективный тип физического воздействия, который не является опасным для макроорганизма, у микроорганизмов не формируется устойчивость при достижении выраженного бактерицидного эффекта.

В ряду физических методов, проникших в биотехнологию, наибольший интерес вызывает уже широко применяемая низкотемпературная физическая плазма при атмосферном давлении (НТП) или иначе «холодная плазма» и ее различные варианты. Еще раньше были обнаружены и другие виды физического воздействия, в частности, такие, как низко- и высокочастотные электрические поля, позволившие получать желаемые эффекты на молекулярном уровне. Однако показано, что не все неопасные для человека физические методы воздействия обладают 100% бактерицидным эффектом. Особенно в тех случаях, когда внеклеточные или внутриклеточные микроорганизмы являются факторами хронизации инфекции. А именно хронические инфекции в последнее время приобретают все большую долю в инфекционной патологии человека и животных. Одним из ярких примеров могут быть убиквитарно распространенные микоплазмы, представители семейства *Mycoplasmatacea*, условно патогенные мембранные паразиты эукариотических клеток, заселяющие все без исключения организмы человека, высших и низших животных и растений. Или представители другого семейства, *Chlamidiales*, уже внутриклеточных возбудителей хронических инфекций [1,2]. Не поддаются пока также абсолютному бактерицидному эффекту от действия НТП и прокариотические микроорганизмы, образующие биопленку и являющиеся причинными агентами многих нозокомиальных инфекций [3].

В то же время цитолитические свойства этой же холодной плазмы, были высоко эффективны в отношении стратегии раковой терапии, действуя по механизму ядерного апоптоза злокачественных клеток, позволяющего гарантированно уничтожать солидные злокачественные опухоли и предотвращать, тем самым, метастазирование [4].

Другие примеры применения такого варианта холодной плазмы, как аргоновая НТП, включают так же клинические тесты для заживления хронических ран, благодаря обильной продукции NO (широко известная NO-терапия)[5] и другого более широкого применения для тканевой и клеточной инженерии, а так же для стерилизации медицинского инструментария и даже больничных помещений, предотвращая нозокомиальные инфекции [6, 7].

Уже известны некоторые биологические эффекты и для других типов НТП, в частности, способность напрямую повреждать ДНК (по механизму образования ДНК-аддуктов), а белки и клеточные мембраны с помощью других механизмов. Одни из них реализуются в продукции перекиси водорода ( $H_2O_2$ ), которая при быстром разложении в воде образует активные действующие радикалы OH, вызывающие как летальные поражения, так и модификации биологического объекта [8].

Суммарно эффекты разных типов низкотемпературной плазмы, благодаря способности плазменного факела продуцировать реактивные действующие компоненты (ROS) в виде заряженных (ЗЧ) и незаряженных (НЧ) частиц, ультрафиолета, тепла, озона, электрических полей и шоковых волн при низкой температуре, а так же окислительных и перекисных радикалов, ионов, метастабильных компонентов и других химических элементов предоставили возможность ее использования в самых разных областях биологии и медицины, что в настоящее время объединено общим понятием «плазменная медицина»[9].

Наши исследования двух типов НТП (жидкостной электролитической—НТЭП и воздушной аргоновой—НТАП), несмотря на их различия в механизмах действия, продемонстрировали получение у одного объекта двух одинаковых эффектов на микроуровне: бактерицидного и экспресс-диагностики. Так, на модели 6 видов бактерий семейства *Mycoplasmatacea* показано селективное уничтожение из смешанной популяции только одного типа классических колоний (КК), в то время как другой тип мини-колоний (МК) оставался интактным. Здесь плазма проявила одновременно бактерицидные и диагностические свойства, неожиданно обнаружив новый, функционально активный морфотип микоплазм, который не был до этого известен [2].

Среди других физических явлений заслуживает внимания резонансная зависимость биологического эффекта от частоты микроволнового излучения в области 5-12 ГГц. Такая зависимость приводила, в частности, к инактивации вируса табачной мозаики, поскольку соответствовала частотам колебаний вируса как целого [10].

Применяется также «нетепловое» воздействие на биологические объекты высокочастотным излучением разнонаправленного действия (в результате нелинейного процесса) от усиления пролиферации клеток, производства ферментов или других белков до конформационных переходов в самих белках [7,11,12]. А среди тепловых воздействий давно известен механизм микроволнового и терагерцового электромагнитного излучения (1ГГц-100ТГц), который используется в медицине, и в первую очередь в онкологии, как способ создания локальной «гипертермии», приводящей к тотальному разрушению (сжиганию) опухолевых клеток, в частности, при раке простаты [13].

Очень перспективной, на наш взгляд, следует считать способность НТП, а так же других низко- и высокочастотных электрических полей вызывать регулируемое повреждение мембран различного происхождения в результате эффекта электропорации, которая заслуживает особого внимания в контексте возможности получения протективного или лечебного эффекта именно путем воздействия на мембраны про- и эукариотов. Более того, имеются примеры успешного применения эффекта электропорации на молекулярные мишени клетки вне прямой связи с патогенами. Речь идет о появившейся возможности модификации геномов, продемонстрированной на модели РНК — генома вируса табачной мозаики с помощью слабого (МКВТ/СМ<sup>2</sup>) СВЧ поля, что вполне в русле развивающегося в настоящее время направления «редактирования геномов», а соответственно, и генотерапии, где альтернативный метод импульсных электрических полей (ИЭП) дает возможность через искусственно образуемые в мембранах поры как вносить целевые вещества, так и вносить/удалять различные по величине фрагменты генома или даже целые геномы [14,15]. Для подобных целей появилась возможность постшокового моделирования больших молекулярных «электропор», расширяющих границы размеров вносимых веществ [16]. Другая методика, предусматривающая первоначальную обработку объекта пептидами с последующей регулируемой электропорацией для доставки лекарств, генотерапии и других применений представлены в работах [17, 18]. Все перечисленные, а так же другие молекулярные основы эффекта электропорации были обобщены Tieleman D. в 2004 году [19]. И, наконец, следует добавить, что воздействие на мембраны малыми дозами излучения пучка ЗЧ при слабом УФ, уже успешно испытано для введения малых концентраций ПАВ и ряда химических агентов внутрь клетки [20]. Суммарно все эти физико-биологические приемы направлены в конечном счете на одну цель — дестабилизацию мембран с различными конечными результатами. Последнее уже планомерно применяется в реанимационной клинической практике для быстрой доставки лекарств через «пермеабелизованную» (проницаемую) мембрану эритроцитов при полном сохранении их целостности [21].

Вполне амбициозен так же проект, предполагающий воздействие на биологический объект методами молекулярной физики с разработкой приемов таргетной и генетической терапии, упомянутой выше. Другая идея предполагает развитие методологии целевого воздействия на молекулярные мишени, критичные как для репродукции внеклеточных или внутриклеточных патогенов, так и для клетки хозяина на разных этапах их жизненного цикла от рецепторного связывания до выхода из клетки нового вирусного потомства.

Приведенные примеры касаются лишь отдельных типов физического воздействия, примененного к определенным биологическим объектам будь то на макро-, микро- или молекулярном уровне, что указывает на многовариантность проявления свойств как действующего физического фактора и способов его применения, так и свойств и физиологического состояния объекта воздействия. Механизмы таких взаимодействий чрезвы-

чайно сложны и пока практически не изучены. Тем не менее, объем полученной информации и эмпирических фактических эффектов уже теперь предполагает хорошую перспективу для дальнейшего развития методов молекулярной физики, в том числе и холодной плазмы, в клеточной инженерии и молекулярной биотехнологии, а так же подходов для ее более широкого использования.

И все же, можно сказать, что с этого момента уже началась новая эра борьбы человечества с патогенным микромиром с помощью методов молекулярной физики. Наш опыт показывает, что избирательные физические методы, такие как ВЧ и НЧ электрические поля, а так же определенные типы холодной плазмы могут иметь здесь особенно хорошую перспективу.

Но один из самых интригующих подходов для таргетного воздействия с помощью молекулярной физики реализовался еще в середине 80-х годов прошлого века в открытии белка М2 вируса гриппа А, который оказался мишенью для противовирусного препарата адамантана [22]. И только 7 лет спустя, в 1992 году стало понятно, что белок М2 обладает активностью, формирующей протонный канал на поверхностной мембране вириона гриппа и это является механизмом, с помощью которого осуществляются ранние, а у некоторых штаммов вируса и поздние стадии его жизненного цикла. Идентификация М2 белка как протонного канала, кодируемого самим вирусом, позволила понять, что он является механизмом, увеличивающим пермеабиллизацию клеточной мембраны как для ионного флюкса, так и для различных малых молекул [23]. Такое канал-формирующее семейство малых, гидрофобных интегральных белков было названо «виropоринами» [24]. Они оказались также критичными для жизненного цикла постоянно увеличивающегося разнообразия других РНК- и ДНК- геномных вирусов, генерируя все более возрастающий интерес к ним в качестве мишени для противовирусной терапии и вакцинного дела. И только спустя годы, многофункциональные исследования биологических мембран с помощью физических методов также привели к обнаружению явления пермеабиллизации с последующим открытием ионных каналов (аквапоринов и кальциевых каналов) уже с помощью эффекта электропорации, получившее название электропермеабиллизации [25,26]. За открытие в мембранах клеток ионных каналов с помощью феномена электропорации в 2003 году была присуждена Нобелевская премия [27]. С тех пор еще раз было подтверждено, что главной мишенью как для патогена, так и для хозяина, являются мембраны, от структурной организации которых зависят все определяющие функции их жизнедеятельности: от защитных до ответственных за процессы метаболизма как на микро-, так и на молекулярном уровне и это явление универсально как для про-, так и для эукариотических организмов в целом. А изменение структуры и динамических свойств липидных мембран с привлечением импульсных электрических полей (ИЭП) открывает новые горизонты, и в первую очередь для фармакологии, позволяя вводить целевые вещества непосредственно в клетку [28]. В этой связи также надо упомянуть недавнее заявление в 2017 году корпорации «INOVIO Pharmaceuticals» о применении физической электропорации для масштабного производства лекарственных средств [www.inovio.com]. Более того, в этом же году INOVIO сообщила прорывную информацию, которую все человечество ожидало более 35 лет — о создании первой вакцины против ВИЧ. И есть веские основания предполагать, что в ее технологии был задействован именно метод электропорации для воздействия на виropорины ВИЧ.

Но не только феномен электропорации. Давно известно, что структурные модификации в белках мембран могут быть вызваны и под действием радиации [29]. Однако во всех случаях остается главный вопрос: насколько точно, воспроизводимо и стандартизовано можно регулировать перечисленные физические процессы.

Тем не менее, все сказанное безусловно внушает оптимизм и позволяет с определенной долей уверенности предположить, что в расширении способов по доставке ингибиторов через ионные каналы патогена или клетки хозяина для прерывания жизненного

цикла на любых этапах их взаимодействия, определенно может быть лечебная перспектива. Нельзя исключить, что и только лишь модификация патогена тоже может оказаться полезной, например, в аспекте создания протективных средств защиты, а, возможно, и вакцин.

Предложения и рекомендации. Подытоживая, можно сказать, что буквально за последние пару десятилетий молекулярная физика парадно вошла без преувеличения во все фундаментальные медико-биологические области. Очевидно, что научные открытия на стыке дисциплин гораздо успешнее расширяют границы познания и создают платформу для развития новых технологий. Из этого следует, что внедрение новых методик воздействия на биологические объекты с помощью физических инструментов для достижения различных терапевтических целей и стратегических научных исследований в медицине и биологии, включая возможность «зондирования» окружающей среды потребует нового информационного осмысления и новых методологических стандартов.

Авторы считают, что даже фрагментарный анализ представленных данных позволяет, тем не менее, утверждать, что новое направление в ряду естественных наук, каким является молекулярная физика, открывает настолько широкие перспективы, что их границы пока даже трудно обозначить.

### Литература

1. Razin S., Herrmann R. (ed.). *Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas*. – 2002, Cluwer Acad. Press, N-Y, pp. 572
2. Ermolaeva S. A., Rakovskaya I.V., Miller G.G., Sysolyatina E.V., Mukhachev A.Y. et al. // *Journal of Appl. Microbiology*. – 2014. – Т. 116. – №. 5. – С. 1129-1136.
3. Ермолаева С.А., Петров О.Ф., Миллер Г.Г., Шагинян И.А., Народицкий Б.С., Сысолятина Е.В., Мухачев А.Я. и др. // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2011. – №. 10. – С. 15-21.
4. Sato T., Yokoyama M., Johkura K. // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2011. – Т. 44. – №. 37. – С. 372001.
5. Isbary G. et al. // *British Journal of Dermatology*. – 2010. – Т. 163. – №. 1. – С. 78-82.
6. Haertel B. et al. // *Experimental dermatology*. – 2011. – Т. 20. – №. 3. – С. 282-284.
7. Burts M. L. et al. // *American journal of infection control*. – 2009. – Т. 37. – №. 9. – С. 729-733.
8. Dobrynin D. et al. // *New Journal of Physics*. – 2009. – Т. 11. – №. 11. – С. 115020.
9. Morfill G. E., Kong M. G., Zimmermann J. L. // *New Journal of Physics*. – 2009. – Т. 11. – №. 11. – С. 115011.
10. Yang S. C. et al. // *Scientific reports*. – 2015. – Т. 5. – С. 18030.
11. Pramanik B. N. et al. // *Protein Science*. – 2002. – Т. 11. – №. 11. – С. 2676-2687.
12. de Pomerai D. I. et al. // *FEBS Letters*. – 2003. – Т. 543. – №. 1-3. – С. 93-97.
13. Pérez-Castejón C. et al. // *Histology and histopathology*. – 2009. – Т. 24. – №. 10. – С. 1551.
14. Ошурко В.Б. и др. // *I Всеросс.Конф. с международн. Участием «Физика и экология электромагнитных излучений»* - 2017, с.44
15. Li S. // *Current gene therapy*. – 2004. – Т. 4. – №. 3. – С. 309-316.
16. Neu J. C., Krassowska W. // *Physical review E*. – 2003. – Т. 67. – №. 2. – С. 021915.
17. Tung L. et al. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1999. – Т. 888. – №. 1. – С. 249-265.
18. Gehl J. // *Acta Physiologica*. – 2003. – Т. 177. – №. 4. – С. 437-447.
19. Tieleman D. P. // *BMC Biochemistry*. – 2004. – Т. 5. – №. 1. – С. 10.
20. Nieva J. L., Carrasco L. // *Viruses*. – 2015. – №. 7(10). – С. 5169-5171.
21. Cerpescu E. H., Kinosita Jr K., Tsong T. Y. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes*. – 1985. – Т. 812. – №. 3. – С. 779-785.
22. Hay A. J. et al. // *The EMBO Journ*. – 1985. – Т. 4. – №. 11. – С. 3021-3024.
23. Carrasco L. // *Nature*. – 1978. – Т. 272. – №. 5655. – С. 694.
24. Scott C., Griffin S. // *Journal of General Virology*. – 2015. – Т. 96. – №. 8. – С. 2000-2027.
25. Rols M. P., Teissié J. // *Biophysical journal*. – 1998. – Т. 75. – №. 3. – С. 1415-1423.
26. Golzio M., Teissié J., Rols M. P. // *Bioelectrochemistry*. – 2001. – Т. 53. – №. 1. – С. 25-34.
27. Ergy N., Mc Kinnon «The discoveries concerning channels in cell membranes»

[https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2003/](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2003/).

28. Mangal P. C., Kaur A. //Indian journal of biochemistry & biophysics. – 1991. – Т. 28. – №. 3. – С. 219-221.

29. Древаль В.И., Сичевская Л.В. и др. //Биофизика. – 2000. – Т.45. – №.5. – С. 836-838.

**Molecular physics — want to pharmacology**

Andrey Y. Mukhachev, sci.res., Konstantin B. Gromov, sci.res., Larissa N. Glinkina, sci.res., Galina G. Miller, biol. doct., sen.res.

The Gamaleya National Scientific Centre for Epidemiology & Microbiology, Ministry of Health, Russia, Moscow. [www.gamaleya.org](http://www.gamaleya.org)

Summary. Contemporary date about physical phenomena as an alternative ways and means for the development of drugs and protective resources associated with the degradation of infectious agents, such as viruses, microbes as well as malignant cells on molecular level have been presented.

Keywords: molecular physics, ion channels, viroporins, target genoterapy, drug, vaccines.

УДК 577.114.5:616-006.6:547.458

**РЯБИНА ОБЫКНОВЕННАЯ (*Sorbus aucuparia L.*) КАК ИСТОЧНИК  
СРЕДСТВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ  
ОПУХОЛЕЙ**

*Разина Татьяна Георгиевна, д.б.н., старший научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ,  
e-mail: razinatg22@gmail.com*

*Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., заведующая лабораторией  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: zep0929@mail.ru*

*Рыбалкина Ольга Юрьевна, к.б.н., научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [olgatomsk87@gmail.com](mailto:olgatomsk87@gmail.com),*

*Исайкина Надежда Валентиновна, к.ф.н., доцент кафедры фармакогнозии с кур-  
сами ботаники и экологии*

*СибГМУ  
e-mail: [nadezhda.isaykina@gmail.com](mailto:nadezhda.isaykina@gmail.com)*

*Хамитова Виктория Рустамовна, студентка фармацевтического факультета  
СибГМУ,  
e-mail: [vikakhmitova@mail.ru](mailto:vikakhmitova@mail.ru)*

*ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Россий-  
ской академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенера-  
тивной медицины имени Е.Д. Гольдберга»; 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3; Россия;  
e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru) ; [www.pharmso.ru](http://www.pharmso.ru)*

*ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ;  
634050,  
г. Томск, Московский тракт, 2; Россия; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru) ; [www.ssmu.ru](http://www.ssmu.ru)*

В статье обсуждаются результаты экспериментов, проведенных на мышах с перевиваемой карциномой лёгких Льюис. Показано повышение противометастатической активности циклофосфана с помощью экстрактов различных частей *Sorbus aucuparia* L.

**Ключевые слова:** циклофосфан, карцинома лёгких Льюис, экстракты *Sorbus aucuparia* L.

### Введение

Онкологические заболевания являются одной из наиболее значимых причин смертности населения земного шара независимо от пола, возраста и условий жизни. В России ежегодно количество онкобольных пополняется на полмиллиона, причем в 60% случаев заболевание диагностируется в III–IV стадиях. В связи с этим, наиболее рациональным методом лечения таких пациентов является химиотерапия. Однако отсутствие избирательности действия у противоопухолевых препаратов приводит к развитию комплекса нарушений: токсической аплазии кроветворения, вторичному иммунодефициту, снижению детоксицирующей функции печени, возникновению вторичных опухолей и др. [5].

Актуальным является поиск препаратов, повышающих эффективность антибластомной терапии и уменьшающих ее побочные проявления. Перспективными для использования в комплексной терапии опухолей могут быть средства растительного происхождения в связи с отсутствием либо низкой токсичностью, возможностью длительного применения, высокой биодоступностью.

Для создания такого рода средств представляют интерес растения, содержащие фенольные соединения, в частности, флавоноиды, фенолокислоты, антоцианы и дубильные вещества, которые демонстрируют разнообразные биологические эффекты на организменном уровне, обладая антиоксидантным, иммуностропным, противо-воспалительным, капилляроукрепляющим действием. Кроме того, флавоноиды и антоцианы способны оказывать прямое цитотоксическое влияние на опухолевые клетки [2].

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) – дикорастущее или культивируемое дерево или кустарник семейства розоцветных (*Rosaceae*). Плоды рябины содержат комплекс витаминов – С, В<sub>2</sub>, Е, каротиноиды. Кроме того, в плодах содержатся фенольные соединения – флавоноиды, в т.ч. антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества; полисахариды – пектиновые вещества и свободные сахара; цианогенные соединения; органические кислоты; микро- и макроэлементы. В цветках рябины обыкновенной содержится кверцетин-3-гликозид, кверцетин-3-софорозид, вещества, укрепляющие сосудистую стенку капилляров. Особый интерес в качестве возможного лекарственного сырья представляют листья рябины обыкновенной, содержащие большое количество витамина С (до 200 мг%), каротиноиды и фенольные соединения, так как при заготовке плодов рябины они составляют значительную часть от общей массы сырья в качестве нежелательной примеси. В связи с этим, изучение фармакологических свойств экстракционных препаратов рябины обыкновенной представляет большой интерес для рационального использования сырья и для создания новых эффективных комплексных фитопрепаратов.

**Цель работы.** Изучить влияние экстрактов различных частей *Sorbus aucuparia* L. на эффективность лечения циклофосфаном мышей с карциномой лёгких Льюис.

### Материалы и методы

Эксперименты проведены на половозрелых мышах-самках линии С57ВL/6 массой 20-21 г, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ. Трансплантацию карциномы лёгких Льюис (3LL) проводили гомогенатом опухолевой ткани в стерильном физиологическом растворе. Животных-доноров умерщвляли дислокацией шейного отдела позвоночника, вырезали кусочки опухоли без некротических участков, измельчали их через пресс-измельчитель и фильтровали через стерильный капроновый фильтр. Опухоль перевивали внутримышечно по

5-6 x 10<sup>6</sup> опухолевых клеток в объеме 0,1 мл физиологического раствора в мышцу левой задней лапы животного-реципиента.

Объектами исследования являлись жидкие спиртовые экстракты плодов, цветков и листьев рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*), обогащенные антоцианами. Количественное определение биологически активных веществ (БАВ) в исследуемых экстрактах проводили методом прямой спектрофотометрии [1]. В экстракте листьев доминирующими БАВ являются флавоноиды, антоцианы и полисахариды; в экстракте цветков – фенолокислоты, антоцианы и полисахариды. Данные группы БАВ содержатся и в экстракте плодов рябины обыкновенной.

Для проведения цитостатической терапии использовали циклофосфан (ЦФ), выпускаемый промышленностью (ОАО «Биохимик», г. Саранск) в виде стерильного порошка, помещенного в герметически укупоренные флаконы по 0,2 г. Препарат растворяли стерильным физиологическим раствором и вводили однократно животным на 12 сут после перевивки опухоли в дозе 125 мг/кг. Лечение экстрактами рябины начинали с 6 сут после перевивки опухоли и продолжали в течение 12 сут. Экстракты вводили внутривенно в дозах 1 и 5 мл/кг. Контрольные мыши получали эквивалентные количества растворителя в дни введения препаратов. В конце экспериментов мышей умерщвляли, соблюдая «Правила работы с лабораторными животными». Определяли объем и массу первичной опухоли, массу легких с метастазами, подсчитывали количество и площадь метастазов в легких, вычисляли торможение роста опухоли (ТРО, %), частоту метастазирования, индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) [6]. Результаты обрабатывали с применением непараметрических критериев Вилкоксона-Манна-Уитни и точного метода Фишера [4].

### Результаты

В экспериментах на мышях с карциномой легких Льюис циклофосфан оказал умеренное ингибирующее влияние на рост первичного опухолевого узла, его масса уменьшилась в 1,6; 1,7 и 1,9 раза ( $P < 0,01$ ) в 1,2 и 3 сериях соответственно относительно контрольных данных. Под влиянием цитостатика количество метастазов в легких животных снизилось в 3,3; 3,7 и 1,6 раза, их площадь оказалась также достоверно меньше контрольных значений (таблица).

Добавление в схему химиотерапии экстрактов рябины обыкновенной не изменило ингибирующего влияния циклофосфана на первичную опухоль. В то же время, при совместном использовании цитостатика и экстрактов рябины в изучаемых дозах существенно повышалось его противометастатическое действие, судя по всем показателям процесса диссеминации. Так, количество метастазов и их площадь у мышей, получавших совместно с циклофосфаном экстракт плодов рябины в дозах 1 и 5 мл/кг, оказались меньше в 10,7 и 16,8 раза и 34,8 и 11,6 раза соответственно ( $P < 0,01$ ), частота метастазирования составила 20 и 38% против 90% у животных, леченных только цитостатиком; ИИМ оказался наивысшим, достигая 99%. При совместном использовании циклофосфана и экстракта цветков рябины в этих же дозах, достоверно меньше оказались как количество (в 3,3 и 3,7 раза), так и площадь (в 3,4 и 7,2 раза) метастазов в легких; ИИМ составил 94 и 97% соответственно. В группе мышей, получавших на фоне химиотерапии экстракт цветков рябины в дозе 5 мл/кг, достоверно ниже оказалась частота метастазирования: 44% против 89% у получавших только цитостатик животных (таблица). Если вместе с циклофосфаном назначали экстракт листьев рябины в дозе 5 мл/кг, достоверно меньше оказались все показатели процесса диссеминации: частота метастазирования составила 63% против 100%, количество метастазов снизилось в 7,4 раза, их площадь оказалась в 12,7 раза меньше таковых у животных группы монокимиотерапии; ИИМ составил 95%. В случае совместного введения с цитостатиком экстракта листьев рябины в дозе 1 мл/кг, метастазы в легких мышей полностью отсутствовали (таблица).



## Секция 7. Проблемы фармакологии

Таблица. Влияние жидких экстрактов различных частей рябины обыкновенной на развитие 3LL и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии C57BL/6

Группа наблюдения, доза препарата x число введений (количество животных)	Масса опухоли (X±m), г	ТРО, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (X±m)	Площадь метастазов на 1 мышь (X±m), мм <sup>2</sup>	ИИМ, %
<b>1 серия. Экстракт плодов рябины обыкновенной</b>						
1. Контроль (9)	6,20±0,22	-	100	20,89±2,47	29,14±6,13	-
2. ЦФ 125 мг/кг x 1 (10)	3,91±0,40*	37	90	6,40±2,31*	1,39±0,80*	72
3. Экстракт плодов 1 мл/кг x 10 (10)	5,46±0,24*	12	100	11,70±1,22*	8,69±1,08*	44
4. ЦФ + экстракт плодов 1 мл/кг x 10 (10)	3,42±0,46	45	20**	0,60±0,43**	0,04±0,03**	99
5. Экстракт плодов 5 мл/кг x 10 (8)	4,95±0,20*	20	100	18,10±3,95	24,85±11,62	13
6. ЦФ + экстракт плодов 5 мл/кг x 10 (8)	3,25±0,40	48	38**	0,38±0,18**	0,12±0,01**	99
<b>2 серия. Экстракт цветков рябины обыкновенной</b>						
1. Контроль (11)	4,29±0,27	-	100	18,27±2,59	28,41±8,21	-
2. ЦФ 125 мг/кг x 1 (9)	2,59±0,29*	40	89	4,89±1,01*	2,39±1,06*	76
3. Экстракт цветков 1 мл/кг x 10 (10)	4,34±0,29	-1	90	7,60±1,63*	4,85±1,38*	63
4. ЦФ + экстракт цветков 1 мл/кг x 10 (10)	3,11±0,23	28	70*	1,50±0,48**	0,70±0,41**	94
5. Экстракт цветков 5 мл/кг x 10 (10)	4,41±0,17	-3	100	8,20±2,00*	7,84±2,05*	55
6. ЦФ + экстракт цветков 5 мл/кг x 10 (9)	2,49±0,22	42	44**	1,33±0,65**	0,33±0,27**	97
<b>3 серия. Экстракт листьев рябины обыкновенной</b>						
1. Контроль (9)	4,30±0,23	-	100	17,33±4,42	27,97±20,57	-
2. ЦФ 125 мг/кг x 1 (10)	2,29±0,33*	47	100	11,10±1,01	3,80±0,89*	36
3. Экстракт листьев 1 мл/кг x 10 (10)	3,29±0,28*	23	100	13,50±2,70	9,46±2,92	22
4. ЦФ + экстракт листьев 1 мл/кг x 10 (8)	2,55±0,14	41	0**	0**	0**	100
5. Экстракт листьев 5 мл/кг x 10 (8)	3,14±0,22*	27	75*	7,50±2,35*	4,09±1,11*	68
6. ЦФ + экстракт листьев 5 мл/кг x 10 (8)	2,19±0,23	49	63**	1,50±0,53**	0,30±0,15**	95

Примечание: \* - различия достоверны по сравнению с контролем, \*\* - по сравнению с группой получавших ЦФ мышей.

При изолированном назначении животным с 3LL экстракта плодов рябины обыкновенной в дозах 1 и 5 мл/кг выявлено достоверное торможение роста первичной опухоли (12 и 20%). Кроме того, у мышей, получавших экстракт плодов рябины в дозе 1 мл/кг, количество метастазов в легких и их площадь оказались в 1,8 и 3,4 (P<0,01) раза меньше таковых у нелеченых контрольных; ИИМ составил 44% (таблица). При введении мышам с 3LL экстракта цветков рябины в дозах 1 и 5 мл/кг достоверно меньше оказались количество (в 2,4 и 2,2 раза) и площадь (в 5,9 и 3,6 раза) метастазов в легких относительно контрольных значений, ИИМ составил 63 и 55% соответственно (таблица). Лечение мышей экстрактом листьев рябины в дозах 1 и 5 мл/кг привело к достоверному уменьшению массы первичной опухоли (в 1,3 и 1,4 раза). При введении животным экстракта листьев в дозе 5 мл/кг частота метастазирования составила 75% против 100% в контроле (P<0,01), отмечено также снижение количества и площади метастазов в легких (в 2,3 раза и 6,8 раза, P<0,01), высоким оказался и ИИМ (68%) (таблица).

### Выводы

1. Экстракты плодов, цветков и листьев рябины обыкновенной повышают противометастатическое действие циклофосфана у мышей с 3LL.
2. Экстракты плодов и листьев рябины обыкновенной оказывают самостоятельное ингибирующее влияние на первичный опухолевый узел у мышей с 3LL.
3. Экстракты плодов, цветков и листьев рябины обыкновенной при изолированном назначении тормозят процесс метастазирования у мышей с 3LL.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: на модели карциномы лёгких Льюис выявлена способность экстрактов из различных частей рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia L.*) тормозить развитие метастазов, повышать противометастатическое действие циклофосфана. Новыми являются свойства экстрактов плодов и листьев рябины обыкновенной оказывать самостоятельное ингибирующее влияние на первичный опухолевый узел у мышей с 3LL. Таким образом, совокупность данных, полученных в экспериментах, позволяет говорить о целесообразности дальнейших углубленных исследований экстрактов рябины обыкновенной с целью создания препаратов для онкологической клиники.

### Литература

1. Андреева В.Ю., Калинкина Г.И., Коломиец Н.Э. и др. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной // Фармация. – 2013. - № 3. – С. 19-21.
2. Гольдина И.А., Сафронова И.В., Гайдуль К.В. Полифенольные соединения черники: особенности биологической активности и терапевтических свойств // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. - № 10. – С. 221-228.
3. Коломиец Н.Э., Калинкина Г.И., Сафронова Н.Н. Стандартизация листьев крапивы двудомной // Фармация. - 2011. - № 6. - С. 22-24.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980. - 293 с.
5. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний, 4-е издание расширенное и дополненное. Практическая медицина, Россия, 2018. – 688 с.
6. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З.П. Софьина, А.Б. Сыркин, А. Голдин, А. Кляйн. – М.: «Медицина», 1980. – 296 с.

### ***Sorbus aucuparia L.* AS A SOURCE DRUGS FOR INCREASE OF TUMORS EFFECTIVENESS CHEMOTHERAPY**

*Razina Tatyana Georgievna, p.h.D.; Zueva Elena Petrovna, p.h.D, prof.; Rybalkina Olga Yur'evna, p.h.D; Isaykina Nadezhda Valentinovna p.h.D; Khamitova Viktoriya Rustamovna, student.*

*Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC, Lenin st., 3; e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru); [www.pharmso.ru](http://www.pharmso.ru)  
Siberian State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, M. Trakt, 2; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru); [www.ssmu.ru](http://www.ssmu.ru)*

*The paper discusses the results of experiments in mice with transplanted Lewis lung carcinoma. Have shown that the antimetastatic effects of cyclophosphamide are potentiated by the extracts of *Sorbus aucuparia L.**

*Keywords: cyclophosphamide, Lewis lung carcinoma, extracts of *Sorbus aucuparia L.**

УДК 616.5: 615.03

### НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ

*Константин Михайлович Резников, д.м.н., профессор, профессор каф. фармакологии,  
E-mail VRKMF@Yandex.ru*

*Любовь Анатольевна Новикова, д.м.н., профессор, зав. каф. дерматологии, E-mail  
Ledn89@mail.ru*

*ФГБОУ ВО Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, 394036, Воронеж, ул. Студенческая, 10*

*В статье представлены материалы клинических исследований лечебных свойств анолита (ОВП + 750 - 950 мВ) и католита (- 150- 500 мВ) используемых при псориазе, инфекционной экземе и акне. Все эти патологические процессы требуют использования комплекса фармакологических средств. Использование сочетания мощных противомикробных эффектов анолита с антиоксидантными и иммуностимулирующими свойствами католита оптимизирует лечение патологических процессов и существенно ускоряет восстановительные процессы в коже.*

*Ключевые слова: болезни кожи, анолит, католит, окислительно-восстановительный потенциал, лечение.*

#### **Введение**

Сохранение здоровья кожи важно для функционирования организма в целом, поэтому совершенствование лечения кожной патологии всегда актуально, что особенно касается таких тяжелых состояний как псориаз, инфекционная экзема, а также развития акне, вызывающего нарушения не только медицинского, но и эстетического характера. Важной частью ухода за кожей должна быть профилактика бактериальной инфекции с целью предупреждения нежелательного инфицирования кожи.

Псориаз (чешуйчатый лишай) – хронический дерматоз мультифакториальной природы, который, по мнению М.М. Хобейш (2006), характеризуется ускорением пролиферации эпидермоцитов и нарушением их дифференцировки, иммунными реакциями в дерме. В основе патогенетических механизмов развития вульгарного псориаза лежит невротическая патология, недостаточная активность функциональных систем организма, депрессия. Экзема составляет 15-40% всех кожных заболеваний. Инфекционная экзема, характеризующаяся существенным поражением кожных покровов, сопровождается многими нарушениями физиологического гомеостаза в виде нейроиммунных, инфекционно-аллергических и метаболических изменений [1;2]. Акне (угревая болезнь) является распространённым кожным заболеванием, т.к. встречается у 85-95% лиц в возрасте 12-30 лет [3]. Это заболевание не является инвалидизирующей патологией, но вызывает спектр психологических изменений: тревожные расстройства, дисморфофобию, депрессию, патомимию и т.д. Следовательно, при всех подобных состояниях необходимо использовать комплексное применение препаратов различных фармакологических классов, включая психотропные средства и антибиотики. В этом случае наиболее эффективными могут быть средства, сочетающие противомикробные, иммуностимулирующие свойства. В этом отношении наиболее подходящими средствами могут быть ионизированные растворы, имеющие различный окислительно-восстановительный потенциал (ОВП): анолит и католит.

Установлено, что анолит обладает антибактериальным, антиаллергическим, противовоспалительным, противоотёчным действием. Действуя как химический окислитель, анолит нарушает работу ферментов в дыхательной цепи митохондрий микробной клетки. Наличие в нем различных по химическому строению и физическим характеристикам оксидантов препятствует адаптации микроорганизмов и формированию резистентности. Известно использование растворов анолита с целью дезинфекции и стерилизации инструментов, аппаратуры, для обработки кожи и слизистых [4]. Важным является также то, что аллергических и других побочных реакций анолит не вызывает [5,6],

а при лечении гнойных ран происходит улучшение показателей всех звеньев иммунитета [4]. Безопасность использования и эффективность применения анолита явились основанием для включения его в исследование. Имеется Регистрационное удостоверение МЗ РФ ЛС-002150, анолит – лекарственный препарат для медицинского применения, дата регистрации 21.03.2012 г.

Католит обладает электронодонорными свойствами, что определяет его антиоксидантное действие. Торможение свободнорадикального окисления сопровождается ограничением перекисного окисления липидов, разрушения мембран, а также стимуляцией процессов репарации [7,8]. Он нетоксичен и абсолютно безопасен при приеме внутрь [7,9]. Такой спектр эффектов ионизированных жидкостей весьма привлекателен для включения их в программу лечения псориаза, инфекционной экземы и акне, т.к. позволит повысить противомикробную защиту организма и ускорить течение восстановительных процессов.

**Цель работы:** установить возможность применения анолита и католита для повышения эффективности лечения вульгарного псориаза, инфекционной экземы и акне.

### Материалы и методы

Материалом для достижения цели послужили результаты обследования 80 больных (44 мужчины и 36 женщин, средний возраст 47 лет) с вульгарным псориазом; 120 пациентов (49 мужчин и 41 женщина, средний возраст 45 лет), с инфекционной экземой и 110 пациентов (32 мужчины и 78 женщин) с угревой болезнью II степени. Обследование пациентов проводилось до лечения, на 7-е, 15-е, и 21-е сутки лечения, а отдаленные результаты в ряде групп регистрировали через 12 месяцев. При проведении исследования были соблюдены этические нормы, изложенные в Хельсинской декларации 1964 года.

Использовали индексы: индекс PASI (PSORIASIS AREA AND SEVERITY INDEX) - индекс площади и тяжести псориазических поражений применялся для оценки тяжести псориаза и эффективности проводимой терапии. **SCORAD** (scoring of atopic dermatitis) - индекс оценивает степень тяжести хронических дерматозов, в том числе атопический дерматит, псориаз и др. дерматозы. **DLQI** (Dermatology life quality index) - дерматологический индекс качества жизни- ДИКЖ. Дерматологический индекс акне (Acne Dermatology Index; American Academy of Dermatology, 1999-2000) рассчитывался по формуле  $A+B+C+D$ , где  $A$  – баллы по количеству комедонов,  $B$  – баллы по количеству папул,  $C$  – по количеству пустул и  $D$  – узлов. Количественное определение биохимических показателей (глюкоза крови, АЛТ, АсАТ, общий билирубин, тимоловая проба) производили на автоматическом анализаторе фирмы KONE. Содержание лимфоцитов (Т-лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+) определялось методом проточной цитометрии на приборе Becton Coulter Cytomics FC 500. Количество иммуноглобулинов Ig M, Ig G, Ig A определяли с помощью метода Манчини. Психометрические данные пациентов – уровень тревоги и депрессии по шкале Цунга, баллы по тесту САН (самочувствие, активность, настроение) оценивали с использованием соответствующих шкал.

Анолит и католит приготавливались в аппаратах «Карат» и «Карат-М» ТУ 3468-001-51702726-2006, сертификат №РОСС RU. АЯ60.В21343 в соответствии с инструкцией с использованием бутилированной родниковой воды. Анолитом смачивались салфетки и накладывались на пораженные области кожи до высыхания, а католит применяли внутрь 1 раз в сутки до еды по 3 мл/кг массы в течение 20 суток. В исследованиях псориаза принимал участие Абу гоуш Моххамад, инфекционной экземы – Димитренко Т.В., акне- Самодай О.В.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась на базе процессора Intel Core i5-4210U, с помощью пакетов программ Excel 2010, Statistica 10.0. с использованием параметрических и непараметрических критериев. К последним относятся

критерий Уилкоксона для связанных выборок, критерий Уилкоксона-Манна-Уитни, критерий Краскелла-Уоллеса, критерий Фридмана [10].

### Полученные результаты

Вульгарный бляшечный псориаз характеризуется существенными нарушениями в поражённых участках кожи, изменениями функционального состояния печени, ухудшением функционального состояния и качества жизни пациентов, без статистически значимых ухудшений показателей иммунной системы и показателей формулы крови. Применение стандартного лечения псориаза приводит к значительным положительным изменениям дерматологических проявлений болезни; повышению функциональной активности печени; позитивным изменениям функционального состояния организма и качества жизни пациентов, но при этом сохраняется рецидивирующий характер заболевания с короткими периодами ремиссии. Местное применение анолита в составе стандартной терапии псориаза ускоряет разрешение кожных проявлений заболевания, в меньшей степени улучшает показатели, характеризующие биохимические сдвиги в организме, повышает уровень функционального состояния больных и качество жизни пациентов. Включение в состав стандартной терапии псориаза католита (внутрь) активизирует редукцию дерматологических изменений, в большей степени, чем при стандартном лечении; улучшает биохимические показатели крови; повышает уровень функционального состояния пациентов и качества жизни, а также уменьшает время нахождения больных в стационаре, существенно удлиняя период ремиссии. При комбинированном использовании анолита (местно) и католита (внутрь) в рамках стандартной терапии регистрируется позитивное изменение большинства изученных показателей уже с 7-х суток наблюдения: к 21-ым суткам почти до 0 снижается индекс PASI, приближается к уровню здоровых лиц качество жизни пациентов, длительность пребывания в стационаре уменьшается в среднем на 5 дней, по сравнению со стандартным лечением, рецидивы заболевания у 80% пациентов возникают только через 13 – 24 и более месяцев, при этом их выраженность становится меньше.

Инфекционная экзема характеризуется высокими показателями индекса распространённости и дерматологического индекса шкалы симптомов, а также ухудшением функционального состояния и качества жизни в соответствии с данными по показателям опросников САН и ДИКС, наличием субклинических признаков тревоги и депрессии. Положительные эффекты стандартной терапии начинают выявляться в основном к концу наблюдения (21-е сутки) и проявляются в снижении индексов, характеризующих состояние изменений кожи, при этом повышаются показатели САН и показатели качества жизни. Включение в состав стандартной терапии анолита уже на 7-е сутки корректирует кожные проявления инфекционной экземы больше, чем при стандартной терапии (уменьшение индексов EASI и ДИШС) наряду с показателями качества жизни. Время пребывания в стационаре укорачивается на 2 суток, удлиняется ремиссия. При введении в состав стандартной терапии католита выраженные положительные изменения в кожных проявлениях инфекционной экземы выявляются с 7-х суток. Применение католита приводит к положительной коррекции соотношения клеток крови, функционального состояния пациентов, их качества жизни и проявлений субклинических признаков тревоги и депрессии в большей степени, чем при стандартном лечении. Одновременное применение в составе стандартной терапии анолита и католита приводит к более интенсивному улучшению всех исследуемых показателей при инфекционной экземе, начиная с 7-х суток лечения, в наибольшей степени уменьшает время нахождения пациентов в стационаре (на 3 суток), увеличивает время ремиссии до 12 месяцев и более, по сравнению с использованием стандартной терапии.

Угревая болезнь характеризуется сложными иммунно-метаболическими и психоэмоциональными изменениями, а применение стандартной терапии не приводит к полному исчезновению кожных проявлений акне и к стойкой ремиссии. Включение в

схему лечения акне средней степени тяжести анксиолитика афобазола в дозе 5мг 3 раза в сутки в течение месяца положительно влияет на клиническую картину заболевания и психометрические показатели пациентов, но не оказывает позитивного влияния на показатели иммунного статуса. Применение ионизированной жидкости с отрицательным ОВП (католита) – внутрь в дозе 3 мг/кг массы тела 1 раз в день в течение двух недель у пациентов с акне и алопеции местно приводит к увеличению количества В-лимфоцитов на 14,4%, фагоцитирующих нейтрофилов - на 6,9%, CD4+лимфоцитов - на 13,1%, иммунорегуляторного индекса - на 38,3% и снижению количества цитотоксических лимфоцитов CD8+ - на 17,7% вследствие развития иммуномоделирующего эффекта. Наиболее эффективной программой лечения акне средней степени тяжести является комплексное использование стандартной наружной терапии, анксиолитика афобазола и ионизированных жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом, что дает возможность отказаться от системной антибиотикотерапии. Отдаленные результаты терапии – через 1 год после окончания использования препаратов – свидетельствуют об отсутствии побочных эффектов и существенном уменьшении частоты рецидивов заболевания.

**Выводы:** 1. Ионизированные растворы ускоряют и укорачивают процесс лечения вульгарного псориаза, при этом положительное действие алопеции и католита на организм суммируется без возникновения нежелательных эффектов.

2. Включение в программу лечения инфекционной экземы алопеции и католита повышает эффективность лечения, увеличивая время ремиссии более чем на 12 месяцев.

3. Применение афобазола, алопеции и католита при угревой болезни на фоне стандартной терапии улучшает психоэмоциональное состояние пациентов, существенно повышает иммунологические показатели и позволяет отказаться от применения антибиотиков системного действия.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения: ионизированные растворы с различной величиной ОВП создают в организме пациентов благоприятное состояние для действия стандартных фармакологических средств, применяемых при псориазе, экземе и акне. Включение в состав стандартного лечения акне алопеции позволяет исключить применение антибиотиков. Применение католита внутрь потенцирует действие транквилизаторов и способствует повышению уровня сниженных показателей иммунной защиты.

### Литература

1. Бутов Ю.С. Кожные болезни и инфекции, передающиеся половым путём // Ю.С. Бутов, Ахтямов С.Н., Баткаев Э.А., Васенова В.Ю. // Руководство для врачей. - М.- 2002.- С.131-136.
2. Jovanovic M. Modern psychosomatic aspects of dermatology /M. Jovanovic, V. Doran, M. Poljacki et al.//Med Pregl – 1994. - V.47. –P.105-110.
3. Барина А.Н. Вульгарные угри: патогенез, клиника и лечение. Современное состояние проблемы /А.Н.Барина // Российский семейный врач. – 2003. – Т. 7, № 3. – С. 30-41.
4. Девятков В.А. Применение воды, активированной электрохимическим методом: обзор / В.А. Девятков, Э.А. Рыбин, С.В. Петров // Хирургия. – 1998. – № 7. – С.61-63.
5. Григорьев П.Я. Нарушение нормального состава кишечного биоценоза и методы его коррекции / П.Я. Григорьев // Болезни органов пищеварения: для специалистов и врачей общей практики. – Москва : Волга Медия, 2004. – Т. 6, № 2. – С. 84-88.
6. Желтышева А.С. Применение семакса и низкоинтенсивной лазерной терапии в комплексном лечении больных акне: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.С.Желтышева. – Курск, 2011. – 20 с.
7. Кошелев П.И. Применение алопеции и католита для лечения гнойных ран / П.И. Кошелев, К.М. Резников, А.А. Гридин // Прикладные и информационные аспекты в медицине. – 2006. – Т. 9, № 1. – С. 69-79.

8. Мирошников А.И. Использование электрохимически активированной воды (католита) в лечении заболеваний желудка у детей / А.И. Мирошников, Ж.К. Масалимов, В.И. Брусков // Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности: III Международный симпозиум. – Москва, 2001. – С. 38-41.

9. Сабитова Е.Б. Антидепрессивные свойства электроактивированных водных растворов / Е.Б. Сабитова // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: тр. XVI междунар. конф. – Крым, Гурзуф, 2008. – С. 117-119.

10. Хафизьянова Р.Х. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии / Р.Х. Хафизьянова, И.М. Бурыкин, Г.Н. Адеева / Казань: Медицина, 2006. – 374 с.

### New approaches to treatment of skin disorders

*Konstantin Mikhailovich Reznikov, MD, Professor, Professor of the Chair Pharmacology  
Lyubov Anatolievna Novikova, MD, Professor, Head of the Chair Dermatology  
FGBOU Voronezh State Medical University. N.N. Burdenko of the Ministry of Health of Russia  
The materials of clinical studies of the medical properties of anolyte (redox-potential + 750 - 950 mV) and catholyte (redox-potential - 150-500 mV), used for psoriasis, infectious specimen and acne are presented in the article. All these pathological processes require the use of a complex of pharmacological agents. Use of combinations of powerful antimicrobial effects of anolyte with antioxidant and immunological resources in the skin.*

*Key words: skin diseases, anolyte, catholyte, redox-potential, treatment.*

УДК 577.114.5:616-006.6:547.458

### ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ПЛОДОВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SORBUS AUCUPARIA L.*) НА РАЗВИТИЕ ДОКСОРУБИЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА

*Рыбалкина Ольга Юрьевна, к.б.н., научный сотрудник НИИФУРМ им. Е.Д. Гольдберга  
Томского НИМЦ,*

*e-mail: olgatomsk87@gmail.com,*

*Кириленко Кирилл Михайлович, студент ТГУ, e-mail: thefaceman@sibmail.com*

*Федорова Елена Павловна, к.м.н., научный сотрудник  
НИИФУРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ,*

*e-mail: fedorova-elen@mail.ru,*

*Разина Татьяна Георгиевна, д.б.н., старший научный сотрудник*

*НИИФУРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ,*

*e-mail: [razinatg22@gmail.com](mailto:razinatg22@gmail.com)*

*Исайкина Надежда Валентиновна, к.ф.н., доцент кафедры фармакогнозии с курсами  
ботаники и экологии СибГМУ, e-mail: [nadezhda.isaykina@gmail.com](mailto:nadezhda.isaykina@gmail.com)*

*Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., заведующая лабораторией НИИФУРМ им. Е.Д.  
Гольдберга Томского НИМЦ, e-mail: [zep0929@mail.ru](mailto:zep0929@mail.ru),*

*тел. 8(3822)41-77-47*

*ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной  
медицины имени Е.Д. Гольдберга»; 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3; Россия;*

*e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru); [www.pharmso.ru](http://www.pharmso.ru)*

*ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ;  
634050,*

*г. Томск, Московский тракт, 2; Россия; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru); [www.ssmu.ru](http://www.ssmu.ru)*



ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36; Россия; e-mail: [rector@tsu.ru](mailto:rector@tsu.ru); [www.tsu.tu](http://www.tsu.tu)

В статье обсуждаются результаты эксперимента, проведенного на мышах линии C57Bl/6. Показано, что комбинированное использование экстракта плодов *Sorbus aucuparia* L. совместно с доксорубицином препятствует развитию анемического синдрома.

Ключевые слова: эритропоэз, доксорубицин, экстракт *Sorbus aucuparia* L.

### Введение

Исследования последних лет показали, что анемия является одним из частых осложнений онкологических заболеваний. Возникающее на фоне неопластической трансформации напряжение эритроидного ростка кроветворения приводит к нарушению эритропоэза, что отрицательно сказывается на состоянии больного. Чаще всего первыми проявлениями анемии является слабость, снижение устойчивости к умственным и физическим нагрузкам. Угроза развития тяжелых анемических состояний возрастает в ходе проведения химиотерапии, что связано с высокой чувствительностью эритрона к токсическому действию большинства известных цитостатиков [1].

В настоящее время существует несколько способов коррекции анемического синдрома, среди которых важнейшими являются переливание донорской эритроцитарной массы (гемотрансфузия) и использование рекомбинантного эритропоэтина. Однако эти методы не лишены побочных эффектов [2,3]. Таким образом, поиск новых веществ с целью создания на их основе новых лекарственных препаратов, снижающих выраженность анемического синдрома, возникающего при цитостатической терапии, является актуальным.

Среди соединений природного происхождения интересными в этом плане могут быть фенольные соединения, в частности, антоцианы, обладающие широким спектром фармакологической активности [4]. Ярким представителям антоцианосодержащих лекарственных растений является род *Sorbus*. Известно о противоопухолевых, иммуномодулирующих, реологических и других свойствах этих растений. Кроме того, в экспериментах на мышах с опухолью отмечено повышение противометастатического действия циклофосфана на фоне курсового использования (*Sorbus aucuparia* L.) [5].

**Цель работы.** Изучить влияние экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) на развитие анемического синдрома, индуцированного цитостатическим воздействием.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на 65 мышах-самках линии C57BL/6 массой 20-21 г, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (сертификат имеется). Моделью угнетения эритроидного ростка кроветворения явилась цитостатическая миелосупрессия, вызванная введением интактным животным однократно внутрибрюшинно доксорубицина в дозе 6 мг/кг [6]. Объектом исследования являлся жидкий спиртовой экстракт плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.), обогащенный антоцианами. Количественное определение биологически активных веществ в исследуемом экстракте проводили методом прямой спектрофотометрии [7]. Экстракт рябины обыкновенной вводили мышам внутрижелудочно в дозе 5 мл/кг ежедневно в течение 14 сут, начиная через 24 часа после инъекции доксорубицина. Мыши контрольной группы получали эквивалентные количества растворителя в дни введения препаратов. Показатели периферической крови (общее количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты), костного мозга (общее количество миелокариоцитов, миелограммы) и клональной активности определяли на 0, 3, 5, 7, 10, 12 и 15 сут после введения цитостатика стандартными гематологическими методами. Статистическая обработка результатов производилась с использованием непараметрических методов Вилкоксона-Манна-Уитни [8].



### Результаты

Однократное внутрибрюшинное введение доксорубина в дозе 6 мг/кг оказало угнетающее действие на эритроидный росток кроветворения. Так, динамика содержания ретикулоцитов в периферической крови животных характеризовалась развитием ретикулоцитопении. Максимальное падение числа ретикулоцитов наблюдалось на 5 сут эксперимента: их количество в периферической крови мышей, получавших доксорубин, снизилось в 3,8 раза ( $P < 0,01$ ) относительно показателя у здоровых животных. Содержание общего количества эритроцитов (на 3 и 5 сут), а также уровень гемоглобина (на 5 сут) в периферической крови в группе монокимиотерапии оставались достоверно ниже значений у мышей группы интактного контроля. Аналогичные результаты выявлены при оценке основных показателей миелограмм: на 3, 5 сут после инъекции препарата число эритроидных клеток уменьшилось в 1,4 раза ( $P < 0,05$ ) относительно показателя в группе интактного контроля. К 7 сут эксперимента регистрировалась нормализация содержания эритроидных клеток. Изучение колониеобразующей способности кроветворных клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге у мышей, получавших доксорубин, выявило тенденцию к снижению уровня КЛОЕ-Э на 3, 5 сут после инъекции цитостатика.

Курсовое введение экстракта плодов рябины обыкновенной оказало стимулирующий эффект на процесс эритропоэза. На 3, 5 и 12 сут количество ретикулоцитов у мышей, получавших экстракт после введения доксорубина, оказалось выше в 1,3; 1,9; 1,1 раза ( $P < 0,05$ ) соответственно относительно показателя в группе монокимиотерапии. При определении основных показателей эритропоэза в периферической крови животных (уровень гемоглобина и гематокрита) на все сроки эксперимента наблюдалось их высокое значение.

При использовании растительного экстракта на фоне введения доксорубина наблюдалась стимуляция костномозгового кроветворения. Так, повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с группой монокимиотерапии отмечалось на 3 сут эксперимента. Анализ миелограмм показал, что экстракт плодов рябины обыкновенной стимулирует в основном процессы регенерации эритроидного ростка гемопоэза. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге в группе мышей, получавших растительный препарат, на 3, 5 и 12 сут превосходило в 2,7; 2,4 и 1,7 раза ( $P < 0,01$ ) соответственно значения данного показателя у животных после введения только цитостатика.

Анализ колониеобразующей способности костного мозга мышей после применения экстракта плодов рябины обыкновенной на фоне однократного цитостатического воздействия показал следующие изменения. Возрастание выхода КЛОЕ-Э отмечалось на 3 и 15 сут эксперимента: их количество увеличилось в 7,1 и 1,5 раза ( $P < 0,01$ ) соответственно относительно показателей в группе мышей, получавших доксорубин. Кроме того, стимулирующее действие экстракта плодов рябины обыкновенной в отношении эритропоэтических прекурсоров в костном мозге мышей отмечено на 7 и 12 сут после инъекции цитостатика, в основном, за счет увеличения числа КЛОЕ-Э в 1,9 и 1,7 раза ( $P < 0,05$ ) соответственно относительно показателей в группе монокимиотерапии.

### Выводы

1. Комбинированное использование экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в дозе 5 мл/кг совместно с доксорубином препятствует развитию анемического синдрома в периферической крови животных.
2. Курсовое применение экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в дозе 5 мл/кг на фоне доксорубина приводит к стимуляции эритроидных клеток в костном мозге животных.
3. Включение экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в дозе 5 мл/кг в схему химиотерапии приводит к повышению выхода КЛОЕ-Э на 3 и 15 сут, КЛОЕ-Э – на 7, 12 сут.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: на модели цитостатического угнетения эритропоэза выявлена способность экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) препятствовать развитию

анемического синдрома за счет мобилизации эритроидных клеток-предшественников костного мозга, что приводит к увеличению выхода клеток эритроидного ростка кроветворения из костного мозга в периферическую кровь животных. Таким образом, совокупность данных, полученных в эксперименте, позволяет говорить о целесообразности дальнейших углубленных исследований экстракта рябины обыкновенной с целью создания препаратов, снижающих токсическое действие цитостатических средств в отношении гемопоэза.

### Литература

1. Lai-Tiong F., Brami C., Dubroeuq O., Scotté F., Curé H., Jovenin N. Management of anemia and iron deficiency in a cancer center in France // *Support Care Cancer*. – 2016. – Vol. 24(3). – P. 1091-1096.
2. Barrett-Lee P.J., Bailey N.P., O'Brien M.E. et al. Large-scale UK audit of blood transfusion requirements and anaemia in patients receiving cytotoxic chemotherapy // *Br. J. Cancer*. – 2000. – Vol. 82. – № 1. – P. 93-97.
3. Beutel G., Ganser A. Risk and benefits of erythropoiesis-stimulating agents in cancer management // *Semin. Hematol.* – 2007. – Vol. 44. – № 3. – P. 157-165.
4. Ran Y., Xu B., Wang R. et al. Dragon's blood extracts reduce radiation-induced peripheral blood injury and protects human megakaryocyte cells from GM-CSF withdraw-induced apoptosis // *Phys Med*. – 2016. – Vol. 32(1). P. 84-93.
5. Пат. 2578457 Российская Федерация, МПК А61К А61З. Средство, обладающее противоопухолевой и антиметастатической активностью, повышающее противометастатическое действие циклофосфана [Текст] / Разина Т.Г., Зуева Е.П., Калинин Г.И., Исайкина Н.В., Андреева В.Ю., Рыбалкина О.Ю., Крылова С.Г., Амосова Е.Н., Лопатина К.А., Сафонова Е.А., Галиулина А.В.; патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга" (RU). №2015103700; заявл. 04.02.2015; зарегистрир. 25.02.2016.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: «Гриф и К», 2013. – 944 с.
7. Исайкина Н.В., Калинин Г.И., Андреева В.Ю., Шерстобоев Е.Ю., Масная Н.В., Шилова А.Б. Рябина обыкновенная: определение антоцианов в плодах // *Фармация*. – 2015. – № 1. – С. 19-22.
8. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика: учеб. пособие для вузов. – М: Высш. шк., 2002. – 479 с.

### **Influence study of sorbus aucuparia l. the development of doxorubicin-induced anemic syndrome**

*Rybalkina Olga Yur'evna, PhD; Kirilenko Kirill Michailovich, student, Fedorova Elena Pavlovna, PhD; Razina Tatyana Georgievna, PhD; Isaykina Nadezhda Valentinovna c.h.s.; Zueva Elena Petrovna, PhD*

*Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMС,*

*Tomsk, 3 Lenina Ave.; e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru)*

*Siberian State Medical University, Tomsk, 2 Moskovsky trakt; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru)*

*National Research Tomsk State University, Tomsk, 36 Lenina Ave.; e-mail: [rector@tsu.ru](mailto:rector@tsu.ru)*

*The article discusses the experiment results on C57Bl/6 mice. It is shown that use doxorubicin with the fruits extract of Sorbus aucuparia L. inhibition the development of anemic syndrome.*

*Keywords: erythropoiesis, doxorubicin, extract of Sorbus aucuparia L.*

**ПОЛИСАХАРИДЫ TUSSILAGO FARFARA L. КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ  
СОСТАВЛЯЮЩИЕ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ**

*Сафонова Елена Андреевна, к.м.н., научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [safonova\\_7@mail.ru](mailto:safonova_7@mail.ru)*

*Лопатина Ксения Александровна, к.м.н., научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [k.lopatina@pharmso.ru](mailto:k.lopatina@pharmso.ru)*

*Разина Татьяна Георгиевна, д.б.н., старший научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [razinatg22@gmail.com](mailto:razinatg22@gmail.com)*

*Вычужанина Анна Владимировна, к.б.н., старший научный сотрудник  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [repropharm@yandex.ru](mailto:repropharm@yandex.ru)*

*Гурьев Артем Михайлович, д.фарм.н., руководитель Центра внедрения технологий  
ГБОУ ВПО «СибГМУ»  
e-mail: [titan-m@mail.ru](mailto:titan-m@mail.ru)*

*Белоусов Михаил Валерьевич, д.фарм.н., заведующий кафедрой фармации ФПК и ППС  
ГБОУ ВПО «СибГМУ»  
e-mail: [mvb63@mail.ru](mailto:mvb63@mail.ru)*

*Зуева Елена Петровна, д.б.н., проф., заведующая лабораторией  
НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ  
e-mail: [zep0929@mail.ru](mailto:zep0929@mail.ru)*

*ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской  
академии наук» «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенератив-  
ной медицины имени Е.Д. Гольдберга»; 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3; Россия;  
e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru); [www.pharmso.ru](http://www.pharmso.ru)*

*ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ;  
634050,  
г. Томск, Московский тракт, 2; Россия; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru); [www.ssmu.ru](http://www.ssmu.ru)*

*В эксперименте на мышях линии С57BL/6 установлено, что добавление полисахаридов *Tussilago farfara* L. в схемы полихимиотерапии приводит к снижению миелосупрессии в отношении эритроидного и гранулоцитарного ростков кроветворения, уменьшению ДНК-повреждений в костном мозге и тонком кишечнике и повышению противоопухолевого и антиметастатического действия цитостатиков.*

*Ключевые слова: полисахариды, полихимиотерапия, генотоксичность, миелотоксичность.*

**Введение**

В настоящее время лечение онкологических больных становится все более успешным благодаря внедрению в практику новых программ и схем противоопухолевой химиотерапии. Схемы и режимы полихимиотерапии с включением препаратов платины являются высокоэффективными и применяются для лечения опухолей различных локализаций: рака легкого, яичников, желудка, шейки матки и другой онкологической патологии [1]. Входящие в состав комбинированной терапии цитостатики не обладают специфичностью и, помимо опухолевых клеток, повреждают здоровые, быстро пролифериру-

ющие ткани [2]. Одними из наиболее часто встречающихся побочных эффектов полихимиотерапии являются гематологическая и гастроинтестинальная токсичность. Важным является применение сопроводительного лечения, позволяющего предупредить или уменьшить нежелательное влияние цитостатического воздействия на здоровые, не поврежденные опухолевым процессом органы и ткани. Средства, применяемые для коррекции химиотерапевтического лечения, не должны стимулировать рост опухоли и метастазов, а, желательнее, способствовать повышению эффективности специфического лечения. Полисахариды являются перспективными для создания на их основе такого рода препаратов. В ранее проведенных исследованиях показано, что совместное применение полисахаридов *Tussilago farfara L.* (мать-и-мачехи обыкновенной) и цитостатиков в условиях монохимиотерапии снижает гематологическую токсичность, способствует повышению устойчивости печени и слизистой оболочки тонкого кишечника к действию противоопухолевых препаратов, повышает противоопухолевое и антиметастатическое действие цитостатиков [3]. При этом на фоне полихимиотерапевтического воздействия корректорные свойства этих веществ не изучались.

**Цель исследования.** Изучить гематологическую токсичность, степень повреждения ДНК в костном мозге и тонком кишечнике мышей, эффективность противоопухолевого и антиметастатического действия цисплатинсодержащей комбинированной терапии при совместном использовании с полисахаридами мать-и-мачехи обыкновенной.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на мышках-самках линии C57BL/6 с раком легкого-67 и карциномой легких Льюис. Цитостатики: цисплатин (2,5 мг/кг) + этопозид (5 мг/кг); цисплатин (2,5 мг/кг) + паклитаксел (12 мг/кг); цисплатин (2,5 мг/кг) + иринотекан (10 мг/кг) вводили мышам внутривентрально, трехкратно, на 10, 12 и 14 сут после перевивки опухоли, интервал между введениями каждого препарата составлял 10-20 мин. Нейпоген в дозе 125 мкг/кг и рекомбинант в дозе 10 Ед/мышь вводили подкожно в течение 5 сут, начиная с 10 сут после трансплантации опухоли. Мыши получали полисахариды внутривентрально в дозе 20 мг/кг, начиная с 7 сут после перевивки, в течение 23 сут. Показатели периферической крови определяли на гематологическом анализаторе «Muclic 18 vet» (Cormay, Франция). Подсчет миелограмм, определение ретикулоцитов в периферической крови и основных показателей роста опухоли и метастазов проводили по стандартным методикам. Степень повреждения ДНК в костном мозге и тонком кишечнике оценивали с помощью метода «ДНК-комет» [4]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью критерия Вилкоксона-Манна-Уитни, критерия Стьюдента и углового преобразования Фишера [5].

**Результаты.** Известно, что в клинической практике, как правило, применяется одновременно два и более цитостатических средства и практически не используется монохимиотерапия. Для создания адекватной экспериментальной модели полихимиотерапии на первом этапе исследования была проведена сравнительная оценка эффективности и переносимости лечения цитостатиками различного механизма действия при однократном и трехкратном введении, а также подобраны дозы с целью возможности дальнейшего комбинирования этих противоопухолевых препаратов. При анализе полученных экспериментальных данных установлено, что, несмотря на довольно высокую эффективность режимов химиотерапии с использованием однократного введения цитостатиков, переносимость таковых оказалась значительно ниже (наблюдалась гибель животных), чем при трехкратном использовании противоопухолевых препаратов. В связи с этим для проведения дальнейшего исследования был выбран трехкратный режим введения. Результатом этого этапа работы явилась разработка моделей умеренного торможения развития опухолевого процесса с сопровождающей гематологической токсичностью с целью изучения корректорных свойств препаратов дополнительной терапии.

При оценке возможности снижения гематологической токсичности полихимиотерапии на эритроидный росток кроветворения с помощью полисахаридов была выбрана схема «цисплатин+этопозид». В качестве препарата сравнения применялся рекормон. Установлено, что в костном мозге мышей с перевиваемыми опухолями, получавших полисахариды на фоне введения противоопухолевых препаратов, общее количество миелокариоцитов, эритрокариоцитов, было значимо выше этих показателей у животных, леченных только цитостатиками. В периферической крови мышей отмечено увеличение количества ретикулоцитов, содержания зрелых эритроцитов, показателей гемоглобина и гематокрита, по сравнению с таковыми у животных, получавших полихимиотерапию. Для оценки возможности снижения гематологической токсичности полихимиотерапии на гранулоцитарный росток кроветворения с помощью полисахаридов была выбрана схема «цисплатин+паклитаксел», а в качестве препарата сравнения – нейпоген. Динамику показателей отслеживали на 1, 3, 5 и 7 сут после третьего введения цитостатиков. У животных, получавших дополнительно полисахариды, такие показатели костного мозга, как общее количество миелокариоцитов, число зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов были значимо, чем у мышей, леченных только цисплатином и паклитакселом. В периферической крови отмечено повышение общего количества лейкоцитов за счет увеличения числа палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Таким образом, полисахариды мать-и-мачехи стимулируют процессы регенерации костномозгового эритропоза и грануломоноцитопоза у мышей на фоне полихимиотерапии. Гемопозиндуцирующее воздействие полисахаридов оказалось сравнимо с таковым у рекормона и нейпогена.

При оценке влияния полисахаридов на индуцируемую цисплатином и иринотеканом генотоксичность в тонком кишечнике установлено, что картина клеток, образующих ДНК-кометы, практически не отличалась от таковой у интактных животных. Оценка степени повреждения ДНК клеток показала, что % ДНК в хвосте кометы и % апоптотических ДНК-комет были значимо ниже (в 1,4 и 1,5 раз соответственно) по сравнению с этими значениями у мышей, получавших только полихимиотерапию. На препаратах костного мозга животных, которым вводили цитостатики по схеме «цисплатин+паклитаксел» совместно с полисахаридами *Tussilago farfara L.*, регистрировались не поврежденные клетки, апоптотических ДНК-комет практически не наблюдалось. % ДНК - повреждений и % апоптотических ДНК-комет у мышей этой группы были достоверно ниже (в 10,9 и 6,7 раз соответственно) этих показателей у леченных только цитостатиками животных.

При добавлении полисахаридов в схемы полихимиотерапии отмечено, что масса опухоли, частота метастазирования, количество и площадь метастазов были значимо ниже таковых у мышей, получавших цитостатики изолированно. Наибольшее угнетение роста опухоли при совместном использовании полисахаридов и цитостатиков наблюдалось у животных, леченных противоопухолевыми препаратами в комбинациях «цисплатин+этопозид» и «цисплатин+иринотекан», а процесса метастазирования – «цисплатин+паклитаксел».

### **Выводы:**

1. Использование полисахаридов *Tussilago farfara L.* приводит к уменьшению гематологической токсичности полихимиотерапии, препятствуя опустошению костного мозга и стимулируя процесс восстановления гранулоцитарного и эритроидного ростков гемопоэза.
2. Применение полисахаридов *Tussilago farfara L.* способствует снижению степени повреждения ДНК и уровня апоптоза в клетках костного мозга и эпителия тонкого кишечника на фоне полихимиотерапии.
3. Использование полисахаридов *Tussilago farfara L.* приводит к повышению эффективности антиметастатического и противоопухолевого действия полихимиотерапии.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: в качестве средства, снижающего гематологическую токсичность, степень повреждения ДНК и уровень апоптоза в клетках костного мозга и эпителия тонкого кишечника при полихимиотерапии, а также повышающего противоопухолевое и антиметастатическое действие цитостатиков, применяются полисахариды *Tussilago farfara L.*

### Литература:

1. Абрамов М.Е., Мащелуева А.Ю. Цисплатин-эбеве. Актуальность вопросов применения // Эффективная фармакотерапия. - 2011. - № 22. - С. 42-45.
2. Моисеев А.А. Фармакогенетика препаратов платины // Онкогинекология. - 2012. - № 2. - С. 4-12.
3. Сафонова Е.А., Лопатина К.А., Разина Т.Г., Федорова Е.П., Пахомова А.В., Вычужанина А.В., Зуева Е.П., Ефимова Л.А. Коррекция токсического эффекта паклитаксела на систему крови и эпителий тонкой кишки водорастворимыми полисахаридами мать-и-мачехи обыкновенной, аира болотного и эхинацеи пурпурной // Рос. биотер. жур. 2010. - Т. 9, - № 2. - С. 19-24.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. 2 - е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. - 832 с.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.

### ***Polysachrides tussilago farfara l. As perspective components of chemotherapy of experimental tumors***

Safonova Elena Andreevna, PhD; Lopatina Ksenia Alexandrovna, PhD; Razina Tatyana Georgievna, PhD; Vychuzhanina Anna Vladimirovna, PhD; Guriev Artem Mikhailovich, PhD; Belousov Mikhail Valerievich, PhD; Zueva Elena Petrovna, PhD;

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC, Tomsk, 3 Lenina Ave.; e-mail: [pharm@tnimc.ru](mailto:pharm@tnimc.ru)  
Siberian State Medical University, Tomsk, 2 Moskovsky trakt; e-mail: [rector@ssmu.ru](mailto:rector@ssmu.ru)

*In an experiment in C57BL/6 mice, the addition of Tussilago farfara L. polysaccharides to polychemotherapy regimens results in a decrease in myelosuppression for erythroid and granulocyte germs of hematopoiesis, a decrease in DNA damage in the bone marrow and small intestine, and an increase in the antitumor and antimetastatic effect of cytostatics.*

**Key words:** polysaccharides, polychemotherapy, genotoxicity, myelotoxicity.

## СТРЕССОВЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА СТРУКТУРУ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ

Алексеева Ольга Михайловна, к.б.н., с.н.с.

E-mail: olgavek@yandex.ru

ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН

<http://www.ibcp.chph.ras.ru>

Ким Юрий Александрович, д.ф.-м.н., в.н.с

E-mail: yuk01@rambler.ru

ФГБУН «Институт биофизики клетки РАН

<http://www.icb.psn.ru>

*Экзогенные биологически активные вещества (БАВ) иногда действуют, как стрессовые факторы среды. При исследовании действия БАВ - мелафена (регулятора роста растений), на эритроциты и их тени показано, что деструкции мембран нет, но степень гемолиза спонтанного и индуцированного изменяется.*

*Ключевые слова: ДСК, эритроциты, тени эритроцитов, гемолиз, мелафен.*

Экзогенные биологически активные вещества (БАВ) часто играют роль стрессовых факторов окружающей среды при воздействии на организм животных или растений. В настоящей работе исследовали эффекты БАВ – мелафена. Это гетероциклическое фосфорорганическое соединение, синтезированное в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН [5, с. 80]. Мелафен представляет собой меламиновую соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты (Рис.1) и является регулятором роста овощных и зерновых культур. Растительные клетки при обработке водными растворами с малыми концентрациями мелафена резко усиливают метаболизм, что приводит к значительному повышению устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Однако большие концентрации губят и семена и растения. Целью данной работы было выявление возможного влияния водных растворов в широком диапазоне концентраций мелафена на клетки животных на модельных системах – эритроцитах и их тенях.

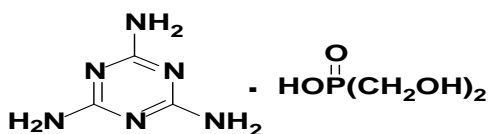


Рис. 1. Структурная формула мелафена

Эритроциты - одна из первых мишеней при попадании вещества в кровяное русло, поэтому могут служить экспериментальным объектом для тестирования БАВ, как факторов воздействия внешней среды. Состав и строение структурных элементов мембраны эритроцитов характерны для многих клеток организма. Основной задачей настоящей работы явилась оценка эффектов мелафена, связанных с изменениями в мембранах. Протестированы следующие параметры: термостабильность белковых доменов мембран теней эритроцитов при  $10^{-8}$ – $10^{-3}$ М мелафена; спонтанный и гиперосмотический гемолиз эритроцитов при  $10^{-13}$ – $10^{-3}$ М мелафена.

**Методы.** Выделяли эритроциты и тени эритроцитов белых крыс Wistar и тестировали целостность клеток по уровню гемолиза эритроцитов по методам [6, 169, 11, 453, 7, 211, 10, 284]. Гиперосмотический гемолиз проводили по методу [3, 15]. Из суспензии эритроцитов брали 50 мкл и переносили в 0,5 мл фосфатно-солевого буфера (5mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 150mM NaCl) и инкубировали при температуре  $37^\circ\text{C}$  5 мин, затем из этой пробы брали 50 мкл и переносили в 1 мл раствора NaCl заданной молярности и инкубировали 5 мин при  $37^\circ\text{C}$  ( $10^6$  клеток/мл). Далее суспензию эритроцитов осаждали. Уровень гемолиза определяли по оптическому поглощению супернатанта на длине волны 540 нм. За 100% уровня гемолиза было выбрано поглощение супернатанта после гемолиза, вызванного 0,1% тритоном X-100. Регистрировали на спектрофотометре “Specord – M40” (ГДР) в спецотсеке для мутных образцов по уменьшению оптической плотности раствора на длине волны 720 нм после введения эритроцитов при постоянном перемешивании. Поскольку оптическая плотность суспензии эритроцитов пропор-

циональна количеству целых клеток в суспензии ( $10^6 - 10^9$  клеток/мл) [13, 649], следовательно, измеряемая скорость уменьшения оптической плотности пропорциональна скорости гемолиза эритроцитов [13, 649, 4, 723]. Перед измерениями эритроциты и тени эритроцитов преинкубировали в течение 45 мин при  $37^\circ\text{C}$  с мелафеном или без него.

Термограммы мембран теней эритроцитов регистрировали с помощью дифференциального адиабатного сканирующего микрокалориметра ДАСМ-4 [12, 257]. Параметры ДСК измерения: температурный шаг 0.10; количество точек 701; концентрация 1 мг/мл; объем пробы 0.73 мл/г; стартовая температура  $20^\circ\text{C}$ ; конечная температура  $90^\circ\text{C}$ ; скорость нагрева К/мин 1.000; объем ячейки 0.50 мл.

**Результаты и обсуждение.** Для проверки предположения о том, что влияние мелафена на мембрану может быть вызвано взаимодействием с белковыми компонентами, было проведено адиабатное дифференциальное микрокалориметрическое сканирование (ДСК) мембран эритроцитов. Тестирование действия мелафена на термостабильность белковых доменов в мембране эритроцитов выполнялось на тенях эритроцитов, представляющих собой плазматические мембраны и цитоскелет эритроцитов, полностью освобожденных от гемоглобина с помощью гипоосмотического гемолиза. На рисунках 2 и 3 представлены температурные переходы белковых микродоменов в мембранах теней эритроцитов крыс в контроле и после предварительной инкубации с тестируемым веществом в первый и второй дни после получения препаратов теней. Так проведено дополнительное исследование влияния БАВ при старении мембран.

ДСК исследование, в изотонических условиях, выявляет пять структурных переходов в мембранах теней (рис.2 кривая 1),: *A*-, *B*<sub>1</sub>-, *B*<sub>2</sub>-, *C*- и *D*- переходы [8, 3662, 6, 169]. *A*-переход обусловлен денатурацией домена мембранного скелета, образованного комплексом  $\alpha$ - и  $\beta$ - спектрина и актина. Денатурация спектрин-актинового комплекса, приводящая к исчезновению *A*-перехода, сопровождается полной потерей деформируемости эритроцитов [11, 453] и мембран теней [7, 211]. В изотонических условиях *B*<sub>1</sub>-переход связан с денатурацией анкирина, дематина и белков полос 4.1, 4.2. Анкирин играет важную роль в поддержании формы теней эритроцитов и в деформации их формы.[9, 237]. *B*<sub>2</sub>-переход обусловлен денатурацией цитоплазматического фрагмента белка полосы-3. *C*-переход связан с денатурацией мембранного фрагмента 55 кДа белка полосы-3, в составе которого компоненты ионных каналов. *D*-переход отражает термоденатурацию неидентифицированных белков и везикуляцию мембраны.[8, 3662, 6, 169]. В кровотоке поврежденные, например, окисленные эритроциты отсутствуют, т.к. фагоцитируются макрофагами. Поэтому все исследования влияния БАВ проводились *in*

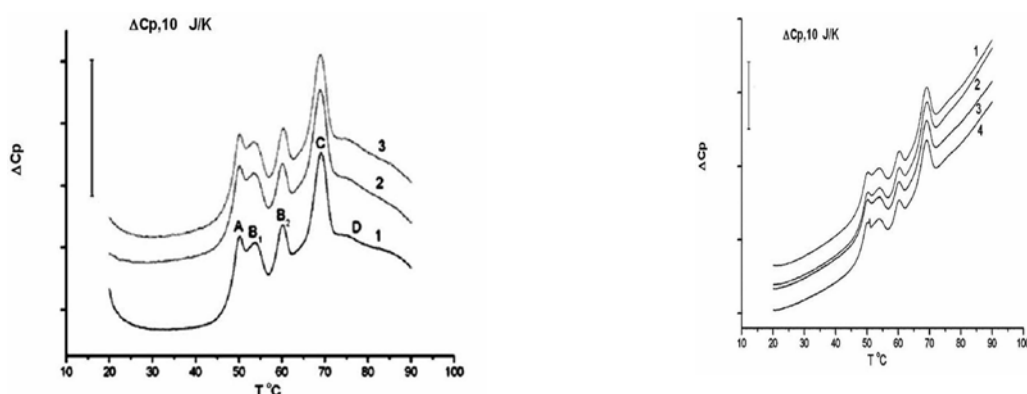


Рис 2. Влияние мелафена на термостабильность мембран эритроцитов в первый день после получения теней. Обозначения: 1- контроль; 2 – мелафен  $10^{-5}\text{M}$ ; 3 – мелафен  $10^{-3}\text{M}$ . Рис 3. Влияние мелафена на термостабильность мембран эритроцитов во второй день после получения теней. Обозначения: 1- контроль; 2 – мелафен  $10^{-8}\text{M}$ ; 3 – мелафен  $10^{-6}\text{M}$ ; 4 – мелафен  $10^{-4}\text{M}$ .

*in vitro* на препаратах изолированных эритроцитов. Модель теней эритроцитов для микрокалориметрических исследований параметров клеточных мембран вполне адекватна, т.к. в мембранах других клеток развиваются такие же изменения, поскольку белки се-



мейства спектрина, анкирина, белков полос 4,1 и 4,2 и белка полосы 3 представлены в составе мембранного скелета практически всех клеток животного организма.

На рис. 2 и 3 представлены термограммы теней в присутствии мелафена в первый день и второй день после получения теней. При старении препарата теней меняется структура мембран, но добавление мелафена перед сканированием незначительно влияет на вид кривых. Не происходит изменений амплитуды и температуры пиков термоденатурационных переходов. Мелафен не оказывает значительного воздействия непосредственно на белковые компоненты мембраны. Изменений, ведущих к потере белков, или к перестройке белковых доменов мелафен не вызывает.

Проба	$\Delta C_p$	$\Delta$ (%)
Контроль - тени эритроцитов	17,1+ 0,01	-
тени эритроцитов +10 <sup>-5</sup> М мелафен	17,6+ 0,01	+3%
тени эритроцитов +10 <sup>-3</sup> М мелафен	18,6+ 0,01	+9%

Табл.1. Влияние мелафена на температурную зависимость избыточного удельного теплопоглощения (термограммы - пик А) суспензии мембран теней эритроцитов. Обозначения:  $\Delta C_p$  - изменение относительной теплоемкости (Дж/кг•К) в максимуме пика теплопоглощения (интенсивность перехода),  $\Delta$  (%) – разница, где 100% - величина контрольного ответа.

Как видно из данных табл.1. значительных изменений 10<sup>-5</sup> М, 10<sup>-3</sup> М мелафен в изменении относительной теплоемкости (Дж/кг•К) в максимуме пика теплопоглощения А (интенсивность А-перехода) не вызывает (3-9 %). Остальные переходы практически не меняют своей амплитуды.

Меру повреждения плазмолеммы исследуемым БАВ тестировали по степени гемолиза при непосредственном добавлении к суспензии эритроцитов разных концентраций мелафена. Гемолиз проводился в течение 45 мин при комнатной температуре. Было обнаружено, что мелафен во всем диапазоне концентраций (10<sup>-13</sup>М - 10<sup>-3</sup>М) не вызывает дополнительного гемолиза и не защищает от спонтанного. 100% гемолиз - при добавлении тритона Х-100, 3% - спонтанный гемолиз и 3%+-0,3% в присутствии мелафена.

Измерение гемолиза в гиперосмотических условиях провели по причине того, что исследуемый препарат может оказывать защитное действие на мембрану, или же уско-

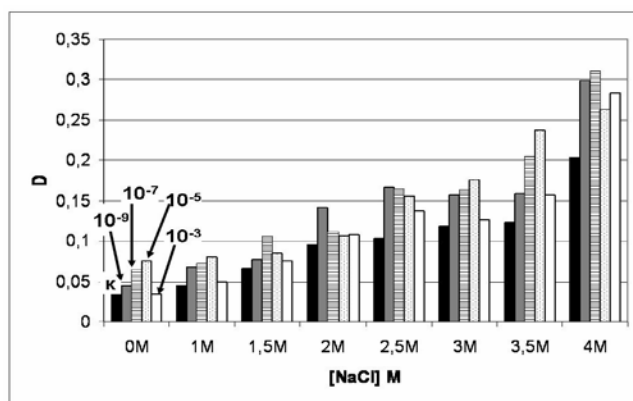


Рис.4 Влияние мелафена на гиперосмотический гемолиз эритроцитов. Влияние мелафена (10<sup>-9</sup>-10<sup>-3</sup> М) на гипо- и гиперосмотический гемолиз эритроцитов.

ные не показаны).

**Заключение.** Актуальность проведенных исследований заключается в том, что, между растениями и животными существует связь в пищевых цепочках, и обработка БАВ семян и растений даже в очень малых дозах может приводить к накоплению БАВ и в животном организме. Далее могут следовать разнообразные воздействия БАВ, как полезные, так и губительные. В этих случаях БАВ будут выступать, как факторы ис-

рять ее разрушение при локальных неблагоприятных факторах среды. Таким образом, проследили сочетанное влияние исследуемого БАВ и стрессовых факторов среды.

Как видно из данных рис.4, общая тенденция увеличения степени гемолиза эритроцитов при увеличении осмолярности среды измерения изменяется в присутствии мелафена в широком диапазоне концентраций (10<sup>-9</sup>М - 10<sup>-3</sup>М). Степень гиперосмотического гемолиза увеличивается. Малые концентрации 10<sup>-12</sup>М и 10<sup>-11</sup>М мелафена не меняют общей картины (дан-

кусственного отбора. Белок-липидный состав и строение плазматической мембраны эритроцитов, являющейся частью цитоскелета клетки. Поэтому эритроциты простые и адекватные модели для тестирования локальных изменений как при патологиях. [1, 279, 2, 29], так и при действии БАВ. Основываясь на результатах воздействия того или иного БАВ на мембрану эритроцитов, можно частично предсказать тип воздействия на цитоскелет других клеток. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты. При исследовании мембран и цитоскелета эритроцитов было показано отсутствие деструктивного влияния мелафена, в широком диапазоне концентраций  $10^{-13}$ М -  $10^{-3}$ М на структуру мембран эритроцитов, являющихся нормальными здоровыми клетками в организме животных. Значительных перестроек белковых доменов в мембранах эритроцитов мелафен не вызывает, не влияет на степень гемолиза в отсутствии повреждающих факторов. При стрессовых гиперосмотических условиях среды структуру эритроцитарных клеток мелафен меняет, значительно увеличивая проницаемость мембраны.

### Литература

1. Акоев В.Р., Щербинина С.П., Матвеев А.В., Тараховский Ю.С., Дее, А.А., Шныров В.Л. Исследование структурных переходов в мембранах эритроцитов при наследственном гемохроматозе. // Бюллетень Экспериментальной Биологии и Медицины, 1997, Т.123, №3, С.279-284.
2. Гулевский, А.К., Рязанцев, В.В., Белоус, А.М. Структурные перестройки липидов и белков мембран эритроцитов при действии низких температур // Научные Доклады Высшей Школы. Биологич. Науки. 1990. С.29-36
3. Ким Ю.А., Елемесов Р.Е., Акоев В.Р. Гиперосмотический гемолиз эритроцитов и антигемолитическая активность фракции сапонинов и тритерпеновых гликозидов из *Panax Ginseng* С.А.Меуер. // Биологические мембраны. 2000. Том.17. №2. С. 15-26.
4. Руденко С.В., Нипот Е.Е., Павлюк О.М. Влияние ионов Zn на гемолиз эритроцитов, индуцированных мелиттином // Биохимия. 1995. Том 60. Вып. 5. С. 723-733.
5. Фаттахов С.Г., Резник В.С., Коновалов А.И. Меламиновая соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты (мелафен) как регулятор роста и развития растений нового поколения // В сб. докладов 13-ой Международной конференции по химии соединений фосфора. С.-Петербург 2002. С. 80.
6. Brandts J.F., Lysko, K.A., Schwartz, A.T., Eryckson, L., Carlson, R.B., Vincentelli, J., Taverna, R.D. Structural studies of the erythrocyte membrane. // Colloques. internationaux. du. C. R. S. 1976. Vol. 246. P.169-175.
7. Heath, B.P., Mohandas, N., Wyatt, J.L., Shohet, S.B.: Deformability of isolated red blood cell membranes. // Biochim. Biophys. Acta. 1982. Vol. 691. P. 211-219.
8. Jackson W.M., Kostyla J., Nordin J.H., Brandts J.F. Calorimetric study of protein transitions in human erythrocyte ghosts. // Biochemistry. 1973. Vol. 12. P. 3662-3667.
9. Jinbu Y., Sato S., Nakao T. The role of ankyrin in shape and deformability change of human erythrocyte ghosts. // Biochim. Biophys. Acta. 1984. Vol. 773. N. 2. P. 237-245.
10. Kim. Yu.A., Aкоев V.R., Matveev A.V., Belyaeva T.V. The effect of oxidative stress on structural transitions of human erythrocyte ghost membranes. // Biochimica et Biophysica Acta, 1998. Vol. 1371. P. 284-294.
11. Mohandas, N., Greenquist, A.C., Shohet, S.B.: Effect of heat and metabolic depletion on erythrocyte deformability, spectrin extractability and phosphorylation. // The Red Cell. New York, Alan R. Liss, Inc. 1978. P. 453-472.
12. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids. // Therm. Acta. 1989. Vol. 139. P.257-277.
13. Young J.D.-E., Leong L.G., DiNome M.A., Cohn Z.A. A semiautomated hemolysis microassay system for membrane lytic proteins. // Analyt. Biochem., 1986, Vol. 154. N 2. P. 649-654.

### Bed environment actions to erythrocyte's membranes.

*Olga Michailovna Alekseeva*<sup>1</sup> PhD Biologist, Senior Scientist, [olgavek@yandex.ru](mailto:olgavek@yandex.ru), *Yuri Aleksandrovich Kim*<sup>2</sup> DSc (of Physical and Mathematical Sciences), Professor, Leading Scientist. [yuk01@rambler.ru](mailto:yuk01@rambler.ru).

<sup>1</sup>*Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS, [ibcp.chph.ras.ru/](http://ibcp.chph.ras.ru/).*

<sup>2</sup>*Institute of Cell Biophysics of RAS, [www.icb.psn.ru/](http://www.icb.psn.ru/).*

*Key words: DSC, erythrocytes, erythrocyte's ghost, hemolysis, melafen.*

*Exogenous biological active substances (BAS) act as a bed environment factors at any cases. With the using of the erythrocytes and its ghosts as experimental objects the actions of BAS melafen (plant development regulator) were investigated. Melafen aqua solutions hadn't destruction effects to these membranes. But hemolysis was changed.*

УДК 612.111.11

## ГЕМОГЛОБИН КАК НОСИТЕЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО СИГНАЛА

*Ольга Владимировна Космачевская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.*

*E-mail: [rizobium@yandex.ru](mailto:rizobium@yandex.ru)*

*Алексей Федорович Топунов, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией*

*E-mail: [aftorunov@yandex.ru](mailto:aftorunov@yandex.ru)*

*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук*

*<http://www.fbras.ru>*

*Гемоглобин участвует в регуляции метаболизма эритроцита: гликолиза, циркадных ритмов, сигнала эриптоза. Эти функции Hb реализует, связываясь с компонентами мембраны. Изменение уровня мембраносвязанного Hb в зависимости от концентрации редокс-активных веществ подчиняется принципу гормезиса.*

*Ключевые слова: гемоглобин, мембраносвязанный гемоглобин, эритроциты, капиллярный кровоток, гормезис*

### Введение в проблему

Гемоглобин (Hb) – один из наиболее распространенных белков нашего организма и самый изученный белок животных. История изучения Hb эритроцитов длится более полутора веков. Этот белок привлекал внимание ученых разной специальностей: биохимиков, физиологов, токсикологов, фармакологов, молекулярных биологов, специалистов по структуре белка.

За последние два десятилетия представления о функциональных свойствах Hb существенно расширились. Стало ясно, что он не просто переносчик кислорода, но еще и регулятор его доставки к органам и тканям. Регуляторную функция Hb осуществляет несколькими способами:

- 1) через модуляцию деформируемости эритроцита
- 2) через синтез и депонирование NO в эритроците
- 3) через образование и экспорт из эритроцита сигнальной АТР

Во всех случаях регуляторный эффект связан с конформационным состоянием тетрамера гемоглобина, т.е. зависит от парциального давления кислорода.

Этим регуляторное действие Hb не ограничивается. Он участвует в регуляции метаболизма эритроцита: энергетического обмена, организации циркадных ритмов, появления сигнала эриптоза. Поскольку эритроцит млекопитающих представляет собой редуцированную клетку, где отсутствует ядро, митохондрии и белоксинтезирующий аппарат, то основной информационной платформой является плазматическая мембрана и связанный с ней цитоскелет. Мембрану эритроцитов следует рассматривать как открытую динамическую структуру, способную специфически и неспецифически связывать белки плазмы крови и цитозоля эритроцитов.

Многие регуляторные функции гемоглобин реализует посредством филогенетически древнего адсорбционного механизма регуляции метаболизма, суть которого заключается в обратимом связывании белка на биологических матрицах [1, 2]. Рассмотрим основные пути формирования биологического сигнала в эритроците.

### **Связывание гемоглобина с мембраной как способ формирования биологического сигнала**

В эритроцитах Hb существует в растворимой (свободной) и мембраносвязанной формах (Membrane-Bound Hemoglobin – MBHb). По разным оценкам доля Hb, перешедшего из растворимого в мембраносвязанное состояние изменяется в диапазоне от 0,5 до 12% [3-6]. Основным местом связывания Hb с мембраной является белок полосы 3 (Band3). Это основной интегральный белок мембран эритроцитов – представитель семейства (SLC4) переносчиков (транспортеров) растворенных веществ (SLC4A1, anion exchanger 1 – AE1). По N-концевому цитоплазматическому домену (CDB3) связываются ферменты гликолиза, гемоглобин и гемихромы (окисленные денатурированные формы Hb).

#### **1. Регуляция газообмена**

В эритроцитах газообмен происходит в окрестностях комплекса полосы 3 [7]. Высвобождаемые при образовании бикарбоната протоны локализуются в этой области, где они за счет эффекта Бора способствуют дезоксигенации Hb. Кроме того, deoxyHb имеет высокое сродство к CDB3, что приводит к ряду физиологических эффектов, обсуждаемых ниже. Тесный контакт гемоглобина и карбоангидразы с участием CDB3 обеспечивает высвобождение кислорода в том месте, где это необходимо.

#### **2. Регуляция метаболизма глюкозы**

Увеличение доли deoxyHb при гипоксии приводит к вытеснению ферментов гликолиза с сайта связывания с CDB3 и переходу их в растворимое активное состояние [3, 7]. Таким образом, при дезоксигенации Hb происходит переключение метаболизм с пентозофосфатного пути на гликолитический [7]. С одной стороны, это способствует возрастанию уровня внутриклеточного АТФ 2,3-ДФГ, а, с другой, уменьшает поток глюкозы, поступающей в пентозофосфатный путь, в котором образуется NADPH, необходимый для восстановления metHb и антиоксидантных ферментов.

#### **3. Регуляция капиллярного кровотока**

Описаны три возможных механизма участия эритроцитов в регуляции тонуса сосудов: нитрозогемоглобинзависимая гипоксическая вазодилатация [8], нитритная вазодилатация [9] и высвобождение сигнальной АТФ из эритроцитов [10]. Все эти механизмы реализуются в условиях пониженного  $pO_2$  и модулируются Hb.

*Участие в образовании и регуляции транспорта NO через мембрану эритроцита*

При дезоксигенации Hb взаимодействует с CDB3, что сопровождается переносом NO-группы в реакции транснаитрозилирования на вицинальные остатки цистеина CDB3 (Cys201 и Cys317). Затем NO может перемещаться за счет анионообменных свойств Band3/AE1, тем более, что показано участие AE1 в транспорте метаболитов оксида азота (NOx) [11]. Поскольку SNO-Hb находится в равновесии с низкомолекулярными нитрозотиолами (R-SNO), то не исключено, что и они принимают участие в дальнейшем пути продвижения NO-группы [8]. Таким образом, экспорт NO из эритроцита регулируется физиологическим градиентом  $pO_2$ .

*Участие в гипоксическом высвобождении АТФ*

Bergfeld и Forrester в 1992 обнаружили, что при гипоксии происходит выброс АТФ из эритроцитов. Этот АТФ связывается с P2Y-пуриnergическими рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток, активирует синтез NO и других сосудорасширяющих факторов, тем самым способствуя увеличению скорости капиллярного кровотока и эффективности доставки  $O_2$  к тканям. Ключевым компонентом молекулярного механизма сигнального пути высвобождения АТФ является Hb [10], который в

дезоксигемоглобин связывается с CDB3. Это приводит к активации гетеротримерного G-белка и запускает каскад реакций сигнального пути, на заключительном этапе которого происходит активации регулятора трансмембранной проводимости (CFTR) и высвобождению АТФ через паннексиновые каналы.

### *Участие в нитрит-зависимом высвобождении АТФ*

На различных экспериментальных моделях было показано участия Hb в нитрит-зависимом высвобождении АТФ [5]. Более высокие уровни МВHb, индуцированные взаимодействием Hb с нитритом, приводят к активации ферментов гликолиза и усилению синтеза АТФ. Индукция нитритом перераспределения Hb из растворимого в мембраносвязанное состояние наблюдалась и в наших экспериментах с изолированными эритроцитами [6], причем нитрозотиолы в тех же концентрация, что и нитрит-ионы, не приводили к образованию дополнительного МВHb.

### *Регуляция деформируемости эритроцитов*

Связывание deoxyHb с CDB3 в непосредственной близости от сайтов связывания анкиринов, соединяющих белок полосы 3 с цитоскелетом, приводит к вытеснению анкирина из комплекса с белком полосы 3 [12]. Это приводит к высвобождению спектрин/актинового цитоскелета из связи с мембраной. Ослабление мембрано-цитоскелетных взаимодействий в течение коротких периодов улучшает прохождение в микроциркуляторном русле.

### **4. Поддержание циркадных ритмов эритроцита**

В 2011 г. было показано, что изолированные эритроциты человека поддерживают колебания некоторых метаболитов (PrxII-SO<sub>2</sub>H, metHb, NADH, NAD(P)H, АТФ) с околосуточным ритмом [13]. Это было первое экспериментальное свидетельство существования независимого от транскрипции циркадного ритма, основанного на посттрансляционных процессах. В качестве ключевого игрока в этом процессе был идентифицирован гиперокисленный пероксиредоксин II (PrxII-SO<sub>2</sub>H) [13, 14]. Поскольку основным источником H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в эритроцитах является автоокисление Hb, было предложено несколько гипотез о функции этого белка в организации циркадных ритмов. Поскольку, что димерная форма Hb характеризуется более высокой скоростью автоокисления, авторы работы [13] сделали предположение, что в эритроцитах существует циркадная модуляция равновесия тетрамерной и димерной форм Hb.

### **5. Формирование сигнала смерти**

Существует ряд гипотез, объясняющих роль Hb в формировании сигнала смерти. В соответствии с одной из них специфическое связывание metHb и гемихромов с белком полосы 3 активирует ряд сигнальных путей, направленных на маркировку эритроцитов для последующего фагоцитоза [15]. Пусковым механизмом является сополимеризация окисленных форм Hb с CDB3, что вызывает кластеризацию белка полосы 3 и изменение его антигенных свойств. Предположительно, в высокоафинном связывании с SDB3 участвует его карбонилированная форма metHb [16].

Активный эритроцитоз эритроцитов, инфицированных малярийным плазмодием (*Plasmodium falciparum*), способствует их быстрому удалению из кровотока, тем самым защищая весь организм от распространения инфекции [17].

### **6. Формирование сигнала о редокс-условиях**

Денатурированные формы Hb также являются индикаторами окислительного стресса в эритроцитах [15, 18] и участвуют в механизме удаления гемихромов [19]. При умеренном окислительном стрессе между двумя субъединицами белка полосы 3 образуется дисульфидная связь. Связывание гемихромов также индуцирует образование этой связи. Такая сшивка вызывает конформационные изменения в белке полосы 3, что делает возможным специфическое взаимодействие с Syc-киназой, фосфорилирующей остатки тирозина в CDB3 [18, 19]. Образование гемихромов также приводит к фосфорилированию остатков серина белков цитоскелета, и, как следствие, к изменению мор-

фологии эритроцитов. По-видимому, это явление играет ключевую роль в высвобождении мембранных микрочастиц, нагруженных гемихромами.

### Изменение уровня МВНб подчиняется принципу гормезиса

В наших экспериментах при обработке изолированных эритроцитов возрастающими дозами разных редокс-активных веществ (метилглиоксаля, нитрозоглутатиона, нитрит-ионов), было показано фазное изменение уровня необратимо связанного Нб. Если какой-то признак изменяется не линейно, а фазно, следовательно, можно найти зоны, соответствующие адаптации, и зоны, соответствующие повреждению. Зону адаптации еще называют зоной гормезиса. Мы показали, что колебаниям МВНб в диапазоне концентраций 3,3–4,3% соответствует область повышенной устойчивости клеток к гемолизу, в то время, как более высокий уровень МВНб, наоборот, дестабилизирует мембрану и вызывает гемолиз [20].

### Заключение

Изменение перераспределения Нб в цитоплазме под действием разных факторов является выражением адсорбционного механизма регуляции метаболизма. Данный тип регуляции может осуществляться как за счет специфического обратимого связывания Нб с белками мембраны и цитоскелета, так и за счет необратимого взаимодействия. В первом случае сродство Нб к сайтам связывания определяется конформацией молекулы (R-T-переходом), поэтому такое связывание несет сигнальную функцию, адаптируя эритроциты к кислородным условиям. Во втором случае иммобилизация Нб происходит в результате изменения зарядных и гидрофобных характеристик молекулы, как правило, в результате окисления. Фракция необратимо связанного Нб может содержать как денатурированные молекулы, так и интактные с сохраненными окислительно-восстановительными свойствами. Повышенные уровни необратимо связанного Нб наблюдаются при ишемической болезни сердца, экстремальных физических нагрузках, старении, окислительном и карбонильном стрессах. Вопрос о целесообразности такого связывания Нб для физиологии клетки является нерешенным. По нашему мнению, необратимое связывание Нб является частью комплекса общих неспецифических адаптационных изменений клетки. В перечисленных случаях увеличение уровня МВНб можно рассматривать как адаптационную реакцию, переходящую в патологию при усилении стрессорного фактора.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения:

- 1) Изменение уровня МВНб в эритроцитах подчиняется принципу гормезиса;
- 2) В условиях стресса или эндогенной интоксикации изменяется уровень МВНб, причем в определенных пределах это изменение коррелирует с увеличением устойчивости клеток.

### Цитируемая литература

1. *Kurganov B.I.* Control of enzyme activity in reversibly adsorptive enzyme systems. / Organized multienzyme systems. N.Y.: Acad. Press. 1985. P. 241-270.
2. *Капрельянец А.С.* Пространственно-динамическая организация ферментов в клетке и регуляция метаболизма. // Биолог. Науки. 1988. №6. С. 5-13.
3. *Chu H., Low P.S.* Mapping of glycolytic enzyme-binding sites on human erythrocyte band 3. // Biochem. J. 2006. V. 400. P. 143-151.
4. *Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Корякина Л.Б.* Способ оценки устойчивости эритроцитов к функциональной нагрузке. / Патент Российской Федерации на изобретение № 2008108370/15 от 03.03.2008.
5. *Cao Z., Bell J.B., Mohanty J.G., Nagababu E., Rifkind J.M.* Nitrite enhances RBC hypoxic ATP synthesis and the release of ATP into the vasculature: a new mechanism for nitrite-induced vasodilation. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2009. V. 297. P. 1494-1503.
6. *Насыбуллина Э.И., Космачевская О.В., Топунов А.Ф.* Влияние метаболитов оксида азота на образование мембраносвязанного гемоглобина в условиях карбонильного стресса. // Труды Карельского научного центра РАН. 2018. № 4. С. 36-47.



7. [De Rosa M.C.](#), [Carelli Alinovi C.](#), [Galtieri A.](#), [Scatena R.](#), [Giardina B.](#) The plasma membrane of erythrocytes plays a fundamental role in the transport of oxygen, carbon dioxide and nitric oxide and in the maintenance of the reduced state of the heme iron. // [Gene](#). 2007. V. 398. P. 162-171.
8. [Jia L.](#), [Bonaventura C.](#), [Bonaventura J.](#), [Stamler J.S.](#) S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. // [Nature](#). 1996. V. 380. P. 221–226.
9. [Gladwin M.T.](#), [Raaf N.J.](#), [Shiva S.](#), [Dezfulian C.](#), [Hogg N.](#), [Kim-Shapiro D.B.](#), [Patel R.P.](#) Nitrite as a vascular endocrine nitric oxide reservoir that contributes to hypoxic signaling, cytoprotection, and vasodilation. // [Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.](#) 2006. V. 291. P. 2026–2035.
10. [Jagger J.E.](#), [Bateman R.M.](#), [Ellsworth M.L.](#), [Ellis C.G.](#) Role of erythrocyte in regulating local O<sub>2</sub> delivery mediated by hemoglobin oxygenation. // [Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.](#) 2001. V. 280. P. 2833-2839.
11. [Shingles R.](#), [Roh M.H.](#), [McCarty R.E.](#) Direct measurement of nitrite transport across erythrocyte membrane vesicles using the fluorescent probe, 6-methoxy-N-(3-sulfopropyl) quinolinium. // [J. Bioenerg. Biomembr.](#) 1997. V. 29. P. 611–616.
12. [Stefanovic M.](#), [Puchulu-Campanella E.](#), [Kodippili G.](#), [Low P.S.](#) Oxygen regulates the band 3-ankyrin bridge in the human erythrocyte membrane. // [Biochem. J.](#) 2013. V. 449. P. 143-150.
13. [O'Neill J.S.](#), [Reddy A.B.](#) Circadian clocks in human red blood cells. // [Nature](#). 2011. V. 469. P. 498–503.
14. [Cho C.S.](#), [Yoon H.J.](#), [Kim J.Y.](#), [Woo H.A.](#), [Rhee S.G.](#) Circadian rhythm of hyperoxidized peroxiredoxin II is determined by hemoglobin autoxidation and the 20S proteasome in red blood cells. // [Proc. Natl. Acad. Sci. USA](#). 2014. V. 111. P. 12043-12048.
15. [Badior K.E.](#), [Casey J.R.](#) [Molecular mechanism for the red blood cell senescence clock](#). // [IUBMB Life](#). 2018. V. 70. P. 32-40.
16. [Arashiki N.](#), [Kimata N.](#), [Manno S.](#), [Mohandas N.](#), [Takakuwa Y.](#) Membrane peroxidation and methemoglobin formation are both necessary for band 3 clustering: mechanistic insights into human erythrocyte senescence. // [Biochemistry](#). 2013. V. 52. P. 5760-5769.
17. [Briglia M.](#), [Rossi M.A.](#), [Faggio C.](#) Eryptosis: ally or enemy. // [Curr. Med. Chem.](#) 2017. V. 24. P. 937-942.
18. [Pantaleo A.](#), [Ferru E.](#), [Pau M.C.](#), [Khadjavi A.](#), [Mandili G.](#), [Mattè A.](#), [Spano A.](#), [De Franceschi L.](#), [Pippia P.](#), [Turrini F.](#) Band 3 erythrocyte membrane protein acts as redox stress sensor leading to its phosphorylation by p<sup>72</sup>Syk. // [Oxid. Med. Cell. Longev.](#) 2016. 2016: 6051093.
19. [Ferru E.](#), [Giger K.](#), [Pantaleo A.](#), [Campanella E.](#), [Grey J.](#), [Ritchie K.](#), [Vono R.](#), [Turrini F.](#), [Low P.S.](#) Regulation of membrane-cytoskeletal interactions by tyrosine phosphorylation of erythrocyte band 3. // [Blood](#). 2011. V. 117. P. 5998-6006.
20. [Космачевская О.В.](#), [Насыбуллина Э.И.](#), [Блиндарь В.Н.](#), [Топунов А.Ф.](#) Роль эритроцитарного гемоглобина в адсорбционном механизме адаптации клетки. // [Материалы Сухумской межд. науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы экспериментальной биологии и медицины»](#). Сухум, Абхазия: НИИЭПит АНА, 2017. С.421-429.

### HEMOGLOBIN AS A CARRIER OF BIOLOGICAL SIGNALING

*Olga Vladimirovna Kosmachevskaya, PhD, Senior research scientist*

*Alexey Fedorovich Topunov, DSc, Head of laboratory*

*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

*Hemoglobin participates in the regulation of erythrocyte metabolism: glycolysis, circadian rhythms, eryptosis signaling. Hb realizes these functions via binding with membrane components. Changes in membrane-bound Hb level in dependence of concentration of redox-active compounds follow the hormesis concept.*

**Key words:** *hemoglobin, membrane-bound hemoglobin, erythrocytes, capillary blood flow, hormesis*

**ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ КРОВИ: ОТ ПРОШЛОГО К НАСТОЯЩЕМУ**

*Эльвира Ильгизовна Насыбуллина, канд. биол. наук, мл. науч. сотр.<sup>1</sup>*

*E-mail: lvirus198709@rambler.ru*

*Ольга Владимировна Космачевская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.<sup>1</sup>*

*E-mail: rizobium@yandex.ru*

*Валентин Григорьевич Никитаев, д-р техн. наук, профессор, зав. кафедрой<sup>2</sup>*

*E-mail: kaf46@mail.ru*

*Константин Игоревич Клюев, инженер-программист<sup>3</sup>*

*E-mail: edinorog.m@mail.ru*

*Алексей Федорович Топунов, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией<sup>1</sup>*

*E-mail: aftopunov@yandex.ru*

<sup>1</sup>*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук*

*http://www.fbras.ru*

<sup>2</sup>*Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»*

*https://www.mephi.ru*

<sup>3</sup>*Научно-производственный центр автоматизации и приборостроения*

*им. академика Н.А. Пилюгина*

*http://www.npcap.ru*

Рассмотрены понятия диагноза, болезни, нормы. Обсуждены трудности при диагностике заболеваний крови (в частности, разных видах анемий). Изложены понятия экспертной системы в медицине, описаны существующие системы и система «BLOOD», разрабатываемая авторами.

**Ключевые слова:** диагностика, компьютерная экспертная система, анемия, анализ крови, телемедицина, мембраносвязанный гемоглобин, эритроциты

**Введение.** При диагностике заболеваний или при необходимости немедленной операции на первый план выступает скорость принятия решений врачом и точность в постановке диагноза. Начиная с 70-х гг. XX века быстро развиваются системы поддержки принятия врачебных решений, в том числе дистанционная диагностика и телемедицина. В статье рассматриваются вопросы современной диагностики анемий (железодефицитной и анемии при хронических заболеваниях), роль экспертных систем в диагностике различных заболеваний, а также прогноз относительно того, могут ли экспертные системы заменить опыт врача в диагностике заболеваний.

**Что такое диагноз и как он ставится.** Прежде чем рассуждать о достоинствах использования экспертных систем в диагностике заболеваний, необходимо разобраться в таких понятиях, как «здоровье» и «болезнь», «норма» и «патология». Ю.М. Хрусталева определяет понятие нормы как интервал, в рамках которого морфологические и функциональные изменения не выводят тот или иной биологический компонент за пределы оптимального функционирования в данных условиях [1]. Переход из нормального состояния в патологическое, как правило, не является разовым и мгновенным. Он бывает растянут по времени, а начальное состояние патологического процесса может слабо отличаться от физиологического [1, с. 634].

Диагноз (греч. διάγνωσις, лат. diagnosis «распознавание») — медицинское заключение о состоянии здоровья обследуемого, а также сущности болезни пациента, выраженное в принятой медицинской терминологии и основанное на всестороннем система-



тическом изучении пациента. Процесс установления диагноза называется диагностикой, которая начинается на амбулаторном этапе. При диагностике врач руководствуется субъективными жалобами больного, анамнезом, осмотром больного, результатами медико-диагностических исследований и другими биомаркерами, а также наблюдением за течением болезни. Также учитываются возраст, пол, работа, социальное положение, местность и другие немедицинские факторы.

Анамнезом называют общие сведения о жизни больного. Он включает в себя первичные сведения о заболевании пациента и собирается врачами любого профиля по одинаковой схеме. Отсчет анамнеза надо начинать с фактической причины, даже если она действовала много лет назад. Например, причины мегалобластной анемии обусловлены давней резекцией желудка, умеренный тромбоцитоз – спленэктомией в детстве. Иногда приходится уточнять анамнез после физикального обследования и наблюдения за больным. Здесь решающую роль могут сыграть перенесенные заболевания, травмы, операции. Так, повторные пневмонии и ОРВИ имеют место при иммунодефицитах. Уточняется непереносимость лекарств, реакции на гемотрансфузии в прошлом; наличие профессиональных вредностей – контакт с химическими веществами, свинцом и др. металлами, радиацией. После анамнестического исследования врач переходит к осмотру больного. Бледность кожи и слизистых оболочек при осмотре обычно соответствует степени анемии; нередко при малокровии отмечается пастозность голеней, особенно у женщин. Часто увеличено потоотделение. Восковидный оттенок бледной кожи характерен для В12-дефицитной анемии.

При диагностике заболеваний крови тщательно исследуют (визуально и пальпаторно) периферические лимфатические узлы: шейные, надключичные, подмышечные. Появление в какой-либо области тела плотного малоблезненного увеличивающегося узла рассматривают как патологическое. При многих болезнях крови увеличивается селезенка: она становится доступной пальпации при увеличении примерно в два раза. Ее увеличение у больных – результат либо опухолевого роста, либо реактивное увеличение при интенсивном гемолизе, гепатитах. Важным для диагностики может быть и учет национальности и расовой принадлежности больного. Так, у жителей Азербайджана значительно чаще, чем в других странах СНГ встречаются гемолитические анемии вследствие дефицита глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, а также серповидноклеточная анемия; у коренных жителей Кавказа и Средней Азии чаще встречается талассемия, нередко и ЖДА, обусловленная хроническими энтеритами. У восточноевропейских евреев (ашкенази) чаще встречается хронический лимфолейкоз. Диагностическое значение могут иметь и особенности скелета. Так, при талассемии и других наследственных гемолитических анемиях, как правило, у ребенка формируется «башенный череп», высокое («готическое») небо, низкая переносица («седловидный нос»), выражены теменные бугры и надбровные дуги, нередко и другие признаки дисплазии скелета, что обусловлено хроническим малокровием и разрастанием костного мозга в костях черепа. Для серповидноклеточной анемии характерен сколиоз уже в раннем детском возрасте, больные редко достигают 20-30-летнего возраста [2-5].

После осмотра гематологического больного приступают к оценке общего анализа крови, который является одним из самых распространенных и относительно простых методов диагностики. Любые отклонения от нормы могут вызывать подозрение на патологию, а при системных заболеваниях крови общий анализ имеет важное диагностическое значение. План обследования больного с впервые выявленной анемией включает в качестве обязательных компонентов: 1. Общий анализ крови (гемоглобин, цветовой показатель, среднее содержание гемоглобина в эритроците и т.д.). 2. Биохимический анализ крови (содержание сывороточного железа, ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки крови, общий билирубин и его фракции, общий белок и его фракции и т.д.). 3. Общий анализ мочи с определением желчных пигментов и уробилиногена. 4. Общий анализ кала [2, 5].

**Трудности при постановке диагноза на примере заболеваний крови.** Ошибки диагностики болезней крови на амбулаторном этапе обусловлены как неумением выявить объективные и субъективные признаки патологии, так и неточным микроскопическим анализом клеток крови. В сложных случаях патологии недопустимы редуцированные анализы – исследование только гемоглобина, лейкоцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ). На практике часто наблюдаются непростые в диагностическом отношении случаи – микстпатологии [2, с. 25].

Предмет нашего интереса: анемии – группа заболеваний, в которую входят железodefицитные анемии (ЖДА) и анемии при хронических заболеваниях (АХЗ). ЖДА нарушает качество жизни пациентов, снижает их трудоспособность, вызывает функциональные расстройства многих органов и систем. Ими, по данным ВОЗ, в мире поражено около 1 млрд человек. В основном это женщины детородного возраста, беременные, девушки 14-18 лет, дети. У беременных увеличивается риск осложнений при родах, а у плода – риск возникновения дефицита железа. ЖДА и скрытый дефицит железа у детей вызывает задержку роста и развития, склонность к инфекциям. АХЗ может быть обусловлена дефицитом железа, связана с активацией системы интерлейкинов, нарушением синтеза эритропоэтина, блокадой усвоения витамина В12; во всех этих случаях анемия, являясь системным осложнением основного заболевания, ведет к его декомпенсации [4, с. 7]. Среди анемий на долю ЖДА приходится 80% заболевших, на долю АХЗ – примерно 8% [4, с. 6-7].

Диагностика и лечение ЖДА достаточно хорошо разработаны, однако до сих пор допускается много ошибок – от несвоевременной и неправильной постановки диагноза до неадекватного лечения. Ошибки в диагностике связаны с частым отождествлением терминов «железodefицитная» и «гипохромная» анемии. Часто не учитывается наличие латентной анемии («анемия без анемии») при скрытом дефиците железа, который проявляется снижением содержания железа в депо и сыворотке крови при нормальных показателях гемоглобина и манифестируется анемическим синдромом при отсутствии компенсации железodefицитного состояния [2, с. 3].

**Диагностические экспертные системы.** Экспертная система (ЭС) — компьютерная система, способная помочь специалисту-эксперту в разрешении проблемной ситуации. Предшественниками экспертных систем можно считать механические устройства — так называемые «интеллектуальные машины» С.Н. Корсакова (1832 г.), позволявшие находить решения по заданным условиям, например, определять наиболее подходящие лекарства по наблюдаемым симптомам заболевания. Он предложил использовать перфокарты для информационного поиска и классификации. В работах Корсакова содержится много новых для того времени идей: многокритериальный поиск с учетом относительной степени важности различных критериев (весовых коэффициентов), способ обработки больших массивов данных, попытка определить понятие алгоритма [6].

Современные ЭС начали разрабатываться исследователями искусственного интеллекта в 1970-х гг., а в 1980-х получили коммерческое подкрепление. Они построены по принципу активного взаимодействия с пользователем, содержат структурированные знания специалистов в предметной области и правила поддержки принятия решений. Задача исследования неизвестного случая заболевания с применением экспертной системы сводится к задаче отнесения неизвестного объекта к одному из заданных классов. Цель ЭС - обеспечение помощи врачу на основании имеющихся данных [7; 8, с. 199].

К широко известным зарубежным медицинским экспертным системам относится диагностическая система MYCIN, предназначенная для диагностики и наблюдения за состоянием больного при менингите и бактериальных инфекциях. Ее первая версия была разработана в 1970-х в Стенфордском Университете (США). В настоящее время эта

система ставит диагноз на уровне врача-специалиста. Компьютерные экспертные системы могут быть использованы для диагностики различных заболеваний системы крови: анемий разного генеза и гемоглобинопатий [8, с. 200; 9, с. 45]. К известным в нашей стране ЭС относятся разработанные на кафедры «Компьютерные медицинские системы» НИЯУ МИФИ под руководством проф. В.Г. Никитаева: диагностическая система обработки изображений «Атлант», телемедицинский комплекс онкологической экспресс-диагностики, компьютерный офтальмологический комплекс «Атлант-retina», компьютерная система для гематологической диагностики «Атлант-гемо»; экспертные комплексы гистологической, цитологической и гематологической диагностики. Эта работа в 2013 г. была отмечена Премией Правительства РФ.

**Экспертная система «BLOOD».** Перед нами стояла задача разработать пилотную версию компьютерной ЭС для диагностики анемий. Работа по созданию экспертной системы проводится совместно с кафедрой «Компьютерные медицинские системы» НИЯУ МИФИ и клинико-диагностической лабораторией НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина. Данная система предназначена для использования в клинической практике в помощь врачу при диагностике анемий различного генеза [10]. Ядро ЭС составляет база знаний, включающая сгруппированные данные по качественным и количественным показателям крови. ЭС «BLOOD» проводит вероятностную оценку и постановку диагноза на основе метода эталонов, который выбран как наиболее точный при средних объемах выборки. При загрузке модуля диагностики программа производит анализ имеющихся в базе случаев, сортирует данные по диагнозам и находит наиболее близкий к искомому случай. После этого на основе совокупности полученных данных для массива признаков, выдается вероятностная оценка наличия у пациента каждого из представленных в базе заболеваний [9, с. 116; 10].

ЭС дает возможность работы с базой знаний: просмотр, редактирование, добавление новых элементов, проведение сравнительного анализа и статистическую постановку диагноза на основе имеющихся в базе случаев. Отдельными компонентами системы являются справочник, содержащий информацию о заболеваниях, методах диагностики и лечения, и глоссарий, включающий связанные с темой термины и понятия. Для увеличения достоверности прогноза необходимо добавление как можно большего количества исходных данных (не менее 100 пациентов для каждого из заболеваний). Нами была проведена проверка работоспособности ЭС по обработке имеющихся данных на всех доступных пациентах. Была использована информация по 350 пациентам (онкобольным) и 48 признакам. Был поставлен вероятностный диагноз в каждом из имеющихся случаев. По результатам можно утверждать, что система в полной мере реализует все заявленные функции и верно определяет диагноз [9, с. 117].

Нами было предложено использовать мембраносвязанный гемоглобин (МВНб) в качестве дополнительного критерия оценки функционального состояния эритроцитов. Сейчас изучается возможность использования показателя реактивности эритроцитов как индикатора стрессового состояния или адаптационной реакции организма. Мы предлагаем оценивать реактивность эритроцитов по содержанию МВНб. Его можно использовать и в качестве показателя выраженности интоксикационного синдрома. Разработана удобная и точная методика спектрофотометрической оценки доли МВНб в эритроцитах. Предложенная пилотная версия компьютерной ЭС, учитывающая данные о МВНб, может послужить основой для создания диагностического комплекса, направленного на повышение оперативности и точности при постановке диагноза заболеваний системы крови [9, с. 6-8].

Мы полагаем, что использование разрабатываемой нами ЭС «BLOOD» может быть полезно и для развития такого актуального направления, как телемедицина, поскольку активное развитие получают видеоконсультации в так называемом многоточечном режиме, когда наиболее сложные случаи обсуждаются консилиумом врачей из

далеко удаленных друг от друга медицинских центров. Именно здесь большую пользу может оказать телемедицина – форма реализации лечебно-диагностических превентивных и организационно-управленческих процессов в здравоохранении посредством компьютерных и телекоммуникационных технологий. Важнейшей её частью является дистанционная диагностика – новое направление в медицине, которое особенно актуально и зачастую незаменимо в экстремальных условиях удаленности пациента от медицинского учреждения, например, при нахождении его в малодоступных местах или в длительном космическом полете.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения: экспертная система не может быть альтернативой врачу, но она может минимизировать ошибки при постановке диагноза. Использование ЭС для диагностики анемий позволит достигнуть точности при постановке диагноза до 95%.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 18-34-00561мол\_а).

### Цитируемая литература

1. Хрусталеv Ю.М. Философия науки и медицины. Учебник для вузов. / М.: ГЕОТАР-Медиа, 2009. 784 с.
2. Смирнов А.Н. Болезни крови. Серия «Справочники практикующего врача». / М.: «Энциклопедия», 2005. 464 с.
3. Инюткина Н.В., Шатохина С.Н., Лобанов Д.А. Диагностика железодефицитной анемии. М.: МОНИКИ, 2012. 23 с.
4. Бабушкина Г.Д., Кирьянова Н.В., Бабушкина Л.В., Кирьянова Т.В. Железодефицитная анемия. Анемия при хронических заболеваниях: этиология, патогенез, клиника, диагностика, принципы лечения. Пермь: ПГМУ, 2016. 132 с.
5. Клиническая лабораторная диагностика. Т.1. / М.: Лабдиаг, 2017. 464 с.
6. Корсаков С.Н. Начертание нового способа исследования при помощи машин, сравнивающих идеи. М.: МИФИ. 2009. 44 с. [*Karsakof S. Apercu d'un procede nouveau d'investigation au moyen de machines a comparer les idees. SPb, 1832. 22 p.*]
7. Никитаев В.Г., Воробьев И.А., Блиндарь В.Н. и др. Компьютерные системы гематологической диагностики. Введение. М.: Тривант, 2006. 168 с.
8. Бердникович Е.Ю., Козин Р.Г., Кулябичев Ю.П. и др. Компьютерные медицинские системы интеллектуальной поддержки принятия решения. М.: МИФИ, 2011. 216 с.
9. Насыбуллина Э.И. Действие метаболитов оксида азота и карбонильных соединений на гемоглобин. Дис. канд. наук. М.: ФИЦ Биотехнологии РАН, 2017. 151 с.
10. Насыбуллина Э.И., Никитаев В.Г., Проничев А.И. и др. Экспертная система диагностики гемоглобинопатий с использованием данных о состоянии крови, эритроцитов и гемоглобина. // Краткие сообщения по физике. 2015. Т. 42. № 7. С. 22-27.

### Hemoglobins and systems of their reduction

*Elvira Ilgizovna Nasybullina, PhD, Junior research scientist<sup>1</sup>*

*Olga Vladimirovna Kosmachevskaya, PhD, Senior research scientist<sup>1</sup>*

*Valentin Grigorievich Nikitaev, DSc, Head of department<sup>2</sup>*

*Konstantin Igorevich Klyuev, Programmer engineer<sup>3</sup>*

*Alexey Fedorovich Topunov, DSc, Head of laboratory<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Academician Pilyugin Center, Moscow, Russia*

The conceptions of diagnosis, illness and norm are considered. The difficulties at the diagnostics of blood diseases (i.e. different kinds of anemia) are discussed. The concept of expert system in medicine is stated, existing systems and the system “BLOOD” developing by authors are described.

**Keywords:** *diagnostics, computer expert system, anemia, blood analysis, telemedicine, membrane-bound hemoglobin, erythrocytes*

**РЕНТГЕНОВСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИЙ ГЕМОГЛОБИНА В УСЛОВИЯХ, ВОСПРОИЗВОДЯЩИХ ДЕЙСТВИЕ ЭНДОГЕННЫХ ФАКТОРОВ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ**

**Наталья Николаевна Новикова**, д-р физ.-мат. наук, зав. лабораторией<sup>1</sup>

E-mail: nn-novikova07@yandex.ru

**Сергей Николаевич Якунин**, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр.<sup>1</sup>

E-mail: s.n.yakunin@gmail.com

**Элеонора Александровна Юрьева**, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотр.<sup>2</sup>

E-mail: document@pedklin.ru

**Олег Вениаминович Коновалов**, канд. физ.-мат. наук, нач. эксперим. станции<sup>3</sup>

E-mail: konovalov@esrf.fr

**Нина Дмитриевна Степина**, канд. хим. наук, ст. науч. сотр.<sup>4</sup>

E-mail: stepina@ns.crys.ras.ru

**Александр Владимирович Рогачев**, аспирант<sup>1</sup>

E-mail: nn-novikova07@yandex.ru

**Ольга Владимировна Космачевская**, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.<sup>5</sup>

E-mail: rizobium@yandex.ru

**Алексей Федорович Топунов**, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией<sup>5</sup>

E-mail: aftorpinov@yandex.ru

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

<http://www.nrcki.ru/>

<sup>2</sup>Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. академика Ю.Е.

Вельтищева, Москва, Россия

<http://www.pedklin.ru/>

<sup>3</sup>Европейский центр синхротронного излучения, Гренобль, Франция

<https://www.esrf.eu/>

<sup>4</sup>Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, Москва, Россия

<https://www.crys.ras.ru/>

<sup>5</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук

<http://www.fbras.ru/>

Впервые проведены исследования белковых пленок на жидкой субфазе с помощью метода рентгеновской абсорбционной спектроскопии. В роли белкового компонента выступал гемоглобин. Получена информация о структурных изменениях в ближнем окружении ионов железа, а также о локальной геометрии адсорбированных ионов цинка. Полученные результаты позволяют сделать важные выводы о молекулярных механизмах токсических процессов, наблюдаемых при повышении содержания продуктов азотистого обмена в организме.

Ключевые слова: гемоглобин, синхротронное излучение, мочевины, железо, цинк

### Введение

Среди факторов, способствующих развитию хронических обменных заболеваний, общим является накопление в организме вредных ксенобиотиков или избыточных количеств продуктов и метаболитов, действующих на белковые макромолекулы, обуславливая их конформационные перестройки, в результате которых нарушаются лигандные свойства белка. Такой измененный белок теряет физиологическую способ-

ность связывать определенные вещества и, напротив, активно адсорбирует микроэлементы.

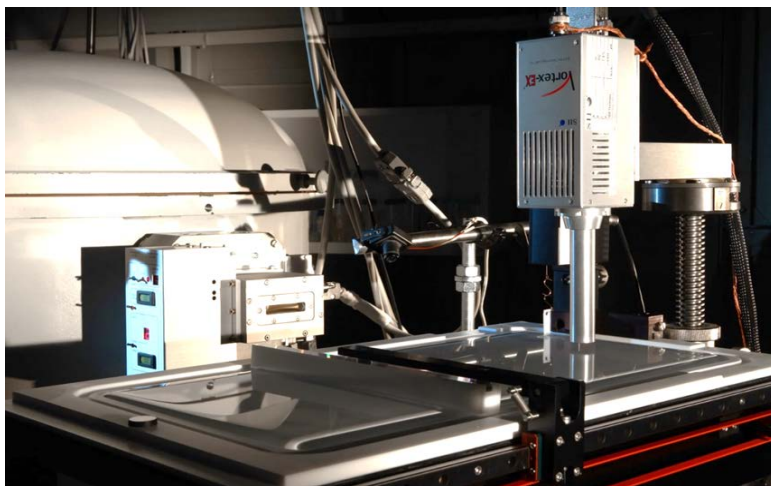
При нарушении обменных процессов в организме токсикантами становятся как патологические продукты обмена (продукты перекисного окисления, средние молекулы - белковые токсины с молекулярной массой 500—5000 Да), так и физиологические продукты обмена в повышенных дозах (мочевина, мочевая кислота, гормоны, нейромедиаторы, гомоцистеин), а также различные ксенобиотики, включая лекарственные препараты.

Изучение молекулярных механизмов нарушения белково-липидного и микроэлементного обменных процессов в значительной степени облегчит выявление факторов риска таких широко распространенных болезней, как атеросклероз, подагра, малокровие и др. В связи с этим развитие новых подходов, позволяющих напрямую на молекулярном уровне изучать механизмы нарушения обменных процессов, представляется важной актуальной задачей.

В проведенных нами ранее исследованиях было установлено, что в результате конформационных перестроек, вызванных действием различных ксенобиотиков, происходит значительное увеличение способности белковых молекул к связыванию лигандов [1, 2]. Полученные в этих экспериментах данные позволили выявить существенные изменения элементного состава белковых пленок на основе щелочной фосфатазы и глюкозооксидазы при обработке белка слабым раствором мочевины (0,09 М), растворами солей тяжелых металлов (ацетата свинца  $10^{-6}$ - $10^{-4}$  М), а также растворами комплексообразующих лекарственных препаратов.

### **Изучение гемоглобина в условиях, моделирующих действие эндогенных факторов на организм**

При развитии синдрома эндогенной интоксикации организма в той или иной степени происходит нарушение функционирования практически всех его физиологических систем. В первую очередь это касается системы крови, выполняющей в организме интегративные функции. Эритроциты являются высокочувствительными датчиками метаболического состояния системы крови, которые способны воспринимать повреждения, прежде всего за счет изменения структуры гемоглобина [3]. Поэтому изучение структурно-функциональных изменений молекулы гемоглобина в условиях, моделирующих действие эндогенных факторов на организм, может быть полезно не только с позиций формирования нового биологического знания, но и для практических задач медицинской диагностики и терапии [4].



**Рис. 1. Станция «Ленгмюр» Курчатовского комплекса синхротронно-нейтронных исследований.**

В настоящей работе представлены данные исследований белковых пленок на основе гемоглобина, обработанного слабым раствором мочевины, озона и подвергнутого

умеренному нагреву. Белковые пленки формировали на поверхности водного раствора гемоглобина (концентрации 9 мг/л) в лентгмюровской ванне. Серия измерений была выполнена на источниках синхротронного излучения: «Европейский центр синхротронного излучения» и «Курчатовский комплекс синхротронно-нейтронных исследований» (Рис. 1). Были использованы высокопрецизионные поверхностно-чувствительные рентгеновские методы: метод стоячих рентгеновских волн и рентгеновской абсорбционной спектроскопии в геометрии полного внешнего отражения [5, 6].

В гемоглобине, обработанном слабыми растворами мочевины (0,09-0,26 М) и активными формами кислорода, были обнаружены высокоаффинные центры связывания металлов – цинка и никеля. Полученные данные можно объяснить возникновением конформационных перестроек белковой макромолекулы под действием модифицирующих агентов. Для изучения локального атомного окружения атомов цинка, присоединенных к молекуле гемоглобина, а также для выявления изменений локальной геометрии атомов железа в протетической группе белковой молекулы (геме), была выполнена серия измерений с помощью метода рентгеновской спектроскопии поглощения. Получена информация о структурных изменениях в ближнем окружении ионов железа молекул гемоглобина, а также о локальной геометрии ионов цинка.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие результаты и положения: впервые проведены исследования белковых пленок на жидкой субфазе с помощью метода рентгеновской абсорбционной спектроскопии. В роли белкового компонента выступал гемоглобин. Полученные результаты позволяют сделать важные выводы о молекулярных механизмах токсических процессов, наблюдаемых при повышении содержания продуктов азотистого обмена в организме.

#### Цитированная литература

1. Novikova N., Kovalchuk M., Stepina N., Gaynutdinov R., Chukhrai E., Yurieva E. Distinct effect of xenobiotics on the metal-binding properties of protein molecules. // J. Synchrotron Rad. 2015. V. 22. № 4. P. 1001-1007.
2. Новикова Н.Н., Ковальчук М.В., Юрьева Э.А., Коновалов О.В., Сухоруков В.С., Царегородцев А.Д., Чухрай Е.С., Якунин С.Н., Степина Н.Д., Рогачев А.В. Рентгенофлуоресцентные измерения в условиях полного внешнего отражения для исследования взаимодействия белков с ионами металлов в биологических системах. // Кристаллография. 2012. Т. 57. № 5. С. 727-734.
3. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Гемоглобины – разнообразие структур и функций. // Прикл. биохим. микробиол. 2009. Т.45. №6. С.627-653.
4. Насыбуллина Э.И., Никитаев В.Г., Проничев А.И., Блиндарь В.Н., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Экспертная система диагностики гемоглобинопатий с использованием данных о состоянии крови, эритроцитов и гемоглобина. // Краткие сообщения по физике. 2015. Т.42. № 7. С.22-27.
5. Ковальчук М.В., Кон В.Г. Рентгеновские стоячие волны - новый метод исследования структуры кристаллов. // Успехи физ. наук. 1986. Т. 149. № 5. С. 69-103.
6. Zheludeva S.I., Novikova N.N., Kononov O.V., Kovalchuk M.V., Stepina N.D., Yurieva E.A., Tereschenko E.Yu. Biomembrane models and organic monolayers on liquid and solid surfaces. // The X-ray standing wave technique. Principles and applications. New York: World Scientific Publ., 2013. V. 7. P. 355–368.

**The x-ray studies of molecular mechanisms of disorders of hemoglobin functions at the conditions reproducing the action of endogenous factors in living organisms**

*Natalia Nikolaevna Novikova, DSc, Head of laboratory<sup>1</sup>*



*Sergey Nikolaevich Yakunin, PhD, Senior research scientist<sup>1</sup>*  
*Eleonora Alexandrovna Yur'eva, DMed, Chief research scientist<sup>2</sup>*  
*Oleg Veniaminovich Kononov, PhD, Beamline responsible<sup>3</sup>*  
*Nina Dmitrievna Stepina, PhD, Senior research scientist<sup>4</sup>*  
*Alexandr Vladimirovich Rogachev, PhD student<sup>1</sup>*  
*Olga Vladimirovna Kosmachevskaya, PhD, Senior research scientist<sup>5</sup>*  
*Alexey Fedorovich Topunov, DSc, Head of laboratory<sup>5</sup>*

<sup>1</sup>National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow, Russia

<sup>2</sup>Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics, Moscow, Russia

<sup>3</sup>European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France

<sup>4</sup>Shubnikov Institute of Crystallography RAS, Moscow, Russia

<sup>5</sup>Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russia

*The studies of protein layers on liquid subphase with the method of X-ray absorption spectroscopy were first carried out. Hemoglobin was the protein component. The information on structural changes in the inner circle of Fe ions and on the local geometry of the adsorbed zinc ions was obtained. The data give possibility to make important conclusions on molecular mechanisms of the toxic processes caused by increased content of the products of nitrogen metabolism in the organism.*

**Keywords:** hemoglobin, synchrotron radiation, urea, iron, zinc

УДК 577.1

### ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ЖЕЛЕЗА С РЕЦЕПТОРНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗОЙ IRR.

*Можзаев Андрей Александрович (a.a.mozhaev@gmail.com, научный сотрудник, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН)*

*Петренко Александр Георгиевич (petrenkoag@gmail.com, д.х.н., заведующий лабораторией клеточной биологии рецепторов, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН)*

*В данной работе показано, что эктодомен рецепторной тирозинкиназы IRR способна связывать железо из среды культивирования. Определена стехиометрия комплексообразования и разработан эффективный подход для очистки эктодомена IRR от железа.*

*Ключевые слова:* рецептор, подобный рецептору инсулина, экспрессия, очистка, Fe.

#### **Введение**

Рецепторные тирозинкиназы - одно из важнейших звеньев в системе передачи сигналов в клетке. Они играют ключевую роль в развитии и жизнедеятельности организма, участвуют в регуляции межклеточных взаимодействий, пролиферации и дифференцировке клеток, клеточной миграции и метаболизме, контроле клеточного цикла. Нарушения в работе данных рецепторов способны приводить к возникновению таких социально значимых заболеваний, как рак и диабет.

Для активации большинства рецепторных тирозинкиназ необходим лиганд белково-пептидной природы, способный связываться с внеклеточной частью (эктодоменом) рецептора одновременно в нескольких местах, вызывая его димеризацию и активацию, выражающуюся в автофосфорилировании внутриклеточной части рецептора. Исклю-



чением является семейство рецептора инсулина, члены которого существуют изначально в виде димеров за счет дисульфидных мостиков, а при взаимодействии внеклеточной части с лигандом меняют свою конформацию и активируются. В это семейство входит три рецептора: рецептор инсулина (IR, Insulin receptor), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR, Insulin-like growth factor 1 receptor) и рецептор, подобный рецептору инсулина (IRR, Insulin receptor-related receptor). Поскольку все три рецептора высокоомологичны, логично предположить, что механизмы их активации схожи [1]. Изучая механизм активации IRR, мы можем получить новые данные, позволяющие лучше понять механизмы активации IR и IGF-IR. На данный момент известна структура внеклеточной части рецептора инсулина, а также закристаллизована часть внеклеточного домена рецептора инсулина вместе с инсулином [2, 3].

Физиологическая роль IRR долго оставалась загадкой, так как с момента его открытия для него не было обнаружено ни одного эндогенного лиганда, несмотря на многочисленные попытки, включая полный анализ генома. В нашей лаборатории было впервые показано, что IRR является сенсором внеклеточной щелочной среды и участвует в регуляции кислотно-щелочного равновесия в организме [4]. Также было выявлено нарушение поведения у мышей, нокаутных по гену IRR [5, 6]. Данный рецептор активируется при защелачивании внеклеточной среды ( $\text{pH} > 7.9$ ), имеет точку 50% эффекта около  $\text{pH} 8.5$  и выходит на насыщение при  $\text{pH}$  более 9.0 [7]. Используя химерные конструкции и точечный мутагенез, были определены участки, вовлеченные в  $\text{pH}$  чувствительность этого рецептора [8-11]. Рецептор экспрессируется в отдельных клеточных популяциях почек, желудка, поджелудочной железы. Активация IRR приводит к фосфорилированию каскадных внутриклеточных белков IRS-1 и АКТ, и вызывает перестройку цитоскелета клеток [4, 12]. Для изучения его структуры и функции нами получены и охарактеризованы моноклональные антитела, специфично распознающие внеклеточную часть рецептора IRR [13, 14].

Поскольку активация IRR определяется его внеклеточной частью (эктодоменом), выделение и изучение структуры эктодомена IRR представляет особый интерес для понимания фундаментальных основ механизма щелочной чувствительности, а также для развития в будущем новых терапевтических подходов и созданию лекарств для лечения заболеваний, связанных с нарушением кислотно-щелочного равновесия и патологий клеточного деления и дифференцировки, в частности, некоторых форм рака.

Интересной особенностью некоторых белков является их способность связывать Fe. В гемсодержащих белках железо находится в составе гема. В негемовых железосодержащих белках железо непосредственно связывается с белком. К таким белкам относятся трансферрин, ферритин, окислительные ферменты рибонук-леотидредуктазу и ксантиноксидазу, железофлавопротеины NADH-дегидрогеназа и сукцинат-дегидрогеназа. В организме взрослого человека содержится 3 - 4 г железа, из которых только около 3,5 мг находится в плазме крови. Гемоглобин имеет примерно 68% железа всего организма, ферритин - 27%, миоглобин - 4%, трансферрин - 0,1%. На долю всех содержащих железо ферментов приходится всего 0,6% железа, имеющегося в организме. Источниками железа при биосинтезе железосодержащих белков служат железо пищи и железо, освобождающееся при постоянном распаде эритроцитов в клетках печени и селезенки.

Целью настоящей работы являлось исследование комплекса Fe с эктодоменом IRR.

### Результаты и обсуждение

Нами была получена эффективная система гетерологической экспрессии эктодомена IRR и подобраны оптимальные условия культивирования. Дальнейшим этапом нами была разработана схема очистки эктодомена IRR до высокой чистоты. Степень чистоты выделенного белка оценивалась с помощью SDS-PAGE электрофореза и по хроматограмме гель-фильтрации, а идентификация проводилась масс-спектрометрическим анализом MALDI-TOF и постановкой Western-blot анализа с антителами специфичными к нашему белку. На выделенном ectoIRR проведен анализ методами: кругового дихроизма, электронной микроскопии с негативным контрастированием, криоэлектронной микроскопии, малоуглового рентгеновского рассеяния.

В процессе очистки раствор белка имел бурую окраску. Методами энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии ((англ. Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDX, EDRS или EDS) и спектроскопии характеристических потерь энергии электронами ((англ. electron energy loss spectroscopy (EELS)) было показано, что в образцах очищенного эктодомена IRR присутствуют следы железа.

Для определения стехиометрии связывания был проведен фотометрический колориметрический тест с феррозином на приборе Фуруно CA180, который показал, что при концентрации 2.1 мг/мл высокоочищенного эктодомена IRR концентрация железа составляет 33.2 мкмоль/л, соответственно на одну молекулу белка приходится приблизительно 4 атома железа.

При разработке подхода для очистки белка от примесей железа, мы пришли к выводу, что эффективными способами являются, во-первых, повышение концентрации соли в буфере до 1М концентрации, во-вторых, использование специфического комплексообразователя, имеющего высокое сродство к железу. В качестве такого комплексообразователя использовался Дефероксамин (Desferal), который добавлялся перед нанесением на гель-фильтрационную колонку к раствору белка. Повторный колориметрический тест с феррозином показал, что использование данного подхода позволяет эффективно очистить эктодомен IRR от железа.

Природа взаимодействия Fe с белком на данный момент не известна, требуются дополнительные исследования. Возможно, полноразмерный рецептор также способен к связыванию железа, что может иметь влияние на активацию рецептора.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-50-00131).*

### Литература

1. De Meys P., The Insulin Receptor and Its Signal Transduction Network, in Endotext, L.J. De Groot, et al., Editors. 2016: South Dartmouth (MA).
2. McKern N.M., Lawrence M.C., Streltsov V.A., Lou M.Z., Adams T.E., Lovrecz G.O., Elleman T.C., Richards K.M., Bentley J.D., Pilling P.A., et al. // Nature. 2006. V. 443. P. 218-221.
3. Menting J.G., Whittaker J., Margetts M.B., Whittaker L.J., Kong G.K., Smith B.J., Watson C.J., Zakova L., Kletvikova E., Jiracek J., et al. // Nature. 2013. V. 493. P. 241-245.
4. Deyev I.E., Sohet F., Vassilenko K.P., Serova O.V., Popova N.V., Zozulya S.A., Burova E.B., Houillier P., Rzhovsky D.I., Berchatova A.A., et al. // Cell Metab. 2011. V. 13. P. 679-689.
5. Zubkov EA, Morozova AY, Chachina NA, Shayahmetova DM, Mozhaev AA, Deyev IE, Chekhonin VP, Petrenko AG. Behavioral characteristics of mice with alkali sensor IRR gene knock-out. // Zh Vyssh Nerv Dejst Im I P Pavlova, 2017, V. 67. № 1, P. 106-112.
6. Shayahmetova D.M., Zhevlenev E.S., Mozhaev A.A., Deyev I.E., Petrenko A.G. Genetic link between IRR-receptor and LY6/PLAUR protein. // Russian journal of bioorganic chemistry, 2016. V.42(4). P. 449-452.
7. Petrenko A.G., Zozulya S.A., Deyev I.E., Eladari D. // Biochim Biophys Acta. 2013. V. 1834. P. 2170-2175.
8. Deyev I.E., Mitrofanova A.V., Zhevlenev E.S., Radionov N., Berchatova A.A., Popova N.V., Serova O.V., Petrenko A.G. // Journal of Biological Chemistry. 2013. V. 288. P. 33884-33893.
9. Deyev I.E., Chachina N.A., Shayahmetova D.M., Serova O.V., Petrenko A.G. // Biochimie. 2015. V. 111. P. 1-9.

10. Popova N.V., Deyev I.E., Petrenko A.G. // Dokl Biochem Biophys. 2013. V. 450. P. 160-163.
11. Deyev I.E., Popova N.V., Petrenko A.G. // Acta Naturae. 2015. V. 7. P. 80-86.
12. Deyev I.E., Popova N.V., Serova O.V., Zhenilo S.V., Regoli M., Bertelli E., Petrenko A.G. // Biochimie. 2017. V. 138. P. 62-69
13. Mozhaev A.A., Erokhina T.N., Serova O.V., Deyev I.E., Petrenko A.G. Production and immunochemical characterization of monoclonal antibody to IRR ectodomain. // Russian journal of bioorganic chemistry, 2018. V. 6. P. 631-636.
14. Deyev I., Serova O., Mozhaev A., Erokhina T., Bertelli E., Petrenko A. (2017). Insulin receptor-related receptor (IRR): functional and structural studies. FEBS J, 284: P.2.1-033. doi:10.1111/febs.14174

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences*  
*Petrenko Alexander Georgievich (petrenkoag@gmail.com, PhD, Director of department Laboratory of Receptor Cell Biology, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences)*

*In this paper, it is shown that the ectodomain of the receptor tyrosine kinase IRR is capable of binding iron from the culture medium. The stoichiometry of complexation was determined and an effective approach was developed for purifying the IRR ectodomain from iron.*

*Keywords: Insulin Receptor – Related Receptor, expression, purification, Fe.*

УДК 577.3

### **ЭЛЕКТРОГЕННЫЕ МЕТАЛЛЫ (K, Na, Ca): СУЩЕСТВУЮТ ЛИ ГРАНИЦЫ ИХ НОРМАЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ В ЭПИДЕРМИСЕ?**

*Валерий Иванович Петухов, д-р мед. наук, профессор ВлГУ<sup>1</sup>*

*E-mail: [vip-val@yandex.ru](mailto:vip-val@yandex.ru)*

*Егор Владимирович Дмитриев, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр.<sup>2</sup>*

*E-mail: [yegor@inm.ras.ru](mailto:yegor@inm.ras.ru)*

*Лариса Харитоновна Баумане, канд. хим. наук, ведущ. науч. сотр.<sup>3</sup>*

*E-mail: [lbaumane@osi.lv](mailto:lbaumane@osi.lv)*

<sup>1</sup>*Владимирский госуниверситет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, 600000, г. Владимир, ул. Горького, 87;*

*<http://www.vpti.vladimir.ru>*

<sup>2</sup>*Институт вычислительной математики Российской академии наук, 119333, Москва, ул. Губкина, 8;*

*<http://www.inm.ras.ru>*

<sup>3</sup>*Латвийский институт органического синтеза, LV-1006, Рига, ул. Айзкрауклес, 21, Латвия;*

*<http://www.osi.lv>*

*Несмотря на успехи современной биоэлементологии оценка минерального статуса в том или ином субстрате остаётся спорной и во многом не достоверной. В статье обсуждаются причины неверных трактовок минерального статуса, которые, по данным количественного анализа химических элементов в эпидермисе (волосы), могут носить как объективный, так и субъективный характер. К числу первых можно отнести слабую осведомленность об участии того или иного минерала в клеточном гомеостазе и о механизмах регуляции этого гомеостаза. К числу вторых – негласное признание приемлемости так называемой «референтной нормы».*

*Ключевые слова: электрогенные металлы, нормальное содержание в эпидермисе, редокс-статус, самоорганизованная критичность, окислительный/нитрозативный стресс.*

#### **Введение**

*Проблема нормы в современной элементологии решается предельно просто: за норму принимают усреднённую (чаще всего – медиана) количественную оценку содер-*

жания в субстрате того или иного химического элемента у лиц так называемой *референтной* группы, состоящей из *практически здоровых* людей – жителей того же региона. Численность группы (в лучшем случае) составляет всего несколько сотен и редко – более тысячи человек. Такой методический приём широко используется и в клинической медицине (лабораторная диагностика), что ведёт к появлению более чем странных нормативных показателей (например, уровень ферритина в сыворотке крови – от 12 до 200 нг/мл).

Неправомерность такого подхода становится очевидной уже при ответе на вопрос: какую часть референтной группы составляют люди с уже имеющимся (явным или скрытым) элементным дисбалансом, не отвечающие названию *здоровых*? К тому же нельзя исключить, что в странах, где на протяжении многих лет депопуляция стала «нормой жизни» (например, Латвия), *нездоровой* может быть признана вся референтная группа.

Колебания уровня ЭМ по результатам атомно-эмиссионной спектрометрии волос у 10 297 практически здоровых лиц (жители Москвы и Риги в возрасте от 2 до 85 лет), по нашим данным, были следующими (медиана): калий (К) – от 0,045 мкг/г до 6505,1; натрий (Na) – от 0,645 мкг/г до 9240 мкг/г; кальций (Ca), содержание которого в волосах достоверно различалось по полу, у мужчин – от 15,5 мкг/г до 4633,7 мкг/г; у женщин – от 107,1 мкг/г до 19338,9 мкг/г [1].

Не менее впечатляющий разброс индивидуальных значений по данным спектрометрии был обнаружен нами не только у ЭМ, но и у других химических элементов, коэффициент вариации (CV) которых колебался от 34,1% до 226,5% (в среднем  $125,5 \pm 17,5\%$ ). Кроме того, при проверке гипотезы о нормальности распределении данных спектрометрии для 25 химических элементов, включая электрогенные металлы (ЭМ), было обнаружено, что их концентрации в эпидермисе не распределены по нормальному закону [2]. Позднее удалось показать, что распределение концентрационных значений (по крайней мере, у ЭМ) носит фрактальный характер [1].

Не очень понятно, в каких пределах может изменяться содержание электрогенных металлов (ЭМ) в клетке, не нарушая при этом условия их гомеостатического контроля, а также, что обеспечивает этот контроль на уровне мембраны и/или самой клетки?

Всё это создаёт серьёзные трудности при трактовке результатов спектрометрии, главная из которых это отсутствие бесспорного ответа на вопрос: *что считать нормой?*

### **Теория самоорганизованной критичности и новый подход к определению нормы**

О несостоятельности «референтной нормы» могут свидетельствовать особенности металло-лигандного гомеостаза (МЛГ) в эпидермисе у 947 здоровых лиц и 954 ликвидаторов Чернобыльской аварии [3]. Дело в том, что у ликвидаторов аварии были выявлены разнонаправленные изменения в МЛГ, но преимущественно – увеличение концентрации ЭМ и других металлов, что, по мнению авторов, объясняется имеющимся у ликвидаторов окислительным/нитрозативный стрессом. При этом точно такие же сдвиги в МЛГ (по величине и направленности) имелись у 171 человека (18,1%) в контрольной группе, что могло указывать на существование аналогичного стресса (но не лучевого происхождения) и у части *здоровых* лиц.

Как не допустить появление возможных искажений в оценке МЛГ при формировании референтной группы? Адекватного ответа на этот вопрос, к сожалению, нет. Понятно только, что с помощью простого количественного критерия решение проблемы *нормы* вряд ли возможно. Требуется другое понимание *нормальности*, которое бы исходило из представления о необходимых и достаточных условиях нормальной регуляции МЛГ, сущности этой регуляции и механизмах её осуществления на уровне клетки (хотя необходимость количественных оценок при таком подходе, конечно, не исключается).

Показательно в этом отношении исследование гомеостаза ЭМ в эпидермисе у 10 297 здоровых лиц [1]. У большинства испытуемых было обнаружено фрактальное распределение в определенных интервалах концентрационных значений у К, Na и Ca (отдельно у

мужчин и женщин). Эти значения на графике в двойном логарифмическом масштабе аппроксимируются прямой, что говорит о наличии степенной зависимости между содержанием металла в клетке и количеством индивидов в заданном диапазоне количественных оценок. Всё это даёт основание расценивать гомеостаз ЭМ в эпидермисе как явление *самоорганизованной критичности* (СК), а отрезки на графике, которые аппроксимируются прямой, как свидетельство *критического* состояния системы.

Нуждается в рассмотрении и происхождение отрезков до и после аппроксимированных фрагментов кривой, поскольку обнаружение в гомеостазе ЭМ признаков СК-феномена может означать, что основой гомеостатической регуляции уровня ЭМ является универсальный природный закон *самоорганизованной критичности*, позволяющий клетке (как открытой динамической системе) противостоять энтропии. В этом отношении живая клетка принципиально ничем не отличается от кучи песка, в которую постоянно добавляют песок в минимальных количествах (своеобразный бренд СК-теории) [4]. Саму же возможность регуляции гомеостаза следует, по-видимому, связывать с *критическим* состоянием системы. Поясним это подробнее.

В соответствии с теорией СК, динамическая система в процессе самоорганизации может иметь следующие состояния: *докритическое*, *критическое* и *надкритическое*. Главный отличительный признак и основное условие пребывания в каждом из них – величина так называемого *параметра ветвления* (branching parameter) –  $\sigma$ . Этот показатель, отражающий процесс распространения возбуждающего импульса (энергии) среди функционеров динамической системы, численно равен среднему количеству ближайших «соседей», которые могли получить этот импульс. Критическому состоянию соответствует  $\sigma = 1$ ; докритическому –  $\sigma < 1$  и надкритическому –  $\sigma > 1$ .

Та часть графика в двойном логарифмическом масштабе, которая аппроксимируется прямой ( $\sigma = 1$ ), представляет определённый ряд численных значений ЭМ, заслуживающих, на наш взгляд, названия *нормативных*.

Обнаружено [1], что границы *нормативных* значений (медиана) уровня К в эпидермисе (с некоторым приближением) были: от 50 до 1000 мкг/г; Na: от 80 до 1000 мкг/г;  $Sa_{муж}$ : от 400 до 2000 мкг/г;  $Sa_{жен}$ : от 400 до 3000 мкг/г.

Представленные численные значения уровня ЭМ в эпидермисе соответствуют *критическому* состоянию, с которым, по всей вероятности, следует связывать способность клетки *контролировать* (*регулировать*) гомеостаз ЭМ. Эта способность может служить своеобразным критерием нормального функционирования клетки. Поясним это подробнее.

Для генерации электрического потенциала (ЭП) и поддержания на постоянном уровне внутриклеточной концентрации ионов ЭМ клетка запускает активные транспортные механизмы противодействия электрохимическому градиенту (первичный и вторичный активный транспорт), что позволяет сохранять неизменным потенциал покоя.

Первичный транспорт использует энергию гидролиза АТФ, например,  $Na^+/K^+$ -помпа ( $Na^+/K^+$ -АТРаза), которая за счёт энергии расщепления одной молекулы АТФ переносит три иона  $Na^+$  наружу и два иона  $K^+$  внутрь клетки, меняя тем самым суммарный трансмембранный заряд на единицу при каждом таком переносе. К первичным системам активного транспорта ионов относятся  $Ca^{2+}$ -АТРаза плазматической мембраны, выводящие  $Ca^{2+}$  из клетки, и семейство  $Ca^{2+}$ -АТРаз эндо- и саркоплазматического ретикулумов (SERCA), закачивающие  $Ca^{2+}$  во внутриклеточные структуры.

Вторичный активный транспорт ионов осуществляется за счёт энергии передвижения  $Na^+$  в направлении его электрохимического градиента и зависит от эффективной работы  $Na^+/K^+$ -насоса, обеспечивающего существование этого градиента. Примером вторичного транспорта является  $Na^+/Ca^{2+}$ -обменник, который выводит один ион кальция ( $Ca^{2+}$ ) за счёт входа в клетку трёх ионов натрия ( $Na^+$ ).  $Na^+/K^+$ -насос,  $Ca^{2+}$ -АТРаза и  $H^+/K^+$ -АТРаза образуют суперсемейство АТРаз Р-типа (P-type).

Можно допустить, что нормальный гомеостаз ЭМ в клетках эпидермиса предусматривает критический (или близкий к нему) режим работы мембранных АТРаз, которые участву-

ют в трафике этих металлов и представляют собой осцилляторную систему белковых молекул со слабым взаимодействием между ними. При этом (как и в любой системе осцилляторов) при достижении определённой плотности активированных молекул может происходить спонтанная синхронизация их осцилляций (критическое состояние системы). Это допущение может оказаться справедливым и в отношении других металлов, в транспорте которых принимает участие суперсемейство АТФаз (P-type).

Таким образом, под *критичностью* работы мембранных помп для ЭМ следует понимать *синхронный* характер их функционирования, поскольку синхронизация представляет собой частный случай критического состояния. Вместе с тем, если  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы наружной мембраны эпидермоцитов работают синхронно (в критическом режиме), то уровни  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  в клетке должны обнаруживать корреляционную взаимосвязь. Напомним, что каждая  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -помпа переносит три иона  $\text{Na}^+$  наружу и два иона  $\text{K}^+$  внутрь клетки.

Показательно, что уже в этом утверждении, которое часто встречается в современной литературе, есть признание *a priori* существующей пропорциональности внутриклеточного содержания ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . Между тем такая пропорциональность может иметь место только при согласованной (синхронной) работе мембранных  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -помп.

Существование прямой корреляции между  $[\text{Na}]$  и  $[\text{K}]$  можно было бы уточнить, измерив содержание этих металлов непосредственно в эпидермальных клетках, если бы не методические трудности, которые связаны с таким подходом. Однако, если гомеостаз ЭМ действительно является СК-явлением, то  $[\text{Na}]-[\text{K}]$  корреляция (как и взаимосвязь между числом клеток и содержанием в них ЭМ) должны обладать фрактальностью (независимостью от масштаба системы) и обнаруживаться не только на уровне клеток, но и на уровне индивидов. Другими словами, у большинства испытуемых (в заданном интервале численных значений ЭМ) можно обнаружить не только степенную связь между результатами спектрометрии и числом индивидов, но и прямую корреляцию между уровнем  $\text{Na}$  и  $\text{K}$  в эпидермисе при корреляционном анализе (Pearson) на уровне индивидов.

Линейная позитивная  $\text{Na}-\text{K}$  связь ( $r_{\text{Na-K}} = 0,6-0,8$ ;  $p < 0,05$ ) была выявлена нами как у здоровых лиц ( $n=947$ ), так и у ликвидаторов Чернобыльской аварии ( $n=954$ ), у которых были найдены признаки окислительного/нитрозативного стресса [3].

Достоверная  $\text{Na}-\text{K}$  корреляция, свидетельствующая о синхронной работе мембранных  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаз, не зависела от размера выборки, но была тесно связана с текущим режимом функционирования мембранных  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаз (критический, до- и надкритический) или, другими словами, от синхронной (критическое состояние) и асинхронной (до- и надкритическое состояние) работы этих помп. Это хорошо иллюстрируют значения  $r_{\text{Na-K}}$  в общей группе и при концентрационных значениях  $\text{K}$  и  $\text{Na}$ , которые соответствуют до- и надкритическому состоянию (см. табл. 1).

Таблица 1. Коэффициент корреляции  $r_{\text{K-Na}}$  (Pearson) в зависимости от уровня калия ( $\text{K}$ ) и натрия ( $\text{Na}$ ) в эпидермисе

Исследуемые группы	$r_{\text{K-Na}}$
Общая группа ( $n = 10\ 012$ )	0,61 ( $p < 0,05$ )
Докритическое состояние $\text{Na} < 80$ мкг/г $\text{K} < 10$ мкг/г ( $n = 424$ )	0,10
Надкритическое состояние $\text{Na} > 1500$ мкг/г $\text{K}_{\text{медиана}} = 915,8$ мкг/г ( $n = 260$ )	0,17

## Секция 8. Гемоглобины, кровь и железо, и стресс

Как свидетельствует таблица 1, коэффициент корреляции  $r_{K-N}$  (Pearson) в докритическом и надкритическом состояниях резко снижен по сравнению с общей группой, что, по нашему мнению, отражает присущую данным состояниям асинхронную работу мембранных  $Na^+/K^+$ -АТФаз.

Требует обсуждения возможный механизм синхронизации (критическое состояние) и десинхронизации (до- и надкритическое состояние) работы мембранных помп в трансмембранном переносе ЭМ в клетках эпидермиса.

Важное место в этом процессе принадлежит редокс-процессам с участием активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА), поскольку состояние тиоловых групп цистеина в белковой молекуле мембранных насосов, легко подвергающихся редокс-модификации (окисление с образованием дисульфидных связей, S-нитрозилирование), определяет проводимость каналов АТФаз в клетке. В роли окислителей (редокс-модификаторов) выступают постоянно продуцируемые в клетке оксид азота (NO), нитрозоний ( $NO^+$ ), нитроксил ( $NO^-$ ), супероксиданионрадикал ( $O_2^-$ ), пероксинитрит ( $NOOO^-$ ) и др. Интересно, что NO,  $NO^+$ ,  $NO^-$  ( $HNO$ ) генерируются в цитозоле автоколебательной системой, содержащей NO, свободные тиолы и негемовое железо, в *осцилляторном* режиме (реакция Белоусова-Жаботинского).

Продукция АФК/АФА, при которой плотность активированных АТФаз на клеточной мембране будет достаточной для запуска процесса синхронизации, обеспечит *критическое* состояние системы. При недостаточной плотности активированных мембранных АТФаз такой запуск может быть затруднён или не состояться вовсе (*докритическое* состояние). Гиперпродукция АФК/АФА способна стать причиной *надкритического* состояния системы.

Необходимо подчеркнуть, что, «регуляцию» (если этот термин в данном случае правомерен) трансмембранного трафика ЭМ обеспечивает именно критический ( $\sigma = 1$ ) или близкий к нему режим работы мембранных АТФаз, при котором возбуждающий (информационный) импульс способен сразу (без искажения) распространяться на сравнительно большие расстояния не только в самой клетке, но и, вероятно, (по межклеточным контактам) в целой клеточной популяции. Такая возможность оказывается недоступной при асинхронных (до- и надкритическом) режимах функционирования. Поэтому численные значения ЭМ, которые соответствуют критическому (синхронному) режиму работы АТФаз следует признать *нормативными*.

Было интересно сравнить нормативные показатели уровня ЭМ в эпидермисе, полученные с помощью разных методических подходов: 1) с использованием так называемой альтернативной методики интервальной оценки средней, не требующей нормального распределения априорного ансамбля (*bootstrap method*) [5]; и 2) с учётом возможной принадлежности гомеостаза ЭМ к СК-явлениям.

Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2. Нормативные показатели уровня электрогенных металлов в эпидермисе (по данным спектрометрии), полученные с помощью разных методических подходов

Электрогенные металлы	Интервальная оценка средней (bootstrap method) (мкг/г)	Самоорганизованная критичность (мкг/г)
K	277,4 < <b>317,7</b> < 361,1	50 – 1000
Na	427,9 < <b>480,9</b> < 542,9	80 – 1000
Ca <sub>муж</sub>	529,1 < <b>620,1</b> < 763,1	400 – 2000
Ca <sub>жен</sub>	1348,1 < <b>1439,6</b> < 1528,4	400 – 3000

**Примечание:** *жирный шрифт* – величина средней (M), *обычный шрифт* – границы доверительных интервалов (bootstrap-метод).

Как следует из таблицы 2, границы нормы для ЭМ на основе теории СК кратно превышают аналогичные показатели, полученные с помощью интервальной оценки средней (bootstrap-метод).

**Заключение.** По мнению авторов, в данной работе при оценке гомеостаза ЭМ в эпидермисе (волосы), дан *новый подход* к определению нормы. В разработке такого подхода были использованы основные положения теории самоорганизованной критичности. Понятно, что применимость и точность предлагаемой нормы может быть проверена лишь непосредственно в клинической практике. Но уже сейчас к числу позитивных характеристик СК-оценки следует отнести возможность её физиологического (биоэнергетического) обоснования, что, к сожалению, не удаётся сделать с помощью статистических (вероятностных) оценок среднего содержания ЭМ в эпидермальных клетках.

### Литература

1. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumann L.Kh., Skalny A.V., and Lobanova Yu.N. Electrogenic metals in epidermis: relationship with cell bioenergetics. *Insights in Biomed.*-2016.-V. 1(2).- P. 9-14.
2. Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Skesters A.P., and Skalny A.V. Problems of the integral evaluation of human elemental status according to the spectrometry of hair. *Mikroelementy v Medicine.*-2006.- V.7(4).- P. 7-14.
3. Petukhov V.I., Baumann L.Kh., Dmitriev E.V., Vanin A.F. Nitric oxide and electrogenic metals (Ca, Na, K) in epidermic cells. *Biochemistry.*-2014.-V. 8(4).-P. 343-348.
4. Bak P. Theory of self-organized criticality. 2014. ed. LIBROKM, Moskva, 276 p.
5. Davison A.C., Hinkley V.D. Bootstrap methods and their application.1997. UK.

### Electrogenic metals in epidermis: how to find the borders of their normal content?

Valery Ivanovich Petukhov, DSc, Professor VISU 1

Egor Vladimirovich Dmitriev, PhD, Senior research scientist 2

Larisa Kharitonovna Baumann, PhD, Senior research scientist 3

1Vladimir State University, Vladimir, Russia;

2Institute of Numerical Mathematics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

3Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga, Latvia;

*Despite the successes of modern bioelementology, the assessment of mineral status in a given substrate remains controversial and in many respects not reliable. The article discusses the reasons for the incorrect interpretation of mineral status, which, according to the quantitative analysis of chemical elements in the epidermis (hair), can be both objective (weak awareness of the involvement of a mineral in the cellular homeostasis and the mechanisms of regulation of this homeostasis) and subjective (tacit acknowledgment of the acceptability of the so-called "reference norm").*

*Keywords: electrogenic metals, normal content in epidermis, redox status, self-organized criticality, oxidative/nitrosative stress*

УДК 612(047)+612.111

### ВЕРОЯТНОСТЬ АГРЕГАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ В АРТЕРИАЛЬНЫХ СОСУДАХ.

**Смирнов Игорь Юрьевич** д.б.н., профессор, профессор  
*smirnov.igor1@yandex.ru*

*Костромской государственный университет,  
156005, Россия, Кострома, ул. Дзержинского д. 17,  
<http://www.ksu.edu.ru>*

*Выполнено наблюдение структуры потока крови в артериальных микрососудах бульбарной конъюнктивы глазного яблока. Выявлена гетерогенность потока в артериолах. Проведено экспериментальное исследование поведения красных клеток крови in*



*in vitro* при высоких скоростях движения суспензий эритроцитов с различными гематокритными показателями.

*Ключевые слова:* артериальные микрососуды, агрегация, эритроциты.

### **Введение**

Исследования агрегационной активности эритроцитов в ротационных приборах позволило установить, что при скоростях сдвига порядка  $50 \text{ C}^{-1}$  все эритроцитарные агрегаты в нормальной крови разрушаются. В сочетании с постулированием параболического профиля скоростей потока в трубках это положение дало основание экстраполировать агрегацию красных клеток крови на отдел микроциркуляции, где линейные скорости движения потока наименьшие. В настоящее время считается, что агрегация эритроцитов возможна в веноулярном отделе микроциркуляции и именно здесь она оказывает негативное влияние на кровоснабжение тканей вследствие повышения сопротивления течению [6, 7, 8, 9, 10]. Однако уже в середине 90х годов прошлого столетия ряд авторов указывал на то, агрегация оказывает влияние на скорость движения крови в артериальных микрососудах и плотность функционирующих капилляров [11]. При стимулировании агрегации эритроцитов введением высокомолекулярных декстранов было отмечено снижение артериолярной скорости и снижение плотности функционирующих капилляров. Наши исследования скоростного профиля потока в сонной артерии и исследования скоростного профиля у животных продемонстрировали заметные отличия скоростного профиля от параболического вида [1, 4]. Эти факты позволяют предполагать наличие в центральной части артериальных сосудов области с низкими скоростями сдвига и возможностью агрегационных взаимодействий между красными клетками крови.

**Цель работы.** Наблюдения над группой добровольцев с применением методики высокоскоростной видеосъёмки микрососудов бульбарной конъюнктивы глазного яблока позволили выявить гетерогенный характер потока в сосудах с диаметром менее 50 мкм. При этом гетерогенность потока наблюдалась как в веноулярном, так и в артериолярном отделе. При замедлении движения крови в фазу диастолы удавалось зарегистрировать наличие конгломератов эритроцитов в артериальных сосудах. У части добровольцев удавалось зарегистрировать многослойный поток в венах с выраженными различиями в концентрации красных клеток между слоями, который мог сохраняться на протяжении нескольких генераций венул [5]. Формирование такого потока являлось следствием состояния потоков крови в предшествующих генерациях сосудов.

Однако возможности получения изображения отдельных эритроцитов в конгломерате при имеющихся условиях съёмки *in vivo* сильно ограничены. Традиционно применяемые щелевые лампы имеют разрешение порядка 8 мкм и не позволяют выявлять отдельные клеточные элементы. Разрешающая способность применённого нами объектива примерно равна 4 мкм (апертура 0,11 и увеличение  $\times 4,7$ ). Работы по повышению разрешающей способности такой видеосъёмки применением объективов с увеличением от 8 до 10 крат и апертурой до 0,30 позволили установить, что видеосъёмка сосудов бульбарной конъюнктивы с подобной оптикой в принципе возможна, но требует ещё большего повышения скорости съёмки и яркости освещения. При скорости съёмки 240 и 420 кадрах в секунду чёткие изображения отдельных эритроцитов при таком увеличении получить, тем не менее, не удавалось. При этом сфокусированный в точку диаметром 3 мм яркий свет вызывает повышенную частоту моргания, что так же затрудняет съёмку. Дополнительным фактором ограничивающим применение более мощной оптической системы для изучения потока крови является ограничение размеров зоны наблюдения в пределах 250-300 мкм (при объективе  $\times 10$ ), что не позволяет проследить движение конгломерата и исключить эффект оптического «объединения в конгломерат» клеток движущихся с разными скоростями. На основании этих фактов нами была предпринята попытка изучить поведение эритроцитов в потоке с относительно высокой скоростью движения *in vitro*.

**Материал и методы.** Для преодоления вышеуказанных ограничений была разработана и изготовлена установка позволяющая производить скоростную видеосъёмку движения образца крови в проточной камере через микроскоп,двигающийся вдоль проточной камеры с регулируемой скоростью. При совпадении скоростей движения элементов потока и скорости движения микроскопа изображение оказывается слабо подвижным (полного совпадения добиться не возможно вследствие наличия в потоке элементовдвигающихся с различными скоростями). Это позволяет записывать поведение эритроцитов на достаточно продолжительном отрезке их движения. Камера имела следующие размеры – длина 86 мм, ширина ~ 500 мкм, высота ~ 50 мкм. Камера подключена параллельно замкнутой системе непрерывной циркуляции образца крови по силиконовым трубкам с диаметром канала 2 мм. Скорость движения образца в камере зависела от давления создаваемого перистальтическим насосом, степенью перекрытия основного канала циркуляции винтовым регулятором и вязкости образца. Движение микроскопа осуществлялось со скоростями от 2 до 20 мм/с. Видеосъёмка осуществлялась со скоростью 240 к/с.

В качестве образцов использовались суспензии эритроцитов с гематокритом до 0,20. Суспензии красных клеток крови готовили путём добавления в суспендирующую среду концентрированной суспензии эритроцитов, полученной 15 минутным центрифугированием крови при 1000g. Ресуспендирование красных клеток крови выполняли в аутоплазме, полученной при центрифугировании. Для стимулирования агрегации использовали обработку эритроцитов трипсином с последующей отмывкой в фосфатном буферном растворе и ресуспендированием в плазме. Такая обработка удаляла до 50% сиаловых кислот на поверхности клеток связанных с белками и по данным вискозиметрических измерений существенно повышала агрегационную способность клеток [3].

Оптическая система включала в себя объектив x10, широкопольный окуляр x10 и оптическое увеличение камеры x10. Таким образом, суммарное увеличение на 24 дюймовом мониторе составляло x1000, что позволяло уверенно различать как отдельные эритроциты, так и эритроциты в агрегатах по типу «монетных столбиков». Высота камеры превышает глубину резкости объектива, поэтому получить чёткое изображение всех клеточных элементов невозможно. Скорость воспроизведения полученных видеофайлов дополнительно замедлялась в 3-5 раз в программе Pinnacle Studio 15 ultimate. Суммарное замедление при анализе составляло 24-40 раз.

**Полученные результаты.** При движении суспензии эритроцитов в плазме с гематокритом около 0,05 со скоростью 6 мм/с в потоке видны как отдельные эритроциты с различной ориентацией, так и сравнительно небольшие агрегаты различной формы. При анализе видеоизображения отдельные элементы движутся не только с разной скоростью, но и кажется что в разных направлениях. Причиной этого является несовпадение скорости движения камеры и элементов потока. При этом в кадре могут быть как элементы со скоростью движения выше, чем скорость движения камеры, так и ниже. Этот факт позволяет говорить о том, что различия скоростей движения в разных точках потока имеют место и, следовательно, сдвиговые воздействия так же имеют место. Дополнительно наличие существенных сдвиговых воздействий подтверждается изображениями отдельных эритроцитов адгезировавшихся ко дну камеры. Эти клетки имеют характерную вытянутую по оси потока форму. Тем не менее, имеются агрегаты эритроцитов различной формы и размеров, которые перемещаются мимо адгезировавшихся клеток. При анализе такого изображения следует учитывать, что сдвиговые воздействия осуществляются в основном в вертикальной плоскости на расстоянии примерно равном всего 6 – 7 диаметрам эритроцита. При применении параболического профиля скоростей движения потока сдвиговые скорости должны быть высокими в любой точке потока. Однако заметные сдвиговые воздействия имеют место только в пристеночной области. Сталкивание агрегатов между собой и с отдельными эритроцитами не приводят к заметным изменениям их размеров.

При повышении гематокритного показателя суспензии увеличивается размер конгломератов клеток и уменьшается расстояние между соседними конгломератами. Уже при гематокритном показателе 0,20 выявить отдельные клетки практически невозможно. Конгломераты расположены близко друг к другу и двигаются в потоке с вращением и деформациями без заметных разрушений. Эти факты позволяют говорить о том, что при гематокритном показателе 0,40 – 0,45 имеющем место в циркуляции *in vivo* плотность прилегания эритроцитов или их конгломератов друг к другу будет ещё выше и формирование связей между клетками не требует их дополнительных перемещений. Эти связи удерживают клетки возле друг друга до тех пор, пока сдвиговое воздействие не разъединит их. Возникновение разности скоростей потока по поперечному сечению сосуда так же может быть связано с тем фактом, что эритроцит в потоке оказывает сопротивление движению в несколько раз большее, чем аналогичная по размеру область плазмы [2]. Плазма обтекает эритроциты и их конгломераты со скоростью превышающей скорость эритроцитов. Агрегаты красных клеток крови оказывают сопротивление движению большее, чем одиночные эритроциты. Скорость их движения в потоке ниже и одиночные эритроциты их обгоняют. Таким образом, формируется достаточно динамичный профиль скоростей потока по поперечному сечению сосуда. На видеозаписях мы наблюдали изменение направления движения отдельных эритроцитов при обтекании агрегатов даже без непосредственного контакта между ними, следовательно, траектория их движения определяется траекторией движения плазмы. Таким образом, даже при достаточно высоких скоростях движения крови возможно формирование агрегатов и длительное сохранение. Их размеры определяются агрегационной способностью эритроцитов и скоростным профилем потока. Существенным фактором объединения эритроцитов в агрегаты является величина гематокритного показателя, а точнее, расстояние между соседними клетками. При увеличении гематокритного показателя суспензии размер агрегатов увеличивался, а одиночные эритроциты наблюдались только в пристеночной области уже при гематокрите 0,10.

Поведение эритроцитов в потоке с формированием агрегатов различной формы и размеров возможно лишь при многослойном строении потока, когда в пределах одного слоя сдвиговые воздействия сравнительно малы. То есть скоростной профиль потока представляет собой в достаточно крупных (относительно размеров эритроцита) сосудах многоступенчатую структуру. При этом данная структура весьма динамична и при усреднении большого числа таких профилей, возможно, будет получаться нечто похожее на параболу. Степень уплощения скоростного профиля в значительной степени зависит не только от агрегационной способности эритроцитов, но и от величины гематокритного показателя.

Анализ видеосъёмки микрососудов бульбарной конъюнктивы глазного яблока позволил выявить гетерогенность потока крови в артериальных сосудах. Как правило, трудности выявления структуры потока были связаны с высокой скоростью движения в систолическую фазу. Однако в диастолическую фазу снижение скорости позволяло наблюдать действительно гетерогенный поток. В сочетании с результатами наблюдений *in vitro* это позволяет констатировать возможность нахождения агрегатов эритроцитов в артериальном отделе системы кровообращения

Проведённое исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Скоростной профиль движения крови по поперечному сечению сосуда является динамичным и обусловлен наличием в потоке структурных элементов различных размеров. При обтекании крупных элементов потока плазмой мелкие элементы увлекаются ею и изменяют направление движения. С повышением гематокритного показателя смещения элементов потока от основного направления движения уменьшается.

2. Высокая скорость движения потока крови не приводит к полному разрушению агрегатов красных клеток крови в сосудах даже при низких величинах гематокритного показателя. Наблюдаемая динамика при повышении гематокритного показателя в обла-

сти его относительно малых величин *in vitro* позволяет предполагать наличие агрегатов эритроцитов в физиологических условиях *in vivo* в любых сосудах.

**Заключение.** Проведено исследование поведения эритроцитов в потоке на разработанной и изготовленной нами установке для исследований *in vitro*, не имеющей аналогов. Полученные результаты *in vitro* и наблюдения кровотока в микрососудах бульбарной конъюнктивы глазного яблока дают основание предполагать наличие эритроцитарных агрегатов в артериальных сосудах.

### Цитируемая литература

1. Педли Т. Гидродинамика крупных кровеносных сосудов. – М.: Мир, 1983. – 400 с.
2. Копыльцов А.В. Влияние вязкости плазмы на сопротивление движению эритроцитов по капиллярам / А.В. Копыльцов // Биофизика.– 1989.– т.34.– в. 6.– С. 1046.
3. Смирнов И.Ю. Факторы, определяющие адсорбцию белков плазмы крови на эритроцитах у спортсменов / И.Ю. Смирнов, В.Н. Левин, О.А.Чирикова // Тромбоз, гемостаз и реология.– 2004.–№4 – 64–68.
4. Смирнов И.Ю., Позин А.А. Поточковые характеристики крови в артериальных сосудах и электростатические взаимодействия между эритроцитами // Функциональная диагностика.– 2006.– №1.– С. 76 – 80.
5. Смирнов И.Ю. Состояние потока крови в микрососудах бульбарной конъюнктивы глазного яблока // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2012. №4 (40). С. 38 – 41.
6. Bishop J. J. Effect of erythrocyte aggregation on velocity profiles in venules / J. J. Bishop, P. R. Nance, A. S. Popel, et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol.– 2001.– V. 280.– P. H222–H236.
7. Bishop J. J. Effects of erythrocyte aggregation and venous network geometry on red blood cell axial migration / J. J.Bishop, A. S.Popel, M Intaglietta, P.C.Johnson //Am J Physiol Heart Circ Physiol.– V. 281.– 2001.– H939–H950.
8. Bishop J. J. Effect of aggregation and shear rate on the dispersion of red blood cells flowing in venules / J. J.Bishop, A. S.Popel, M.Intaglietta, P. C. Johnson //Am J Physiol Heart Circ Physiol.– 2002.– V.283.– P. H1985–H1996.
9. Bishop J. J. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules / P. R.Nance, A. S. Popel, et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol , -2004 –V.286.- H113-H120.
10. Kim S., Popel A. S., Intaglietta M., Johnson P. C. Aggregate formation of erythrocytes in postcapillary venules / S.Kim, A. S. Popel, M. Intaglietta, P. C.Johnson // Am J Physiol Heart Circ Physiol.- 2005.- V.288.- P. H584-H590.
11. Vicaut E. Red blood cell aggregation and microcirculation in rat cremaster muscle/ E. Vicaut, X. Hou, L. Decuyper et al. //Int. J. Microcirc. – 1994.– 14.–P. 14–21.

### Red blood cells aggregation possibility in the arterial vessels

*Smirnov Igor Yurevich, professor, Kostroma state university.*

*Research of blood stream structure in micro vessels an eyeball conjunctive is executed. The heterogeneity of blood stream in an arterial department is revealed. The investigation of red blood cells motion executed in vitro at high velocity suspensions with different hematocrits. The studies displayed red blood cells aggregations in blood flow at high velocity stream and different hematocrit values.*

*Keywords: arterial micro vessels, aggregations, red blood cells*

**СОВМЕСТНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НИЗКОЙ ЧАСТОТЫ И КАДМИЯ НА ПРИРОДНЫЕ БИОПОЛИМЕРЫ**

*Елена Евгеньевна Текуцкая, к.х. н., доцент,*

*e-mail: [tekytska@mail.ru](mailto:tekytska@mail.ru)*

*ФГБОУ ВО “Кубанский государственный университет”,*

*350040 г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149*

*<http://www.kubsu.ru>*

*В работе изучены механизмы структурных изменений молекул человеческого сывороточного альбумина (HSA) и ДНК, выделенной из цельной крови человека, при добавлении ионов кадмия в концентрациях до уровня  $10^2$  ПДК методом флуоресцентного спектроскопии. Высказано предположение о встраивании ионов кадмия в двойную спираль ДНК в качестве интеркалирующего агента.*

**Ключевые слова:** *водные растворы ДНК, флуоресцентная спектроскопия, электромагнитное поле, человеческий сывороточный альбумин, кадмий*

**Введение**

Исследования действия низкочастотного электромагнитного поля (ЭМП) и тяжелых металлов на денатурационные и конформационные переходы ДНК и триптофансодержащих белков во многом мотивированы задачей скрининга ДНК-повреждающих факторов.

Изучение влияния тяжёлых металлов на флуоресцентные характеристики природных биополимеров, в частности, альбуминов обусловлены также важностью темы создания новых эффективных методов диагностики процесса агрегации белков, которые активизируются при наличии тяжёлых металлов в среде [1]. Авторами [1, 2] при проведении исследований сыворотки крови белых крыс флуоресцентным методом показано, что поступление в организм избыточных концентраций ионов тяжелых металлов приводит к блокированию или аллостерическим изменениям центров связывания альбумина. В работе [2] методом спин-резонансной спектроскопии изучено связывание ионов тяжелых металлов с молекулами сывороточного альбумина человека и бычьего сывороточного альбумина, а также описаны чипы биосенсоров на основе альбуминов для определения металлов. В статьях [3-6] обсуждаются экспериментальные данные, полученные при изучении влияния низкочастотного ЭМП на денатурационные и конформационные изменения HSA с помощью анализа собственной и индуцированной флуоресценции в контексте его роли в транспорте лекарственных веществ и механизмов регуляции связывания лигандов и диссоциации лиганд-альбуминового комплекса. Сделан вывод об уровне сохранения нативной конформации белков плазмы крови и, следовательно, о сохранности их функциональных свойств при воздействии на плазму крови человека низкоинтенсивного низкочастотного ЭМП.

Одним из наиболее опасных токсических факторов, способным оказывать мембрано-, ферменто-, генотоксическое воздействия, является кадмий ( $Cd^{2+}$ ), который значительно влияет на обмен нуклеиновых кислот и белка, обладает высокой кумулятивной способностью, проявляя сродство к клеточным структурам почек, печени и сердца [6-7]. Ионы кадмия, накапливаясь в митохондриях, лизосомах и ядре, вызывают их ультраструктурные изменения, взаимодействуют с сульфгидрильные группы белков, снижая скорость метаболических процессов, вызывая гипохромию эритроцитов, нарушая углеводный обмен и синтез гликогена в печени [7]. Известно, что локальные загрязнения сточными водами горно-металлургических комбинатов, производств красителей, никель-кадмиевых аккумуляторов, минеральных удобрений возможны даже после специальной очистки, поскольку содержат значительные количества солей кадмия, в связи с чем, попадание и накопление ионов  $Cd^{2+}$  в организме человека представляет серьезную медико-экологическую проблему [8].

Особый интерес при исследовании влияния ЭМП на живые системы привлекают биополимеры на основе нуклеиновых кислот. Авторами работы [9] установлено, что в молекуле ДНК возможен перенос заряда на большие расстояния, а также испускание фотонов при возбуждении или после возбуждения молекулы ДНК. Низкочастотное ЭМП используется для изменения скорости ряда важных биохимических процессов: репарации отдельных участков ДНК с выделенными соматическими мутациями; генерации активных форм кислорода нейтрофилами; изменения уровня содержания циклотронов и др. [10-13]. Известными проявлениями стресс-реакции в клетках являются повреждение биологически значимых молекул и, прежде всего, ДНК. В статье [10] высказано предположение, что изменение гидратной оболочки ДНК под действием низкочастотного ЭМП при некоторых параметрах ЭМП приводит к восстановлению водородных связей, образованию сшивок и в целом к репарации ДНК.

### Цель работы

Целью настоящей работы явилось исследование влияния низкоинтенсивного ЭМП в диапазоне частот 5 - 30 Гц и ионов кадмия  $Cd^{2+}$  на флуоресцентные характеристики водных растворов ДНК и HSA методом классической флуоресцентной спектроскопии и выявление происходящих при этом возможных денатурационных и конформационных переходов природных биополимеров. Совместное действие катионов кадмия и ЭМП может, как вызывать агрегацию молекул ДНК и HSA, так и непосредственно влиять на характеристики флуорофоров.

### Материалы и методы

Объектом исследований были водные растворы ДНК и HSA. ДНК из собранных образцов крови у добровольцев (мужчины 21-25 лет, некурящие,  $n = 10$ ), выделяли с помощью реактивов готовых коммерческих наборов АмплиСенс – «ДНК-сорб-В» (Москва) сорбционным способом, как описано в работах [10,13]. Содержание ДНК в конечном растворе определяли спектрофотометрически, используя коэффициент экстинкции, равный  $E_{260nm} = 200$ . Данный метод выделения позволяет получить концентрацию ДНК в конечном растворе до 30 мкг/мл [10]. Все дальнейшие исследования проводились с разбавленными водными растворами ДНК с концентрацией, равной 2,5 мкг/мл.

В работе также использовался раствор HSA с концентрацией 5 мкМ и раствор ацетата кадмия  $Cd^{2+}$  с концентрациями от 0,5 мкг/мл. Для стабилизации раствора HSA образцы перед добавлением солей кадмия  $Cd^{2+}$  и измерениями хранились сутки и более при температуре 4° С. Для изменения значения pH растворителя применялись растворы соляной кислоты или гидроксида калия с малыми концентрациями.

Флуоресцентные исследования проводились на спектрофлуориметре Hitachi F-2700 (Япония) при комнатной температуре, равной 22 °С. Триптофановая флуоресценция водных растворов HSA регистрировалась в диапазоне 270 – 500 нм при возбуждении светом с длиной волны  $\lambda_{возб} = 295$  нм, а растворов ДНК в диапазоне 220 - 900 нм и длине волны возбуждения  $\lambda_{возб} = 320$  нм.

*Обработка проб электромагнитным полем.* Обработку водных растворов ДНК и HSA ЭМП низкой частоты проводили в химически чистой стерильной пластиковой посуде при температуре 20–22°С и толщине облученного слоя 2 мм. В ходе экспериментов использовалось разработанное нами устройство для автоматизированного исследования биологических жидкостей в переменном магнитном поле, описанное в [14 - 15]. Время обработки составляло 10 мин. Напряженность магнитной составляющей поля достигала  $24 \pm 4$  А/м, частота изменялась с шагом 2 Гц от 5 до 30 Гц.

Полученные данные анализировали в пакете статистического анализа Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  [16].

### Полученные результаты

Нуклеиновые кислоты, как и триптофансодержащие белки, относятся к природным флуорофорам, что позволяет изучать их состояние в водных растворах с помощью

флуоресцентной спектроскопии. В ходе проведенного эксперимента была подобрана длина волны возбуждения водного раствора ДНК, она составила 320 нм. На спектрах флуоресценции водных растворов ДНК при  $\lambda_{возб} = 320$  нм наблюдали два характерных пика с максимумами интенсивности флуоресценции  $320 \pm 1$  нм и  $640 \pm 5$  нм соответственно.

Наблюдаемый на спектрах флуоресценции растворов ДНК первый пик связан с наличием в составе молекул ДНК хромофоров, поглощающих УФ-излучение, - сопряженные  $\pi$ -связи азотистых оснований [17]. При возбуждении водного раствора ДНК УФ- излучением с длиной волны 320 нм, наблюдали появление, кроме этой полосы флуоресценции, дополнительной полосы флуоресценции, обладающей длинноволновым сдвигом, с длиной волны 640 нм, возможно, данная полоса свечения возникла при окислении свободными радикалами азотистых оснований ДНК. Авторы в статье [18] относят пик с максимумом 635 нм на спектрах флуоресценции к появлению в растворе синглетного кислорода, так, говорится, что наличие пиков на длинах волн 535, 635 и 1270 нм позволяет утверждать, что в анализируемом растворе имеется синглетный кислород, который при переходе в основное триплетное состояние испускает фотоны света в данном диапазоне. Это согласуется с мнением, изложенным в работах [10, 11], в которых указывается, что одной из причин изменения хемилюминесценции водных растворов ДНК при действии на них ЭМП НЧ может быть образование активных форм кислорода в водном растворе. Об образовании двух- и одноплетневых разрывов в растворе ДНК под действием как пероксирадикалов, так и низкочастотного ЭМП отмечается и авторами [12].

Добавление ионов кадмия в концентрациях выше ПДК в раствор ДНК приводит к поэтапному увеличению интенсивности флуоресценции с увеличением концентрации кадмия, что свидетельствует об отсутствии процесса денатурации ДНК, при которой происходило бы тушение флуоресценции. ПДК кадмия в цельной крови составляет по данным [19] 0,007 мкг/мл. При соотношениях концентраций в растворе  $[Cd^{2+}] / [ДНК] = 1:5; 1:2,5; 1:1$  на зависимости интенсивности флуоресценции водного раствора ДНК от концентрации ионов  $Cd^{2+}$  наблюдаются несколько плато. Это свидетельствует о дискретном изменении структуры ДНК в присутствии ионов кадмия в растворе. Возможно встраивание ионов кадмия в двойную спираль ДНК в качестве интеркалирующего агента, что приводит к увеличению интенсивности флуоресценции. Известно [7] сродство ДНК к эссенциальному микроэлементу  $Zn^{2+}$ , входящего в состав ДНК-полимеразы. Близость металлических радиусов  $Cd^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  обусловленная косвенным влиянием лантаноидного сжатия, одинаковая степень окисления, способность образовывать комплексы с одинаковым координационным числом делает кадмий и цинк антагонистами во многих биохимических реакциях в организме. Именно нарушение обмена цинка лежит в основе угнетения синтеза ДНК в тканях плода, поступающего при нагрузке организма матери кадмием [7].

При обработке ЭМП с частотами от 5 до 30 Гц растворов ДНК в присутствии ионов кадмия наблюдается более значительное, в 2-2,3 раза, увеличение интенсивности флуоресценции. Это подтверждает предположение о встраивании ионов кадмия в двойную спираль, что приводит к увеличению интенсивности свечения флуорофоров молекулы ДНК. Стабилизация двойной спирали ДНК с помощью ионов кадмия может быть использована в одном из направлений бионанотехнологий, а именно, в области нанотехнологий нуклеиновых кислот [9], в том числе в качестве молекулярных проводов и при создании новых типов молекулярных устройств на основе биополимеров [17].

Были сняты спектры собственной флуоресценции HSA в присутствии различных количеств кадмия в растворе при физиологическом значении pH 7,4, выше изоэлектрической точки альбумина ( $pI = 4,7$ ) и длине волны возбуждения 295 нм. При концентрациях кадмия в растворе, меньших или равных концентрациям HSA, происходит незна-

чительное уменьшение интенсивности флуоресценции HSA, что, по-видимому, связано с некоторой дестабилизацией третичной структуры белка, поскольку глобула альбумина лабильна и чувствительна даже к слабым влияниям. Возможны и процессы тушения флуоресценции триптофана соседними группами, в результате конформационного изменения HSA под влиянием катионов  $Cd^{2+}$ .

В нативном HSA в водных растворах его собственная флуоресценция, обусловленная аминокислотным остатком триптофана Трп-214, который находится в центре связывания I, наблюдается при значении длины волны экстинции от 280 до 295 нм и при значении длины волны эмиссии  $350 \pm 3$  нм [3]. В диапазоне pH 6,0 – 8,0 конформационные переходы альбумина сопровождаются изменением микроокружения аминокислотных остатков триптофана, тирозина, гистидина и происходит N – В-переход молекулы, в результате которого повышается доступность имидазольных остатков, скрытых в N-форме, при этом размеры самой глобулы почти не изменяются [20]. Катионы  $Cd^{2+}$  могут взаимодействовать с доступными имидазольными остатками в молекуле HSA.

При дальнейшем увеличении концентрации кадмия в растворе до соотношения  $[Cd^{2+}] / [HSA] = 2 : 1$  интенсивность флуоресценции увеличивается. При попадании в неполярное окружение интенсивность флуоресценции триптофанового остатка в HSA увеличивается, такие локальные гидрофобные взаимодействия стабилизируют вторичную структуру белка. Значительным структурным изменениям молекулы альбумина при концентрациях кадмия в растворе, соизмеримых с концентрацией HSA, по-видимому, препятствует также система труднодоступных S-S-связей, расположенных регулярно по всей длине полипептидной цепи [15]. Гибкость молекулы HSA, чрезвычайная конформационная лабильность и способность молекулы к скручиванию и раскручиванию (folding/unfolding), создает предпосылки для реализации аллостерических влияний со стороны ионов кадмия на состояние центра связывания I и в целом на связывание лигандов и лекарственных веществ с белком.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

В исследуемом диапазоне концентраций ионов кадмия в растворе происходят структурные изменения молекул ДНК, приводящие к увеличению интенсивности флуоресценции азотистых оснований, входящих в состав ДНК. Разгорание флуоресценции водных растворов ДНК в присутствии катионов кадмия, и особенно при обработке таких растворов ЭМП низкой частоты обусловлено высоким сродством кадмия к молекуле ДНК и встраиванием его в двойную спираль. Это подтверждает факт антагонизма эссенциального микроэлемента цинка и кадмия на уровне обмена нуклеиновых кислот.

В ходе проведенных исследований не было выявлено влияние катионов кадмия на характеристики триптофановой флуоресценции HSA при их концентрациях в растворе на уровне ПДК в крови человека. При увеличении концентраций катионов кадмия в растворе HSA до уровня  $10^2$  ПДК наблюдаются функциональные переходы HSA в пределах его нативной структуры, при этом не происходит денатурации. Деформация молекулярной структуры HSA при не очень больших концентрациях кадмия в растворе может локализоваться именно в неплотно упакованных участках, не приводя к полному разрушению структуры белка.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ р\_а № 16-42-230187 «Денатурационные и конформационные переходы природных биополимеров при действии переменного магнитного поля»

### Литература:

1. Власова, И. М. Применение методов лазерной спектроскопии динамического светорассеяния при исследовании денатурации сывороточного альбумина плазмы кро-



- ви человека / И. М. Власова, В. Е. Микрин, А. М. Салецкий // Третий междунар. Оптический конгресс «Оптика – 21век». – Санкт-Петербург ИТМО, – 2004. – С. 291–292.
2. Ghuman J. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin / J. Ghuman, P.A. Zunszain, I. Petitpas // *J. Mol. Biol.* – 2005. – Vol.353. – №1. – P.38–52
3. Текуцкая, Е.Е. Действие электромагнитного поля низкой частоты на белки плазмы крови / Е.Е. Текуцкая, К.В. Чебочинов, А.С. Прокофьев // *International Research Journal.* – 2016. – №2 (44), Ч. 3. – С. 38–40.
4. Текуцкая, Е.Е. Особенности заболеваний органов пищеварения у населения в экологически загрязненных районах Краснодарского края. / Текуцкая Е.Е., Лупаш Н.П., Майорова А.В. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2012. № 5. – С. 41– 45.
5. Banerjee A. Albumin metal interaction: a multielemental radiotraced study / A. Banerjee, S. Lahiri // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* – 2009. – Vol. 279. – №. 3. – P. 733–741.
6. Кузьмичева, Л. В. Исследование функции альбумина флуоресцентным методом при действии тяжелыми металлами / Л. В. Кузьмичева, Е. Г. Лопатникова // *Успехи современного естествознания.* – 2009. – № 11. – С. 74–78.
7. Авцын, А.П. Микроэлементозы человека / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш – М.: Медицина, 1991. – 495с.
8. Текуцкая, Е.Е. Мониторинг врожденных пороков развития челюстно-лицевой области в условиях неблагоприятного воздействия факторов окружающей среды / Е.Е. Текуцкая, Гусарук Л.Р. // *Экология человека.* – 2013. № 5. - С. 18-23.
9. Лахно, В.Д. Прыжковый и суперобменный механизмы переноса заряда в ДНК / В.Д. Лахно, В.Б. Султанов // *Молекулярная биофизика.* – 2003. – Т. 48. – № 5. – С.797–801.
10. Tekutskaya E. E. The Effect of a Low Frequency Electromagnetic Field on DNA Molecules in Aqueous Solutions / E. E. Tekutskaya, M. G. Barishev, G. P. Ilchenko // *Biophysics.* – 2015. – Vol. 6. – № 6. – P. 913–916.
11. Tekutskaya, E.E. Study of influence of the low-frequence electromagnetic field on DNA molecules in water solutions / E.E. Tekutskaya, M. G. Barishev // *Odessa astronomical publications XIII Odessa astronomical GAMOW'S conf. Editor-in-Chief S.M. Andrievsky.* 2013. P. 303–306.
12. Phillips J.L. Electromagnetic Fields and DNA Damage / J.L. Phillips, H. Lai, N.P. Singh. // *Pathophysiology.* – 2009. – Vol.16. – P.79–88.
13. Текуцкая, Е.Е. Структурные повреждения ДНК лимфоцитов периферической крови человека при воздействии физических факторов / Е.Е. Текуцкая, Р.В. Василиади // *Экология человека.* – 2017. №.12. - С. 9-14 201
14. Барышев, М.Г. Устройство для автоматизированного исследования биологических жидкостей в переменном магнитном поле / М.Г. Барышев, Г.П. Ильченко, Е.Е. Текуцкая, Л.В. Ломакина // Патент РФ на полезную модель №156336; заявл. 12.12.2014; опубл. 10.11.2015, Бюл. № 31
15. Барышев, М.Г., Устройство для поиска оптимальных параметров обработки биологических объектов переменным магнитным полем / М.Г. Барышев, Г.П. Ильченко, Е.Е. Текуцкая, Шелистов В. С., Никитин А.В. // *Измерительная техника.* – 2017. №.6. - С. 69-72.
16. Герасимов, А. Н. Медицинская статистика / А.Н. Герасимов – М: ООО Медицинское информационное агентство, 2007. – 480 с.
17. Евдокимов, Ю.М. Структурная нанотехнология нуклеиновых кислот: жидкокристаллический подход / Ю.М. Евдокимов, В.И. Саянов, Е.И. Кац, С.Г. Скуридин // *Биофизика.* – 2013. – Т. 58. – № 6. – С.987–1004.

18. Voeikov V.L. Process Involving Reactive Oxygen Species are the Major Source of Structured Energy for Organismal Field Pumping in Biophotonics and Coherent Systems / V.L. Voeikov, L. Belousov, S.A. Popp. – М.: Moscow University Press, 2000. – 286 p.

19. Энциклопедический словарь медицинских терминов / Под ред. Б. В. Петровского. – М.: Советская энциклопедия. – 2001. – 1591 с.

20. Peters T. Jr. All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications / T. Jr. Peters - San Diego: Academic Press, 1996. – 432 p.

20. Ghuman J. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin / J. Ghuman, P.A. Zunszain, I. Petitpas // J. Mol. Biol. – 2005. – Vol.353. – №1. – P.38–52.

### **Joint action of the electromagnetic field of low frequency and cadmium on natural biopolymers**

Е.Е. Tekutskaya

The Kuban state university, Krasnodar, Russia

In work mechanisms of structural changes of molecules of human serum albumin (HSA) and DNA, allocated from whole blood of the person are studied, at addition of ions of cadmium in concentration to the level  $10^2$  maximum concentration limits by method of the fluorescent analysis. It is suggested about embedding of ions of cadmium in a double spiral of DNA as the agent that leads.

*Keywords:* DNA water solutions, fluorescent spectroscopy, electromagnetic field, human serum albumin, cadmium

УДК 577.344

### **ЭНДОГЕННЫЕ ГЛОБИНЫ И ТРАНСМИОКАРДИАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ**

*Тифлова Ольга Антоновна с.н.с.*

*e-mail: olantp@gmail.com*

*Дмитриев Александр Константинович, науч. сотр.*

*e-mail: [dmitriev\\_a62@mail.ru](mailto:dmitriev_a62@mail.ru)*

*ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» РАН*

*108840, г. Москва г. Троцк, ул. Пионерская 2*

*<https://kif.ras.ru>*

*Построена лазерноиндуцируемая сигнальная сеть, управляющая трансмиокардиальной лазерной ревакмуляризацией, включающая в себя глобиновые фоторецепторы – растворимую гуанилатциклазу и цитоглобин, а также лазерную коррекцию образования микровезикул с помощью ассоциированных с кавеолами термо- и механосенсоров.*

*Ключевые слова: трансмиокардиальная лазерная ревакмуляризация, сигнальная сеть, растворимая гуанилатциклаза, цитоглобин, микровезикулы*

*Работа выполнена при поддержке Федерального агентства научных организаций (соглашение № 007-ГЗ/Ч3363/26).*

При лазерной реваскуляризации миокарда перфорации в биоткани производятся с помощью мощных лазеров, излучающих как в полосах поглощения эндогенных хромофоров – глобинов, такие как Nd:YAG и полупроводниковые лазеры, так и более дальнего ИК излучения, например CO<sub>2</sub> лазера. Общепризнанным механизмом, обеспечивающим долгосрочный положительный эффект, считается тепловая индукция ангиогенеза [1]. Отмечается также быстрый эффект улучшения коронарной микроциркуляции уже в процессе лазерного воздействия [2]. Задачей настоящего исследования является попытка построения сопряженной с глобинами лазерноиндуцируемой сигнальной сети, выявление вклада в долгосрочный и краткосрочный эффекты световой, тепловой и механической компоненты лазерного излучения.

Известно, что одним из ключевых ферментов, ответственным за расширение сосудов является растворимая глобиновая гуанилатциклаза [3]. В условиях окислительного стресса фермент накапливается в окисленной форме, неспособной взаимодействовать с NO [4], имеющей полосы поглощения в ближнем ИК диапазоне около 1530, 1330 и 1030 нм [5]. В красной и зеленой областях спектра окисленная форма гуанилатциклазы характеризуется широкими полосами поглощения с максимумами около 642 и 511 нм [3]. Ранее нами было показано, что фотовосстановление глобиновой гуанилатциклазы в клетках эндотелия, возвращающее ей способность активироваться NO, может служить первичным этапом лазерной биостимуляции [6]. Такое фотовосстановление глобиновой гуанилатциклазы с помощью рассеянного, а также красного или зеленого пилотного лазерного излучения может лежать в основе немедленной реакции расширения сосудов, наблюдаемой в процессе лазерной реваскуляризации миокарда. Эффективная форма глобиновой гуанилатциклазы локализуется в мембранных микродоменах – кавеолиновых рафтах [4]. Переход мембран из неупорядоченной в упорядоченную фазу, ведущий к образованию рафтов, зависит от температуры в диапазоне 38 – 66<sup>0</sup>С [7]. Можно предположить, что контролируемое глобиновой гуанилатциклазой расширение сосудов может индуцироваться не только световой компонентой рассеянного излучения лазерных медицинских установок, но и наблюдаться в зоне термостресса в окрестности лазерного канала.

В отличие от быстрого эффекта расширения сосудов, лазерный ангиогенез, как и любой долгосрочный эффект, может реализоваться только в случае восприятия лазерного сигнала несколькими рецепторами с последующей индукцией метаболической сигнальной сети [8]. Нами построена фоточувствительная сигнальная сеть в клетках эндотелия, обеспечивающая лазерную индукцию ангиогенеза при заживлении ран, включающая наряду с глобиновой гуанилатциклазой, цитоглобин и цитохромоксидазу [9]. Локализация глобиновой гуанилатциклазы в кавеолиновых, а цитохромоксидазы в кардиолипиновых [4, 10] рафтах, дает возможность такой сети воспринимать и термосигнал, обеспечивая тепловую индукцию ангиогенеза после перфорации миокарда с помощью мощного лазерного излучения.

С целью выявления особенностей реакции клеток на мощное лазерное излучение с длиной волны, лежащей в полосе поглощения эндогенных глобинов, нами были проведены исследования выживаемости бактерий, иммобилизованных на полисахаридном фантоме, после облучения с помощью CO<sub>2</sub> или Nd:YAG лазеров.

В наших экспериментах мы использовали функционирующий фантом биоткани на основе полимера, способного имитировать некоторые оптические и механические свойства различных мягких тканей, с иммобилизованными на нем живыми клетками. Для моделирования биоткани был выбран бесцветный природный полисахарид – агар, образующий прозрачный гель при содержании воды до 99,5% с температурой плавления 100<sup>0</sup>С и температурой застывания – 45<sup>0</sup>С. При добавлении в гель соответствующих питательных компонентов на поверхности таких легко стерилизуемых образцов могут

размножаться модельные микроорганизмы. В качестве биологической тест-системы в состав фантома были введены питательная среда YT и бактерии *Escherichia coli* BMH размером 1x2мкм с таким расчетом, чтобы каждая клетка бактерий располагалась в среднем на участке поверхности 40-х 40мкм - характерном размере клеток млекопитающих. Чашка Петри с таким фантомом облучалась в стерильных условиях через стеклянную крышку в случае ближнего ИК излучения Nd:YAG лазера (мощность – 12Вт, диаметр пучка – 1 или 5мм, время облучения – 60 или 600с, доза – 3 или  $4 \times 10^8$  Дж/м<sup>2</sup>) или через кристалл NaCl в случае ИК излучения CO<sub>2</sub> лазера (мощность – 10Вт, диаметр пучка 5 или 25мм, времена облучения 0,1 – 500с). Облучение проводили при комнатной температуре и отключенном видимом пилотном излучении. После облучения фантом переносили в условия, оптимальные для роста бактерий, температура культивирования – 37<sup>0</sup>С. На поверхности полимера каждая выжившая бактерия, размножающаяся путем последовательных многократных удвоений клеток, формирует конусообразную структуру, состоящую из генетически идентичных потомков, так называемую колонию. После 12-18часов подрачивания колония достигает максимальных размеров, составляющих в зависимости от близости соседних колоний 0,1 - 1мм. В наших условиях на контрольных (необлученных) участках наблюдается сплошной рост газона, при котором соседние колонии соприкасаются друг с другом. На облученных участках в случае гибели всех или части бактерий наблюдаются прозрачные участки исходного полимера. На рисунке представлены средние данные 2 – 4 независимых экспериментов по две повторности в каждом.

Результаты наших исследований показали, что при облучении с использованием CO<sub>2</sub> лазера существует четкая граница между зоной лизиса, в которой все бактерии погибли и зоной роста полноценного газона, где все бактерии выжили. В изученном нами диапазоне доз  $0,5 - 5 \times 10^5$  Дж/м<sup>2</sup> и времен облучения – 0,1 - 1с, диаметр зоны лизиса при постоянной интенсивности, составлявшей  $5 \times 10^5$  Вт/м<sup>2</sup> увеличивается с увеличением дозы облучения (Рис.1).

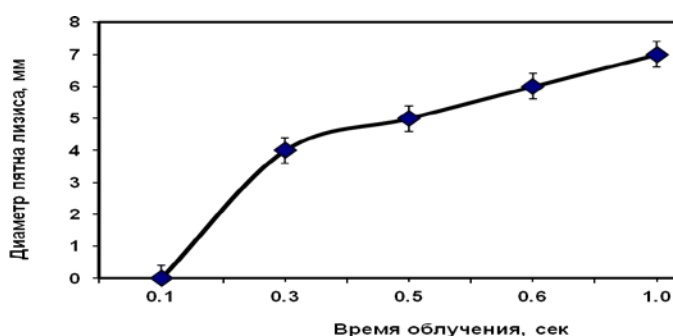


Рис.1. Зависимость диаметра пятна лизиса от времени облучения фантома CO<sub>2</sub>лазером (мощность излучения - 10Вт, диаметр пучка - 5мм)

Размер зона лизиса зависит не только от дозы, но и от интенсивности излучения. При увеличении диаметра пучка до 25мм дозы  $0,2 \times 10^5$  Дж/м<sup>2</sup>, время облучения -10с или  $2 \times 10^5$  Дж/м<sup>2</sup>, время облучения – 500с, не приводят к гибели клеток бактерий, зоны лизиса на фантоме отсутствуют.

В случае Nd:YAG лазера с длиной волны 1064нм, лежащей в полосе поглощения эндогенных глобинов, для снижения выживаемости клеток бактерий требуются дозы порядка  $10^8 - 10^9$  Дж/м<sup>2</sup> при диаметре пучка 1 или 5мм. Диаметр зоны поражения превышает диаметр пятна облучения, и в удаленных от центра кратера вскипания зонах лизиса наблюдаются отдельные колонии, сформированные выжившими клетками. При диаметре пучка 5мм зона полного лизиса имеет диаметр 4 – 5мм, в кольцевой зоне с

диаметром 5 - 7мм количество клеток уменьшается на два порядка, а в кольцевой зоне 7 – 8мм в десять раз, интактный газон сохраняется в зоне диаметром более 8 – 10мм.

Полученные нами на функционирующем фантоме биоткани данные хорошо согласуются с данными гистологии при лазерных перфорациях миокарда, из которых следует, что при применении СО<sub>2</sub> лазера объем поражения миокарда незначителен и не превышает 3-4 слоя кардиомиоцитов, а в случае излучения полупроводникового лазера с длиной волны, лежащей в полосе поглощения глобинов, он более выражен и наблюдаются поврежденные, но сохранившиеся клетки [1]. Известно, что в остающиеся в зоне поражения клетках, как и клетках, находящихся в зоне гипоксии, интенсифицируется процесс отделения сигнальных микровезикул, контролирующего ангиогенез в физиологических и патологических условиях [11, 12]. Поскольку формирование и функционирование микровезикул тесно связано с клеточными механосенсорами – инвагинациями цитоплазматической мембраны кавеолами [13], можно предположить, что механическая коррекция процесса образования микровезикул может вносить существенный вклад в оптимизацию процесса лазерной реваскуляризации.

Предпринятая нами попытка применить информационный подход к анализу механизма лазерной реваскуляризации миокарда позволила выдвинуть предположение о структуре лазерноиндуцируемой сигнальной сети. По-видимому, лазерное излучение способно индуцировать в клетках эндотелия сосудов метаболическую сигнальную сеть, в которой тепловой и световой сигнал, воспринимаемый соответственно мембранными и гемовыми компонентами, образуют узлы на уровне локализованных в кардиолипидных и кавеолиновых рафтах цитохромоксидазы и глобиновой растворимой гуанилатциклазы, что и позволяет включить устойчивый долгосрочный ангиогенез. Критически важным, вероятно, оказывается включение в сеть и механического сигнала, блокирующего образование микровезикул, поскольку клинические и экспериментальные данные указывают на оптимальный результат СО<sub>2</sub> лазера, характеризующегося умеренным механическим воздействием и обеспечивающим эффективный ангиогенез в течение всего срока наблюдения [1]. Перспективным подходом к оптимизации спектральных и временных характеристик излучения лазерных установок для перфорации биотканей может служить диагностика последствий облучения на основании определения в крови количественных и качественных характеристик микровезикул на разных этапах оперативного вмешательства и реабилитации. Быстрый эффект улучшения кровообращения, наблюдаемый уже в процессе лазерной перфорации, обусловленный расширением сосудов регулируемым фотовосстановлением глобиновой гуанилатциклазы, может быть оптимизирован применением лазерных установок с пилотным и (или) перфорирующим излучением с длинами волн, лежащими в полосах поглощения глобинов.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: выявлена роль эндогенных глобинов в обеспечении расширения коронарных сосудов в процессе лазерной перфорации миокарда. Проведено исследование особенностей клеточных сигнальных сетей, индуцируемых перфорирующим и пилотным лазерным излучением с длинами волн, лежащих в полосах поглощения глобинов.

### Литература

1. Беришвили И. И. Трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация. Вторая жизнь. Москва: Изд. - во ГЕОС, 2016.
2. Tjomsland O., Grund F., Kamellopoulos G. et al. Transmyocardial laser induces coronary hyperemia and reduced ischemia – related arrhythmias, but fails to delay development of myocardial necrosis after coronary occlusion in pigs // J. Cardiovasc. Surg. 1999. V. 40. P. 325-331.
3. Zhao Y., Marletta M. A. Localization of the heme binding region in soluble guanylate cyclase // Biochemistry. 1997. V. 36. P 15959-15964.
4. Tsai E. J., Liu Y., Koitabashi N. et al. Pressure- overload-induced subcellular relocalization/oxidation of soluble guanylyl cyclase in the heart modulates enzyme stimulation // Circ. Res. 2012. V. 110. P. 295-303.

5. Nozawa, T. Yamamoto, W. Hatano. Infrared magnetic circular dichroism of myoglobin derivatives // *Biochim. et Biophys. Acta.* 1976. V. 427. P. 28-37.
6. Tiflova O.A., Direct light sensors in laser biostimulation: possible role of E.coli DOS protein and mammalian soluble guanylate cyclase // *Unesco ALSSED LSP Newsletter.* 2005. V. 5863. P. 31-32.
7. Garcia-Saez A. J., S. Chiantia, and P. Schwille. Effect of line tension on the lateral organization of lipid membranes // *J. Biol. Chem.* 2007. V 282. P. 33537–33544.
8. Bhalla S., Iyengar R. Emergent properties of networks of biological signaling pathways // *Science.* 1999. V. 283. №. 1. P. 381-387.
9. Тифлова О.А., Дмитриев А.К., Корунов В.Н. Лазерная термо-, фотомодификация глобинсодержащих патологических тканей// Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции IT + M&Ec`2016 (Гурзуф, с 02 по 12 июня 2016 г.). 2016. Весенняя сессия. С. 207-211.
10. Robinson N. C. Functional binding of cardiolipin to cytochrome c oxidase // *J Bioenerg Biomembr.* 1993. V. 25(2). P. 153 - 157.
11. Todorova D, Simoncini S., Lacroix R, Sabatier F and Dignat-George F. Extracellular Vesicles in Angiogenesis // *Circulation Research.* 2017. V. 120. P. 1658-1673.
12. Deng F., Wang S., Cai S., et al Inhibition of caveolae contributes to propofol preconditioning – suppressed microvesicles release and cell injury by hypoxia – reoxygenation // *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2017. Article ID 3542149, 13 pages <https://doi.org/10.1155/2017/3542149>
13. Noel J., Wang H., Hong N. et al. PECAM-1 and caveolae form the mechanosensing complex necessary for NOX2 activation and angiogenic signaling with stopped flow in pulmonary endothelium // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2013. V. 305(11). P. L805–L818.

### Endogenous globins and transmyocardial laser revascularization

*Tiflova Olga Antonovna (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)*

*Dmitriev Alexander Konstantinovich, research fellow (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)  
Federal Scientific Research Center "Crystallography and Photonics" of Russian Academy of Sciences*

*Laser-induced signal network controlling transmyocardial laser revascularization has been constructed. It implies the involvement of globin photoreceptors – soluble guanylate cyclase and cytoglobin as well as laser correction of the formation of microvesicles via caveolae associated thermo- and mechanosensors.*

*Key words: transmyocardial laser revascularization, signal network, soluble guanylate cyclase, cytoglobin, microvesicles*

УДК 612.111.11

### МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ГЕМОГЛОБИНА В БИОХИМИИ И ДИАГНОСТИКЕ

*Алексей Федорович Топунов, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией  
E-mail: aftorinov@yandex.ru*

*Ольга Владимировна Космачевская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.  
E-mail: rizobium@yandex.ru*

*Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук  
<http://www.fbras.ru>*

*Описаны различные известные формы эритроцитарного гемоглобина. Некоторые из них обусловлены генетически, появление других связано с различными заболеваниями и действием ксенобиотиков. Многие из этих форм являются и могут являться диагностическими показателями.*



*Ключевые слова: гемоглобин, множественные формы, диагностика, компьютерная экспертная система*

**Введение.** Для диагностики многих болезней чрезвычайно информативными являются данные о состоянии гемоглобина (Hb), Гемоглобинопатии - заболевания, обусловленные нарушением структуры и функционирования Hb. Наследственные обусловлены мутациями в генах, кодирующих белковые цепи Hb, описано несколько сот аномальных Hb, однако не все они ведут к клиническим проявлениям [1]; приобретенные вызваны действием различных химических агентов. Можно говорить и о посттрансляционных модификациях, влияющих на Hb и, через него, на эритроциты. Для описания продуктов таких модификаций сейчас используют термин «протеоформы» [2]). Отметим, что сейчас известно 12 генов, кодирующих различные Hb у человека, некоторые функционируют постоянно, другие сменяются в процессе развития. Нами был предложен термин «гемоглобинОм», объединяющий все Hb, существующие в организме [3].

Патогенез гемоглобинопатий обусловлен связями между структурой Hb и свойствами эритроцита, что влияет на реологических свойствах крови и устойчивость эритроцитов. Изменения структуры Hb могут приводить к нарушению кислород-переноса функции и стабильности эритроцитов, и затрудняют их прохождение по микрососудам, что может привести к гемолитической анемии и местной ишемии тканей. Для диагностики гемоглобинопатий необходимы биохимические, микроскопические, физико-химические и молекулярно-генетических методы. Имеются и дополнительные маркеры, позволяющие получить более полную информацию о состоянии пациента, например, данные о модифицированных Hb, о которых мы будем говорить ниже.

### **Восстановление гемоглобина и метгемоглобинемия.**

Гемоглобины поддерживаются в физиологически активном восстановленном состоянии (с 2-хвалентным железом гема) благодаря специфическим НАДН- и НАДФН-зависимым редуктазам [4, 5]. При их недостаточной активности проявляется такое заболевание, как метгемоглобинемия, когда заметная доля Hb находится в окисленном состоянии. Она может быть как наследственной, когда нарушен синтез редуктазы, или вызываться действием химических соединений. Этническими группами с высоким распространением наследственной метгемоглобинемии являются эскимосы и индейцы-атабаски Аляски, индейцы навахо, а в России - якуты бассейна реки Вилюй.

### **Взаимодействие гемоглобина с различными соединениями.**

*Взаимодействие с оксидом азота и его производными.* Гемоглобины способны взаимодействовать с активными формами кислорода и азота, то есть функционировать в условиях окислительного и нитрозативного стрессов. Первичная функция гемоглобинов, вероятно, заключалась в защите клеток от нитрозативного стресса и в модулировании сигнальной функции NO. Например, общей для основных групп известных Hb является реакция превращения NO в NO<sup>3-</sup> (диоксигеназная активность). Миоглобин проявляет NO-диоксигеназную активность и защищает цитохром с-оксидазу митохондрий от инактивации оксидом азота. Эту функцию он выполняет как в скелетных и сердечных мышцах, где его много, так и в гладких, где он синтезируется в низких концентрациях [6, 7, 8]. То есть Mb не только генерирует NO при гипоксии благодаря нитритредуктазной активности, но и окисляет его до NO<sup>3-</sup> при нормальной концентрации O<sub>2</sub>.

Эритроцитарный Hb является одним из важнейших элементов системы метаболизма NO и его доноров внутри организма. Согласно «нитритной гипотезе», NO<sup>2-</sup> является потенциальным источником NO в эритроцитах, поскольку при гипоксии Hb про-

являет нитритредуктазную активность, в результате которой образуется NO [9]. Показано, что Hb-SNO (Hb, где NO присоединен к остатку цистеина) оказывает сосудорасширяющее действие и усиливает кровоток в сосудах [10]. Доля образующихся HbNO и Hb-SNO зависит от насыщения Hb кислородом. При физиологических условиях дезоксиHb может работать как S-нитрозотиол-синтаза, используя в качестве субстрата нитрит [11]. Есть еще один путь связывания NO с Hb: с участием тиоловой группы cyst-beta93 могут формироваться динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [12, 13]. Нами было показано, что Hb-ДНКЖ действуют как сайт-специфические антиоксиданты, защищающие участки Hb, с которыми они связаны, от окислительной модификации [14, 15]. Таким образом, HbNO, Hb-SNO и ДНКЖ образуют пул депонированного NO в организме.

Особый интерес представляют модификации Hb, возникающие при одновременном действии на белок и активных форм азота и активных карбонильных соединений, то есть в условиях карбонильного стресса. Мы показали, что при этом возможно образование как нитрозо-, так и нитри Hb, причем появление той или иной модификации Hb зависит как от соотношения действующих агентов, так и от условий протекания реакции [16, 17].

*Взаимодействие с активными формами кислорода.* Очень важно взаимодействие Hb с пероксидом водорода, поскольку эти белки проявляют пероксидазную активность и могут инициировать свободнорадикальное окисление биомолекул под действием H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [18]. Обнаружено, что в результате реакции оксиHb с избытком H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> происходит быстрое образование окисленного Hb, с трехвалентным железом в геме и неспособного связывать кислород. Взаимодействие оксиHb и метHb с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> иногда протекает через образование феррил-формы {Гем+• (FeIV)-ОН-} со свободным радикалом на порфириновом кольце. Эта форма, в отличие от классических пероксидаз, нестабильна, обладает высокой окисляющей активностью и индуцирует свободнорадикальное окисление липидов.

При автоокислении оксиHb образуется супероксид-анион-радикал O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, который при взаимодействии с NO образует пероксинитрит (ONOO-) - очень сильный окислитель, основными мишенями действия которого являются гемопротейды. Его взаимодействие с оксиHb и оксиMb приводит к образованию мет-форм, повреждению порфиринового кольца с последующей деградацией гема окислением железа и нитрированием остатков тирозина. Отметим, что образование ONOO- в эритроцитах не является частым явлением.

*Взаимодействие с сульфидами.* Гемоглобины обладают также способностью связывать сульфиды с помощью гемовой группы. В работе [19] показано, что при избыточном поступлении H<sub>2</sub>S в организм, он образует комплексы с гемоглобином, что приводит к образованию сульфHb. Сульфгемоглобинемия может быть и следствием приема лекарств (сульфонамидов, фенасетина, ацетанилида) [20]. В нормальной крови сульфHb отсутствует, при патологиях его концентрация находится в диапазоне 1-10%. Описано возникновение сульфгемоглобинемии у новорожденных при действии H<sub>2</sub>S, выделяемого бактерией *Morganella morganii*, живущей в кишечнике [21].

*Гликозилирование гемоглобина.* Очень важным видом модификации Hb является гликозилирование (связывание с активными карбонильными соединениями, в том числе, с сахарами). Hb был первым белком, для которого было описано этого процесс, а в дальнейшем было показана его взаимосвязь с диабетом [22]. Гликозилированный Hb человека обозначают как HbA<sub>1c</sub>. Эта фракция не является патологической и у здоровых людей составляет 5-7% [23]. В то же время содержание в крови неферментативно гликозилированных белков повышается при таких заболеваниях, как сахарный диабет, галактоземия, различные мелитурии, атеросклероз и др., при этом содержание HbA<sub>1c</sub> является маркером нарушений углеводного обмена [24].



*Взаимодействие с «необычными» лигандами.* Гемоглобины могут формировать комплексы и с крупными молекулами, например, с гетероциклическими соединениями с атомом азота в гетероцикле (с изохинолином и никотиновой кислотой), а также с алкилизоцианидами и нитрозоароматическими соединениями. Алкильные радикалы: также могут образовывать комплексы с Hb [25]. Hb могут взаимодействовать и с нитрозо-ароматическими соединениями, например, с нитрозобензолом [26] и нитрозотолуолом. Некоторые производные пиридоксала и имидазол также связываются с глобиновой частью Hb [27, 28]. Комплексы Hb с гетероциклическими соединениями могут образовываться, в результате токсического действия и при связывании некоторых лекарственных препаратов. Такие комплексы были обнаружены в крови людей, работающих на химических заводах, как результат хронического отравления [29].

**Мембраносвязанный гемоглобин.** Отдельно выделим мембраносвязанную форму гемоглобина (МВHb), которая является индикатором структурно-функционального состояния эритроцитов. Расчеты доли МВHb обычно дают значения 3-5%. Наиболее важным способом образования является электростатическое связывание deoxyHb по цитоплазматическому домену анионтранспортного белка полосы 3 (CDB3) [30]. Оно обратимо. Ковалентная пришивка к компонентам мембраны дисульфидными связями и адсорбция к липидам с помощью гидрофобных взаимодействий - необратимы из-за действия окислительных агентов, вызывающих образование свободных радикалов и оксоферрильных форм Hb, инициирующих перекисное окисление липидов [31, 32]. Доля необратимо связанного Hb возрастает при гемоглобинопатиях. Обратимое связывание Hb с мембранами указывает на физиологическую роль процесса: регуляция метаболизма глюкозы и свойств цитоскелета в зависимости от концентрации O<sub>2</sub>, формирование сигнала о повреждении или старении эритроцита, а также участие в сигнальном пути гипоксической вазодилатации. Оно может быть адаптивной реакцией, направленной на стабилизацию липидного бислоя мембран и регуляцию его механических свойств.

Связывание Hb с мембранами усиливает его каталитические функции. Так, deoxyHb, связанный с CDB3, может восстанавливать нитрит-ионы и, таким образом, быть источником NO [33]. МВHb имеет более высокое сродство к O<sub>2</sub>, более низкий коэффициент Хилла и более высокую пероксидазную активность, чем цитозольный Hb.

Использование данных о МВHb может существенно расширить возможности диагностики заболеваний системы крови. Нами разработана методика быстрого и надежного определения МВHb, которая была проверена на образцах крови онкобольных, подвергавшихся химиотерапии (были предоставлены НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина)

**Гемоглобин в компьютерной экспертной системе.** Эритроциты несут информацию не только о крови, но и о состоянии всего организма. Они способны аккумулировать повреждения, поскольку время их жизни 120±20 дней. Показатели, связанные с Hb, используются и в компьютерной экспертной системе (ЭС) «BLOOD» для диагностики гемоглобинопатий разрабатываемой нами совместно с кафедрой «Компьютерные медицинские системы» НИЯУ «МИФИ» и клинико-диагностической лабораторией НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина [34]. В ЭС будет использован расширенный список показателей, связанных с Hb: концентрация билирубина, и внеклеточного Hb, содержание общего и окисленного Hb, и его модифицированных форм (карбоксииHb, сульфHb, нитриHb, гликированный Hb. Мы считаем необходимым ввести в практику еще одну характеристику – количество мембраносвязанного гемоглобина.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения: В практике используются показатели, отражающих свойства гемоглобина,

эритроцитов и крови в целом. Дополнительными показателями, которые могут быть полезны для диагностики, является определение модифицированных форм Hb.

### Цитируемая литература

1. *Космачевская О.В., Топунов А.Ф.* Гемоглобины – разнообразие структур и функций. // Прикл. биохим. микробиол. 2009. Т.45. №6. С.627-653.
2. *Lisitsa A., Moshkovskii S., Chernobrovkin A., Ponomarenko E., Archakov A.* Profiling Proteoforms: Promising Follow-up of Proteomics for Biomarker Discovery. // Expert Review of Proteomics. 2014. V.11. P.121-129.
3. *Топунов А.Ф., Космачевская О.В., Шумаев К.Б.* ГемоглобинОм – набор всех гемоглобинов организма. // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. М.: Ин-т новых информационных технологий, 2013. С.150-152.
4. *Топунов А.Ф., Голубева Л.И.* Редуктазы, восстанавливающие кислородпереносящие гемопротеиды: гемоглобин, миоглобин и легоглобин. // Успехи биол. химии. 1989. Т.30. С.239-252.
5. *Топунов А.Ф., Космачевская О.В.* Ферментативное восстановление гемоглобина и метгемоглобинемия. // Материалы Сухумской межд. науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы экспериментальной биологии и медицины». Сухум, Абхазия, 2017. С.413-421.
6. *Qiu Y., Sutton L., Riggs A.F.* Identification of myoglobin in human smooth muscle. // J. Biol. Chem. 1998. V.273. P.23426-23432.
7. *Ascenzi P., Brunori M.* Myoglobin: a pseudo-enzymatic scavenger of nitric oxide. // Biochemistry and Molecular Biology Education. 2001. V.29. P.183-185.
8. *Rassaf T., Flogel U., Drexhage C., Hendgen-Cotta U., Kelm M., Schrader J.* Nitrite reductase function of deoxymyoglobin: oxygen sensor and regulator of cardiac energetics and function. // Circ. Res. 2007. V.100. P.1749-1754.
9. *Rifkind J., Nagababu E., Ramasamy S.* Nitric oxide redox reactions and red cell biology. // Antioxid. Redox Signal. 2006. V.8. P.1193-1203.
10. *Stamler J.S., Jia L., Eu J.P., McMahon T.J., Demchenko I.T., Bonaventura J., Gernert K., Piantadosi C.A.* Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. // Science. 1997. V.276. P.2034-2037.
11. *Angelo M., Singel D., Stamler J.* An S-nitrosothiol (SNO) synthase function of hemoglobin that utilizes nitrite as a substrate. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V.103. P.8366-8371.
12. *Vanin A.F., Serezhenkov V.A., Mikoyan V.D., Genkin M.V.* The 2.03 signal as an indicator of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands. // Nitric Oxide. 1998. V.2. P.224-234.
13. *Gow A.J., Luchsinger B.P., Pawloski J.R., Singel D.J., Stamler J.S.* The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V.96. P.9027-9032.
14. *Shumaev K.B., Gubkin A.A., Serezhenkov V.A., Lobysheva I.I., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Lankin V.Z., Topunov A.F., Vanin A.F.* Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and hemoglobin-bound dinitrosyl iron complexes. // Nitric Oxide. 2008. V.18. P.37-46.
15. *Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F.* Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress. // Methods in Enzymology. 2008. V.436. P.441-457.
16. *Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Gubkina S.A., Topunov A.F.* Interaction of S-nitrosoglutathione with methemoglobin under conditions of modeling carbonyl stress. // Hemoglobin. 2013. V.37. P.205-218.
17. *Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Topunov A.F.* Formation of nitri- and nitrosylhemoglobin in systems modeling the Maillard reaction. // Clin. Chem. Lab. Med. 2014. V.52. P.161-168.
18. *Reeder B., Wilson M.* Hemoglobin and myoglobin associated oxidative stress: From molecular mechanisms to disease states. // Curr. Med. Chem. 2005. V.12. P.2741-2751.
19. *McCutcheon A.D., Melb M.D., Flack E.H.* Sulphaemoglobinaemia and glutathione. // Lancet. 1960. V.2. P.240.
20. *Park C.M., Nagel R.L.* Sulfhemoglobinemia. Clinical and molecular aspects. // N. Engl. J. Med. 1984. V.310. P.1579-1584.

21. *Murphy K., Ryan C., Dempsey E.M., O'Toole P.W., Ross R.P., Stanton C., Ryan C.A.* Neonatal sulfhemoglobinemia and hemolytic anemia associated with intestinal *Morganella morganii*. // *Pediatrics*. 2015. V.136. P.e1641-e1645. DOI: 10.1542/peds.2015-0996.
22. *Rahbar S.* An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics. // *Clin. Chim. Acta*. 1968. V.22. P.296–298.
23. *Dolhofer R., Renner R., Wieland O.H.* Different behaviour of haemoglobin and glycosylalbumin levels during recovery from diabetic ketoacidosis and non-acidotic coma. // *Diabetologia*. 1981. V.24. P.211-215.
24. *Fluckiger R., Berger W., Winterhalter K.H.* HbA1c an index of diabetic control. // *Diabetologia*. 1977. V.13. P.393-396.
25. *Talbot B., Brunori M., Antonini E., Wyman J.* Studies on the reaction of isocyanides with haemproteins. I. Equilibria and kinetics of the binding to the isolated chains of human haemoglobin. // *J. Mol. Biol.* 1971. V.58. P.261-276.
26. *Murayama M.* The combining power of normal human hemoglobin for nitrosobenzene. // *J. Biol. Chem.* 1960. V.235. P.1024-1028.
27. *Benesch B.R., Benesch R.E.* Preparation and properties of hemoglobin modified with derivatives of pyridoxal. // *Methods in Enzymology*. 1981. V.76. P.147-159.
28. *Андреев Г.М., Кисель М.А.* Образование гемихрома при взаимодействии гемоглобина с полярными производными фосфатидилхолина. // *Биоорг. химия*. 1997. Т.23. С.290-293.
29. *Scheler W.* Binding of nitrosobenzene and nitrosobenzene derivatives to hemoglobin and hemoglobin compounds. // *Acta Biol. Med. Germ.* 1960. V.5. P.382-397.
30. *Shaklai N., Yguerabide J., Ranney H.M.* Classification and localization of hemoglobin binding sites on the red blood cell membrane. // *Biochemistry*. 1977. V.16. P.5593-5597.
31. *Shaklai N., Ranney H.R.* Interaction of hemoglobin with membrane lipids: a source of pathological phenomena. // *Isr. J. Med. Sci.* 1978. V.14. P.1152-1156.
32. *Kriebardis A.G., Antonelou M.H., Stamoulis K.E., Economou-Petersen E., Margaritis L.H., Papassideri I.S.* Progressive oxidation of cytoskeletal proteins and accumulation of denatured hemoglobin in stored red cells. // *J. Cell. Mol. Med.* 2007. V.11. P.148-155.
33. *Salhany J.M.* Kinetics of reaction of nitrite with deoxy hemoglobin after rapid deoxygenation or predeoxygenation by dithionite measured in solution and bound to the cytoplasmic domain of Band 3 (SLC4A1). // *Biochemistry*. 2008. V.47. P.6059-6072.
34. *Насыбуллина Э.И., Нукитаев В.Г., Проничев А.И., Блиндарь В.Н., Космачевская О.В., Топунов А.Ф.* Экспертная система диагностики гемоглобинопатий с использованием данных о состоянии крови, эритроцитов и гемоглобина. // *Краткие сообщения по физике*. 2015. Т.42. № 7. С.22-27.

### Multiple hemoglobin forms in biochemistry and diagnostics

*Alexey Fedorovich Topunov, DSc, Head of laboratory*

*Olga Vladimirovna Kosmachevskaya, PhD, Senior research scientist*

*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russia*

Different known forms of erythrocytic hemoglobin are described. Some of them are genetically defined, appearance of others is connected with different diseases and xenobiotic action. Many of these forms are or may be the diagnostic indicators.

**Keywords:** *hemoglobin, multiple hemoglobin forms, diagnostics, computer expert system*

УДК 61. 616-71

**ПРИМЕНЕНИЕ ГИДРОМАНЖЕТНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ  
ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ**

*Михаил Сергеевич Геращенко, аспирант кафедры «Медицинская кибернетика и информатика»*

*E-mail: mifon1@yandex.ru*

*Сергей Иванович Геращенко, д.т.н., проф., профессор кафедры «Медицинская кибернетика и информатика»*

*E-mail: mpo@list.ru*

*Владимир Иванович Волчихин, д.т.н., проф., президент*

*E-mail: vvi@pnzgu.ru*

*Елена Александровна Бадеева, д.т.н., доцент, профессор кафедры «БУНиА», главный научный сотрудник НТЦ «Нанотехнологии волоконно-оптических систем»*

*E-mail: badeeva\_elena@mail.ru*

*Наталья Николаевна Янкина, канд. техн. наук, доцент кафедры «Медицинская кибернетика и информатика»*

*E-mail: prezend@yandex.ru*

*ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»*

*440026, г. Пенза, ул. Красная, 40*

*<http://www.pnzgu.ru>*

*На основе анализа недостатков существующих методов, аргументирована необходимость модернизации имеющихся аппаратов с целью повышения точности представляемых результатов и расширения функциональных возможностей. В качестве перспективной разработки предложено использование гидроманжетной технологии формирования осцилляций. Ее преимуществом является возможность существенного увеличения амплитуды осцилляций, формируемых в манжете при прохождении через нее пульсовой волны. Это позволяет повысить точность измерения артериального давления и гемодинамических параметров.*

*Ключевые слова: артериальная гипертензия, артериальное давление, тонометры, гидроманжетный тонометр.*

**Введение.**

По данным Всемирной Организации здравоохранения (ВОЗ) 30-45% населения планеты страдает артериальной гипертензией (АГ). Увеличение значений артериального давления (АД) характеризует появление риска ряда сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). В настоящее время, по статистическим данным ВОЗ, в странах Запада, отмечается тенденция к постепенному снижению смертности от инсультов и инфарктов. Это достигнуто благодаря использованию современных препаратов, совершенствованию применяемых методик диагностики, лечения и антигипертензивной терапии. Одним из важнейших факторов снижения осложнений при АГ явилось внедрение в повседневную практику методики домашнего мониторинга АД. Самостоятельное измерение АД в домашних условиях рекомендовано многими обществами и ассоциациями для диагностики АГ и оценки эффективности антигипертензивного лечения [1].

Неоспоримыми преимуществами этой методики является возможность осуществлять комплексный подход мониторингирования давления в течение суток и в критических ситуациях. Регулярное измерение и фиксирование значений давления стало довольно распространённой практикой предупреждения гипертонии. Существенное увеличение числа измерений позволяет отследить возрастную динамику уровней давления, установить и устранять причины скачков давления. Отсутствие эффекта «белого халата», возможность подготовки однотипных условий и

равноточности измерения стабилизирует показания, увеличивается их достоверность. Сокращается необходимость посещения лечебных учреждений для диагностики, экономится время, минимизируется стрессовая и эмоциональная нагрузка. Снижается интенсивность применения и количество лекарственных препаратов.

Для самостоятельного измерения АД в домашних условиях прежде всего необходимы простые, удобные в эксплуатации, надежные и точные приборы. Особые требования предъявляются к погрешностям приборов. Неточные измерения несут реальную угрозу здоровью и могут спровоцировать появление существенных проблем вследствие применения неадекватных мер и неправильного лечения.

Какие же требования по точности должны предъявляться к приборам, предназначенным для оценки артериального давления? Их можно сформулировать исходя из тех задач, которые ставятся перед ними.

Одна из задач связана с определением стадий гипертензии. Границы различных стадий гипертензии определяются диапазоном значений для систолического давления  $\pm 10$  мм.рт.ст., для диастолического  $\pm 5$  мм.рт.ст. соответственно. Для достоверной оценки стадии гипертензии погрешность измерительного средства должна быть не более  $\pm 1.0$  мм.рт.ст. для систолического и  $\pm 0.5$  мм.рт.ст. а для диастолического.

Другая, немаловажная задача связана с выбором рациональной номенклатуры лекарственных препаратов для лечения артериальной гипертензии, оптимизацией дозирования и комбинирования антигипертензивных средств, а также оценкой эффективности проводимой терапии. Одним из критериев эффективности антигипертензивной терапии в течение 1-6 месяцев от начала лечения, является снижение САД и/или ДАД на 10% и более. В этом случае требования по точности существенно возрастают по сравнению с оценкой стадии гипертензии, поскольку динамика 10% -го изменения давления распределяется на длительный временной интервал.

Более жесткие требования по точности следует применять в ситуациях, связанных с критическим состоянием пациентов при гипертонических кризах, когда требуется динамика равномерного снижения давления на 15-25 % в течение 12-24 часов, т.е. примерно 1% в час. Снижение АД должно быть постепенным для исключения побочных реакций, связанных с гипотензией и ухудшением регионарного кровообращения. Эта задача может быть решена средствами, обеспечивающими погрешность ниже 0,1%.

Подводя итог, следует отметить, что лечение и профилактика артериальной гипертензии, как правило, носит длительный характер. Нахождение в стационарах, занимает небольшой период. Основное время лечения приходится осуществлять в бытовых условиях. В этой ситуации невозможно осуществлять эффективную терапию без активного и самостоятельного контроля давления пациентами.

Что же предлагает нам медицинская промышленность в настоящее время использовать для активного контроля давления в быту и лечебных учреждениях?

Согласно приказу Минздрава РФ от 24.01.2003 г. № 4, основным методом измерения артериального давления (АД) является метод Н.С. Короткова (тонов Короткова) — механический стрелочный тонометр с фонендоскопом, воздушной плечевой манжетой, манометром. При условии соблюдения всех правил реализации методики измерения, выполняемой опытными экспертами, погрешность метода составляет 7-8 %, т.е. практически на порядок ниже требуемой точности.

В настоящее время, достаточно востребованными являются тонометры осцилляторного типа. В основном они предназначены для оценки АД в бытовых условиях при самостоятельном контроле давления. Их неоспоримыми преимуществами являются: электронный способ измерения с цифровым и звуковым представлением информации, компактность, отсутствие дополнительных средств для прослушивания

тонов, осуществление измерения в автоматическом режиме неподготовленными пользователями.

К сожалению, реальная погрешность приборов данного класса, существенно выше погрешности механических тонометров, реализующих метод Короткова. Согласно ГОСТ Р 50267.30 систематическая составляющая погрешности приборов данного класса должна лежать в пределах  $\pm 5$  мм.рт.ст., а случайная  $\pm 8$  мм.рт.ст.

Технические характеристики тонометров осцилляторного типа, выпускаемых в различных странах, должны удовлетворять требованиям наиболее популярных протоколов Британской ассоциации гипертонии (BHS) или национального стандарта США (AAMI) для электронных сфигмоманометров.

Методика тестирования тонометров осцилляторного типа осуществляется референтным методом. Она основана на сопоставлении показаний испытуемого тонометра, со значениями артериального давления, полученными с помощью инвазивного измерения давления или давления, измеренного методом Короткова двумя квалифицированными экспертами.

На основании протокола BHS пригодными для эксплуатации признаются приборы, результаты которых в 90% случаев не превысили показания механических тонометров на 15 мм.рт.ст. Как поступать с оставшимися 10 %, выходящих за этот предел, остается загадкой.

Цель работы.

Улучшение метрологических характеристик приборов для самостоятельного измерения гемодинамических параметров в домашних условиях на основе применения гидроманжетной методики формирования осцилляций.

Материалы и методы.

Гидроманжетная технология формирования осцилляций основана на закачивании в манжету жидкости [2].

Структура прибора для реализации гидроманжетной технологии представлена на рисунке 1. Она включает двухкамерную (1) и (2) компрессионную манжету, первый (3) и второй (4) датчики давления, дифференциальный усилитель (6), блоки регистрации (7) и индикации (8), источник давления (5), первый и второй блоки (9, 10) управления давлением [3].

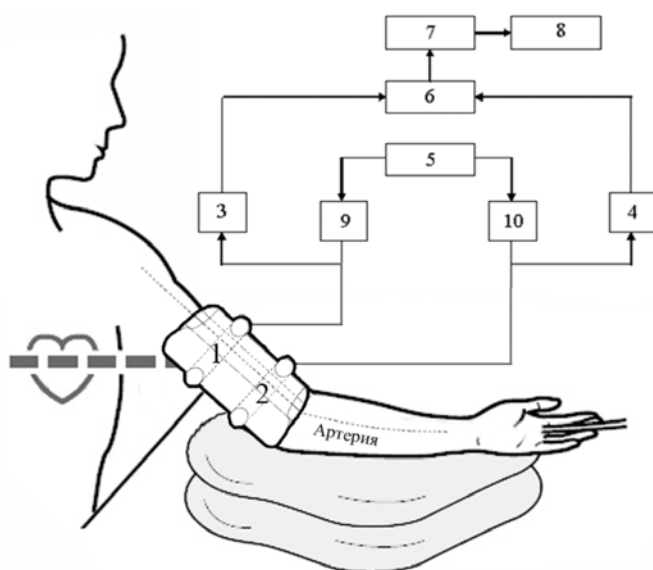
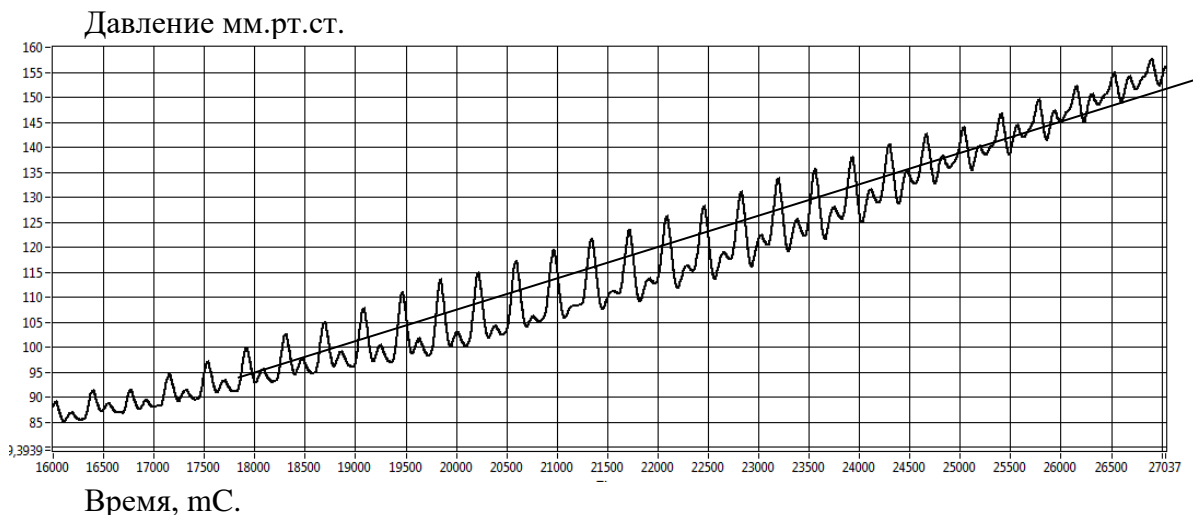


Рисунок 1- Функциональная схема гидроманжетного прибора для оценки гемодинамических параметров.

## Секция 9. Медицинская физика: диагностика и лечение

Использование жидкости позволяет существенно увеличить амплитуду осцилляций до (30-40%) от вариации давления крови в артерии. При этом существенно снижается искажение формы осцилляций за счет снижения влияния шумов, артефактов и дестабилизирующих факторов [4,5].

На рисунке 2 приведен сигнал, снимаемый с датчика давления в камере гидроманжеты при компрессии.



Время, мС.

Рисунок 2- Сигнал, снимаемый с датчика давления в камере гидроманжеты при компрессии.

Амплитуда осцилляций составляет 16 мм.рт.ст. при вариации давления 40 мм.рт.ст.

При наличии двух манжет, гидроманжетная технологи позволяет определять значения систолического и диастолического давлений по ментам, соответствующим появлению и исчезновению пульсаций при прохождении пульсовой волны в нижней манжете [6]. В качестве примера на рисунке 3 показана точка А. В ней значение систолического давления равно 121 мм.рт.ст. Это соответствует началу прохождения крови по артерии ниже первой камеры компрессионной гидроманжеты.

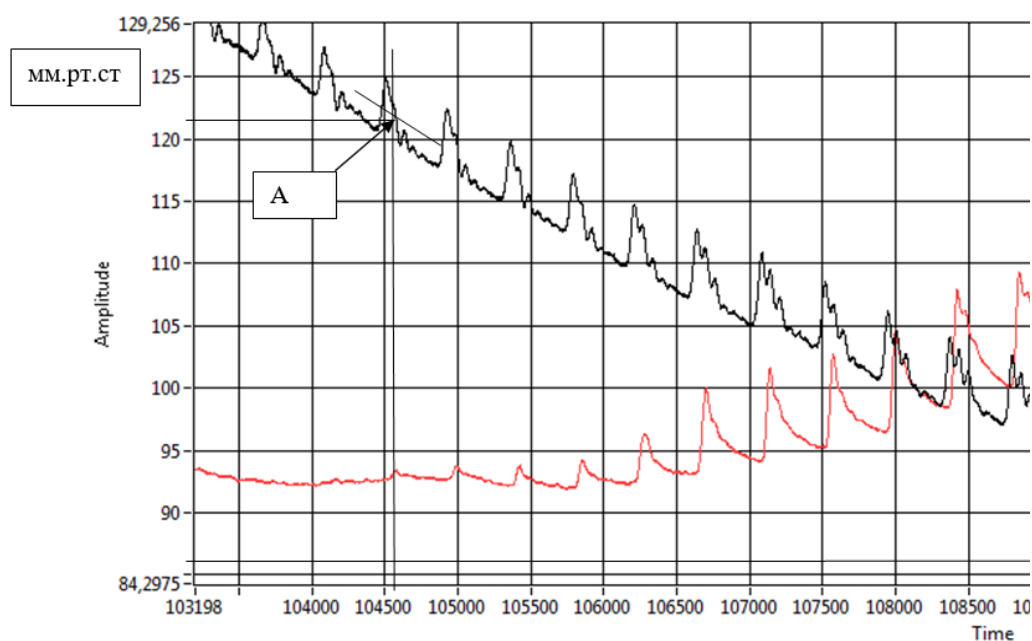


Рисунок 3 - Оценка систолического давления при использовании двухкамерной манжеты.

Существенным преимуществом гидроманжетной технологии является совпадение формы и фазовой структуры осцилляций с фазовой структурой давления в сонной артерии. Это позволяет получать качественные гемодинамические показатели сердечной деятельности на основе оценки формы осцилляций с применением дифференциальных и интегральных характеристик пульсовой волны. Реализация данной методики целесообразна в комплексах суточного мониторинга гемодинамических показателей сердечно-сосудистой системы [7].

Полученные результаты.

Предлагаемое решение создает предпосылки для реализации простого в обращении прибора, с погрешностью до 1 %. Использование гидроманжетной технологии позволяет фиксировать момент начала и окончания формирования пульсовой волны, что соответствует принципу определения моментов начала и окончания формирования тонов Короткова.

Заключение.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются предложение использовать гидроманжетную технологию в приборах для самостоятельного измерения гемодинамических параметров в домашних условиях и решения проблемы повышения точности приборов для оценки гемодинамических параметров.

Цитируемая литература.

1. *Verberk WJ, Kroon AA, Lenders JW, Kessels AG, van Montfrans GA, Smit AJ, van der Kuy PH, Nelemans PJ, Rennenberg RJ, Grobbee DE, Beltman FW, Joore MA, Brunenberg DE, Dirksen C, Thien T, de Leeuw PW.* Self-measurement of blood pressure at home reduces the need for antihypertensive drugs: a randomized, controlled trial. *Hypertension* 2007; 50: 1019–1025. Baskova I. P., Pavlova I. B., Parfenov A. S. Analysis of the Effects of Medicinal Leech on Arterial Function in Elderly Volunteers by Means of Photoplethysmography with Angioscan-01 // *Human Physiology*, 2014, Vol. 40, No. 2, pp. 214–219.

2. *Геращенко М.С.* Тонометр Геращенко // Патент на полезную модель №:104437. - 2011. [Электронный ресурс]. URL: <http://bankpatentov.ru/node/78436>.

3. *Геращенко М.С.* Разработка гидроманжетного прибора для мониторинга гемодинамических параметров/ Геращенко М.С., Геращенко С.И., Геращенко С.М. Измерение. Мониторинг. Управление. Контроль. 2016. № 4 (18). С. 112-117.

4. *Геращенко М.С.* Оценка погрешности гидроманжетного тонометра/ Геращенко М.С., Геращенко С.И., Геращенко С.М. Измерение. Мониторинг. Управление. Контроль. 2016. № 4 (18). С. 106-111.

5. *Gerashchenko M. S.* Application of the hydrocuff technology for blood pressure evaluation/M. S. Gerashchenko, S. M. Gerashchenko, S. I. Gerashchenko, N. N. Yankina//*International Journal of Applied Engineering Research*. -2016. -Т. 11, № 4. -С. 2271-2274.

6. *Писарев М.А.* К вопросу о реализации неинвазивных методов измерения параметров пульсовой волны автономными портативными приборами/ Писарев М.А., Чувькин Б.В., Геращенко С.И., Геращенко М.С., Волкова Н.А. Измерение. Мониторинг. Управление. Контроль. 2016. № 1 (15). С. 89-94.

7. *Данилина О.С.* Комплекс суточного мониторинга гемодинамических показателей сердечно-сосудистой системы человека Данилина О.С., Мнацаканян А.А., Геращенко С.И., Геращенко С.М. Вестник Пензенского государственного университета. 2015. № 3 (11). С. 114-117.

**Application of hydroman technology for the evaluation of hemodynamic parameters**



*Geraschenko Mikhail Sergeevich, post-graduate student, Penza state university*  
*Gerashchenko Sergey Ivanovich, professor, Penza state university*  
*Volchikhin Vladimir Ivanovich, professor, Penza state university*  
*Elena Aleksandrovna Badeeva, professor, Penza state university*  
*Natalya Nikolaevna Yankina, associate professor, Penza state university*

*The authors considered the main methods and instruments used to measure blood pressure. Based on the analysis of the shortcomings of existing methods, the necessity of modernization of existing devices was argued with the aim of increasing the accuracy of the presented results and expanding the functionality. As a perspective development, the use of hydromanget technology for the formation of oscillations was proposed. Its advantage is the possibility of a significant increase in the amplitude of the oscillations formed in the cuff as a pulse wave passes through it. This makes it possible to increase the accuracy of measuring blood pressure and hemodynamic parameters.*

*Key words: arterial hypertension, arterial pressure, tonometers, hydromangetic tonometer.*

УДК: 535.8

## ОСОБЕННОСТИ ПЕРФОРАЦИИ БИОТКАНИ ЛАЗЕРНЫМ ОПТОВОЛОКНОМ

*Дмитриев Александр Константинович, науч. сопр.*

*e-mail: dmitriev\_a62@mail.ru*

*Коновалов Алексей Николаевич, кфмн, с.н.с.*

*e-mail: alex\_konov@mail.ru*

*Кортунов Владимир Николаевич, н.с.*

*e-mail: vnkor@yandex.ru*

*Ульянов Валерий Андреевич, к.т.н., в.н.с.*

*e-mail: vaul595@mail.ru*

*ФНИЦ «Кристаллография и Фотоника» РАН*

*108840, г. Москва г. Троицк, ул. Пионерская 2*

*<https://kif.ras.ru>*

*В работе исследуются особенности воздействия лазерного излучения ближнего и среднего ИК диапазона на мышечную ткань in vitro при ее перфорации лазерным оптоволоконном.*

*Ключевые слова: лазер, перфорация, мышечная ткань, зона термоповреждения, регенерация.*

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-04816).*

Одной из современных тенденцией в развитии регенеративной медицины является применение высокоинтенсивного лазерного излучения для стимуляции восстановления структуры и функций патологически измененных тканей. Один из таких подходов основан на создании в тканях и органах человека глубоких лазерных каналов. Впервые он получил развитие применительно к задаче лечения ишемической болезни сердца как метод трансмиокардиальной лазерной реваскуляризации (ТМЛР) [1]. Подобный подход был применен для лечения ишемизированных мышц нижних конечностей и цирротически измененной ткани печени [2]. Для этого, в зоне поражения были образованы каналы с помощью лазерного излучения с длиной волны 0,97-1,064 мкм в непрерывном и импульсном режимах, мощностью 7-15 Вт. Однако

характеризация лазероиндуцированных воздействий в области перфорации для этих лазеров и тканей отсутствует; другие типы лазеров для этих целей в настоящее время не применяются. Соответственно, отсутствует и информация о лазероиндуцированных воздействиях в области глубокого канала в этих тканях для других длин волн излучения.

Целью работы является исследование особенностей воздействия лазерного излучения ближнего и среднего ИК диапазона на мышечную ткань (*in vitro*) при ее перфорации лазерным оптоволоконном.

Материалы и методы.

В качестве источников лазерного излучения использовались лазеры с непрерывной накачкой: 1 - полупроводниковый лазер мощностью до 10 Вт с длиной волны 0.98 мкм (ООО “РИК”); 2 - волоконный многомодовый лазер с длиной волны 1.56 мкм мощностью до 10 Вт. (ООО “ПОЛЮС”); 3 - волоконный многомодовый лазер с длиной волны 1.94 мкм мощностью до 15 Вт. (ООО “ПОЛЮС”).

Для доставки излучения использовалось многомодовое волокно диаметром  $600 \pm 30$  мкм. Контроль выходной мощности, подводимой к биоткани, осуществлялся измерителем мощности FieldMaster (Coherent). Для визуализации температурных полей в образцах биоткани при их перфорации непрерывным лазерным излучением использовалась тепловизионная камера A655sc (FLIR) с дополнительным объективом для увеличения и получения изображения с разрешением 50 мкм на 1 пиксель.

В качестве объекта воздействия использовались образцы мышечной ткани свиньи *in vitro* размером 15x10x5 мм. Образцы помещались на неподвижную платформу. Перфорация образца осуществлялась перемещением волокна вглубь ткани с помощью моторизированного линейного транслятора с заданной скоростью. Производилась сквозная перфорация образцов биоткани. После перфорации образцы замораживались, производились продольные и поперечные срезы в области лазерного канала, и измерялись диаметр канала и глубина зоны термоповреждения (ЗТП) стенок канала. При лазерной перфорации биотканей вокруг канала образуются визуально наблюдаемые концентрические слои термически поврежденной ткани - зоны карбонизации и коагуляции ткани, составляющие ЗТП окружающей лазерный канал ткани. Изучение коагуляционной зоны методами электронной микроскопии показало, что границы области гомогенизации ткани (в результате нагрева лазерным излучением до температуры 65–70°C) с размытыми очертаниями клеток и разрушенными кровеносными сосудами совпадают с визуально обнаружимыми границами ткани белесого цвета (рис.1) [3].

Микроскопия зон термоповреждений (ЗТП) проводилась с помощью микроскопа МБС-10, с увеличением до 100 крат.

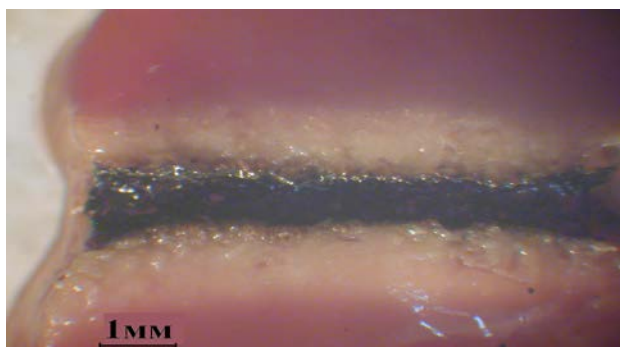


Рис.1. Изображение лазерного канала в биоткани, образованного прохождением оптоволоконна диодного лазера (длина волны 0.98 мкм).

Результаты и обсуждение

На рис.2 и рис.3 представлены гистограммы, отражающие зависимость ширины ЗТП и диаметра лазерного канала от длины волны и мощности лазерного излучения. Скорость перфорации поддерживалась постоянной, равной 0,5 мм/с.

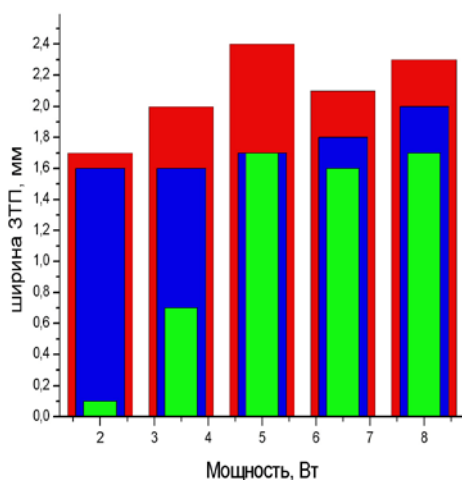


Рис.2. Зависимость ширины ЗТП от длины волны и мощности лазерного излучения (■ – 0,98 мкм, ■ – 1,56 мкм, ■ – 1,94 мкм).

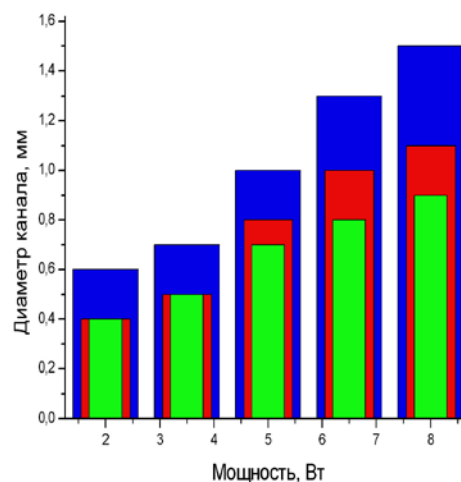


Рис. 3. Зависимость диаметра лазерного канала от длины волны и мощности лазерного излучения (■ – 0,98 мкм, ■ – 1,56 мкм, ■ – 1,94 мкм)

В случае перфорации ткани на длине волны 0,98 мкм имеет место объемное поглощение ( $\alpha_{0,98} = 0,5\text{см}^{-1}$  – для воды), ткань почти «прозрачна» для излучения, что приводит к слабому нагреву окружающей лазерный канал ткани (малая ширина ЗТП при низкой мощности лазерного излучения – Рис.2) и затруднению лазерной перфорации.

Наблюдаемый в микроскоп диаметр лазерного канала (рис. 3) в некоторых случаях (при низких значениях мощности лазерного излучения 0,98 и 1,56 мкм) оказывается меньше диаметра сердечника лазерного волокна, равного 600 мкм. Это объясняется упругостью стенок канала, не получивших сильных термических повреждений. В этом случае канал образуется за счёт разрыва ткани, и в последующем канал естественным образом сжимается. Таким образом, перфорация, при низких значениях мощности излучения лазера на 0,98 мкм, осуществляется принудительно, за счет механического разрыва ткани торцом лазерного волокна. Увеличение мощности излучения приводит к расширению канала за счет испарения биоткани на пути следования волокна, одновременно с этим уменьшается и сила сопротивления. Волокно движется в ткани свободно, когда канала расширяется до размеров сердечника (600 мкм) при мощности лазерного излучения 4 - 5 Вт и более.

Ширина ЗТП для лазеров с длиной волны 1,56 и 1,94 мкм слабо зависит от мощности лазерного излучения и составляет около 2 мм (Рис.2). Это связано с сильным поверхностным поглощением лазерного излучения в мягких (водонасыщенных) тканях ( $\alpha_{1,56} = 13,5\text{см}^{-1}$ ,  $\alpha_{1,94} = 135\text{см}^{-1}$  – для воды). В результате интенсивного испарения и горения ткани в лазерном канале циркулирует парогазовая смесь, разогретая до нескольких сотен градусов. Ширина ЗТП ткани для этих длин волн определяется временем отвода тепла от нагретых стенок лазерного канала, т.е., по сути, временем перфорации, и зависит от толщины образца ткани и скорости перфорации. Так как, эти параметры были постоянными при измерениях, то и ширина ЗТП почти не зависит от мощности. Как показывают оценки, за счет теплопроводности ткань прогревается на глубину 2 мм за время  $\tau \approx a^2/4\eta \approx 10\text{с}$  (где  $a=2\text{мм}$ ,  $\eta \approx 1,3 \times 10^{-3}\text{см}^2/\text{с}$  – коэффициент

температуропроводности мягких тканей [4]), что сопоставимо со временем перфорации образца толщиной 5-10 мм. Таким образом, увеличение мощности лазерного излучения в случае поверхностного поглощения энергии, приводит к интенсивному росту диаметра канала (Рис.3), за счет интенсивного испарения и горения ткани вблизи торца оптоволокна, но не ширины ЗТП.

С помощью тепловизионной камеры удалось визуализировать тепловые поля, формирующиеся на поверхности образца в момент его сквозной перфорации лазерным волокном (рис. 4).

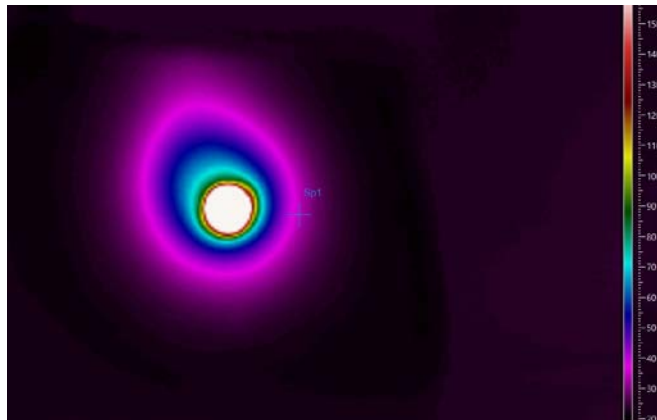


Рис.4. Тепловое поле, формирующееся с торцевой поверхности образца в момент его сквозной перфорации оптоволоком диодного лазера (0,98 мкм). Мощность лазерного излучения – 4 Вт. Справа дана цветовая шкала температур.

Особый интерес представляет зона умеренного теплового нагрева – 38-66 °С (на рис. 4 выделена пурпурным (magenta) и темно синим цветом). В этом температурном диапазоне в живых тканях наблюдается фазовый переход клеточных мембран из неупорядоченного в упорядоченное состояние – так называемый «рафтовый переход» [5,6], который обеспечивает правильное функционирование и взаимодействие при регенерации различных типов клеток. Эту зону можно назвать «зоной тепловой стимуляции», так как именно здесь могут происходить инициирование процессов регенерации мышечной ткани. Перспективным подходом к разработке метода лазерной регенерации мышечной ткани может стать исследование возможности создания в окрестности лазерных каналов тепловых полей, достаточных для индукции рафтового перехода в соответствующих временных интервалах.

### Выводы:

При перфорации мышечной ткани излучением лазеров с длиной волны 1,56 и 1,94 мкм (поверхностное поглощение) ширина ЗТП ткани слабо зависит от мощности лазерного излучения и составляет около 2 мм. Увеличение мощности лазерного излучения в случае поверхностного поглощения энергии приводит к росту диаметра лазерного канала, но не ширины ЗТП.

При перфорации мышечной ткани излучением лазера с длиной волны 0,98 мкм (объемное поглощение) при мощности излучения до 5 Вт, перфорация осуществляется также в результате механического разрыва ткани торцом лазерного волокна, при минимальном термоповреждении стенок лазерного канала.

При перфорации мышечной ткани лазерным оптоволоком образуется зона умеренного теплового нагрева (38-66 °С) – «зона тепловой стимуляции», где происходят процессы регенерации мышечной ткани.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новым являются следующий результат: при перфорации мышечной ткани оптоволоком диодного лазера (длина волны 0,98 мкм)

можно добиться увеличения «зоны тепловой стимуляции» за счет объемного поглощения излучения при минимальном термopовреждении стенок лазерного канала.

Литература.

1. *И.И.Бершвили* Трансмиокардиальная лазерная ревазуляризация. Москва, изд-во «ГЕОС», 2016, т. 2, 308 с.
2. *Д.И.Алехин* Перспективы использования высокоинтенсивного лазерного излучения для лечения хронической ишемии конечностей. Патология кровообращения и кардиохирургия, 2005, № 2, с. 88-92.
3. *G.Muller, K.Dorschel, H.Kar* Biophysics of photoablation process. Lasers Med. Science., 1991, v. 6, № 3, p.p. 241-254.
4. *В.А.Березовский, Н.Н.Колотилов* Биофизические характеристики тканей человека. Киев, изд-во «Наукова думка», 1990, 223 с.
5. *Osna N.A.* Role of lipid rafts in liver health and disease // *World Journal of Gastroenterology*. 2011. V. 17(20). P. 2520-2535.
6. *Garcia-Saez A. J., S. Chiantia, and P. Schwillle* Effect of line tension on the lateral organization of lipid membranes. *J. Biol. Chem.* 2007. 282 33537–33544.

### Features of biotissue perforation by laser fiber

*Dmitriev Alexander Konstantinovich, research fellow (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)  
Konovalov Alexsey Nikolaevich, senior research fellow, candidate of sciences (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)  
Kortunov Vladimir Nikolaevich, research fellow (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)  
Ulianov Valery Andreevich, leading research fellow, candidate of sciences (FSRC "Crystallography and Photonics" RAS)  
Federal Scientific Research Center "Crystallography and Photonics" of Russian Academy of Sciences*

*In this paper, we study the effects of the near and middle IR laser radiation on muscle tissue (in vitro) when it is perforated with laser fiber.*

*Key words: laser, perforation, muscle tissue, thermal damaging zone, regeneration.*

УДК 621.039.8

### ИНФОРМАЦИОННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПЛТ ОНКООФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

*Карпунин Владимир Олегович, ведущий инженер-физик*

*E-mail: karpunin@itep.ru*

*Черных Алексей Николаевич, инженер-физик*

*E-mail: chernykh-aleksey@yandex.ru*

*ФГБУ «Институт теоретической и экспериментальной физики» НИЦ «Курчатовский институт»*

*117218 Россия, Москва, ул. Большая Черемушкинская, 25*

*http://www.itep.ru/*

*В статье приведён обзор информационно-технологического обеспечения специализированного онкоофтальмологического комплекса протонной лучевой терапии и особенностей, связанных с лечением глазных новообразований.*

*Ключевые слова: увеальная меланома, онкоофтальмология, протонная терапия, дозно-анатомическое планирование, радиологическая информационная система, лучевая установка, система позиционирования.*

### Введение

Онкологические новообразования по смертности заболевших занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний. Существуют три основных метода лечения злокачественных новообразований (ЗН): хирургическое вмешательство, химиотерапия и лучевая терапия. Но не все они одинаково применимы в случае поражения глаза человека [1]. Зрительный аппарат человека в значительной степени определяет качество жизни, поэтому хирургический способ вмешательства – энуклеация, используется, когда не остаётся другой альтернативы для сохранения жизни пациента. Химиотерапия применяется в основном на поздних стадиях заболевания, когда уже появляются метастазы (рост опухолевой ткани на удалении от первичного очага).

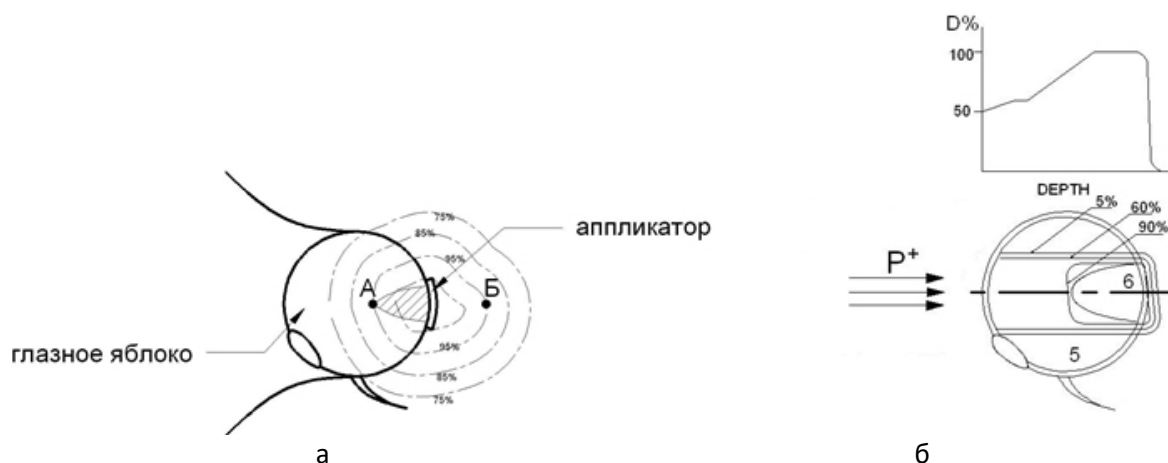


Рис. 1 Распределение дозы при облучении внутриглазной меланомы [1]:

При обнаружении заболевания на более ранних этапах наиболее эффективный метод – лучевая терапия – область медицинской радиологии, использующая ионизирующее излучение для лечения различных, в основном онкологических новообразований. Главной задачей лучевой терапии является обеспечение конформности облучения, т.е. нанесение максимального ущерба популяции злокачественных клеток при минимальном поражении здоровых тканей. В онкоофтальмологии при небольших размерах глазной опухоли применяется метод *брахиотерапии* (контактная лучевая терапия), использующий введение радиоактивного препарата внутрь опухоли или фиксация рядом с ней. Он создает заданное дозовое поле в мишени-опухоли, позволяющее разрушить клетки злокачественного образования. Но поле создается не только в направлении опухоли (точка А, Рис.1а), а также и за ее границами, т.е. во всей окрестности действия ионизирующего препарата, что при больших размерах опухоли создает опасность затронуть другие органы, находящиеся рядом с глазом, в том числе и мозг (точка Б, Рис.1а). Многие виды опухолей не доступны для методов брахиотерапии из-за больших размеров опухоли или её расположения в областях макулы и диска зрительного нерва, а также в случае прорастания опухоли в склеру и формирование очага роста на её поверхности.

Наибольшие возможности предоставляет дистанционная лучевая терапия, особенно с использованием пучков ускоренных тяжёлых заряженных частиц (протонов и более тяжёлых частиц – ионов). Именно благодаря использованию методик протонной лучевой терапии (ПЛТ) стало возможным лечение внутриглазных новообразований, среди которых одним из самых распространённых является увеальная меланома. В случае увеальной меланомы глаза при больших размерах опухоли, это практически единственный способ лечения, позволяющий сохранить не



только глаз, но и зрение. На большом статистическом материале показано, что резорбция опухоли достигается в 98 % случаев, причём функция зрения (в той или иной степени) сохраняется у 70 % пациентов [2, 3].

Свойства прохождения пучка протонов через вещество позволяют достичь на границах дозового распределения высочайших, недостижимых для других применяемых в ЛТ типов излучения (рентген, гамма-излучение, пучки ускоренных электронов) градиентов дозы [4]. Это, в свою очередь, даёт возможность создать дозовое поле, наиболее конформное с опухолью (Рис.1б).

Реализация технологии лучевой терапии, а особенно, протонной – это сложный процесс, требующий вовлечения больших аппаратных, программных и информационных ресурсов на каждом из этапов лечения пациента:

изготовление средств иммобилизации (фиксации в неподвижном состоянии) пациента;

полная диагностика заболевания, сбор данных о топологии новообразования, а также окружающих его тканях и органах (топометрия);

дозно-анатомическое планирование облучения;

симуляция облучения и облучение;

постлучевой контроль заболевания и наблюдение за пациентом.

ПЛТ ЗН глаза имеет существенные отличия для каждого из этих этапов. Далее в статье будут описаны основные технологические системы, которые обеспечивают информационное взаимодействие на каждом этапе проведения ПЛТ и особенности их реализации при создании специализированного онкофтальмологического комплекса ПЛТ.

Информационно-технологические системы комплекса ПЛТ.

При создании специализированного онкофтальмологического комплекса ПЛТ (далее Комплекс) следует выделить основную автоматизированную систему управления технологическим процессом (АСУ ТП) ПЛТ. АСУ ТП является информационной системой верхнего уровня, регламентирующей взаимодействие всех составных частей Комплекса, обеспечивающей эффективность работы персонала и, соответственно, облегчающей проведение процедур пациентом. Система представляет собой комплекс программных, технических, информационных, лингвистических, организационно-технологических средств и действий квалифицированного персонала, предназначенный для решения задач управления различными видами деятельности Комплекса.

Объектом автоматизации АСУ ТП является технологический процесс лучевого лечения с целью повышения его эффективности. Система осуществляет информационную связь и управление Комплексом посредством специализированных модулей, которыми являются информационные подсистемы Комплекса, отвечающие за автоматизацию отдельных этапов технологии ПЛТ

радиологическая информационная система;

система дозно-анатомического планирования облучения;

система позиционирования пациента;

автоматизированная система управления лучевой установкой;

системы клинической дозиметрии, формирования индивидуальных дозовых распределений и мониторинга пучка и поглощенной дозы;

система хранения и обработки дозиметрических данных;

система изготовления, идентификации и хранения индивидуальных средств иммобилизации.

Радиологическая информационная система

Автоматизированная радиологическая информационная система (РИС) создаётся в Комплексе с целью информационного обслуживания при реализации

технологического процесса ПЛТ, в том числе для автоматизации процессов комплексной топометрии, организации информационных потоков, обеспечивающих процесс планирования облучения, передачу информации о результатах планирования системам, обеспечивающих исполнение плана, протоколирование плана и диагностический контроль последствий лучевого лечения.

Система дозно-анатомического планирования облучения

Для автоматизации процесса планирования ПЛТ используется специализированное программное обеспечение – система дозно-анатомического планирования (СДАП) облучения. Стоит заметить, что глаз среди всех локализаций в ПЛТ является одним из самых сложных органов при позиционировании и планировании облучения из-за своей подвижности и невозможности быть иммобилизованным, а также непосредственной близости чувствительных к радиации анатомических структур. При планировании лучевой терапии входной информацией об объекте для планирования облучения, как правило, является серия аксиальных изображений (до нескольких сотен), полученных в результате обследования пациента на рентгеновском компьютерном томографе. Характеристикой вещества на рентгеновских томограммах являются КТ-числа (единицы Хаунсфилда, НУ), фактически представляющие собой оценки линейного коэффициента ослабления рентгеновского излучения в небольшом объёме (вокселе).

Таким образом, при использовании данных компьютерной томографии объект для планирования облучения представляет собой трёхмерную матрицу чисел. Позиции

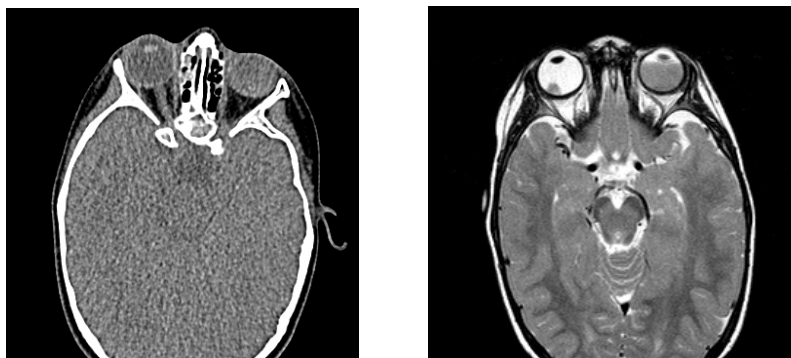


Рис.2 Аксиальные томографические изображения черепа пациента в плоскости глаз. На МРТ изображениях чётко дифференцируется новообразование глаза, на КТ – нет.

Рентгеновская компьютерная томография (КТ) – слева, чисел в матрице характеризуют расположение вещества в объёме, а самому значению числа определённым образом приписываются физические свойства вещества в вокселе. Ошибка в определении НУ вокселя может достигать 10% [5]. К тому же на компьютерных томограммах нечётко определяются границы опухолей. Поэтому в качестве дополнительной уточняющей информации применяются данные магнитно-резонансной томографии (МРТ) и позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), которые также поступают в воксельном представлении (Рис.2).

Планирование протонного облучения для лечения внутриглазных новообразований, имеет свои особенности, что не позволяет использовать стандартные подходы. Для планирования облучения приходится применять реконструированную анатомическую модель глаза, параметры которой рассчитывают по измерениям врачей-офтальмологов, использующих специальную офтальмологическую аппаратуру. Выходной информацией СДАП является план облучения (включая итоговое дозовое распределение), который посредством РИС передаётся в системы, обеспечивающие его исполнение.



Системы позиционирования пациента и управления лучевой установкой

Конечной целью позиционирования является точное (в пределах 95% изодозы) совмещение облучаемой мишени с рассчитанным при планировании в СДАП дозным распределением. В протонной онкоофтальмологии используются поля малых размеров и требуется более высокая, чем обычно, точность позиционирования мишени, поэтому симуляция производится непосредственно на лучевой установке. Ввиду особой сложности позиционирования глаза как подвижного органа [6, 7], Система позиционирования в Комплексе включает в себя следующие модули:

- модуль ТВ позиционирования и фиксации точки;
- модуль лазерного позиционирования;
- модуль светового позиционирования;
- модуль рентгеновского позиционирования.

Для автоматизации управления всей аппаратурой, установленной на лучевой установке (кресло-позиционер, устройства формирования пучка и системы позиционирования и т.д.) предназначена система управления лучевой установкой (АСУ ЛУ).

Дозиметрические системы

Основным назначением системы клинической дозиметрии в Комплексе является дозиметрическое обеспечение подготовки и проведения ПЛТ онкоофтальмологических пациентов с ЗН глаза и орбиты. Система обеспечивает передачу единицы измерения величины поглощённой дозы в воде от государственного эталона  $^{60}\text{Co}$  к средствам измерения поглощённой дозы, используемым в Комплексе; калибровку мониторов и рабочих дозиметров в единицах поглощённой; измерение пространственных характеристик сформированных дозовых распределений; контроль дозовых нагрузок на здоровые ткани и критические органы в соответствии с допустимым уровнем нагрузок на эти структуры.

Системы мониторинга пучка и поглощённой дозы обеспечивают Комплекс аппаратными средствами наблюдения за пучком: формой, размерами и положением его поперечного сечения относительно выбранной оси прохождения пучка от места его ввода в процедурную кабину до изоцентра лучевой установки. Мониторы поглощённой дозы предназначены для определения величины поглощённой дозы в облучаемой мишени, мониторинга текущего значения величины этой дозы в процессе проведения сеанса ПЛТ и для выработки сигнала на окончание лечебной процедуры при наборе предписанной величины поглощённой дозы.

Для обработки, хранения и оперативного доступа к дозиметрическим данным служит Система хранения и обработки дозиметрических данных, которая также предоставляет дозиметристу или медицинскому физика сервисы обработки и анализа этих данных.

Заключение

В данной статье проведён обзор систем и соответствующего информационно-технологического обеспечения, которые необходимы при создании онкоофтальмологического комплекса ПЛТ. Так же представлены проблемы, связанные с дозно-анатомическим планированием облучения онкоофтальмологических новообразований, позиционированием мишени на лучевой установке. Материал статьи основан на последних аппаратно-программных разработках ИТЭФ в области протонной онкоофтальмологии.

Литература

1. Орлов Д.Г., Ерохин И.Н. Аппаратные, технологические и программные инновации 2010–2015 протонно-лучевой терапии злокачественных новообразований глаза // «Вестник московского университета им. С.Ю. Витте» (Образовательные ресурсы и технологии), 2015'4(12), с.71-77.

2. Goitein G., Schallenburg A., Verwey J. et al. Proton radiation therapy of ocular melanoma at PSI – long term analysis. // Abstracts of PTCOG 48 Meeting. Heidelberg, Germany, 2009.
3. Dendale R., Lumbroso-Le Rouic L., Noel G. et al. Proton beam radiotherapy for uveal melanoma: results of Curie Institute-Orsay proton therapy center (ICPO). // Intern. Journ. of Radiation, Oncology, Biology, Physics. 2006. Vol. 65. N 3. P. 780-787.
4. Хорошков В.С. Эволюция технологий лучевой терапии: от рентгена к адронам. // Ядерная физика. 2006. Т. 69. № 10. С. 1760-1780.
5. Т.В.Матусова, В.О.Карпунин, О.Б.Рязанцев, В.Г.Хайбуллин, В.С.Хорошков. Экспериментальное исследование взаимосвязи рентгеновской плотности биологических тканей и их тормозной способности для протонов, Медицинская физика, 2010, №2(46), с.28-36.
6. В.С. Хорошков, С.В. Саакян, В.И. Люлевич, Д.Г. Орлов, И.Н. Ерохин и др. Инновационные разработки технических средств для протонной терапии внутриглазных новообразований. Часть I // Российский офтальмологический журнал 2015, 2, с.14-20.
7. В.С. Хорошков, С.В. Саакян, В.И. Люлевич, Д.Г. Орлов, И.Н. Ерохин и др. Инновационные разработки технических средств для протонной терапии внутриглазных новообразований. Часть II // Российский офтальмологический журнал 2016. Т. 9. № 2, с.11-17.

### **Informational and technological features for ophthalmological proton therapy facility**

Karpunin Vladimir Olegovich, Principal Engineer-Physicist, FSBU ITEP NRC KI  
Chernykh Aleksey Nikolaevich, Engineer-Physicist, FSBU ITEP NRC KI

The paper provides the review of informational and technological features for oncoophthalmological proton therapy facility .

Keywords: uveal melanoma, oncological ophthalmology, proton therapy, treatment planning, radiological information system, treatment unit, positioning system, dosimetry information system.

УДК 535.3+ 617-089

### **ОРГАНИЗАЦИЯ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ В ВОЛОКОННЫХ ХИРУРГИЧЕСКИХ ЛАЗЕРАХ.**

*Коновалов Алексей Николаевич, к.ф.-м.н., с.н.с.,*

*E-mail: [ank27.ift@mail.ru](mailto:ank27.ift@mail.ru)*

*Дмитриев Александр Константинович, н.с.*

*E-mail: [dmitriev\\_a62@mail.ru](mailto:dmitriev_a62@mail.ru)*

*Кортунов Владимир Николаевич, н.с.*

*E-mail: [vnkor@yandex.ru](mailto:vnkor@yandex.ru)*

*Ульянов Валерий Андреевич, к.т.н., зав.лаб.*

*E-mail: [yaul595@mail.ru](mailto:yaul595@mail.ru)*

*Федеральный Научно-исследовательский центр «Кристаллография и фотоника»  
Российской Академии Наук, 108841, Москва, ул.Пионерская, д.2*

*Для реализации концепции “умного” скальпеля на базе волоконных лазеров, предложены и исследованы способы организации обратной связи на основе регистрации сигналов, поступающих с зоны воздействия излучения Er волоконного лазера на биоткань: сигнал свечения; механическое сопротивление движению волокна, которая оказывает биоткань при её перфорации.*

*Ключевые слова: хирургический волоконный лазер, обратная связь, биоткань.*

### Введение

Современной тенденцией развития и совершенствования медицинских технологий является создание и применение в хирургии автоматизированных и роботизированных систем [1,2]. Как правило, в подобных хирургических установках (например хирургический комплекс Да Винчи [2]) можно выделить 3 основных компоненты: хирургические инструменты для проведения хирургических манипуляций; механизированная роботехническая система для осуществления прецизионного манипулирования этими инструментами; система визуального наблюдения, позволяющая выводить на монитор чёткое изображение операционного поля.

Ключевой особенностью подобного рода систем является то обстоятельство, что хирург, манипулируя инструментами дистанционно посредством джойстиков, теряет контакт с реальной тканью и единственным источником информации о хирургическом вмешательстве является визуальное наблюдение. В связи с этим остро встаёт вопрос о разработке разного рода сенсоров, которые бы позволяли хирургу “чувствовать” объект воздействия.

Такие системы подразумевают организацию обратной связи, которая бы позволяла в реальном времени получать информацию о ходе процесса хирургического вмешательства и принимать оперативно в автоматизированном режиме решение об изменении условий воздействия на биоткань [3,4]. Такая концепция позволяет более эффективно реализовывать принципы малотравматичной и органосохраняющей хирургии. В частности на основе метода автодинного приёма обратно рассеянного излучения была создана хирургическая установка с обратной связью на базе одномодового СО<sub>2</sub> лазера с выходной мощностью до 20 Вт [3].

Другими распространёнными источниками в лазерной хирургии являются волоконные лазеры. Благодаря гибкости и малым поперечным размерам оптоволокна эти лазеры стали широко использоваться для внутрисполостных операций с использованием современной эндоскопической техники [5]. Также достоинствами этих лазеров является компактность и дешевизна по сравнению с СО<sub>2</sub> лазерами.

Ранее было продемонстрировано, что в одномодовом Ег волоконном лазере может быть организована обратная связь [6,7] по доплеровскому сигналу обратного рассеяния, аналогично тому, как это было осуществлено в СО<sub>2</sub> лазерах. Для осуществления такой обратной связи необходимо чтобы лазерный источник удовлетворял ряду требований: относительно высокая мощность излучения, для осуществления хирургических манипуляций типа испарения и реза биоткани; одномодовая генерация, низкий уровень амплитудных шумов. Как правило далеко не все медицинские волоконные лазеры обладают такими завышенными требованиями. В связи с этим интерес представляет поиск возможности организации каналов обратной связи на таких принципах, которые бы не предъявляли к хирургическому лазеру слишком завышенных требований.

Цель работы. Исследование возможностей организации обратной связи на основе регистрации сигналов, поступающих с зоны воздействия излучения Ег волоконного лазера на биоткань: сигнал свечения; механическое сопротивление движению волокну, которая оказывает биоткань при её перфорации.

### Методы и материалы

Для исследования возможностей оперативного контроля процесса испарения биотканей волоконным лазером по сигналу свечения и по механическому сопротивлению, оказываемому биотканью в процессе её перфорации использовалась экспериментальная установка, приведённая на рис. 1. Использовался Ег волоконный лазер с длиной волны 1,54 мкм. и мощностью до 5 Вт. В качестве объектов воздействия лазерного излучения для исследования и отработки каналов обратной связи использовались разные биомодели, отражающие свойства реальных биотканей, в виде

образцов: 1. образцы из свеклы, моркови, банана и др. Эти образцы использовались для отработки исследуемых каналов обратной связи и моделировали воздействие лазерного излучения на ткани с явно отличающимися физическими свойствами; 2. образцы из различных тканей свиньи *in vitro* (жир, кожа, миокард, почка, мускул). Эти образцы моделировали процесс воздействия волоконного лазера на реальные ткани человека.

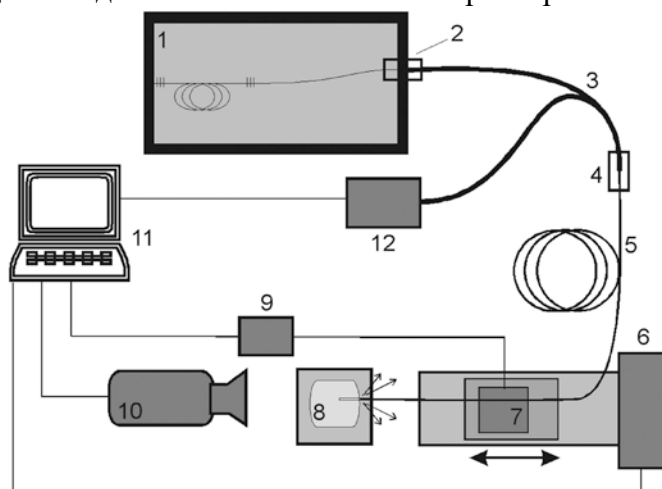


Рис. 1. Схема установки для исследования возможностей создания канала обратной связи в волоконном лазере. 1 - волоконный лазер; 2, 4 – оптоволоконный разъём; 3 - многожильный Y разветвитель; 5 – многомодовое волокно; 6 – моторизированный линейный транслятор; 7 – механо-сенсорный блок; 8 – биоткань; 9 – АЦП; 10 - тепловизионная видео камера; 11 – компьютер; 12 – спектрометр

Для регистрации сигнала свечения, на спектрометр HR200 (OceanOptics) 12 подавалось обратное излучение с помощью специального многожильного Y-ответвителя 3. Данный ответвитель позволял по центральной жиле пропускать силовое лазерное излучение до биоткани, а по периферийным волокнам вокруг центральной жилы собирать и передавать сигнал свечения, возникающий вблизи дистального конца волокна. К выходу Y-ответвителя через оптоволоконный разъём 4 подсоединялось многомодовое волокно 5 с диаметром сердцевины 400 мкм. Спектры регистрировались в спектральном диапазоне 200 нм – 1100 нм и записывались в компьютер 11 через USB порт. Параллельно с помощью тепловизионной камеры 10 (FLIRA655sc) регистрировалась динамика температурного поля на поверхности образца биоткани 8. Изучение температурного поля осуществлялось для того, чтобы установить корреляцию между реальными температурами в области воздействия и сигналом свечения. Также это позволило произвести калибровку сигнала свечения по температуре, которая регистрируется тепловизором.

Для регистрации силы сопротивления, которую оказывает биоткань при её перфорации оптоволоконном, была разработана механо-сенсорная система. Данная система включала в себя механо-сенсорный блок 7 для преобразования с помощью датчика усилия силу сопротивления оказываемое волокну в электрическое напряжение, и аналого-цифровой преобразователь 9 для записи и анализа сигнала в персональном компьютере.

#### Результаты и обсуждение

На рис. 2а представлены характерные спектры свечения, возникающие при перфорации биотканей волокном лазера. Представлены на рис. 2 спектры, получены при перфорации жира и кожи. Используя передаточную характеристику для спектрометра были восстановлены «истинные» спектры. Для этого исходный спектр, регистрируемый спектрометром, делился на его амплитудно-частотную характеристику. На рис. 2б приведен пример восстановления «истинного» спектра, соответствующему свечению при перфорации жира.

Данные спектры характерны для излучения от среды, нагретой до высоких температур. Для оценки этой температуры данные спектры подгонялись под формулу спектра излучения абсолютно чёрного тела (формула Планка) для заданной температуры. На рис. 2 приведена кривая спектра, рассчитанная для температуры 1200 °С. Таким образом, получаемые спектры свидетельствуют о том, что в зоне вблизи торца волокна возникают высокие температуры. При такой температуре происходит карбонизация ткани. При этом на торце волокна возникает характерное почернение. В этом случае эффект перфорации биоткани волокном лазера обусловлен главным образом уже не столько поглощением излучения в биоткани, сколько высокой температурой, вызванной поглощением излучения на чёрном торце волокна.

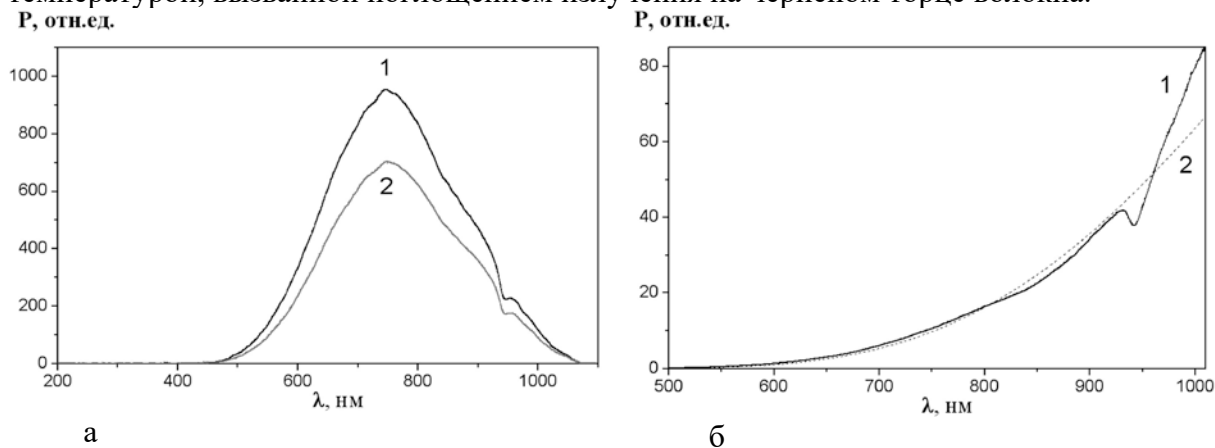


Рис. 2 Оптические спектры свечения при перфорации биотканей Eg волоконным лазером. Мощность излучения 3,5 Вт. а – спектры при последовательной перфорации биотканей: 1 – жир, 2 – кожа. б – исходный спектр свечения. Спектр, полученный путём деления спектра при перфорации жира на АЧХ спектрометра; 1 – жир, 2 – кривая, рассчитанная по формуле излучения абсолютно чёрного тела для температуры 1200 °С

На рис. 3 показано распределение температуры на поверхности образца почки свиньи в разные моменты времени со стороны противоположной входу волокна в биоткань. Эти моменты времени соответствуют расстоянию от волокна до поверхности ткани 0,5 мм и 0,06 мм.

Эксперименты показали, что за счёт эффекта почернения перфорация волокном лазера практически слабо зависит от типа используемого лазера и его длины волны. Отношение коэффициентов поглощения для мягких тканей для длин волн 1,98 мкм и 1,54 мкм составляет 7,7 (для этих длин волн взяты коэффициенты поглощения для воды  $64 \text{ см}^{-1}$  и  $8,3 \text{ см}^{-1}$ ). Тогда как температура при одной и той же выходной мощности лазеров имеет один и тот же порядок величин 1100 °С – 1400 °С.

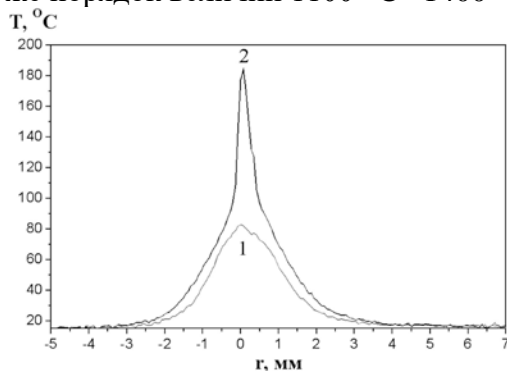


Рис. 3 Распределение температуры в разные моменты времени на поверхности образца почки свиньи при перфорации её волоконным Eg лазером. 1 – 14,0 с (0,6 мм от

волокна до поверхности ткани); 2 – 15,04 с (0.06 мм от волокна до поверхности ткани). Мощность излучения на выходе волокна 3,5 Вт, скорость перфорации 0,5 мм/с

С использованием механо-сенсорной системы измерена сила давления, оказываемое тканью на торце волокна. Сила сопротивления для мягких тканей при мощности на выходе волокна 3,5 Вт составила величину в пределах 0,1 Н – 1 Н. Соответственно давление, которое биоткань оказывает на дистальный конец волокна, составляет 8 кПа – 80 кПа. Была измерена эта величина в зависимости от мощности выходного излучения и скорости перемещения волокна.

На рис. 4а, б показана динамика сигнала механо-сенсорной системы при перфорации разных биомоделей. Исследования показали, при перфорации биотканей, имеющих отличия по своим физическим параметрам (упругость, содержание воды и т.п.), сила сопротивления, оказываемое волокну, разная. Это видно на скачке сигнала при переходе волокна с одной ткани на другую.

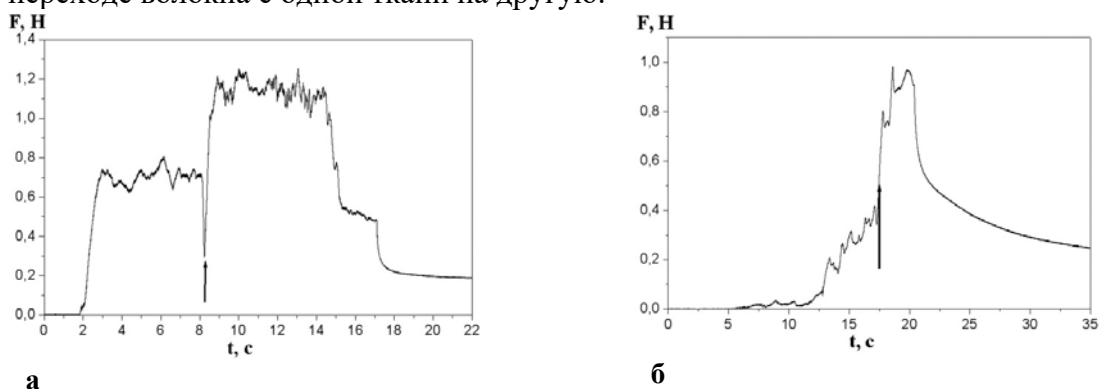


Рис. 4 Динамика силы сопротивления, оказываемой на волокно при перфорации биомоделей волоконным Er лазером. а – перфорация свекла-морковь, б – перфорация мышца-сухожилие. Скорость перфорации 1,3 мм/с. Стрелкой обозначен момент перехода от одной биоткани к другой.

Также нами было установлено, что при больших глубинах отверстий (6-8 мм и более в зависимости от тканей) механо-сенсорная система регистрирует момент перехода от одной ткани к другой не столь явно. Это связано с тем, что при большой глубине на волокно воздействует не только давление на торце волокна, но механическое трение, на боковой поверхности волокна. При достаточно глубоких отверстиях сила трения может значительно превосходить силу давления на торце, в связи с чем теряется информативность относительно типа перфорируемой ткани.

#### Заключение

Исследованы возможности организации обратной связи для реализации концепции “умного” скальпеля на базе волоконных лазеров с помощью следующих физических явлений: свечение из зоны воздействия на биоткань; механическое сопротивление движению волокну, оказываемое биотканью при её перфорации волоконным лазером.

Исследованы температурные поля и спектр свечения, формирующиеся при перфорации биомоделей волоконным лазером. Показано, что при перфорации на торце волокна возникает эффект почернения в результате которого температура достигает величин 1100 °С – 1400 °С вне зависимости от длины волны используемого лазера. Продемонстрировано, что для ряда тканей сигнал свечения может отличаться как по амплитуде, так и по форме спектров.

Исследована сила сопротивления, которое оказывает ткань при её перфорации волоконным лазером. Показано, что при диаметре волокна 400 мкм и выходной мощности до 5 Вт сила сопротивления составляет величину в пределах 0,1 Н – 1 Н в зависимости от режима воздействия и типа биоткани. Изучена динамика силы сопротивления при перфорации разных биомоделей. Показано, что при переходе

оптоволокна от воздействия с одной ткани к другой происходит скачок силы сопротивления.

Полученные результаты открывают перспективу создания “умных” скальпелей на базе волоконных лазеров используя сигнал свечения и силу сопротивления в качестве информационных сигналов для обратной связи в хирургической установке.

Работа выполнена при поддержке Федерального агентства научных организаций (соглашение № 007-ГЗ/Ч3363/26) в части «исследования свечения из зоны воздействия на биоткань» и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-29-04816 офи\_м) в части «исследования механического сопротивления биоткани движению волокна».

### **Литература**

8. *Rivera-Serrano C., Johnson P, Zubiato B, Kuenzler R, Choset H, Zenati M, Tully S, Duvvuri U.* The Laryngoscope. 2012. V.122. P. 1067.

9. *Краевский С.В., Розаткин Д.А.* Технологии живых систем. 2010. Т.7, №4, С.3.

10. *Кортунов В.Н., Дмитриев А.К., Коновалов А.Н., Ульянов В.А.* Онкохирургия. 2010. Т.2. № 1, с. 187.

11. *Дмитриев А.К., Коновалов А.Н., Панченко В.Я., Кортунов В.Н., Ульянов В.А., Варев Г.А., Гейниц А.В., Маторин О.В., Решетов И.В., Самошенков Г.С.* Лазерная медицина. 2013. Т.17, №1, С.4.

12. *Минаев В.П., Жилин К.М.* Современные лазерные аппараты для хирургии и силовой терапии на основе полупроводниковых и волоконных лазеров. М.: И.В.Баланов, 2009. 47 с.

13. *А.К., Коновалов А.Н., Кортунов И.В., Ульянов А.В.* Оптические методы оперативного контроля процессов выпаривания биотканей с использованием волоконных лазеров для задач роботизированной хирургии.”, Сборник работ научного семинара Медицинские, технические и технологические аспекты фундаментальных проблем роботхирургии – II, 2014. С. 25, М.: ООО “Информ-Право”.

14. *А.К. Дмитриев, А.Н. Коновалов, В.А. Ульянов,* Квантовая электроника. 2014. Т.44, №4, С.309.

### **Organization of feedback in fiber surgical lasers.**

*Kononov Alexey Nikolaevich, Senior Researcher*

*Dmitriev Alexandr Konstantinovich, research fellow*

*Kortunov Vladimir Nikolaevich, research fellow*

*Ul'yanov Valerii Andreevich, head of laboratory*

*Federal Scientific Research Center "Crystallography and Photonics" RAS*

*To implement the concept of a smart scalpel on the basis of fiber lasers, methods for organizing feedback based on the recording of signals coming from the zone of the action of radiation of an Er laser fiber on biotissue are proposed and investigated: glow signal, mechanical resistance force to movement of fiber, which exerts biotissue during its perforation.*

*Keywords: surgical fiber laser, feedback, biotissue.*

УДК 62.93, 62-791.2

### **МЕТРОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКОГО КАНАЛА ИЗМЕРЕНИЯ РАСХОДА ЖИДКОСТИ В СИСТЕМЕ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ КОСМОНАВТОВ**

*Татьяна Ивановна Мурашкина\*, д.т.н., проф., профессор кафедры  
«Приборостроение»*

*E-mail: timurashkina@mail.ru*

*Елена Александровна Бадеева\*, д.т.н., доцент, профессор кафедры «БУНиА», главный научный сотрудник НТЦ «Нанотехнологии волоконно-оптических систем»*

*E-mail: badeeva\_elena@mail.ru*

*Татьяна Юрьевна Истомина\*\**, д.т.н., проф., кафедры «Основ радиотехники»

*E-mail: [istom@mail.ru](mailto:istom@mail.ru)*

*Елена Андреевна Шачнева\**, аспирант кафедры «Приборостроение»

*E-mail: [e\\_shachneva@mail.ru](mailto:e_shachneva@mail.ru)*

*Надежда Александровна Хасанишина\**, инженер-исследователь кафедры «Приборостроение»

*E-mail: [nadin.gloria@mail.ru](mailto:nadin.gloria@mail.ru)*

*Наталья Николаевна Янкина\**, к.т.н., доцент кафедры «Медицинская кибернетика и информатика»

*E-mail: [prisend@yandex.ru](mailto:prisend@yandex.ru)*

\* ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет»,  
440026, г. Пенза, ул. Красная, 40

<http://www.pnzgu.ru>

\*\* ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский университет «Московский энергетический институт»»,

111250, Россия, г. Москва, Красноказарменная улица, дом 14

[universe@mpei.ac.ru](mailto:universe@mpei.ac.ru)

*В рамках Госзадания №8.11785.2018/11.12*

*(Распоряжение Минобрнауки от 07.02.2018 № Р-67)*

*В статье предложена структурная метрологическая модель волоконно-оптического канала системы определения параметров (объема, скорости, расхода) жидкостных потоков в системе жизнеобеспечения космонавтов.*

*Ключевые слова: космическая медицина, система жизнеобеспечения, параметры жидкостного потока, средство измерения, метрологический анализ, волоконно-оптический датчик*

### **Введение**

В современной космической медицине все чаще применяются волоконно-оптические средства измерений. В работе [1] предложен способ измерения параметров жидкостных потоков в системах жизнеобеспечения космонавтов (СЖО), для реализации которого авторами разрабатываются соответствующие волоконно-оптические датчики (ВОД). Волоконно-оптические преобразователи угловых микроперемещений (ВОПУМП) отражательного типа являются базовыми элементами этих ВОД [1].

Так как появляются новые конструкции летательных аппаратов, в частности космических, где системы жизнеобеспечения нуждаются в новых измерительных устройствах для модернизации подсистемы расхода жидкости, то разработка волоконно-оптического канала измерения расхода жидкости является актуальной задачей [2].

### **Цель работы**

Улучшение метрологических характеристик волоконно-оптических средств измерения параметров (расхода, объема, скорости, давления) различных типов жидкостей в системах жизнеобеспечения космонавтов, эксплуатируемых в жестких условиях эксплуатации на основе метрологического анализа волоконно-оптического канала.

### **Материалы и методы**

Основными требованиями к разрабатываемым средствам измерений расхода и параметров жидкости являются повышенные точность и надежность средства



## Секция 9. Медицинская физика: диагностика и лечение

измерений. Канал измерения расхода жидкости строится с учетом конструктивных особенностей разрабатываемого ВОД расхода и параметров жидкости [2].

Для определения возможных источников погрешностей измерений и поиска путей их снижения проведен метрологический анализ ВОД расхода и параметров жидкости. Для этого разработаны его структурная и метрологическая схемы (рисунки 1 и 2).

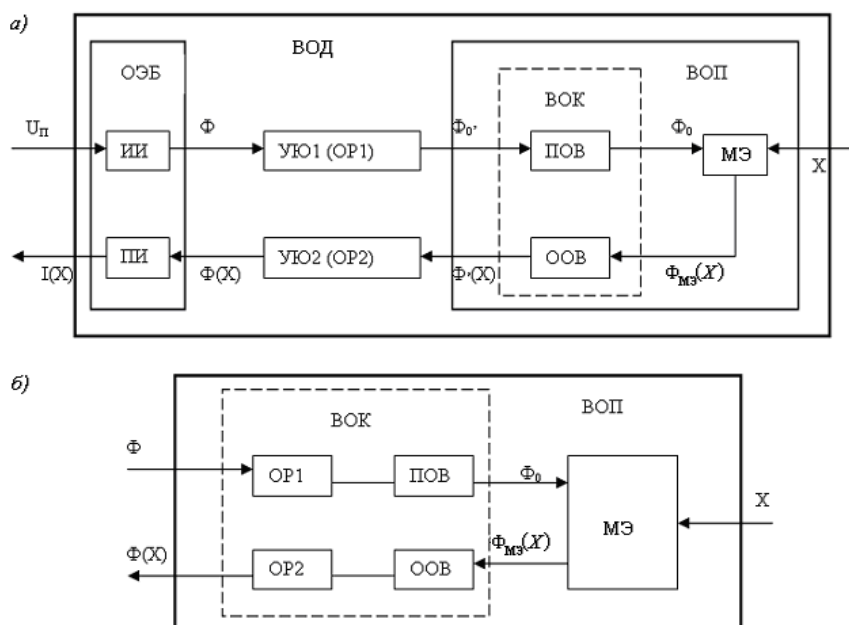


Рисунок 1 – Структурная схема ВОД:

*а* – с электрическим входом и выходом; *б* – с оптическим входом и выходом

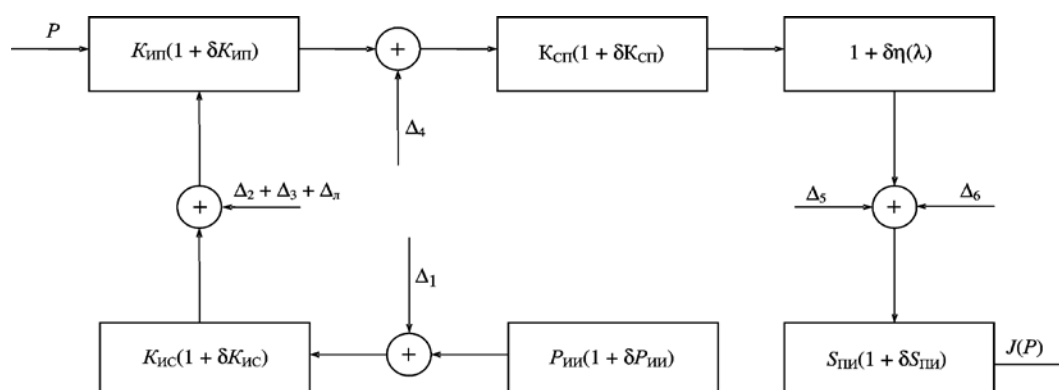


Рисунок 2 – Метрологическая модель ВОД с электрическим входом и выходом

ВОД, предназначенный для измерения расхода и других параметров жидкости, работает следующим образом: измеряемая физическая величина  $X$  потока жидкости оказывает воздействие на модулирующий элемент (МЭ), состоящий из цилиндрической трубки, сифона и зеркально отполированной пластины. МЭ смещается под воздействием потока жидкости, в результате чего в волоконно-оптическом канале ВОД происходит изменение интенсивности светового потока, регистрируемое фотодиодом [1].

По виду входных и выходных сигналов интерфейса ВОД делят на два типа: с электрическим и оптическим интерфейсами. В первом случае ВОД состоит из волоконно-оптического преобразователя (ВОП) и оптоэлектронного блока (ОЭБ) (рисунок 1, *а*). Во втором случае ВОД представляет собой собственно ВОП (в нашем случае ВОПУМП), входные и выходные сигналы которого оптические.

ВОП состоит из моделирующего элемента (МЭ) и волоконно-оптического кабеля (ВОК). ВОК представляет собой жгут подводящих (ПОВ) и отводящих (ООВ) оптических волокон. ОЭБ состоит из источника (ИИ) и приемника (ПИ) излучения, выполняющих функцию электрооптического и фотоэлектрического преобразователей соответственно. Для эффективной передачи светового потока от источника излучения к ПОВ и от ООВ к приемнику излучения вводятся узлы юстировки УЮ1 и УЮ2. И к первому, и ко второму узлам юстировок предъявляется одно основное требование: передача максимально возможной мощности излучения, определяемой эффективностями ввода в ПОВ  $\eta_{св}$  и в приемники излучения  $\eta_{пи}$ . Во втором случае данная задача решается достаточно просто, так как площадь сечения отводящих оптических волокон (ООВ), как правило, значительно меньше площади светочувствительных площадок фотодиодов типа КФДМ, ФД256, ФД-19КК и т.п. Практически вся мощность с выхода ООВ попадает на приемники излучения, т.е.  $\eta_{пи} \approx 1$ . Несколько сложнее обстоит дело с вводом излучения от источника излучения в ПОВ [2].

Электрический сигнал  $U_{п}$ , поступающий на вход ОЭБ, преобразуется с помощью источника излучения ИИ в оптический сигнал  $\Phi$ , часть которого  $\Phi_0'$  поступает на вход ВОК через узел юстировки УЮ1. По ПОВ световой поток передается в зону измерения, где его интенсивность  $\Phi_0$  изменяется под действием измеряемой величины  $X$ . Часть светового потока  $\Phi_{мэ}(X)$ , промодулированного с помощью модулирующего элемента МЭ, поступает в ООВ, передается по ним через посредство узла юстировки УЮ2 к приемнику излучения ПИ, где происходит фотоэлектрическое преобразование. С выхода ОЭБ снимается электрический сигнал  $I(X)$ .

Модель функции преобразования ВОД – это зависимость тока приемника излучения  $I$  измеряемой физической величины  $X$  и множества внешних факторов  $\xi_i$ :

$$I(X, \xi_i) = P_{и\pi} \eta(\lambda) \Phi(X, \xi_i) S_{\pi}, \quad (1)$$

где  $P_{и\pi}$  – мощность светового потока ИИ;  $\eta(\lambda)$  – коэффициент спектрального согласования элементов ВОД;  $\Phi(X, \xi_i)$  – функция преобразования ВОП;  $S_{\pi}$  – интегральная токовая чувствительность ПИ.

В общем случае функция преобразования ВОП:

$$\Phi(X, \xi_i) = K_{ис}(\xi_i) K_{сп}(\xi_i) K_{мэ}(X, \xi_i), \quad (2)$$

где  $K_{ис}(\xi_i)$   $K_{сп}(\xi_i)$  – коэффициенты преобразования оптических трактов «источник излучения – подводящее оптическое волокно» и «отводящее оптическое волокно – приемник излучения» соответственно;  $K_{мэ}(X, \xi_i)$  – функция преобразования МЭ.

Номинальная функция преобразования ВОД в общем случае имеет следующий вид:  $J_n = F(X)$ . В реальных условиях применения на результат измерения влияют технологические погрешности изготовления  $q_i$  отдельных элементов и узлов, внешние помехи и влияющие факторы  $\xi_{i,}$ , помехи  $v_i$ , возникающие в самом датчике. Соответственно, реальная функция преобразования будет иметь следующий вид:

$$J_p = F(X, \xi_i, q_i, v_i); \quad (3)$$

Погрешности преобразования определяются как

$$\Delta J = J_p - J_n, \quad (4)$$

В соответствии с метрологической моделью (см. рисунок 2) реальная функция преобразования ВОД будут иметь вид:

$$J_p = P_{и\pi} (1 + \delta P_{и\pi}) (\Delta_1 + K_{ис}) (1 + \delta K_{ис}) (\Delta_2 + \Delta_3 + \Delta_4 + K_{ип}) \times \\ \times (1 + \delta K_{ип}) (\Delta_4 + K_{сп}) (1 + \delta K_{сп}) [(1 + \delta \eta(\lambda))] (\Delta_5 + S_{\pi}) (1 + \delta S_{\pi}) X; \quad (5)$$

где  $\Delta_1$  – погрешность юстировки ИИ относительно ПОВ;  $\Delta_2$  – погрешность юстировки ПОВ относительно МЭ;  $\Delta_3$  – аддитивная погрешность из-за неточности изготовления конструктивных элементов оптической системы и МЭ;  $\Delta_4$  – погрешность юстировки МЭ относительно ООВ;  $\Delta_5$  – погрешность юстировки ООВ относительно ПИ;

С учетом зависимости (5) выражение (4) примет вид

$$\Delta J = K_{ис}\Delta_1 + K_{мэ}(\Delta_2 + \Delta_3 + \Delta_4) + K_{сп}\Delta_4 + S_{пи}(\Delta_5 + \Delta_6) + (\delta P_{ии})P_{ии} + (\delta K_{ис})K_{ис} + [\delta\eta(\lambda)]\eta(\lambda) + [\delta K_{сп} + \delta K_{мэ} + \delta S_{пи}]X. \quad (6)$$

Мультипликативная составляющая погрешности равна:

$$\delta J = \sqrt{\delta P_{ии}^2 + \delta K_{ис}^2 + \delta K_{ип}^2 + \delta K_{сп}^2 + \delta^2\eta(\lambda) + \delta S_{пи}^2}; \quad (7)$$

аддитивная составляющая погрешности:

$$\Delta J_a = K_{ис}\Delta_1 + K_{мэ}(\Delta_2 + \Delta_3) + K_{сп}\Delta_4 + S_{пи}(\Delta_5 + \Delta_6); \quad (8)$$

нелинейная составляющая:

$$\Delta J_l = K_{мэ}(X)\Delta_l; \quad (9)$$

Аддитивная и нелинейная составляющие погрешности не влияют на результат измерения, если в нормативно-техническую документацию на датчик вносится градуировочная характеристика датчика, смещенная вдоль оси ординат относительно номинальной функции преобразования на значение аддитивной погрешности. Если в документацию внесена номинальная функция преобразования в виде аналитической зависимости, то необходимо учитывать данные погрешности, например при обработке результатов измерений, с целью их исключения. Причины возникновения погрешности  $\Delta_1$  обусловлены влиянием потерь светового потока в узле юстировки источника излучения и ПОВ. Эффективность ввода в соединении сравнительно нечувствительна к разъединению ОВ и светодиода. Например, увеличение зазора между светодиодом и ОВ на 150 мкм увеличивает потери в соединении меньше, чем на 1 дБ, в то время как наклон оси ОВ по отношению к поверхности светодиода на угол порядка  $10^\circ$  увеличивает потери примерно на 0,25 дБ. Самую большую погрешность (до 10 %) могут внести радиальные рассогласования ИИ и ПОВ. Продольные и угловые рассогласования вносят незначительную погрешность (не более 1 %), если не превышают 10 % от диаметра жгута или апертурного угла ОВ.

Погрешности  $\Delta_2 - \Delta_4$  в значительной степени зависят от конструктивного исполнения МЭ и ВОП в целом. В процессе проектирования необходимо предусмотреть такие конструктивно-технологические и схемные технические решения, которые позволят снизить указанные погрешности. Ввиду того, что в каждом конкретном случае конструкции МЭ могут отличаться друг от друга, то и способы снижения их в каждом случае различны. Погрешность  $\Delta_5$  практически равна нулю, т.к. площадь торца жгута ООВ значительно меньше площади приемной светочувствительной площадки ПИ. Погрешности  $\Delta_1 - \Delta_5$  могут быть существенно снижены в процессе сборки ВОП точной юстировкой его элементов. Погрешность спектрального согласования ИИ и ПИ  $\Delta_6$  может быть полностью исключена, если диапазон длины волны излучения источника соответствует диапазону спектральной чувствительности ПИ. Мультипликативная погрешность  $\delta\eta(\lambda)$  спектрального согласования источника и приемников излучения при изменении температуры окружающей среды в диапазоне  $\pm 50^\circ\text{C}$  может достигать 25...30 % (например, для пары светодиод 3Л107Б – фотодиод ФД-19КК). Но она может быть существенно снижена, если использовать двухплощадочные фотодиоды, каждая из светочувствительных площадок которых включена в один из измерительных каналов дифференциальной схемы и к которой подведены ООВ соответствующих измерительных каналов. Мультипликативные погрешности  $\delta P_{ии}$ ,  $\delta K_{мэ}$ ,  $\delta S_{пи}$  при изменении параметров окружающей среды могут достигать 30 %, а в отдельных случаях 50 % от результата измерения, если не принять соответствующих мер. Но так как они носят систематический характер, поэтому могут быть исключены тем или иным способом. Для снижения этих погрешностей используют различные схемотехнические решения: дифференциальное исполнение измерительной схемы датчика, введение дополнительных схем коррекции и т.п. Погрешности  $\delta K_{ис}$ ,  $\delta K_{сп}$ ,

обусловленные изменением светопропускания ОВ при неинформативных изгибах ВОК, можно исключить использованием тех же приемов, что и для исключения вышеперечисленных мультипликативных погрешностей, если только изгибы волокон незначительны (не менее 10 диаметров волокна). Большие изгибы ВОК вызывают существенное снижение интенсивности светового потока, поступающего в зону измерения, что снижает глубину модуляции оптического сигнала в процессе измерения. Поэтому при изготовлении и эксплуатации ВОД необходимо принять все возможные конструктивно-технологические меры для исключения неинформативных изгибов ВОК [5]. Мультипликативная погрешность  $\delta K_{мэ}$ , обусловленная изменением параметров модулирующего элемента при изменении параметров окружающей среды и воздействии механических факторов, может быть оценена только для конкретных типов МЭ и ВОП.

### Полученные результаты

Проведенный метрологический анализ канала измерения расхода жидкости в системе жизнеобеспечения космического летательного аппарата позволил сделать вывод о том, что применение ВОД улучшает метрологические характеристики системы жизнеобеспечения космонавтов, подсистемы расхода и параметров жидкости.

### Выводы

Улучшение метрологических характеристик средств измерения параметров различных типов жидкостей в системах жизнеобеспечения космонавтов возможно на основе применения перспективных волоконно-оптических датчиков.

### Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

- структурная метрологическая модель волоконно-оптического канала СЖО;
- рекомендации по конструированию волоконно-оптических датчиков параметров жидкостных потоков.

### Цитируемая литература.

1. Способ измерения параметров жидкостных потоков/ Т.И.Мурашкина, Т.В.Истомина, Е.А. Бадеева, Д.И. Серебряков, О.В. Юрова, А.Ю. Удалов, Е.А. Шачнева // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : материалы Международной конференции IT + M&Ec`2015 (Гурзуф, с 02 по 12 июня 2015 г.). 2015. Весенняя сессия. Под редакцией Е.Л. Глориозова. - М: Изд-во ООО «Институт новых информационных технологий» - С. 183-190.
2. Fluid Flow Measurement in Astronauts Life Support Systems / Т.И. Murashkina, Е.А. Badeeva, Е.А. Shachneva, etc.//Biomedical Engineering. – Vol. 49.- No 5.- January 2016. –pp.295-299 [Электр. версия: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10527-016-9552-z>]
3. Development of fiber optic sensor for fluid flow of astronauts' life-support system/ Е.А. Shachneva and Т.И. Murashkina//Journal of Physics: Conference Series 735(2016)012036. - International Conference of Young Scientists and Specialists "Optics-2015" 12–16 October 2015, St. Petersburg, Russia
4. Шлыков Г.П. Теория измерений: уравнения, модели, оценивание точности: учеб. пособие. – Пенза: Изд-во Пенз. гос. ун-та, 2008. – 100 с.
5. Мурашкина Т.И. Разработка и внедрение волоконно-оптических средств измерений на летательных аппаратах – качественный скачок отечественной измерительной техники //Устройства измерения, сбора и обработки сигналов в информационно-управляющих комплексах: Тезисы докладов 1-ой Всероссийской научно-практической конференции - г.Ульяновск: УлГТУ, 2011.-219с.- С.145-150.

The metrological analysis of the fiber and optical channel of measurement of the consumption of liquid in the life support system of astronauts

*Tatyana Ivanovna Murashkina, professor, Penza state university*

*Elena Aleksandrovna Badeeva, professor, Penza state university*

*Tatyana Yurevna Istomina, professor, National research university "Moscow power institute"*

*Elena Andreevna Shachneva, graduate student, Penza state university*

*Nadezhda Aleksandrovna Hasanshina, research engineer, Penza state university*

*Natalya Nikolaevna Yankina, associate professor, Penza state university*

*In article the structural metrological model of the fiber-optical channel of system of determination of parameters (volume, speed, an expense) liquid streams in a life support system of astronauts is offered.*

*Keywords: aerospace medicine, life support system, parameters of a liquid stream, gage, metrological analysis, fiber-optical sensor*

УДК 579:61

**АНТИМИКРОБНАЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ – ЭФФЕКТИВНЫЙ  
МЕТОД ИНАКТИВАЦИИ ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ**

*Н.И. Филипова, м.н.с. Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18*

*E-mail: merkyri\_@mail.ru*

*И.Г. Тиганова, с.н.с. Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18*

*E-mail: iraida1tig@mail.ru*

*Е.А. Макарова, вед.н.с., Федеральное государственное унитарное предприятие, Государственный научный центр «НИОПИК», 123001, г. Москва, ул. Большая Садовая, д.1, корп. 4.*

*E-mail: ea\_takarova22@yahoo.com*

*Г.А. Меерович, с.н.с. Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 38, Доцент, Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, 115409, Москва, Каширское шоссе, 31*

*E-mail: meerovich@mail.ru*

*Е.В. Ахлюстина, аспирант, Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, 115409, Москва, Каширское шоссе, 31*

*E-mail: katya\_ahlyustina@mail.ru*

*Н.В. Алексеева, с.н.с. Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18*

*E-mail: nv.aleks.107@mail.ru*

*Е.А. Лукьянец, профессор, гл.н.с. Федеральное государственное унитарное предприятие, Государственный научный центр «НИОПИК», 123001, г. Москва, ул. Большая Садовая, д.1, корп. 4.*

*E-mail: rmeluk@niopik.ru*

*Ю.М. Романова профессор, вед.н.с., Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18*

*E-mail: genes2007@yandex.ru*

*Аннотация. 7 новых фотосенсибилизаторов (ФС) из класса бактериохлоринов, различающихся величиной положительного заряда, степенью липофильности и радиусом молекулы, были испытаны in vitro в фотодинамической инактивации*

патогенных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Наиболее эффективны тетра- и октакатионные ФС с уменьшенным радиусом молекулы.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, патогенные бактерии, бактериохлорин.

Введение. Проблема распространения множественной лекарственной устойчивости среди патогенных бактерий заставляет искать альтернативные способы борьбы с инфекционными заболеваниями. В последние десятилетия возрастает интерес исследователей к антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ). В основе процесса фотодинамической терапии (ФДТ) лежат цитотоксические свойства активных форм кислорода (АФК), генерируемых фотосенсибилизаторами (ФС) под действием света определенной длины волны. АФК вызывают неспецифическое повреждение всех клеточных компонентов, потенциально подверженных окислительным реакциям, поэтому у бактерий не формируется резистентность к ФДТ. ФДТ хорошо зарекомендовала себя и успешно применяется в онкологии, но, несмотря на то, что фотодинамическое воздействие на бактерии было обнаружено около 100 лет назад, до сих пор нет фотосенсибилизаторов, зарегистрированных как лекарственные средства для лечения инфекционных поражений. Исследования в этом направлении ведутся во многих лабораториях мира [1, 2, 3, 4, 5]. Известные фотосенсибилизаторы относятся к классам фенотиазин, порфиринов, фталоцианинов, хлоринов. В данной работе исследовали антибактериальную активность 7 новых синтетических ФС из класса бактериохлоринов. В отличие от других соединений (коротковолновых), бактериохлорины имеют пик поглощения в ближней инфракрасной области, для их возбуждения используется свет с длиной волны 760 нм, что обеспечивает максимально глубокое проникновение световой энергии в ткани, поскольку собственное поглощение биологических тканей в диапазоне от 700 до 850 нм минимально. Это свойство фотосенсибилизаторов на основе бактериохлоринов делает их перспективными не только для лечения поверхностных поражений кожи и слизистых, но и для терапии глубоких инфицированных ран, особенно при инфекции синегнойной палочкой (*Pseudomonas aeruginosa*), которая обнаруживается глубоко под поверхностью раны (до 1,5 см). Ключевым моментом в фотоинаktivации является взаимодействие молекул фотосенсибилизатора с бактериями. Грамположительные бактерии более чувствительны к АФДТ и против них могут быть эффективны нейтральные, анионные и катионные ФС. Грамотрицательные бактерии чувствительны только к катионным ФС, что связано с различным строением и зарядом клеточной стенки этих бактерий [6].

Цель работы: изучить влияние величины положительного заряда, липофильности и изменения радиуса молекулы ФС на фотоинаktivацию бактерий для определения оптимального соотношения этих параметров.

Материалы и методы.

*Фотосенсибилизаторы.* Исследовали 7 синтетических производных бактериохлорина, различающихся зарядом, степенью липофильности и радиусом молекулы и синтезированных в ГНЦ НИОПИК. Нейтральный незаряженный бактериохлорин (BC1), тетракатионный амфифильный бактериохлорин с 4 алкильными цепями по 11 атомов углерода (BC2), тетракатионный бактериохлорин (BC3), октакатионный бактериохлорин (BC4), тетракатионный амфифильный бактериохлорин с 4 алкильными цепями по 7 атомов углерода (BC5), тетракатионный бактериохлорин с уменьшенным радиусом молекулы (BC6) и октакатионный бактериохлорин с уменьшенным радиусом молекулы (BC7). Соединения BC1, BC2 и BC5 не растворимы или плохо растворимы в воде, поэтому их использовали в виде водной дисперсии в композиции солюбилизатора Kolliphor ELP (BASF), при этом солюбилизатор формирует мицеллярные наночастицы. Эти соединения имеют пик поглощения в ближней инфракрасной области спектра: нейтральный BC1 – 747 нм, остальные 760 нм.

**Бактерии.** Исследования проводили на клинических изолятах *Staphylococcus aureus* 15 и *Pseudomonas aeruginosa* 32. Бактерии культивировали на стандартных полноценных питательных средах: бульон и агар LB (Luria-Bertani, Difco, США).

**Фотоинактивация бактерий в планктоне.** Определяли МБК (минимальную бактерицидную концентрацию) ФС для стандартных условий: инкубация бактерий с ФС 30 мин, доза облучения 30 Дж/см<sup>2</sup>. Использовали двукратные разведения ФС, начиная с 1000 мкМ. Суспензию бактерий с титром 1x10<sup>8</sup> КОЕ/мл после сенсibilизации освещали в 96-луночном планшете галогенной лампой с фильтром, который пропускал диапазон от 650 до 850 нм, или светодиодным источником света с длиной волны, соответствующей поглощению ФС. Контрольный планшет не облучали. Аликвоты 50 мкл высевали на чашки, которые инкубировали 18 час при 37<sup>0</sup> в темноте. Результат учитывали по наличию колоний на чашках: + рост колоний, - отсутствие роста.

Полученные результаты. Эффективность фотосенсибилизаторов оценивали *in vitro* по их бактерицидному действию на грамположительные и грамотрицательные клинические изоляты патогенных бактерий (*S. aureus*15 и *P. aeruginosa*32), растущие в свободном (планктонном) состоянии. Для количественной оценки бактерицидного действия использовали определение числа выживших бактерий (КОЕ/мл) путем посева на питательные среды после обработки фотосенсибилизатором и облучения источником света, а также определение МБК для стандартных условий, как описано в Материалах и методах.

Была продемонстрирована бактерицидная активность ВС3 и ВС4 при облучении сенсibilизированных этими ФС *S. aureus*15 и *P. aeruginosa*32; при этом наблюдалась зависимость эффекта от концентрации ФС, дозы световой энергии и времени сенсibilизации. Была определена МБК ФС для стандартных условий (инкубация бактерий с ФС 30 мин, плотность дозы световой энергии 30 Дж/см<sup>2</sup>). Для облучения бактерий, сенсibilизированных ВС1, использовали галогенную лампу с фильтром, для остальных ФС приведены результаты опытов с светодиодным источником. Из данных таблицы видно, что нейтральный ВС1 неэффективен до концентрации 1 мМ в отношении как *S.aureus*, так и *P.aeruginosa*, наибольшей активностью обладают катионные водорастворимые бактериохлорины ВС6 и ВС7, а для *S.aureus* особенно амфифильный ВС5 в виде мицеллярной дисперсии. Отсутствие заряда и высокая липофильность ФС негативно влияют на АФДТ.

Амфифильный ВС5 содержит в молекуле 4 н-гептильных заместителя, в отличие от ВС2 с 4 ундецильными заместителями; вследствие этого ВС5 обладает меньшей степенью липофильности, чем ВС2, и меньшим радиусом молекулы. Тетракаатионный ВС6 и октакаатионный ВС7 имеют в качестве спейсера этиленовый мостик, в отличие от ВС3 и ВС4, которые содержат бутиленовый мостик, таким образом, радиус молекул ВС6 и ВС7 уменьшен, по сравнению с ВС3 и ВС4. Меньший радиус молекулы может облегчить проникновение ФС через поры наружной мембраны грамотрицательных бактерий, поскольку известно, что небольшие водорастворимые молекулы проникают в клетку бактерии путем пассивной диффузии через каналы поринов, и, в частности, этим можно объяснить большую эффективность АФДТ с использованием ВС5, ВС6 и ВС7 [7].

**Выводы.**

Наиболее перспективными для АФДТ являются тетра- и октакаатионные фотосенсибилизаторы ВС5, ВС6 и ВС7 с уменьшенным радиусом молекулы, которые обеспечивают эффективную фотоинактивацию как грамположительных бактерий *S. aureus*15, так и грамотрицательных *P.aeruginosa*32.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: демонстрация и сравнительное исследование

антибактериальной активности фотосенсибилизаторов на основе бактериохлорина, которые не были ранее изучены в этом отношении.

Цитируемая литература.

1. Simoes C., Gomes M.C., Neves M.G.P.M.S., et al. Photodynamic inactivation of *Escherichia coli* with cationic meso-tetraarylporphyrins – The charge number and charge distribution effects // *Catalysis Today*. – 2016. – Vol. 266. – P. 197-204.

2. Страховская М.Г., Антоненко Ю.Н., Пашковская А.А. и др. Электростатическое связывание замещенных металлофталоцианинов с клетками энтеробактерий: роль в фотодинамической инактивации // *Биохимия*. – 2009. – Т. 74, Вып. 12. – С. 1603-1614.

3. Wang Y., Zhou Q., Wang Y., et al. In vitro photodynamic inactivation effects of Ru(II) complexes on clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* planktonic and biofilm cultures // *Photochem. Photobiol.* – 2015. – Vol. 91. – P. 124-133.

4. Huang L., Huang Y.Y., Mroz P., et al. Stable synthetic cationic bacteriochlorins as selective antimicrobial photosensitizers // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2010. – Vol. 54. – P. 3834-3841.

5. Schastak S., Gitter B., Handzel R., et al. Improved photoinactivation of gram-negative and gram-positive methicillin-resistant bacterial strains using a new near-infrared absorbing meso-tetrahydroporphyrin: a comparative study with a chlorine e6 photosensitizer Photolon // *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 30. – P. 129-133.

6. Malik Z., Ladan H., Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions // *J. Photochem. Photobiol.* – 1992. – Vol. 14. – P. 262-266.

7. Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. // *Science*. – 1994. – Vol. 264(5157), - P. 382-8.

Antimicrobial photodynamic therapy – an effective method of inactivation of pathogenic bacteria.

*N.I. Philipova. [merkyri@mail.ru](mailto:merkyri@mail.ru) junior researcher N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow*

*I.G. Tiganova. [iraidatig@mail.ru](mailto:iraidatig@mail.ru) senior researcher N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow*

*E.A. Makarova. [ea\\_makarova22@yahoo.com](mailto:ea_makarova22@yahoo.com) leading researcher, Organic Intermediates and Dyes Institute, Moscow*

*G.A. Meerovich, [meerovich@mail.ru](mailto:meerovich@mail.ru) senior researcher, A.M. Prokhorov General Physics Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, assistant professor, National research nuclear university MEPhI, Moscow*

*E.V. Akhlyustina [katya\\_ahlyustina@mail.ru](mailto:katya_ahlyustina@mail.ru) PhD student, National research nuclear university MEPhI, Moscow*

*N.V. Alekseeva [nv.aleks.107@mail.ru](mailto:nv.aleks.107@mail.ru) senior researcher, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow*

*E.A. Lukyanets [rmeluk@niopik.ru](mailto:rmeluk@niopik.ru) professor, Chief Researcher, Organic Intermediates and Dyes Institute, Moscow*

*Yu.M. Romanova [genes2007@yandex.ru](mailto:genes2007@yandex.ru) professor, leading researcher, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow*

*Abstract. 7 new photosensitizers, bacteriochlorin derivatives with different positive charge, lipophilicity and size of molecule were investigated in vitro in photodynamic inactivation of pathogenic bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The most effective were tetra- and octacationic PS with reduced molecular size.*

*Key words: photodynamic therapy, pathogenic bacteria, bacteriochlorin.*



Таблица. Сравнение эффективности фотодинамической инактивации планктонных бактерий с использованием производных бактериохлорина в качестве фотосенсибилизаторов.

ФС	МБК, мкМ	
	P.aeruginosa 32	S.aureus 15
BC1	1000	1000
BC2	25	12,5
BC3	12,5	12,5
BC4	25	12,5
BC5	6,2	0,2
BC6	6,2	3,1
BC7	3,1	1,6

УДК 621.039.8

### ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ЭТАПЫ ПРОТОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

*Черных Алексей Николаевич, ведущий инженер-физик*

*E-mail: chernykh-aleksey@yandex.ru*

*Карпунин Владимир Олегович, ведущий инженер-физик*

*E-mail: karpunin@itep.ru*

*Хорошков Владимир Сергеевич, начальник отдела*

*E-mail: khoroshkov@itep.ru*

*НИЦ «Курчатовский институт» - ИТЭФ*

*117218 Россия, Москва, ул. Большая Черемушкинская, 25*

*<http://www.itep.ru/>*

*Наибольшие возможности для лечения внутриглазных злокачественных новообразований предоставляет протонная лучевая терапия. При таком лечении резорбция опухоли достигается в 98 % случаев, причём функция зрения (в той или иной степени) сохраняется у 70 % пациентов. Приведён обзор этапов проведения протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований.*

*Ключевые слова: онкоофтальмология, протонная терапия, увеальная меланома, дозно-анатомическое планирование, позиционирование, трасса пучка*

#### Введение

Исследования в области применения протонной лучевой терапии (ПЛТ) в онкоофтальмологии начались в 1976 г. в Гарвардской лабораторией в США [6], затем в 1977 г. исследования начались в Москве ИТЭФ совместно со специалистами Московского Научно-исследовательского института глазных болезней им. Гельмгольца [1], в 1984 г. в Европе в институте Пауля Шерера (PSI). В настоящее время из 65 действующих центров ПЛТ работает 7 специализированных онкоофтальмологических центра, а во все остальные центры в большинстве своем оборудованы специализированными установками для онкоофтальмологических больных.

На сегодняшний день более 15000 онкоофтальмологических больных с внутриглазными новообразованиями получили лечение методом протонной лучевой терапии. Основным диагнозом внутриглазных новообразований является увеальная меланома – в 98% случаев. При больших размерах опухоли, ПЛТ является практически единственным методом лечения, позволяющим сохранить не только глаз, но и зрение. На большом статистическом материале показано, что резорбция опухоли достигается в 98 % случаев, причём функция зрения (в той или иной степени) сохраняется у 70 % пациентов [2, 3]. Хотелось бы отметить, что ПЛТ является не единственным методом

лечения внутриглазных новообразований, наряду с ПЛТ применяются и другие методы лучевого лечения, такие как брахитерапия – контактный метод с использованием специальных аппликаторов с радиоактивным веществом и установки Гамма-нож. Но брахитерапия подобных злокачественных новообразований возможна лишь при толщинах опухоли до 3 мм, а при использовании установки Гамма-нож число постлучевых осложнений достигает 67% (при ПЛТ этот показатель не превышает 5-10%).

Далее в статье будут описаны основные технологические этапы проведения ПЛТ больных с внутриглазными новообразованиями на основе опыта ИТЭФ, единственного в России центра, где проводилась ПЛТ злокачественных новообразований (ЗН) глаза. Центр ПЛТ ИТЭФ разрабатывал методику облучения ЗН глаза совместно с радиологами МНИИГБ им. Гельмгольца с 1977 г. и проводил лечение увеальной меланомы, расположенной в переднем отделе глаза. Использование системы дозно-анатомического планирования ПЛТ EyePlan [4], предоставленной Онкологическим центром г. Клаттербридж (Великобритания), позволило с 2006 г. проводить облучение при любой локализации внутриглазных ЗН.

Основные этапы протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований

Реализация технологии лучевой терапии, а особенно, протонной – это сложный процесс, требующий вовлечения больших аппаратных, программных и информационных ресурсов на каждом из этапов лечения пациента:

диагностика;

определение размера опухоли и подшивка к основанию опухоли рентгеноконтрастных скрепок;

симуляция облучения и рентгенографическое измерение координат положения скрепок;

дозноанатомическое планирование;

изготовление индивидуальных средств формирования дозового поля (болюс, коллиматор);

позиционирование;

протонная лучевая терапия (облучение);

постлучевое наблюдение.

Диагностика

Первичным симптомом, с которым больные обращаются к врачу – офтальмологу является ослабление и нарушение зрения.

Внутриглазные новообразования могут быть диагностированы различными методами. Для первичной диагностики применяется фундус-камера, по снимкам с которой исследуется глазное дно (рис. 1). так же применяется компьютерная и магниторезонансная томография. Наиболее точное определение размеров злокачественного новообразования осуществляется методами ультразвуковой диагностики.

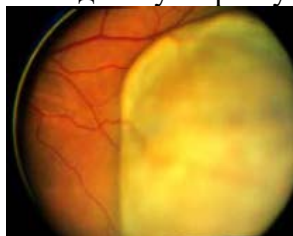


Рисунок 1. Снимок с фундус-камеры глазного дна со злокачественным новообразованием.

Определение размера опухоли и подшивка к основанию опухоли рентгеноконтрастных скрепок

Глаз – достаточно гомогенная среда, и по томографическим данным сложно точно дифференцировать структуры глаза и опухоли. Специфика анатомического строения глаза [5] требует особой диагностической и хирургической подготовки к облучению. При этом обычная компьютерная томография мало применима из-за подвижности

глаза, мелких размеров облучаемых структур и повышенных требований к разрешающей способности аппаратуры [6].

Обычно при увеальной меланоме опухоль растёт к центру глаза (Рис.2), а масса стекловидного тела инертна и не включается в опухолевый процесс. Поэтому выбор формы опухоли и расширения в этом направлении не является принципиальным.

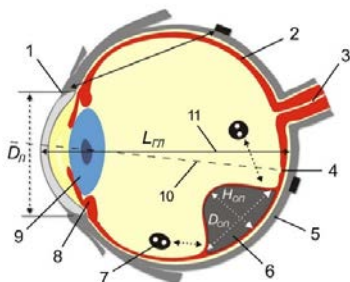


Рис. 2 Анатомические структуры глаза [9]:

1 – лимб роговицы, 2 – сетчатка, 3 –

Основной задачей этапа является определение границ основания опухоли и подшивки к склере глазного яблока, по контуру основания опухоли рентгеноконтрастных скрепок (поз. 7 рис. 2). Для этого производится ряд хирургических манипуляций с глазом. Глаз разворачивают в глазнице для доступа к основанию опухоли и подсвечивают для того чтобы опухоль отбросила тень на склеру глазного яблока. И по контуру тени хирург подшивает танталовые скрепки. По результатам подшивки скрепок, хирург составляет клинический протокол, в который вносит, измеренные при помощи циркуля, расстояния между скрепками и их координаты относительно структур глаза.

Симуляция облучения и рентгенографическое измерение координат положения скрепок

Основная цель этапа симуляции облучения - это уточнение координат рентгеноконтрастных скрепок и проверка механических свойств глаза, на предмет комфортных углов поворота. Т.к. клинический протокол поступает в центр ПЛТ раньше, чем больной, то по данным протокола проводится предварительное планирование, с целью нахождения оптимального положения глазного яблока, при котором четко определяется положение всех рентгеноконтрастных скрепок на виртуальных рентгеновских снимках.

После спада воспалительных процессов от хирургического вмешательства, больной проходит этап симуляции облучения. Этот этап выполняется в центре протонной лучевой терапии непосредственно на той лучевой установке, на которой будет проводиться лечение. Для больного изготавливаются индивидуальные средства иммобилизации, такие как стоматологическая капа и термопластичная маска (рис. 3).



Рис. 3. Иммобилизация больного индивидуальными средствами.

По результатам изготовления индивидуальных средств иммобилизации, больной размещается в кресле позиционере лучевой установки и медперсонал осуществляет его иммобилизацию и ориентировочное позиционирование в системе координат лучевой установки. После фиксации больного глаза в требуемом положении, выполняются два рентгеновских снимка средствами системы рентгеновского позиционирования (рис. 4). Путем обработки полученных рентгеновских снимков уточняют клинические данные о положении рентгеноконтрастных скрепок.

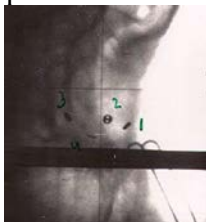


Рис. 4. Рентгеновский снимок глазного яблока с подшитыми скрепками.

Дозноанатомическое планирование

Планирование протонного облучения внутриглазных новообразований, имеет свои особенности, что не позволяет использовать стандартные подходы. Глаз, как уже отмечалось, достаточно гомогенная среда, и по томографическим данным сложно точно дифференцировать структуры глаза и опухоли. При этом обычная компьютерная томография мало применима из-за подвижности глаза, мелких размеров облучаемых структур и повышенных требований к разрешающей способности аппаратуры [6].

В связи с этими обстоятельствами для планирования облучения приходится применять реконструированную анатомическую модель глаза, параметры которой задаются по клиническим данным, измеренным врачами-офтальмологами на этапе диагностики и составления клинического протокола. При выборе положения ЗН необходимо не только обеспечить подведение необходимой дозы к мишени- опухоли, но и минимизировать дозовую нагрузку на структуры глаза, которые могут оказаться внутри дозового поля. Критические для функции зрения структуры, такие как: хрусталик, центр макулярной ямки (фовеа) и т.д., должны избегать попадания в зону прохождения дозового поля. Именно поражение данных структур может приводить как к потере зрения сразу, так и к отдалённым осложнениям.

Основной задачей дозноанатомического планирования является формирование дозового распределения конформного мишени, при этом в среднем латеральный запас относительно клинического объема мишени берется в 2мм, а дистальный - 2,5мм. Так же дозноанатомическое планирование позволяет определить оптимальное положение глазного яблока, при котором будем минимизировано воздействие излучения на критические структуры.

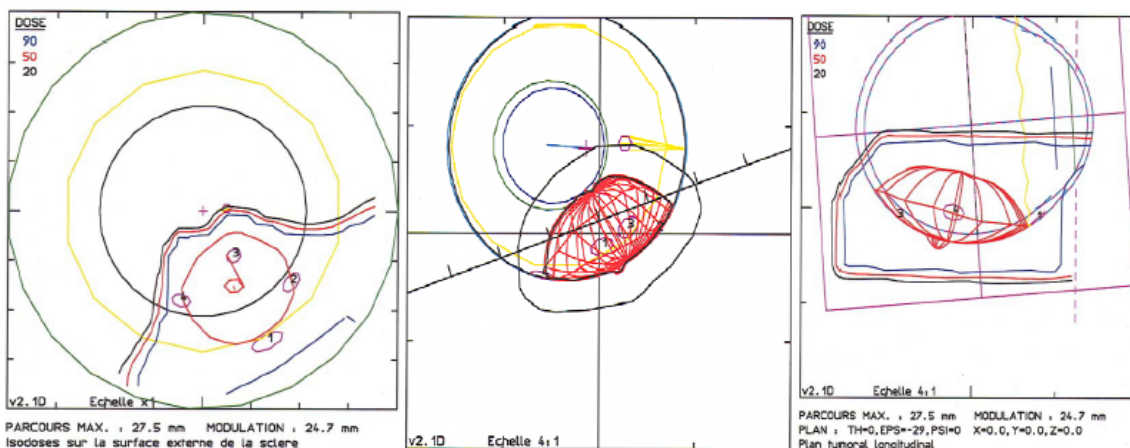


Рис. 5. Система дозноанатомического планирования EyePlan.

Изготовление индивидуальных средств формирования дозового поля

По результатам дозноанатомического планирования изготавливаются индивидуальные средства формирования дозового поля, такие как чистовой коллиматор, болус и модификатор кривой Брегга.

Апертура коллиматора соответствует сечению мишени при взгляде по пучку. Форма периодических элементов модификатора кривой Брегга выбираются и изготавливаются таким образом, чтобы трансформированный энергетический спектр пучка (часть частиц, проходящих через «зубцы» фильтра замедляются сильнее, нежели частицы, проходящие через «впадины» фильтра) обеспечил требуемую модификацию кривой Брегга (рис. 6, вверху). И, наконец, болус индивидуально подобранной формы компенсирует кривизну поверхности опухоли (мишени) таким образом, чтобы остановить все частицы на задней границе мишени.

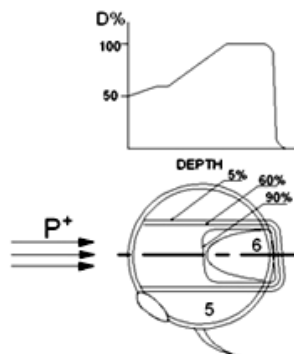


Рис. 6. Распределение дозы при облучении внутриглазной меланомы

Позиционирование

В лучевой терапии целью позиционирования мишени является точное совмещение, заданного при дозно-анатомическом планировании дозового распределения и облучаемой мишени. В протонной онкоофтальмологии используются поля малых размеров и требуется более высокая, чем обычно, точность позиционирования мишени.

Процедуру позиционирования и ориентации глаза больного перед проведением облучения внутриглазной меланомы можно разделить на три этапа:

размещение больного таким образом, чтобы центр больного глаза располагался в полюсе лучевой установки, причем центры глазных яблок должны располагаться на одной горизонтали, находящейся в вертикальной перпендикулярной оси пучка плоскости;

выведение мишени в положение, предусмотренное планом облучения;

линейная и угловая поправки после окончания второго этапа и рентгеновской (по скрепкам) проверки положения мишени.

Для выполнения каждого этапа позиционирования необходимо придерживаться определенного алгоритма линейных и угловых перемещений головы и глаза, для контроля за которыми и применяются такие устройства как: фиксационная точка, система лазерного позиционирования, система рентгеновского позиционирования. Размещение геометрического центра больного глаза в полюсе лучевой установки выполняется при помощи системы лазерного позиционирования (рисунок 7Б). Они создают в изоцентре лучевой установки световое перекрестие, ориентируясь по которому врач перемещает больного таким образом, чтобы оптическая ось больного глаза совпала с осью пучка (рисунок 7А).

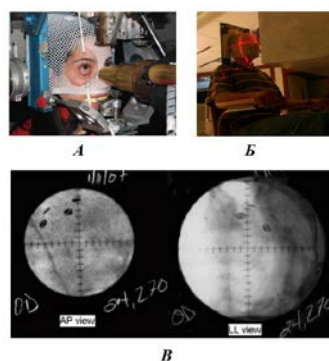


Рисунок. 7. А - система иммобилизации пациента, Б - система лазерной центрации, В – латеральный и фронтальный рентгеновский снимок глазного яблока с подшитыми рентгеноконтрастными скрепками.

Второй этап выполняется путем добровольного направления взора на фиксационную точку, установленную согласно плану облучения в требуемое место. Таким образом, путем добровольного направления взгляда больного на фиксационную точку осуществляется ориентация глазного яблока.

На рисунке 8 в формате 2D показан смысл этой процедуры – направление взора пациента на фиксационную точку. Лишь после выполнения подобной манипуляции злокачественное новообразование оказывается на оси протонного пучка в соответствии с дозно – анатомическим планом облучения. Именно в этом плане предусматривается место расположения фиксационной точки в пространстве. Отметим, что в реальности ситуация сложнее чем на рисунке 8, поскольку манипуляция осуществляется в 3D пространстве. Еще раз подчеркнем, что эта процедура должна выполняться лишь после совмещения центра глазного яблока, вокруг которого осуществляются все его повороты, с полюсом лучевой установки. В ином случае, при направлении взгляда на ФТ угол  $\alpha$  (рис. 8) оказывается другим, нежели предусмотренный планом облучения, и опухоль (поз.3 рис. 8) не будет выведена на ось пучка  $p^+$ .

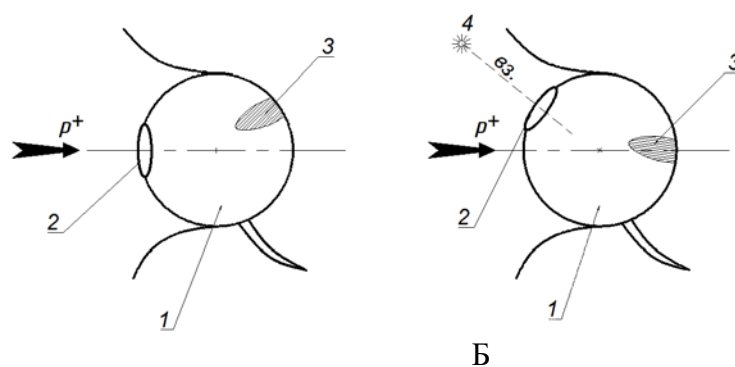


Рисунок 8. Схема добровольного изменения направления взора пациента (формат 2D).

- глазное яблоко;
- зрачок;
- внутриглазная опухоль;
- фиксационная точка;
- $p^+$  – ось протонного пучка;
- вз – направление взора.

А – положение глаза и опухоли до изменения направления взора

Б – положение глаза и опухоли после заданного изменения направления взора

Для верификации плана облучения и контроля процедуры позиционирования делаются фронтальный и латеральный рентгеновские снимки глазного яблока (рис. 8В). Подшитые по границе основания опухоли на склере глаза рентгеноконтрастные



скрепки должны занять на рентгеновских снимках предусмотренные планом места (рис.9).

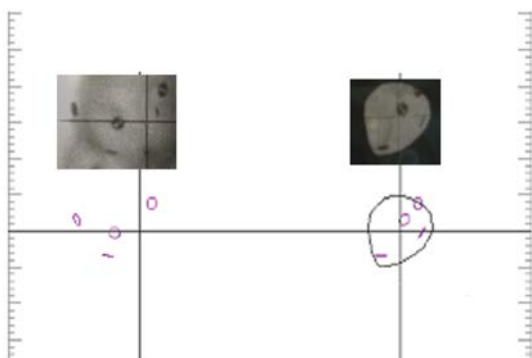


Рисунок 9. Сравнение рентгеновских снимков с виртуальными рентгеновскими снимками, полученными на этапе дозно-анатомического планирования

При несовпадении рентгеновских снимков с данными плана требуется повторная (уточняющая) процедура планирования и/или позиционирования. Обычно требуется около трех - четырех итераций.

Протонная лучевая терапия (облучение)

Для протонной лучевой терапии онкоофтальмологических больных используются протоны с энергией в диапазоне от 60 МэВ (пробег 3 г/см<sup>2</sup>) до 100 МэВ (пробег 7,7 г/см<sup>2</sup>). При этом необходимо обеспечить возможность варьировать плато распределения дозы по глубине от равного всей глубине пробега до протяжённости опухоли. Что касается профиля поперечного сечения пучка на входе в процедурную кабину следует иметь в виду, что необходимо обеспечить возможность формирования поперечного сечения дозового распределения с характерными размерами от 10мм до 40мм.

Линии транспортировки пучков обеспечивают доставку пучка от ускорителя в различные процедурные и экспериментальные кабинеты. Транспортировка пучка осуществляется в вакуумной камере, его повороты, коррекция траектории и фокусировка - дипольными и квадрупольными магнитами. Набор расположенных определённым образом магнитов вакуумной камеры и аппаратура для диагностики пучка называют линией транспортировки пучка. Система формирования дозового поля, расположенная на конце линии транспортировки пучка, как правило, в процедурном кабинете, модифицирует и контролирует пучок для достижения предписанного внутри объёма мишени распределения поглощённой дозы.

Стабильность и эффективность транспортировки пучка от ускорителя до процедурного кабинета играет большую роль в процедуре формирования дозового поля. Для обеспечения гарантии качества лечения пациентов требуется высокая воспроизводимость дозиметрических характеристик пучка на входе в систему формирования дозового поля. Это, в свою очередь определяет требования к стабильности питания (поля) дипольных и квадрупольных магнитов, применяемых для управления профилем и положением пучка. Система транспортировки пучка к онкоофтальмологической лучевой установке должна быть в состоянии обеспечивать стабильную проводку пучка с энергией от 60 МэВ до 100 МэВ. Корректная доставка пучка в нужное место с требуемыми параметрами сводится к настройке элементов магнитной оптики линии транспортировки.

Расчет трассы транспортировки протонного пучка к онкоофтальмологической лучевой установки

В ИТЭФ в процессе проектирования клинического центра ПЛТ при ГКБ им. С.П.Боткина [7] был проведён расчёт трассы транспортировки пучка протонов к онкоофтальмологической лучевой установки. Цель расчёта сводилась к тому, чтобы на входе в систему формирования дозового распределения иметь аксиальносимметричный

пучок диаметром 10-15 мм. Поставленная задача была решена с использованием специализированной расчётной программы WINAGILE (CERN) [8], которая позволяет моделировать и оценивать магнитную оптику кольцевых ускорителей и линий транспортировки пучка.

Смоделированная трасса состоит из трёх участков и обеспечивает транспортировку выведенного из синхротрона пучка протонов в офтальмологический процедурный кабинет со стационарными пучками. Началом трассы является выводной магнитный септум (септум Ламбертсона) УВС-±5 (поз.1 Рис.10). Основными элементами трассы являются магнитный токовый септум на 0,15 рад (8,6 град) МДВ-С8,6 (поз.2, Рис.7), 18,6-градусный отклоняющий магнит МДВ-18,6 (поз.3, Рис.10), 5-градусный отклоняющий магнит МДВ-5 (поз.4 Рис.10), 45-градусный отклоняющий магнит МДГ-45 (поз.5 Рис.10), 90-градусный отклоняющий магнит МДГ-90 (поз.6 Рис.10), тринадцать квадрупольных магнитов МК-50x300 (поз.7 Рис.10) и два дипольных двухкоординатных корректора МДК-110x200 (поз.8 Рис.10). На начальном участке от выводного магнитного септума УВС-±5 до магнитного токового септума МДВ-С8,6 трасса идет под углом (+5) градусов вверх относительно плоскости орбиты кольца синхротрона. После магнитного токового септума МДВ-С8,6 трасса идет под углом +13,6 градусов вверх относительно плоскости орбиты кольца.

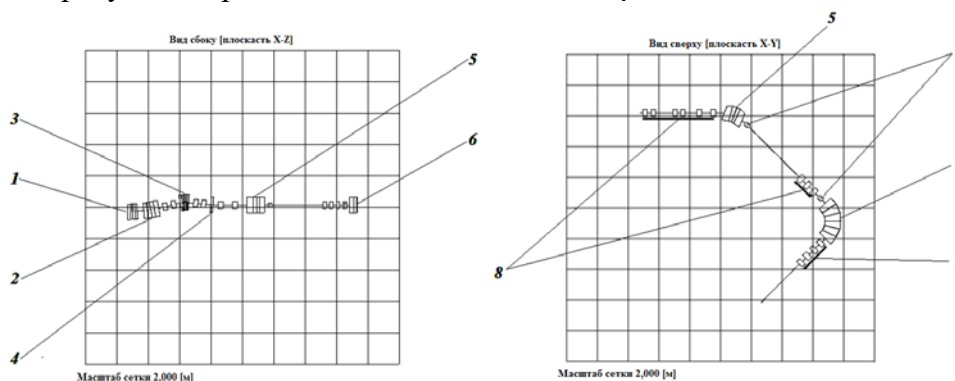


Рис. 10 План трассы пучка при транспортировке к онкоофтальмологической лучевой установке

(слева – вид сбоку, справа вид сверху).

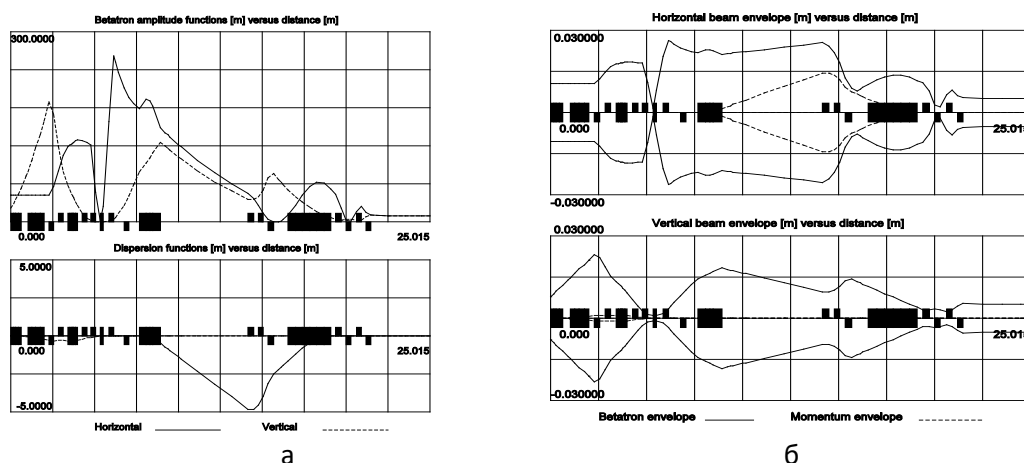
1 - выводной магнитный септум УВС-±5; 2 - магнитный токовый септум МДВ-С8,6;

Отклоняющие магниты МДВ-18,6 и МДВ-5 возвращают трассу в горизонтальную плоскость на отметку +1950мм. Последующие повороты магнитами МДГ-45 и МДГ-90 осуществляются в горизонтальной плоскости. Квадрупольные магниты МК-50x300, расположенные между магнитным токовым септумом МДВ-С8,6 и 5-градусным отклоняющим магнитом МДВ-5 образуют квадруплет и обеспечивают ахроматизацию (зануление линейной и угловой компонент дисперсии в вертикальной плоскости) пучка, а также его фокусировку в обеих плоскостях. Квадрупольные магниты МК-50x300 расположенные между 5-градусным отклоняющим магнитом МДВ-5 и 45-градусным отклоняющим магнитом МДГ-45 образуют дуплет и обеспечивают фокусировку пучка на 45-градусный отклоняющий магнит. Квадрупольные магниты, расположенные между 45-градусным отклоняющим магнитом МДГ-45 и 90-градусным отклоняющим магнитом МДГ-90, образуют триплет и обеспечивают ахроматизацию (зануление линейной и угловой компонент дисперсии в горизонтальной плоскости) пучка, а также его фокусировку в обеих плоскостях. Квадрупольные магниты МК-50x300, расположенные после 90-градусного отклоняющего магнита МДГ-90, образуют квадруплет и обеспечивают получение требуемых параметров пучка на выходе из трассы. Общая длина трассы составляет 25,015м.



На Рис.11а представлены оптические функции трассы при энергии 70 МэВ. В начале трассы заданы следующие начальные условия:  $\beta_x = 42,2788$  м,  $\beta_z = 22,3353$  м,  $\alpha_x = -0,07279979$ ,  $\alpha_z = -19,423762$ ,  $D_x = D_z = DD_x = DD_z = 0$  м. В конце трассы получены значения:  $\beta_x = 9,563$  м,  $\beta_z = 9,565$  м,  $\alpha_x = -0,1914$ ,  $\alpha_z = -0,1929$ ,  $D_x = D_z = DD_x = DD_z = 0$  м. Максимальные значения линейных компонент дисперсии  $D_z \approx -0,3$  м,  $D_x \approx -5$  м.

На Рис.11б представлены огибающие пучка трассы при энергии 70 МэВ. В начале трассы радиус пучка по горизонтали составляет 10,5 мм, по вертикали – 7,7 мм; в конце трассы – 5 мм по обоим направлениям. Максимальный радиус пучка равен 26,3 мм по горизонтали и 22,5 мм по вертикали. Расчёт проводился при значениях эмиттанса  $\epsilon_x = \epsilon_z = 2,6433$  мм x мрад и импульсном разбросе  $\Delta p / p = \pm 0,003$ . Видно, что магнитный канал обеспечил на выходе аксиальносимметричный пучок практически круглого сечения диаметром около 10 мм с малой угловой расходимостью.



В результате проведённого расчёта трассы, предложено оптимальное геометрическое расположение элементов магнитной оптики на трассе, а так же требуемые параметры магнитных полей в квадрупольных магнитах, при которых обеспечивается стабильная транспортировка пучка с требуемыми физическими параметрами.

Стоит отметить, что наработанные решения могут быть применены при разработке специализированного онкофтальмологического комплекса ПЛТ (один ускоритель - одна лучевая установка).

#### Заключение

Протонная лучевая терапия является одним из основных и успешных способов лечения новообразований глаза. При широком применении сложившихся методик, направленных главным образом на лечение увеальной меланомы, очень высока сложность процессов планирования облучения и позиционирования мишени. Это выражается в большом количестве времени и при усадке пациента, и при лазерном позиционировании, и при планировании из-за наличия ручного введения всех данных глаза и опухоли, и в многократных симуляциях при позиционировании опухоли на оси пучка из-за неточного определения координат фиксационной точки.

Статистика Европейских центров ПЛТ, основанная на многолетнем применении пучков протонов при лучевой терапии меланомы глаза, свидетельствует о следующих уже полученных результатах:

- локальный контроль опухоли - 98,0%
- сохранение глаза - 88,7%
- сохранение зрения – 70%
- пятилетняя выживаемость - 95,0 - 97,0% [9].

Авторы считают, что вышеперечисленные результаты могут быть получены только при условии существенного улучшения точности дозно - анатомического

планирования облучения, точности позиционирования больного (совмещения дозного поля с мишенью), точности измерения дозового распределения и т.д. Современные требования, предъявляемые к точности совмещения границ дозового поля и мишени, особенно при облучении внутриглазных мишеней, составляют около 1мм.

В вопросе повышения эффективности лучевой терапии тяжелыми заряженными частицами внутриглазных новообразований наряду с обеспечением высокой точности позиционирования больного в разумное время, важной задачей является обеспечение точного планирования и осуществление контроля правильности облучения в режиме реального времени. Поэтому потенциально возможное повышение эффективности лучевой терапии тяжелыми заряженными частицами и сокращение времени лучевого сеанса (что принципиально важно при облучении столь подвижного органа как глаз) нереализуемо без кардинального совершенствования аппаратного, физико-технического и программного обеспечения всех этих процедур.

В данной статье проведён обзор технологических этапов протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований, а также отдельное внимание уделено аппаратному обеспечению для проведения топографии пациента, его позиционирования и доставки протонного пучка от ускорителя к лучевой установке (система вывода и доставки пучка).

### Литература

8. Goldin L., Lomanov M., Lukyashin V., et al. Physicotechnical and experimental approaches to the proton beam treatment of eye tumors irradiation. // In: "Use of proton beams in radiation therapy", Vol.3. 1 Int. Seminar, Moscow, 6 – 11 dec. 1977 – М.: Atomizdat, 1979, P.133 – 139 (in Russian).
9. Goitein G., Schallenbourg A., Verwey J. et al. Proton radiation therapy of ocular melanoma at PSI – long term analysis. // Abstracts of PTCOG 48 Meeting. Heidelberg, Germany, 2009.
10. Dendale R., Lumbroso-Le Rouic L., Noel G. et al. Proton beam radiotherapy for uveal melanoma: results of Curie Institute-Orsay proton therapy center (ICPO). // Intern. Journ. of Radiation, Oncology, Biology, Physics. 2006. Vol. 65. N 3. P. 780-787.
11. Sheen M. Radiotherapy quality system for proton therapy EyePlan v3.01. // Eye program user manual. Clatterbridge Centre for Oncology, Internal Report, 1992.
12. Орлов Д.Г., Ерохин И.Н. Аппаратные, технологические и программные инновации 2010–2015 протонно-лучевой терапии злокачественных новообразований глаза // «Вестник московского университета им. С.Ю. Витте» (Образовательные ресурсы и технологии), 2015'4(12), с.71-77.
13. Канчели И.Н., Ломанов М.Ф., Похвата В.П., Хайбуллин В.Г., Хорошков В.С.. Уточнённый метод планирования протонного облучения внутриглазных новообразований // Медицинская физика, 2010, №1 с.24-33.
14. Г.И. Кленов, В.С. Хорошков. Московский центр протонной лучевой терапии // III Евразийский конгресс по медицинской физике и инженерии «Медицинская физика 2010» 21-25 июня 2010 г. Сборник материалов, т. 2, с. 45- 47.
15. <http://nicewww.cern.ch/~bryant/default.html>
16. Evangelos S. Gragoudas. Proton Beam Irradiation of Uveal Melanomas: The First 30 Years, IOVS, November 2006, Vol. 47, No. 11.

### Technological stages of protonal radiation therapy of oncological eye neoplasms

*Chernykh Aleksey Nikolaevich, Principal Engineer-Physicist, NRC KI - ITEP*  
*Karpunin Vladimir Olegovich, Principal Engineer-Physicist, NRC KI - ITEP*

*Proton therapy provides the most effective features for treatment of oncological eye neoplasms. The tumor control rate exceeds 98% for such kind of treatment and the visual function remains for 70% of patients. The review of the stages of proton beam therapy of intraocular neoplasms is given.*

*Keywords: oncological ophthalmology, proton therapy, uveal melanoma, treatment planning, positioning, beam line*

УДК 61:159.944

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИНАМИКИ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ПО МЕТОДИКЕ «ПРОГНОЗ» ПОСЛЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ**

*Ахеджак-Нагузе Саида Казбековна, к.м.н., руководитель центра содействия трудоустройству выпускников, помощник проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам, доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России,*

*Краснодар, Россия,*

*тел. 89182468989 E-mail: [naguzesk@mail.ru](mailto:naguzesk@mail.ru), <http://www.kσμα.ru/>*

*350063 Российская Федерация, Краснодар, ул. Седина, 4.*

*Для определения динамики стрессоустойчивости после транскраниальной стимуляции (ТЭС) студентов медицинского вуза использовали тест «Прогноз». После 5 сеансов ТЭС в неделю уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов обоего пола повышался.*

*Ключевые слова: стрессоустойчивость, транскраниальная электростимуляция.*

Существует большое количество подтверждений тому, что учебный стресс – неотъемлемая часть студенческой жизни [1]. Одним из существенных факторов развития психоэмоционального стресса у студентов является резкое возрастание количества информации, неумение ее усваивать, систематизировать, использовать, развивающийся дефицит времени, изменение образа жизни, возникающая неуверенность. Все это может приводить к дисстрессу и развитию невроза. Стресс служит не только звеном срочной адаптации, но и причиной возникновения некоторых заболеваний [2]. В свете современных представлений стрессовые нагрузки являются основной причиной, нарушающей механизмы саморегуляции сердечно-сосудистых функций [3, 4].

Определение стрессоустойчивости проводили по тесту «Прогноз» до курса транскраниальной стимуляции (ТЭС) и после него. ТЭС-терапия – это физиотерапевтический метод, точкой приложения которого является стресс-лимитирующая система (СЛС) организма. Суть данного метода заключается в воздействии импульсным током на головной мозг через покровы черепа. Одним из наиболее важных компонентов СЛС является опиоидергическая система, и все эффекты данного метода обусловлены ее центральным и периферическим влиянием [5, 6].

**Цель:** установить влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов, оцениваемую по методике «Прогноз».

**Материалы и методы:**

Стрессоустойчивость у 127 студентов медицинского вуза оценивали по тесту «Прогноз» до курса ТЭС и после него. В группе сравнения уровень стрессоустойчивости определяли в те же сроки. Испытуемые отвечали на 84 вопроса. Ответы на каждый вопрос оценивались по балльной системе. По количеству баллов оценивали уровень стрессоустойчивости: 18-35 баллов – низкий; 14-17 - средний; 13-5 – высокий.

**Результаты:**

Результаты исследования в исходном состоянии и через неделю в группе сравнения имели нормальное распределение. В исходном состоянии у испытуемых отмечался низкий и средний уровни стрессоустойчивости. Через неделю у наблюдаемых лиц имело место только низкий уровень стрессоустойчивости (таблица 1).

Таблица 1.

**Уровни стрессоустойчивости студентов группы сравнения по тесту «Прогноз»**

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Низкий	n	39	49
	M	29,3	28,4

	±m	0,6	0,7
	SD	3,8	5,0
	P		>0,05
Средний	n	10	0
	M	15,0	
	±m	0,3	
	SD	0,9	
	P		

До 2 сеансов ТЭС терапии у испытуемых отмечался только удовлетворительный уровень стрессоустойчивости. После 2 сеансов ТЭС терапии 16 человек оставались с удовлетворительным уровнем стрессоустойчивости, а 20 имели хороший уровень стрессоустойчивости (таблица 2). Данные до и после 2 сеансов ТЭС имели нормальное распределение. Количество баллов после 2 сеансов ТЭС уменьшалось на 15,7%, что свидетельствовало об увеличении стрессоустойчивости, но ее уровень оставался низким.

Таблица 2.

### Уровни стрессоустойчивости студентов по тесту «Прогноз» после 2 сеансов ТЭС

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Низкий	n	36	10
	M	25,6	21,6
	±m	0,9	0,5
	SD	5,1	1,5
	P		<0,001
Средний	n	0	26
	M		15,1
	±m		0,1
	SD		0,7
	P		

До 5 сеансов ТЭС испытуемые были с низким, средним и высоким уровнями стрессоустойчивости. После 5 сеансов ТЭС терапии количество лиц с низким уровнем стрессоустойчивости уменьшалось на 14 человек, а лиц с высоким уровнем стрессоустойчивости увеличивалось на 10 человек (таблица 3). Данные до и после 5 сеансов ТЭС имели нормальное распределение. Количество баллов после ТЭС достоверно уменьшалось, что свидетельствовало о повышении уровня стрессоустойчивости. Гендерных различий не было.

Таблица 3.

### Уровни стрессоустойчивости студентов по тесту «Прогноз» после 5 сеансов ТЭС

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Низкий	n	24	10
	M	25,0	18,9
	±m	0,9	0,3
	SD	4,5	0,8
	P		<0,001
Средний	n	12	10
	M	16,0	14,0
	±m	0,2	0,3
	SD	0,8	0,9
	P		<0,001
Высокий	n	12	22
	M	11,8	8,7
	±m	0,2	0,6
	SD	0,8	2,8
	P		<0,001

Таким образом, после 5 сеансов ТЭС уровень стрессоустойчивости повышался. Итак, продемонстрированные в данной работе результаты исследований ТЭС-терапии, подтверждают эффективность применения данной методики для повышения уровня стрессоустойчивости.

### Литература

1. Новгородцева И.В., Мусихина С.Е., Пьянкова В.О. Учебный стресс у студентов-медиков: причины и проявления. *Медицинские новости*. 2015; 8: 75-77. [Novgorodtseva I.V., Musikhina S.E., Pyankova V.O. Studying stress in medical students: reasons and development. *Medicinskie novosti*. 2015; 8: 75-77. (In Russ.)].
2. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Нарыжная А.В., Пей Жан-Минг, Колар Ф., Жанг И., Портниченко А.Г., Ванг Х. Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям, перспективы клинического применения опиоидных пептидов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012; 6: 74-82. [Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Naryzhnaya A.V., Pej Zhan-Ming, Kolar F., Zhang I., Portnichenko A.G., Vang H. Endogenous opioid system as a chain in prompt and long-term body adaptation to extreme exposure, prospects of clinical application of opioid peptides. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2012; 6: 74-82. (In Russ.)].
3. Каде А.Х., Турова А.Ю., Губарева Е.А., Вчерашнюк С.П., Ковальчук О.Д. Влияние ТЭС-терапии на динамику клинических показателей у студентов со стресс-индуцированной артериальной гипертензией. *Успехи современного естествознания*. 2011. 5: 131. [Kade A.Kh., Turovaya A.Yu., Gubareva E.A., Vcherashnyuk S.P., Kovalchuk O.D. The influence of the TES-therapy on the dynamics of clinical indices in students with stress induced arterial hypertension. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2011. 5: 131. (In Russ.)].
4. Каде А.Х., Ковальчук О.Д., Турова А.Ю., Губарева Е.А. Возможность применения транскраниальной электростимуляции для купирования стресс-индуцированной артериальной гипертензии у студентов вузов. *Фундаментальные исследования*. 2013. 5-1: 79-81; URL: <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31463> (дата обращения: 22.01.2018). [Kade A.Kh., Kovalchuk O.D., Turovaya A.Yu., Gubareva E.A. Possibility to use transcranial electrostimulation to neutralize stress induced arterial hypertension in university students. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013. 5-1: 79-81; URL: <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31463> (data obrashheniya: 22.01.2018). (In Russ.)].
5. Занин С.А., Каде А.Х., Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г., Плотникова В.В., Шаров М.А., Азаркин Е.В., Кочарян В.Э. ТЭС-терапия. Современное состояние проблемы. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 1: 58. [Zanin S.A., Kade A.Kh., Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G., Plotnikova V.V., Sharov M.A., Azarkin E.V., Kocharyan V.E. TES-therapy. Current state of the problem. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; 1: 58. (In Russ.)].
6. Зюзина Н.А., Елисеева Л.Н., Каде А.Х. Повышение эффективности гипотензивной терапии с помощью транскраниальной электростимуляции. Сборник Лебедев В.П., редактор. *Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования*. СПб. 2009. 237-244. [Zyuzina N.A., Eliseeva L.N., Kade A.Kh. Improvement of efficiency of hypotensive therapy with the help of transcranial electrostimulation. *Sbornik Lebedev V.P., editor. Transkrani-al'naja jelektrostimuljacija. `Eksperimental'no-klinicheskie issledovaniya*. Saint-Petersburg, 2009. 237-244. (In Russ.)].

### Assessment of the stress resistance dynamics by “prognosis” method after transcranial electrostimulation

Achedzhak-Naguze Saida Kazbekovna, Ph.d., Associate Professor, Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment, Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work of FSBEI HE KubSMU, Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, Russia, Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine  
tel: 89182468989 E-mail: [naguzesk@mail.ru](mailto:naguzesk@mail.ru), <http://www.ksma.ru/>  
350063 Russian Federation, Krasnodar, 4, Sedin str.

*“Prognosis” test has been used for the assessment of the dynamics determination after transcranial electrostimulation (TCS) in medical students. After 5 TCS a week the level of stress resistance in healthy students (both boys and girls) has been found to increase.*

*Key words: stress resistance, transcranial electrostimulation.*

УДК 61:159.944

## ОЦЕНКА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ

*Ахеджак-Нагузе Саида Казбековна, к.м.н., руководитель центра содействия трудоустройству выпускников, помощник проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам, доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия,  
тел. 89182468989 E-mail: [naguzesk@mail.ru](mailto:naguzesk@mail.ru), <http://www.kσμα.ru/>  
350063 Российская Федерация, Краснодар, ул. Седина, 4.*

*Для оценки влияния транскраниальной стимуляции (ТЭС) на стрессоустойчивость у студентов медицинского вуза использовали тест С. Коухена и Г. Виллиансона. После 5 сеансов ТЭС в неделю уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов обоего пола повышался и соответствовал по шкале теста С. Коухена и Г. Виллиансона хорошему уровню.*

*Ключевые слова: стрессоустойчивость, транскраниальная электростимуляция.*

Большой поток информации, неумение ее систематизировать, изменение образа жизни, неуверенность, дефицит времени, и прочие факторы приводят к возникновению психоэмоционального стресса у студентов, что может приводить к развитию различных заболеваний [1, 2]. Большую роль в защите организма от стресса играют эндогенные опиоидные пептиды, обеспечивающие стресс-лимитирующий эффект. Однако, при хроническом стрессе развивается опятная толерантность и это может приводить к развитию стресс-индуцированной патологии. В связи с этим медицина интенсивно изучает методы повышения стрессоустойчивости [3 - 6].

Применяя транскраниальную электростимуляцию (ТЭС) опиоидэргической системы можно повышать стрессоустойчивость [5, 6].

**Цель:** установить влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов, оцениваемую по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона.

**Материалы и методы.** Наблюдения выполнены на 127 студентах медицинского вуза в возрасте 19 - 22 лет. Из них 50 юношей и 77 девушек. Все испытуемые были практически здоровы. Испытуемые были разделены на основную группу (78 человек) и группу сравнения (49 человек). Студенты основной группы проходили транскраниальную электростимуляцию (ТЭС): 22 человека 2 сеанса в неделю, 56 человек 5 сеансов в неделю. Уровень стрессоустойчивости в основной группе определяли до ТЭС и после курса ТЭС. В группе сравнения уровень стрессоустойчивости определяли в те же сроки. ТЭС проводили на аппарате «Трансаир-03». Испытуемые отвечали на 10 вопросов. Ответы на каждый вопрос оценивались по балльной системе. По количеству баллов оценивали уровень стрессоустойчивости: 0,5-6,7 баллов – высокий; 6,8-14,1 - хороший; 14,2-

24,1 – удовлетворительный. Результаты исследования при помощи компьютерной программы «STATISTIKA 6,0» определяли на нормальность распределения и обрабатывали параметрическими методами.

### Результаты

Результаты исследования в исходном состоянии и через неделю в группе сравнения имели нормальное распределение. В исходном состоянии у испытуемых отмечался удовлетворительный и хороший уровни стрессоустойчивости. Через неделю количество лиц с удовлетворительным и хорошим уровнями стрессоустойчивости не изменялось (таблица 1).

Таблица 1.

### Уровни стрессоустойчивости студентов группы сравнения по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Удовлетворительный	n	26	26
	M	18,7	18,6
	±m	0,3	0,4
	SD	1,4	2,1
	P		>0,05
Хороший	n	23	23
	M	11,3	10,9
	±m	0,4	0,4
	SD	1,7	1,8
	P		>0,05

До 2 сеансов ТЭС терапии у испытуемых отмечался только удовлетворительный уровень стрессоустойчивости. После 2 сеансов ТЭС терапии 17 человек оставались с удовлетворительным уровнем стрессоустойчивости, а 19 имели хороший уровень стрессоустойчивости (таблица 2). Данные до и после 2 сеансов ТЭС имели нормальное распределение.

Таблица 2.

### Уровни стрессоустойчивости студентов по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона после 2 сеансов ТЭС

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Удовлетворительный	n	36	16
	M	17,9	17,5
	±m	0,4	0,6
	SD	2,5	2,3
	P		>0,05
Хороший	n	0	20
	M		12,0
	±m		0,2
	SD		0,9
	P		

До 5 сеансов ТЭС испытуемые были с удовлетворительным и хорошим уровнями стрессоустойчивости. После 5 сеансов ТЭС терапии количество лиц с удовлетворительным уровнем стрессоустойчивости уменьшалось на 12 человек, а лиц с хорошим уровнем стрессоустойчивости увеличивалось на 12 человек (таблица 3). Данные до и после 5 сеансов ТЭС имели нормальное распределение. Количество баллов после ТЭС достоверно уменьшалось на 14,1%, что свидетельствовало о повышении уровня стрессоустойчивости. Гендерных различий не было.

**Уровни стрессоустойчивости студентов  
по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона после 5 сеансов ТЭС**

Уровни стрессоустойчивости	Статистические показатели	Исходное состояние	Через неделю
Удовлетворительный	n	26	14
	M	18,0	18,0
	±m	0,5	0,7
	SD	2,6	2,6
	P		>0,05
Хороший	n	16	28
	M	12,8	11,0
	±m	0,2	0,3
	SD	0,8	1,7
	P		<0,001

Таким образом, после 5 сеансов ТЭС в неделю уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов медицинского вуза обоего пола повышался и соответствовал по шкале теста С. Коухена и Г. Виллиансона хорошему уровню.

#### Литература

1. Новгородцева И.В., Мусихина С.Е., Пьянкова В.О. Учебный стресс у студентов-медиков: причины и проявления. *Медицинские новости*. 2015; 8: 75-77. [Novgorodtseva I.V., Musikhina S.E., Pyankova V.O. Studying stress in medical students: reasons and development. *Medicinskie novosti*. 2015; 8: 75-77. (In Russ.)].

2. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Нарыжная А.В., Пей Жан-Минг, Колар Ф., Жанг И., Портниченко А.Г., Ванг Х. Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям, перспективы клинического применения опиоидных пептидов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012; 6: 74-82. [Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Naryzhnaya A.V., Pej Zhan-Ming, Kolar F., Zhang I., Portnichenko A.G., Vang H. Endogenic opioid system as a chain in prompt and long-term body adaptation to extreme exposure, prospects of clinical application of opioid peptides. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2012; 6: 74-82. (In Russ.)].

3. Каде А.Х., Туровая А.Ю., Губарева Е.А., Вчерашнюк С.П., Ковальчук О.Д. Влияние ТЭС-терапии на динамику клинических показателей у студентов со стресс-индуцированной артериальной гипертензией. *Успехи современного естествознания*. 2011. 5: 131. [Kade A.Kh., Turovaya A.Yu., Gubareva E.A., Vcherashnyuk S.P., Kovalchuk O.D. The influence of the TES-therapy on the dynamics of clinical indices in students with stress induced arterial hypertension. *Uspehi sovremenno estestvoznaniya*. 2011. 5: 131. (In Russ.)].

4. Каде А.Х., Ковальчук О.Д., Туровая А.Ю., Губарева Е.А. Возможность применения транскраниальной электростимуляции для купирования стресс-индуцированной артериальной гипертензии у студентов вузов. *Фундаментальные исследования*. 2013. 5-1: 79-81; URL: <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31463> (дата обращения: 22.01.2018). [Kade A.Kh., Kovalchuk O.D., Turovaya A.Yu., Gubareva E.A. Possibility to use transcranial electrostimulation to neutralize stress induced arterial hypertension in university students. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013. 5-1: 79-81; URL: <https://www.fundamental-research.ru/ru/article/view?id=31463> (data obrashheniya: 22.01.2018). (In Russ.)].

5. Занин С.А., Каде А.Х., Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г., Плотникова В.В., Шаров М.А., Азаркин Е.В., Кочарян В.Э. ТЭС-терапия. Современное состояние проблемы. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 1: 58. [Zanin S.A., Kade A.Kh., Kadomcev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G., Plotnikova V.V., Sharov M.A., Azarkin E.V., Kocharyan V.E. TES-therapy. Current state of the problem. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; 1: 58. (In Russ.)].

6. Зюзина Н.А., Елисеева Л.Н., Каде А.Х. Повышение эффективности гипотензивной терапии с помощью транскраниальной электростимуляции. Сборник Лебедев В.П., редактор. *Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования*. СПб.



2009. 237-244. [Zyuzina N.A., Eliseeva L.N., Kade A.Kh. *Improvement of efficiency of hypotensive therapy with the help of transcranial electrostimulation. Sbornik Lebedev V.P., editor. Transkrani-al'naja jelektrostimuljacija. `Eksperimental'no-klinicheskie issledovaniya. Saint-Petersburg. 2009. 237-244. (In Russ.)].*

#### **Stress resistance assesment after transcranial electrostimulation**

*Achedzhak-Naguze Saida Kazbekovna, Ph.d., Associate Professor, Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment, Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work of FSBEI HE KubSMU, Ministry of Health Care of the Russian Federation, Krasnodar, Russia, Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine  
tel: 89182468989 E-mail: naguzesk@mail.ru, <http://www.kisma.ru/>  
350063 Russian Federation, Krasnodar, 4, Sedin str.*

*S. Coukhen and G. Willianson test was used for the assessment of the influence of transcranial electrostimulation(TCS) on the stress resistance of medical students. After 5 TCS a week the level of stress reisistance in healthy students (both boys and girls) increased according to the scale of S. Coukhen and G. Willianson test.*

*Key words: stress resistance, transcranial electrostimulation.*

УДК 616.314.2 + 617.52] – 007-0532

#### **АНАЛИЗ МЕДИКО-СОЦИАЛЬНЫХ АСПЕКТОВ ДЕТЕЙ С АНОМАЛИЕЙ РАЗВИТИЯ ГОЛОВЫ И ШЕИ**

*Татьяна Афанасьевна Ковелина, зав. кафедрой, доктор философских наук, профессор  
E-mail : [filosof-kgmu@yandex.ru](mailto:filosof-kgmu@yandex.ru) , <http://sp-kgmu.ru>*

*Гурбич Галина Ивановна, к.м.н., доцент, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, ка-  
федра общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины  
e-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru) , <http://sp-kgmu.ru>*

*Васильев Юрий Анатольевич, ассистент, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, ка-  
федра общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины  
e-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru) , <http://sp-kgmu.ru>*

*Плотникова Екатерина Юрьевна, неонатолог, МБУЗ Родильный дом*

В своем исследовании мы исходили из того, что наличие врождённой аномалии челюстно-лицевой области – это не только медицинская, но и социальная проблема. Дети стесняются своего дефекта, окружающие насмеваются, одноклассники не всегда милосердны. Уродство ребёнка бывает причиной распада семьи, что ведёт к сложной материальной ситуации одинокой матери с больным ребёнком. В связи с ростом неполных семей, где единственным работающим и воспитывающим субъектом становится мать, формируется социальная среда, которую можно рассматривать как рискованный фактор появления различных патологий ребенка.

Ключевые слова: дети, челюстно-лицевая область, социальная среда, семейно-бытовой аспект.

Актуальность медико-социального исследования детей с аномалией развития челюстно-лицевой области обусловлено рядом причин социального характера: наблюдается рост данной патологии, которая препятствует процессу социализации детей и подростков, деформирует психику ребенка, негативно влияет на развитие его коммуникативных возможностей [1,4,8,9].

В своем исследовании мы исходили из того, что наличие врождённой аномалии челюстно-лицевой области – это не только медицинская, но и социальная проблема. Дети стесняются своего дефекта, окружающие насмеваются, одноклассники не всегда мило-

сердны. Уродства ребёнка бывает причиной распада семьи, что ведёт к сложной материальной ситуации одинокой матери с больным ребёнком. В связи с ростом неполных семей, где единственным работающим и воспитывающим субъектом становится мать, формируется социальная среда, которую можно рассматривать как рискованный фактор появления различных патологий ребенка [Пуниной М.А., Чижовой Ж.Г., Шестаковой В.Н. 2010]. Кроме того, за период с 2000 года наблюдается рост детей-сирот, оставшихся без попечения родителей, по причине лишения матери и отца родительских прав. И несмотря на развитие сети государственной помощи и размещение таких детей в детских домах и социально-реабилитационных центрах, состоянии здоровья детей крайне неудовлетворительно, что в свою очередь, не способствует их успешной социализации [2,10]. Так же в качестве важнейшей причины низкого уровня здоровья детей этой категории является переживаемый ими депривационный синдром, связанный с невозможностью или лишением ребенка удовлетворить свои социокультурные жизненно важные потребности и возможности в негативной семейно-бытовой обстановке [3].

Индикатором условий макро и микросреды развития ребёнка, являются врождённые пороки развития (ВНР). Так, в настоящее время отмечается рост врождённых пороков развития в структуре причин младенческой смертности, детской заболеваемости и инвалидности как в РФ, так и в мире. Рост описанной ситуации усугубляется.

Несмотря на то, что изучения медицинского и социального аспектов детей с аномалией челюстно-лицевой области имеет глубокие исторические корни [Топольницкий О.З., 2016, Чуйкин С.В. 2016, Рогинский А.И., 2015], в настоящее время еще существует ряд нерешенных проблем, в частности, зависимость заболеваний от семейно-бытового окружения, рода деятельности родителей, полноты семьи [11,12]. Наше исследование может внести посильный вклад в приращение знаний в этой области медико-социального познания. Отсюда следует и **цель данной работы** – раскрыть тенденции зависимости челюстно-лицевой патологии от семейно-бытового окружения и социального статуса родителей [5,6,7].

Методы исследования – описательный, аналитический, статистический. Так же применялся метод сравнительного анализа 2-х групп пациентов: 1) больные плановой госпитализации и 2) относительно здоровые дети экстренной госпитализации. **База исследования** - узкоспециализированное отделение Краснодарской краевой детской клинической больницы пятого уровня. Период исследования - 2013-2015 годы.

Изучены 1484 медицинские карты детей форма 003у №1030 (506; 548; 430) за 2013, 2014, 2015 годы соответственно. Выделено две группы. Основная и контрольная группы по 742 медицинских карт детей, находившихся в отделении ЧЛХ с 2013, 2014, 2015 годами. Группа А - это дети с врождёнными аномалиями челюстно-лицевой области. Группа Б – это дети попавшие в отделение по экстренным показаниям с заболеваниями челюстно-лицевой области. Совокупная выборка составила 1484 медицинские карты. Проанализированы заполнение титульного листа медицинских карт по семейному статусу, заполняющиеся в приёмном отделении. В них фиксируется наличие родителей ребёнка, отношение их к общественно полезному труду, и др. Мы выявили полные семьи, детей декретированной группы, фамилии ребёнка и родителей совпадают либо нет, отношение к общественно-полезному труду. Таблица 1

Социальный статус семей, обратившихся за медицинской помощью в узкоспециализированное отделение

Краснодарской краевой детской клинической больницы

Группы исследования	Годы исследования	МАТЬ запись в форме 003у№1030				ОТЕЦ запись в форме 003у№1030				Из них полная семья %	Декретированные (социальные) дети %	∑ абс/ед
		ФИО одинаково		ФИО разное		ФИО одинаково		ФИО разное				
		Раб %	Не-раб %	Раб %	Не-раб %	Раб %	Не-раб %	Раб %	Не-раб %			

			%		%		%		%			
А	2013	25	56	4	11	9	3	0,3	0	13	1,9	253
	2014	25	58	4	8	1	1	0	0,7	0	0,7	274
	2015	14	60	6	14	0,9	1	0	0,4	0	0,4	215
Б	2013	28	42	4	10	16	8	0,3	0,3	18	5,1	253
	2014	31	45	3	8	3	2	0	0,7	0	4,37	274
	2015	23	47	4	12	4	4	0	0	0	3,2	215/

Из таблицы №1 в 2015 году сократилось количество обращений к врачу в группе А и группе Б, по сравнению с 2013 и 2014 годами, также сократилось количество обращений декретированных детей с данной патологией. Наблюдается тенденция увеличения числа детей обеих групп, мать которых не работает: в группе А в 2015 их было 60%, а в группе Б – 47%. Это свидетельствует о необходимости повышенной ответственности семьи и улучшения её материального благополучия. В то же время, заполнение медицинских карт больного ребенка не является достаточно полным, ибо отсутствуют записи о роде деятельности родителей, что затрудняет определить социальный статус семьи как фактор влияния на здоровье ребенка. Кроме, того такие сведения необходимы для корреляции работы медучреждений и органов социальной опеки, для разработки методик работы с такими детьми и совершенствования социальной политики как в области поддержки семей, так и в области практического здравоохранения.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: изучение первичной медицинской документации это источник информации для изучения вопросов, касающиеся стратегического прогнозирования, развития и совершенствования не только отрасли, но и национальной безопасности РФ. Отсутствие достоверной информации ведёт к искажению реальной картины изучаемого явления. В нашем исследовании мы столкнулись с неполной информацией о социальном положении семьи.

Работа выполнена при частичной поддержке программы РФФИ (проект № 16-44-230636 р\_а) и Администрации Краснодарского края.

### Литература

1. Васильев Ю.А., Гуленко О.В., Брешенко Л.В., Трофимова Е.Ю. Социально-экономическое положение семей, имеющих детей-инвалидов// Материалы V Всероссийской научно-практической конференции «Врождённая и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения» МГМСУ, 2016. С.34-36.
2. Григорьев К.И. Адаптация и стресс в детском возрасте. - М.: МЕДпресс-информ, 2014.- С.253.
3. Гуленко О.В., Волобуев В.В., Хагурова С.Б., Фарапонова Е.А.. / Уровень стоматологического комплаенса у детей с психоневрологическими расстройствами / Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 3-4. С. 571-578.
4. Дубровская Т.А. Адаптация и реабилитация детей с ограниченными возможностями здоровья. Учебное пособие/ Т.А.Дубровская, М.В.Воронцова, В.С.Кукушин. –М.: РГСУ, 2014. – С.205.
5. Крюкова Т.Л., Куфтяк Е.В. Опросник способов совпадения (адаптация методики WCQ) / Журнал практического психолога. М.; 2007. №3. С.93-112.
6. Редько А.Н., Васильев Ю.А., Удина И.Г. /Исследование изменчивости морфофизиологических признаков у детей с врождёнными расщелинами губы и нёба и особенностей распределения возраста их матерей в Краснодарском крае / В сборнике: Актуальные проблемы общественного здоровья и здравоохранения. 2014. С. 85-91.
7. Редько А.Н., Войцехович Б.А. / Динамика здоровья населения Краснодарского края: медико-демографические аспекты / Бюллетень Научно-исследовательского института социальной гигиены, экономики и управления здравоохранением им. Н.А.Семашко. 2002. №4. С. 39-43.
8. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Грачёва А.С., Победоносцева Е.Ю., Гуленко О.В., Курбатова О.Л. / Распространённость врождённых расщелин губы и / или нёба в Краснодарском крае /

В сборнике: Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии / материалы Международной конференции: Весенняя сессия. Под редакцией Е.Л.Глориозова. 2015. С. 388-396.

9. Удина И.Г., Гуленко О.В. Молекулярно-генетические механизмы развития кариеса / Генетика, 2018, 54,4,с.426-434. DOI:10.7868/S0016675818040045

10. Хлобыстова Т.В., Жидких Б.Д., Локтионова А.Ю./ Уровень преодоления жизненных трудностей матерями дети которых имеют врождённые пороки развития // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции «Врождённая и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения» МГМСУ, 2012. С.356-357.

11. Шестакова В.Н., Кузьмич С.А., Глазырина О.В., Марченкова Ю.В., Пунина М.А. Состояние здоровья детей дошкольного возраста, воспитывающихся в неблагополучных семьях// Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2012. - №2. – С.21-24.

12. Shlzhenko V.I., Gushchina S.S., Verapatveijan A.F., Vasiljev J.A., Nikitina J.I. / UPPER RIDGE DEFECT AUTOOSTEOPLASTIY IN CHILDREN WITH CONGENITAL CLEFI LIP AND PALATE // European Journal of Natural History. 2007. №5. С.64-66.

#### **Medico-social analysis of children with anomaly of head and neck development**

*Kovelina Tatyana Afanasyevna, head of the department. Chair, Doctor of Philosophy, Professor, telephone 8 (861) 268-55-40, ext. 246, e-mail: filosof-kgmy@yandex.ru, http://sp-kgmu.ru, 350063, Krasnodar, 4, Sedina Street.*

*Gurbich Galina Ivanovna, Ph.D., Associate Professor, FGBOU V KubGMU of the Ministry of Health of Russia, Department of Public Health, Health and Medical Sciences, phone 89010083888, e-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru), http://sp-kgmu.ru, 350063, Krasnodar, ul.Sedina, 4.*

*Vasiliev Yuri Anatolyevich, assistant, FGBOU V KubGMU Ministry of Health of Russia, Department of Public Health, Health and Medicine Istria. Phone 89010083888, e-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru), http://sp-kgmu.ru, 350063, Krasnodar, Sedina St., 4.*

*Plotnikova Ekaterina Yurievna, neonatologist, MBZU Maternity hospital, 350063, Krasnodar, Rashpilevskaya str., 16.*

*Annotation. In our study, we proceeded from the fact that the presence of a congenital anomaly of the maxillofacial region is not only a medical, but also a social problem. Children are embarrassed by their defect, those around mock, classmates are not always merciful. The ugliness of the child is the reason for the breakup of the family, which leads to a difficult material situation of a single mother with a sick child. In connection with the growth of incomplete families, where the only working and educating subject becomes a mother, a social environment is formed, which can be regarded as a risk factor for the appearance of various pathologies of the child.*

*Key words: children, maxillofacial area, social environment, family-household aspect.*

УДК 616.716.1/716/4-053.2:575(470.62)

#### **СОПУТСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЁННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ЧЕЛЮСТНО - ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ В КРУПНОМ РЕГИОНЕ РФ**

*Андрей Николаевич Редько, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины кафедра общественного здоровья  
E-mail: [RedkoAN@ksma.ru](mailto:RedkoAN@ksma.ru)*

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России  
350063, Краснодар, ул. Седина, д.4.  
<http://ksma.elpub.ru>*

**Валентина Владимировна Пильщикова**, к.м.н., доцент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины  
E-mail: pilshchikova v.@bk.ru, <http://sp-kgmu.ru>

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России  
350063, Краснодар, ул. Седина, д.4.  
<http://ksma.elpub.ru>

**Юрий Анатольевич Васильев**, ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины  
E-mail: yurii-59@mail.ru, <http://sp-kgmu.ru>

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России  
350063, Краснодар, ул. Седина, д.4.  
<http://ksma.elpub.ru>

*Представлены результаты сравнительного анализа выявленной сопутствующей патологии в группах пациентов с ВПР ЧЛО и без них, которые находились на стационарном лечении в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, за период 2013-2015гг. Впервые приведена оценка показателей группового и популяционного риска развития сопутствующей патологии у детей и подростков с ВПР ЧЛО.*

*Ключевые слова: врожденные пороки развития челюстно-лицевой области, сопутствующая патология, показатели риска, дети и подростки.*

Одной из актуальных проблем современной неонатологии и, в целом, педиатрии является раннее выявление врожденных аномалий развития. Высокая распространенность и многообразие форм, последующая усугубляющаяся ситуация и, нередко, их предопределенность обуславливают особую значимость качества диагностики врожденных пороков [1,2,4,6]. Своевременно проведенная пренатальная, постнатальная диагностика данной патологии позволяет существенно повысить достоверность прогноза и предрешить исход диагностируемого порока развития, усугубление которого ведет к развитию опасных для жизни и необратимых осложнений [3,5].

Среди аномалий развития, ранняя диагностика и качественная коррекция которых служит решающим фактором профилактики тяжелой сопутствующей патологии, одно из ведущих мест занимают врожденные пороки челюстно-лицевой области (ВПР ЧЛО). В Краснодарском крае они входят в число наиболее распространенных врожденных пороков: их частота составляет в среднем 1 на 750 новорожденных, что обуславливает необходимость всестороннего изучения клинико-эпидемиологических аспектов как самой патологии, так и провоцируемых ею сопутствующих заболеваний, значительно усугубляющих состояние больных [7,8].

Целью настоящего исследования явилась оценка влияния ВПР ЧЛО на формирование различных видов сопутствующих заболеваний у детей и подростков в возрасте 0-17 лет. Для этого нами проведен сравнительный анализ выявленной сопутствующей патологии в двух группах пациентов, находившихся на стационарном лечении в узкоспециализированном отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края, за период 2013-2015гг.

В первую (исследуемую) группу вошли больные с ВПР ЧЛО, находившиеся на хирургическом этапе реабилитации. При этом учитывались аномалии челюстно-лицевой области, входящие в перечень Международного регистра врожденных пороков развития,

обязательных для регистрации (врожденные несращения губы и нёба). Вторая (контрольная) группа сформирована из пациентов без ВПР ЧЛО, госпитализированных в экстренном порядке и прошедших стационарное лечение в этом же отделении. Число больных в исследуемой и контрольной группах было равным и составило в 2013г. по 253 человека, в 2014г. – по 274 человека, в 2015г. – по 215 человек. В каждой из групп были выделены возрастные интервалы 0-7 лет и 8-17 лет.

Материалами для исследования послужили «Медицинские карты стационарных больных» (ф. №003/у) отделения челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края за изучаемый период.

Согласно полученным результатам, доля больных с ВПР ЧЛО, имеющих сопутствующие заболевания, за все изучаемые годы была достоверно выше таковой в контрольной группе (табл. 1). Несмотря на то, что данный показатель за рассматриваемый период сократился в исследуемой группе более чем на треть, а в контроле лишь на 14%, различие изучаемых групп по этому параметру продолжало оставаться существенным и составило более 70% ( $p \leq 0,001$ ).

Таблица 1

Распределение больных исследуемой и контрольной групп по наличию у них сопутствующей патологии за период 2013-2015гг. (в %)

Годы	Доля больных, имеющих сопутствующую патологию		Доля больных без сопутствующей патологии	
	исследуемая группа	контрольная группа	исследуемая группа	контрольная группа
2013	36,4	18,6	63,6	81,4
2014	31,0	17,9	69,0	82,1
2015	27,4	16,3	72,6	83,7

Дифференцированное изучение отдельных видов сопутствующей патологии показало, что в исследуемой группе доминируют болезни органов дыхания (в среднем 25,9% за изучаемый период), сердечно-сосудистой и костно-мышечной систем (по 19,6%), а также желудочно-кишечного тракта (8,4%), причем, если первые два вида патологии преобладают у детей дошкольного возраста, то последние – у школьников (табл. 2).

Напротив, в структуре выявленной сопутствующей патологии у больных контрольной группы более половины составили болезни нервной системы (57,4%). Это явление обусловлено, главным образом, наличием в анамнезе неврологического заболевания фактов отказа детей в поддержании гигиены и прохождении санации полости рта, что увеличивает частоту случаев осложненного кариеса, требующего стационарного хирургического лечения. Каждый шестой пациент контрольной группы имел бронхо-легочные заболевания (17,4%). Остальные виды сопутствующей патологии составили не более 5% каждый. При этом достоверных различий в структуре патологии по выделенным возрастным интервалам контрольной группы не выявлено.

Таблица 2

Удельный вес сопутствующей патологии и ее структура у больных исследуемой и контрольной групп за период 2013-2015гг. (в % к итогу по возрастным интервалам)

Наличие сопутствующей патологии	2013 год				2014 год				2015 год			
	исследуемая группа		контрольная группа		исследуемая группа		контрольная группа		исследуемая группа		контрольная группа	
	0-7 лет	8-17 лет	0-7 лет	8-17 лет	0-7 лет	8-17 лет	0-7 лет	8-17 лет	0-7 лет	8-17 лет	0-7 лет	8-17 лет
Болезни нервной системы	15,0	25,0	36,4	50,0	13,5	36,4	45,7	71,4	7,5	0,0	62,0	78,6

Болезни костно-мышечной системы	3,3	41,7	12,1	7,1	0,0	0,0	2,9	7,1	5,7	66,6	0,0	0,0
Болезни желудочно-кишечного тракта	5,0	8,3	3,0	21,6	14,9	0,0	2,9	0,0	5,7	16,7	19,0	0,0
Болезни ЛОР-органов	3,8	16,7	12,1	7,1	9,5	0,0	11,4	0,0	9,4	0,0	0,0	0,0
Болезни сердечно-сосудистой системы	37,5	8,3	6,1	0,0	20,3	36,4	2,9	0,0	15,1	0,0	0,0	0,0
Болезни органов дыхания	32,5	0,0	21,2	7,1	35,1	18,2	28,5	21,5	52,8	16,7	19,0	7,1
Прочие болезни	2,4	0,0	9,1	7,1	6,7	9,0	5,7	0,0	3,8	0,0	0,0	14,3
Всего	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<b>47,4</b>	<b>30,0</b>	<b>21,0</b>	<b>14,6</b>	<b>31,6</b>	<b>27,5</b>	<b>18,3</b>	<b>16,9</b>	<b>29,3</b>	<b>17,6</b>	<b>14,5</b>	<b>20,0</b>
<b>Без сопутствующей патологии</b>	<b>52,6</b>	<b>70,0</b>	<b>79,0</b>	<b>85,4</b>	<b>68,4</b>	<b>72,5</b>	<b>81,7</b>	<b>83,1</b>	<b>70,7</b>	<b>82,4</b>	<b>85,5</b>	<b>80,0</b>
<b>Итого</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

ВПР ЧЛЮ, являясь результатом сложного взаимодействия фенотипических особенностей со средой, реализуемых на том или ином генотипическом фоне, сами служат серьезным фактором риска, который, нарушая действие компенсаторно-приспособительных механизмов, способствует возникновению и развитию различных заболеваний у детей и подростков.

Известно, что риск развития патологии определяют эмпирическим путем, анализируя закономерности совместного изменения в популяции различных факторов и уровня заболеваемости, однако, поскольку риск заболевания не является независимой величиной и всегда связан с конкретным фактором, он может быть оценен с помощью различных приемов.

С этой целью нами использованы эпидемиологические показатели группового (абсолютный и относительный риск) и популяционного риска (абсолютный популяционный риск и популяционная фракция абсолютного риска) развития выявленных нами основных видов сопутствующей патологии у детей и подростков при наличии ВПР ЧЛЮ.

Судя по полученным результатам, величина абсолютного популяционного риска за изучаемый период сократилась почти в 1,5 раза, что, в целом, согласуется с аналогичной динамикой величины абсолютного риска в групповом исследовании (табл. 3).

Тем не менее для оценки доли рассмотренных видов сопутствующей патологии, связанных с ВПР ЧЛЮ, по отношению к общей частоте данных заболеваний в популяции детей и подростков, нами использована популяционная фракция абсолютного риска. Ее уровень на протяжении всего исследуемого периода существенно не менялся, свидетельствуя о достаточно стабильном вкладе ВПР ЧЛЮ в формирование популяционного здоровья детского населения Краснодарского края.

Таблица 3

Показатели группового и популяционного риска развития сопутствующей патологии у детей и подростков при наличии ВПР ЧЛЮ

Показатели риска	2013	2014	2015
<b>Показатели группового риска</b>			
Абсолютный риск	17,8	13,1	11,1
Относительный риск	1,95	1,73	1,68

Показатели популяционного риска			
Абсолютный популяционный риск	2,55	1,92	1,74
Популяционная фракция абсолютного риска	0,017	0,016	0,015

Таким образом, ВПР ЧЛЮ привносят весомое дополнение в структуру причин детской заболеваемости, являясь значимым фактором риска развития различных видов сопутствующей патологии. Учитывая, что лечение большинства таких пациентов сопряжено с большими затратами, становится очевидной необходимость ранней качественной диагностики ВПР ЧЛЮ, а также четкое соблюдение преемственности между медицинскими организациями в процессе выявления и ведения таких больных.

Кроме того, в этих условиях особое значение приобретает унифицированный подход к регистрации рассматриваемой патологии, позволяющий получать полную достоверную информацию с включением ее в единый реестр и дальнейшей интеграцией в ведомственный электронный документооборот, что обеспечивает возможность доступа к ней любого специалиста, вовлечённого в процесс реабилитации ребенка с ВПР ЧЛЮ.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

1. У каждого третьего ребенка (36,1%) и каждого четвертого подростка (25,0%), госпитализированных для хирургической коррекции врожденных несращений губы и нёба, выявлена сопутствующая патология, среди которой доминируют болезни органов дыхания, сердечно-сосудистой и костно-мышечной систем, желудочно-кишечного тракта.

2. Впервые изученные показатели группового и популяционного риска свидетельствуют о существенном вкладе, который вносят ВПР ЧЛЮ в развитие выявленных нами доминирующих видов сопутствующей патологии у детей и подростков.

3. Своевременная диагностика и коррекция ВПР ЧЛЮ с использованием унифицированного подхода к регистрации данной патологии, а также включение полученной информации в единый реестр с обеспечением доступа к нему специалистов на каждом этапе реабилитации таких больных позволят снизить риск развития сопутствующей патологии, значительно усугубляющей состояние пациентов, и улучшить прогноз.

*Работа выполнена при частичной поддержке программы РФФИ (проект № 16-44-230636 р\_а) и Администрации Краснодарского края.*

### Литература

1. Антонов О.В. Эпидемиологический мониторинг врожденных пороков развития у новорожденных детей в Омске// Сибирский медицинский журнал. – 2006. - №1. – С. 35-38.
2. Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н. и др. Анализ результатов раннего пренатального скрининга, выполняющегося по приоритетному национальному проекту «Здоровье» в субъектах Российской Федерации// Медицинская генетика. – 2014. - №13(64). – С. 3-55.
3. Ионова С.Г., Цимбалова И.П., Сидорова А.В. Результаты пренатальной диагностики врожденных пороков сердца с использованием комплексного подхода к эхокардиографии плода// Пренатальная диагностика. – 2002. – Т.1, №2. – С. 103-105.
4. Лурье И.В., Николаев Л.Д. Врожденные пороки развития в системе генетического мониторинга// Генетика. – 1983. – Т.19, №1. – С. 165-169.
5. Ромеро Л., Пилу Д., Дженти Ф., Хоббис Д.С. Пренатальная диагностика врожденных пороков развития плода. – М., 1994. – 54с.
6. Удалова О.В. Региональный мониторинг врожденных пороков развития в оценке пренатального биохимического скрининга/ Современные технологии в педиатрии и детской хирургии. – М., 2009. – С. 92-97.
7. Удина И.Г., Гуленко О.В. Молекулярно-генетические механизмы развития кариеса / Генетика, 2018, 54,4,с.426-434. DOI:10.7868/S0016675818040045



8. Редько А.Н., Губарев С.В. / Анализ динамики показателей заболеваемости и распространённости наркологических расстройств, связанных с алкоголем, в Краснодарском крае. // Международный журнал прикладных и функциональных исследований. 2015. № 3-4. С. 661-666.

### **Congenital anomalies as a risk factor for comorbidity**

*Redko Andriy Nikolayovych, doctor of KSMU Ministry of health of Russia, MD, Professor, head of the Department of public health, public health and history of medicine Department of public health E-mail: RedkoAN@ksma.ru , <http://sp-kgmu.ru>, 350063, Krasnodar, Sedina str., 4.*

*Pilshikov Valentina Vladimirovna, doctor of Kuban state medical University of Minzdrav of Russia, PhD, associate Professor of public health and history of medicine, E-mail: pilshchikova v.@bk.ru, <http://sp-kgmu.ru> , 350063, Krasnodar, Sedina str., 4.*

*Vasiliev Yuri A., assistant Professor, FSBEI kubgmu Minzdrava Rossii, Department of public health and history of medicine. phone 89010083888, e-mail: yurii-59@mail.ru , <http://sp-kgmu.ru>, 350063, Krasnodar, Sedina str., 4.*

*Federal state budgetary educational institution of higher professional education "Kuban state medical University" of the Ministry of health of Russia (FSBEI kubgmu Minzdrava Rossii), Krasnodar, 350063, ul Sedina, d. 4 <http://ksma.ru>*

*The results of comparative analysis revealed comorbidity in a group of patients with malformations of FACE and without them, who were hospitalized in Department of maxillofacial surgery of GBUZ "Children's regional clinical hospital" of Ministry of healthcare of Krasnodar region for the period 2013-2015. The performance evaluation group and population risk of development of comorbidity in children and adolescents with malformations of FACE.*

*Key words: congenital malformations of the maxillofacial region, comorbidity and risk indicators children and adolescents.*

УДК613.952

### **ОПЫТ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ВРЕДНОЙ ПРИВЫЧКИ У ДЕТЕЙ ДО ПОЛУТОРА ЛЕТ**

**Рудольф Константинович Карипиди, к.м.н., доцент**

E-mail: [kubmedvestnik@gmail.com](mailto:kubmedvestnik@gmail.com)

**Юрий Анатольевич Васильев, ассистент**

E-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru)

**Анжела Францевна Верапатвелян, к.м.н., доцент**

E-mail: [angvic@mail.ru](mailto:angvic@mail.ru)

**Юрий Юрьевич Васильев, врач-анестезиолог-реаниматолог**

E-mail: [Yurii-59@mail.ru](mailto:Yurii-59@mail.ru)

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России  
350063, Краснодар, ул. Седина, д.4.  
<http://ksma.ru>*

Мощным рефлексом новорождённых детей является – сосательный, формирующийся у ребёнка с рождения. Для удовлетворения этого рефлекса ребёнок вкладывает в

рот, как правило, большой палец одной или двух рук, а порою и кулачки рук. Если сосательный рефлекс не удаётся нейтрализовать, то это может привести в последующем к формированию зубочелюстных аномалий и деформации, нарушению роста челюстей, и функции дыхания, осанки для исправления которых требуется время, использование дорогостоящих ортодонтических устройств. Наш опыт работы с новорождёнными позволил запатентовать полезную модель, предупреждающую сосание новорождёнными своих пальцев и кисти рук.

*Ключевые слова:* дети, вредные привычки, предупреждение, профилактика, аномалия зубо челюстно-лицевой системы.

В арсенале врача – (ортодонта и стоматолога) имеется выбор методов, различных устройств и приспособлений, препятствующих сосанию пальцев руки [9,11,12]. Однако все они громоздки, сложны, неудобны и малоэффективны. Это привело к необходимости их усовершенствования.

Известно, (см. там же) что некоторые родители стремятся устранить вредную привычку, путём нанесения специального защитного лака на ногти ребёнка. Лак имеет неприятный вкус препятствующий сосанию пальцев ребёнком. Недостатком такого метода является его токсическое воздействие на организм, устойчивые аллергические реакции, приводящие к извращению вкусовых рецепторов и др. Аналогом описанного метода является повязка на палец. Выполняется она из лейкопластыря, что естественно является источником внесения инфекции, в полость рта, т.к. ребёнок игнорирует такой способ нейтрализации безусловного рефлекса и продолжает сосать палец обвёрнутый лейкопластырем [10].

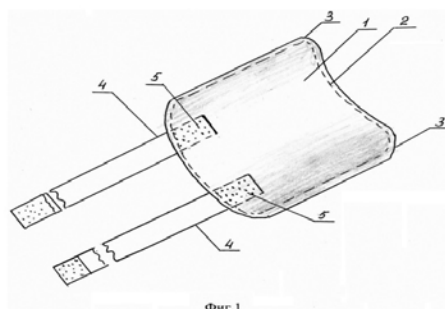
Цель исследования показать эффективность запатентованного нами устройства, предотвращающего рефлекс «сосания пальца» у ребёнка в системе ранней профилактики зубочелюстной аномалии и деформации.

Задачи: создать ребёнку условия, при которых невозможно выполнить сформировавшуюся или формирующуюся вредную привычку сосания своего пальца или кулачка

Материалы и методы. Дети с врождёнными аномалиями челюстно-лицевой области, находившиеся под наблюдением, на этапе реабилитации.

Для устранения вредной привычки сосания у детей, предложено устройство [7] состоящее из жесткой вогнутой полиэтилентерефталатовой съёмной прямоугольной пластины с памятью формы, облегающей локтевой сустав руки ребёнка с внутренней стороны исключающей возможности полного сгибания руки и введения в полость рта пальцев или кулачка. При этом углы пластины закруглены, пластина заключена в мягкую ткань снабжённую застёжкой – на ленте (липучкой) размером 4÷6 см. Приспособление защищает от развития вредной привычки сосания пальца или кулачка. Исключен травматизм и инфицирование ребёнка per os, а так же аллергизация. Приспособление схематично изображено на фиг. 1 где: 1- общий вид приспособления, 2 – пластинка с памятью формы, 3 – чехол из мягкой ткани, 4 – лента, 5 – застёжки - липучки. Предварительно используют вогнутую пластину (п.2) размером 4÷6 см. (в зависимости от объёма руки ребёнка), с элементами фиксации застёжки - липучки (п.5), которые фиксируются по краям пластины, обвёртывают её мягкой тканью (п.3). Без стягивания руки ребёнка накладывают пластину на сгиб руки и фиксируют её застёжкой – липучкой (п.4). При этом ленточки облегают руку с внутренней и внешней стороны. Пластина не причиняет болевых ощущений, т.к. её углы закруглены и она обвёрнута мягкой тканью (п.3). Ребёнок при попытке ввести в рот палец или кулачок не достаёт рукой рта. Можно такое приспособление надеть на обе руки ребёнка. Постепенно у ребёнка сосательный рефлекс угасает, и он теряет сосательную привычку и необходимость в использовании предлагаемого ограничителя движения руки отпадает. В бытовых условиях такое приспособление легко сделать из края полиэтилентерефталатовой бутылки емкостью 0,33 или 0,5 мл.. Разрезав её на две половины выбирают ровный рельеф и по необходимым размерам толщины руки

ребёнка вырезают вогнутую пластину. Приспособление не обязательно использовать постоянно, а только при стремлении ребёнка ввести руки в рот. Во время кормления ребёнка приспособлением можно не пользоваться. Через две, три недели рефлекс у ребёнка будет постепенно исчезать. Приспособление апробировано на 56 детях в течение двух лет.



Предложенное устройство может использоваться неонатологами, психологами на амбулаторном и консультативном приёмах. При выписке из родильного дома, неонатолог должен информировать родителей, о необходимости профилактики вредных привычек сосания у ребёнка. До настоящего времени эта работа не проводилась[2,4,5]. В результате многие дети и родители вынуждены в последствии обращаться за помощью к врачу – ортодонт, спустя годы, когда деформация и зубочелюстная аномалия уже сформировалась. Лечение становится длительным и неприятным для ребёнка и родителей[1,3,6]. Сформированная «вредная привычка» ребёнка вызывает со временем нарушение зубочелюстной системы[8]. Вместе с тем, предупреждение и профилактика этой вредной привычки более эффективна в возрасте ребёнка до одного года.

Пример: ребёнок К., 1,5 мес. Родители принесли на консультацию в хирургическое отделение детской стоматологической поликлиники с жалобами на то, что ребёнок сосёт свои пальцы правой руки. Получено от родителей добровольное согласие на обработку персональных данных и выполнение врачебных манипуляций. An. morbi: ребёнок родился преждевременно, соматически здоровый. Кормление грудное. Родители стали замечать, что ребёнок тянет руки в рот и сосёт пальцы правой руки. Пытались туго пеленать, надевать распашонки с защитными рукавами, на палец клеить лейкопластырь – результата нет. В поликлинике по месту жительства дали совет смазывать палец зелёной. Эффекта не достигнуто. Рекомендовано использовать предлагаемое приспособление. Повторная консультация через три месяца. Спустя три месяца семья с благодарностью подтвердила, что приспособление позволило получить положительный результат: ребёнок отучился от вредной привычки.

Таким образом авторы считают, запатентованное нами приспособление в значительной мере предотвращает вредную привычку сосания пальцев или кулачка руки, что подтверждается отзывами родителей. Отмечена саморегуляция аномалий зубочелюстной системы, возникающих в результате вредной привычки сосания, если эта привычка устранена до трёх лет. Забота о профилактике аномалий челюстно-лицевой области должна осуществляться органами здравоохранения путём внедрения современных и передовых технологий. Реализуется это комплексным подходом к поставленной задаче.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проекта РФФИ №16-44-230636 р\_а Администрацией Краснодарского края.*

#### Литература

1. Алдашев М.А. Первичная профилактика основных стоматологических заболеваний у детей: Учебное пособие. – Алматы, 2004 – 143с.
2. Виноградова Т.Ф. Стоматология детского возраста: Руководство для врачей.- М.: Медицина, 1987-526с.
3. Ортодонтия: Учебное пособие для студентов стоматологического факультета, врачей – интернов/под ред.В.И.Куцевляка. – Харьков:ХГМУ, 2005.- 464С. – Рус. яз.

4. Пропедевтическая ортодонтия: учебное пособие, Ю.Л.Образцов, С.Н.Ларионов. – СПб.: Спец Лит, 2007 – 160с.
5. Редько А.Н., Васильев Ю.А., Удина И.Г. Исследование изменчивости морфофизиологических признаков у детей с врожденными расщелинами губы и нёба и особенностей распространения возраста их матерей в краснодарском крае/ В сборнике: Актуальные проблемы общественного здоровья и здравоохранения 2014.С. 85-91.
6. Хорошилкина Ф.Я., Персин Л.С., Окушко – Копашкова В.П. Ортодонтия. Профилактика и лечение функциональных, морфологических и эстетических нарушений в зубочелюстно-лицевой области. Книга IV, 2004.-460с.; 245иллю. Москва
7. Удина И.Г., Гуленко О.В. Молекулярно-генетические механизмы развития кариеса / Генетика, 2018, 54,4,с.426-434. DOI:10.7868/S0016675818040045
8. Уведомление о приёме и регистрации заявки на полезную модель «Приспособление для предупреждения развития сосания ребёнком своей руки/ Васильев Ю.Ю., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю. А., Пономаренко Т.В., Пономаренко Н.Ю. №2017132533 от 18.09.2017.
9. Шульженко В.И., Верапатвелян А.Ф. Хирургические и ортодонтические мероприятия в комплексной реабилитации детей со сквозным несращением губы и нёба.- СПб.: ООО «МЕДИ издательство», 2007.-176 с.
10. <http://vse-zabolevaniya.ru/bolezni-stomatologii-detskoj/zubnye-fnomalii.html>
11. [http://otzovik.com/review\\_233427.html](http://otzovik.com/review_233427.html)
12. <http://malish-nash.ru/viewtopic.php?id=1295>

### **The experience of neutralizing harmful habitation in children under summer year**

*Rudolf Konstantinovich Karipidi, Ph.D., Associate Professor*

*Yury Anatolievich Vasiliev, assistant*

*Angela Franzevna Verapatvelyan, Ph.D., Associate Professor*

*Yuri Yuryevich Vasilyev, anesthesiologist-resuscitator*

*A powerful reflex of newborns is sucking, which forms in a child from birth. To satisfy this reflex, the child puts into the mouth, as a rule, the thumb of one or two hands, and sometimes also the cams of hands. If the sucking reflex fails to neutralize, it can often add to the subsequent deforming of the dent-alveolar anomalies and deformities, disruption of the growth of the jaws, disruption of the breathing function, the posture for correction of which requires time to repair expensive orthopedic devices. Our experience with newborns allowed us to patented a useful model that prevents sucking newborns' fingers and hands.*

*Key words: children, bad habits, prevention, prevention, anomaly of maxillofacial area.*

УДК 577.352.335; 577.352.336

### **СТРУКТУРА МЕМБРАН И БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

*Герасимов Николай Юрьевич н.с., Неврова Ольга Викторовна м.н.с., Голощанов Александр Николаевич к.б.н, с.н.с, Бурлакова Елена Борисовна  
ИБХФ РАН, [ibcp.chph.ras.ru](mailto:ibcp.chph.ras.ru), [n.yu.gerasimov@gmail.com](mailto:n.yu.gerasimov@gmail.com)*

*В работе изучены изменения структурных характеристик мембран эритроцитов людей с болезнью Альцгеймера и параметры текучести мембран мозга мышей с экспериментальной деменцией альцгеймеровского типа.*

*Ключевые слова. текучесть мембран, спиновый зонд, структура мембран, липид-белковые взаимодействия, болезнь Альцгеймера*

**Введение.** Одной из главных и актуальных проблем выяснения механизмов, характеризующихся распадом корковых функций и ведущих к слабоумию, является проблема деменций. Причины, которые могут привести к деменции, весьма разнообразны. Наиболее частой причиной деменции в настоящее время считается болезнь Альцгеймера (БА).

Болезнь Альцгеймера является прогрессирующей нейродегенеративной патологией, характеризующейся нарушениями когнитивных функций, памяти и поведенческих расстройств. Считается, что основными патологическими характеристиками являются наличие  $\beta$ -амилоидных бляшек, нейрофибриллярных клубочков. БА, также, характеризуется выраженными нарушениями в холинэргической, а также других системах. Не менее важную роль в развитии БА играют изменения в структуре мембран, которые в последствии приводят к нарушению регуляторных функций мембран клеток. В настоящей работе было изучено структурное состояние мембран эритроцитов, выделенных из крови людей с болезнью Альцгеймера. Для выявления изменений структурного состояния мембран использовались такие характеристики, как микровязкость мембран, а также гемолиз эритроцитов и содержание малонового диальдегида (МДА) как показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Кроме того, важно было выяснить, на какой стадии развития патологии происходят изменения структуры мембран. С этой целью были изучены изменения микровязкости мембран, выделенные из мозга мышей, при развитии экспериментальной патологии, моделирующей БА, основанной на бульбэктомии (БЭ). Модель патологии была разработана в Институте биофизики клетки РАН в лаборатории Бобковой Н.В. [1].

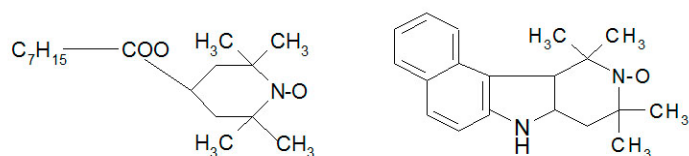
**Материалы и методы.** Субклеточные фракции выделялись по методу, описанному в работе [2].

Для выделения мембран микросомальной и грубой субмитохондриальной фракций использовали буферный раствор сахарозы в присутствии ЭДТА (0,32 М раствор сахарозы, содержащий 0,2 М трис-НС1 и 1 мМ ЭДТА, рН 7,4). Гомогенизированную ткань центрифугировали 10 мин при 1000g. Надосадочную жидкость отбирали с помощью управляемой шприцем пипетки. К осадку добавляли 0,32 М сахарозу в соотношении 1:10 к первоначальному весу ткани, суспендировали его и центрифугировали 10 мин при 1000g, осадок представляет собой неочищенную ядерную фракцию. Надосадочные жидкости объединяли и центрифугировали 20 мин при 11700 - 12000g. Образовавшуюся надосадочную жидкость декантировали, осадок суспендировали в 0,32 М сахарозе (1:10 по отношению к первоначальному весу ткани) и центрифугировали 30 мин при 12000g. В осадке получается неочищенная митохондриальная фракция. Надосадочную жидкость объединяли, центрифугировали 1 ч при 105000g. Осадок представляет собой микросомальную фракцию.

Эритроциты осаждали центрифугированием крови в охлажденном физиологическом растворе в течение 10 минут при 500g. Осажденные эритроциты отмывали 2-3 раза при тех же условиях.

Количество МДА и степень перекисного гемолиза эритроцитов определяли приготовлением 5% взвеси в трис-НС1 буфере (0,05 М трис-НС1, разведенный в физиологическом растворе 1:1, рН=7,4) по экстинкции при длине волны 532 нм [3].

В качестве зонда использовали стабильные иминоксильные радикалы (рис.1), синтезированные в ИХФ РАН им. Н.Н. Семенова.



**Рис.1.** Спиновые зонды:

I). 2, 2, 6, 6-тетраметил-4-каприлоилоксилпиперидин-1-оксил (слева)

II). 5, 6-бензо-2, 2, 6, 6-тетраметил-1, 2, 3, 4-тетрагидро-  $\gamma$ -карболин-3-оксил (справа).

Зонды вводили в раствор с мембранами в концентрации  $10^{-4}$  М и инкубировали в течение 30-40 минут. В работе [4] было показано, что зонд I преимущественно локализуется в поверхностном слое липидных компонент мембраны, а зонд II - в приобластных областях. Для удобства изложения мы в последующем будем называть зонд I "липидным", а зонд II - "белковым".

Спектры записывались при комнатной температуре (20°C). Из полученных спектров ЭПР рассчитывали время вращательной корреляции ( $\tau_c$ ) рассчитывали по формуле, приведенной в работе [5]

$$\tau_c = 6,65 \cdot 10^{-10} \cdot \Delta H_{\pm} \cdot \left( \sqrt{\frac{I_{+}}{I_{-}}} - 1 \right).$$

**Результаты и обсуждение.** Для проведения эксперимента была использована кровь 4 больных БА женщин-пациенток разного возраста. Результаты полученных данных показаны в Таблице 1.

	Гемолиз		МДА		Время вращательной корреляции	
	до инкубации	после инкубации	до инкубации	после инкубации	$\tau_L$	$\tau_P$
Контроль	1	1	1	1	1	1
№ 1 -1925 г.р. мягкая деменция	1,39	1,61	1,79	1,5	0,39	0,42
№ 2 -1945 г.р. умеренная деменция	1,52	1,25	1,24	1,71	0,53	0,48
№ 3 -1937 г.р. умеренная деменция	1,71	1,43	2,51	1,99	0,47	0,39
№ 4 -1921 г.р. умеренная деменция	1,01	1,79	2,11	1,79	0,49	0,44

**Таблица 1.** Параметры структурного состояния мембран эритроцитов больных БА в относительных единицах.

Из полученных данных видно, что микровязкость обеих областей мембран эритроцитов у всех пациентов в два раза ниже контроля. В норме изменения микровязкостей обычно разнонаправлены. Кроме того, на фоне пониженной микровязкости повышен уровень ПОЛ, о чем можно судить по показателям гемолита эритроцитов и содержанию МДА. Этот факт свидетельствует о нарушениях связей в системе регуляции ПОЛ клеточных мембран [6]. В качестве контроля использовали среднее значение показателей большой группы людей.

мембран, выделенных из переднего и заднего мозга мышей с экспериментальной патологией. В [1] было показано, что бульбэктомия у животных вызывает нейродегенеративный процесс, который, исходя из морфологических, биохимических и поведенческих особенностей, аналогичен болезни Альцгеймера, а именно, накапливается  $\beta$ -амилоид и ухудшается пространственная память. Нами была измерена текучесть микросомальных мембран и суммарной фракции мембран (смесь мембран синапсом, митохондрией и лизосом), выделенных из переднего и заднего мозга мышей линии NMRI. Результаты приведены в Таблице 2.

Исследования показали, что микровязкость мембран бульбэктомированных мышей падает уже на ранних этапах развития экспериментальной патологии (таблица 2). В качестве контроля использовали показатели мембран, выделенных из мозга ложнооперированных животных. Через месяц после операции, в отличие от нормы, наблюдается однонаправленное изменение микровязкости липидных и приобластных областей



мембран грубой субмитохондриальной фракции, выделенных из переднего мозга мышей.

В тех же мембранах, выделенных из заднего мозга, микровязкость была несколько понижена на протяжении всего срока эксперимента. Совершенно другого характера изменения наблюдались в микросомальных мембранах. Сразу после операции микровязкость мембран бульбэктомированных животных была понижена относительно контроля, а с течением времени практически возвращалась к норме. Стоит отметить, что через месяц после операции в микросомальных мембранах заднего мозга мышей с БЭ микровязкость липидных и прибелковых областей меняется разнонаправленно относительно контрольной группы. Такие изменения микровязкости характерны для нормы [7].

Таким образом, установлено, что БА протекает при повышенной текучести мембран. На фоне низкой микровязкости повышен уровень ПОЛ эритроцитов. Исследование развития экспериментальной патологии, моделирующей БА, показало, что нарушения структуры мембран происходят на ранней стадии. Это позволяет предположить, что микровязкость мембран понижается на ранней стадии и в случае БА.

суммарная фракция	передний мозг			
	ЛО, 2 неделя	БЭ, 2 неделя	ЛО, 1 месяц	БЭ, 1 месяц
$\tau_L$	0,60	0,58	0,63	0,58
$\tau_P$	1,13	1,22	1,46	1,12
микросомы	ЛО, 2 неделя	БЭ, 2 неделя	ЛО, 1 месяц	БЭ, 1 месяц
$\tau_L$	0,49	0,45	0,51	0,60
$\tau_P$	1,39	1,28	1,37	1,31
суммарная фракция	задний мозг			
	ЛО, 2 неделя	БЭ, 2 неделя	ЛО, 1 месяц	БЭ, 1 месяц
$\tau_L$	0,67	0,54	0,55	0,56
$\tau_P$	1,20	1,20	1,38	1,21
микросомы	ЛО, 2 неделя	БЭ, 2 неделя	ЛО, 1 месяц	БЭ, 1 месяц
$\tau_L$	0,54	0,49	0,56	0,48
$\tau_P$	1,55	0,81	1,47	1,35

**Таблица 2.** Изменения микровязкости разных областей мембран с развитием экспериментальной патологии у мышей

Исходя из вышесказанного, становится ясно, что нарушения в структуре мембран играют, возможно, основную роль в развитии БА. Учитывая эти нарушения можно больше понять, как развивается патология, и достичь лучших результатов в терапии. Авторы считают, что в данной работе новым является результат, указывающий на схожие изменения текучести мембран эритроцитов при развитии БА у человека и в мембранах мозга мышей с экспериментальной болезнью Альцгеймера.

## References

1. I. Nesterova, N. Bobkova, N. Medvinskaya et al., *Neuroscience and Behavioral Physiology* **38** (4), 349 (2008)
2. Prohorova M.I. *Metody biohimicheskikh issledovanij*// Izd-vo Leningrad. un-ta, 1982: in russian
3. Банкова В.В. Дис. ... д-ра биол. наук: 18.02.91. М.: 1990.
4. Binjukov V.I., Borunova S.F., Gol'dfel'd M.G. i dr. Study of the structural transitions in the biological membranes using the method of spin probes // *Biokhimija* 36 (6), 1149 (1971) : in russian

5. Vasserman A.M., Buchachenko A.L., Kovarskij A.L., Nejman I.B. Study of the molecular motion in the fluids and polymers using the method of the paramagnetic probe // *Vysokomolekuljarnye soedinenija* 10A, 1930 (1968) : in russian

6. Бурлакова Е.Б. // *Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты.* М.: Химия. 2005. Т. 2. С. 10.

7. Голощапов А.Н., Бурлакова Е.Б. Термоиндуцированные структурные переходы в мембранах при введении антиоксидантов и злокачественном росте // 1980. Т. 25. № 1. С. 97-101

#### **Membrane structure and Alzheimer's disease**

*Gerasimov N.Y., Nevrova O.V., Goloshchapov A.N., Burlakova E.B. IBCP RAS*

*Annotation.* Changes of the structural characteristics of erythrocyte membranes of people with Alzheimer's disease and the fluidity parameters of brain membranes of mice with experimental Alzheimer's type dementia were studied in this work.

*Key words.* membrane fluidity, spin probe, membrane structure, lipid-protein interaction, Alzheimer's disease

УДК 611.453:57.044

### **ИЗМЕНЕНИЯ ПРОДУКЦИИ АЛЬДОСТЕРОНА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДИХЛОДИФЕНИЛТРИХЛОРЭТАНА**

*Сергей Станиславович Обернихин, докт. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы, E-mail: ober@mail.ru*

*Наталья Валентиновна Яглова, докт. мед. наук зав. лабораторией развития эндокринной системы, E-mail: yaglova@mail.ru*

*Дибяхан Асланбековна Цомартова, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы, E-mail: dtsomartova@mail.ru*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека»*

*<http://www.morfolhum.ru>*

*Установлено, что воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, соответствующих допустимому уровню воздействия на организм человека, вызывает нарушения продукции альдостерона в периоде полового созревания.*

*Ключевые слова:* альдостерон, ДДТ, эндокринный дисраптор, надпочечник

#### **Введение**

Влияние низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на развитие и функционирование органов и систем занимает одну из ведущих позиций в исследованиях дисрапторов вследствие его повсеместного распространения на планете и облигатного воздействия на биосферу. ДДТ обладает способностью накапливаться и длительно сохраняться в организме, оказывая негативное действие на функцию эндокринной и репродуктивной систем [1, 2]. Ранее было установлено, что большие дозы метаболитов ДДТ способны вызывать некротические изменения в пучковой зоне коркового вещества надпочечников [3], а воздействие низких доз – нарушать продукцию кортикостерона [4, 5]. Влияние низких доз ДДТ на функционирование клубочковой зоны надпочечников изучено в меньшей степени, а способность оказывать дисрапторное действие на функционирование железы у развивающегося организма остается открытой проблемой.

Цель исследования – изучить изменения продукции альдостерона при воздействии низких доз ДДТ на развивающийся организм в различные периоды онтогенеза.

#### **Материалы и методы**

Исследование проведено на самцах (n=30) крыс Вистар. Опытную группу (ДДТ E0-P42, n=10) составило мужское потомство самок, которые с первого дня ссаживания с



самцами вместо воды получали раствор о,п-ДДТ («Sigma-Aldrich», США) с концентрацией 20 мкг/л. В подсосном периоде новорожденные крысы потребляли ДДТ с молоком матери, а с трехнедельного возраста – самостоятельно тот же раствор о,п-ДДТ, до достижения ими пубертатного возраста. Группой сравнения (ДДТ P0-P42, n=10) было мужское потомство самок, не получавших ДДТ во время беременности, которое также с первого дня постнатального развития получало ДДТ с молоком матери, затем самостоятельно аналогично опытной группе. Расчет потребляемой дозы ДДТ производили согласно требованиям к определению низких доз и нормативам содержания ДДТ в пищевой продукции согласно Техническому регламенту Таможенного Союза [6]. Среднесуточное самостоятельное потребление ДДТ самцами крыс составило  $2,90 \pm 0,12$  и  $3,71 \pm 0,15$  мкг/кг, что соответствует уровню потребления ДДТ человеком с продуктами питания с учетом особенностей метаболизма этого вещества в организме крысы [7]. Крысы контрольной группы (n=10) получали водопроводную воду. Отсутствие в воде и корме для животных ДДТ, его метаболитов и родственных хлорорганических соединений было подтверждено методом газожидкостной хроматографии. Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила в возрасте 42-х суток, что соответствует началу пубертатного периода.

Концентрацию альдостерона в сыворотке крови определяли крыс методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов («Cusabio», Китай).

Изготавливали экваториальные парафиновые срезы надпочечников, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов проводили методом световой микроскопии и компьютерной морфометрии с использованием программы «ImageScope» («Leica Microsystems», Германия). Для электронно-микроскопического исследования надпочечники фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида с постфиксацией в 1% растворе тетраоксида осмия. После стандартной проводки заливали в смесь эпона и аралдита. Исследование проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа «Libra 120» («Carl Zeiss», Германия).

Статистическую обработку осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (Statsoft Inc., США). Сравнение независимых групп по количественному признаку выполняли с помощью параметрического дисперсионного анализа. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ .

#### Результаты

У крыс группы ДДТ E0-P42 в пубертатном периоде выявлены статистически значимые снижение концентрации альдостерона на 70%, а у крыс группы ДДТ P0-P42 – статистически значимое повышение концентрации альдостерона на 25%.

В структуре коркового вещества крыс группы ДДТ E0-P42 был выявлен ряд изменений. Клубочковая зона была истончена, местами отсутствовала. Площадь, занимаемая клубочковой зоной, была меньше значений контрольной группы. Кортикостероциты имели слабобазофильную и просветленную цитоплазму. Встречались клетки с пикнотически измененными ядрами. Наблюдались изменения в микроциркуляторном русле: расширение сосудов, обтурация просветов эритроцитами и очаговые кровоизлияния на границе клубочковой и пучковой зон.

У крыс группы ДДТ P0-P42 в отличие от группы ДДТ E0-P42 площадь клубочковой зоны не отличалась от значений контрольной группы. Она была представлена клетками с округлыми крупными ядрами и слабобазофильной и просветленной цитоплазмой, более крупных, чем у крыс группы ДДТ E0-P42. Дистрофически измененные кортикостероциты в клубочковой зоне встречались крайне редко. Расширения сосудов микроциркуляторного русла не выявлено.

Кортикостероциты клубочковой зоны крыс контрольной группы имели продолговатую форму, эксцентрически расположенное ядро округлой или овальной формы с преобладанием эухроматина в структуре и эктопией ядрышка. Митохондрии округлой или

овальной формы имели пластинчатые кристы и гомогенный средней электронной плотности матрикс. У многих митохондрий наблюдался отек матрикса разной степени выраженности. В некоторых клетках был хорошо выражен комплекс Гольджи. Лизосомы небольшого размера встречались редко. Эндоплазматическая сеть (ЭПС) была представлена мелкими пузырьками. Липидные капли небольшого размера контактировали с митохондриями, но встречались не во всех клетках. Микроворсинки на плазматической мембране были слабо развиты.

Кортикостероциты клубочковой зоны крыс группы ДДТ Е0-Р42 имели типичную форму, но были уменьшены в размерах по сравнению с контролем (рис. 1). Их ядра имели округлую или вытянутую форму. Размер ядер не отличался от контрольных значений (рис. 1). Содержание эухроматина было высоким, ядрышко располагалось, как правило, центрально. В ядрах часто выявлялось расширение перинуклеарного пространства. Митохондрии по структуре не отличались от таковой контрольной группы. Отличием было уменьшение их числа и доли митохондрий с отеком матрикса (рис. 1). Вторым отличием было очень высокое содержание липидных включений в цитоплазме (рис. 1). Включения липидов были представлены множественными липидными каплями небольшого диаметра повышенной электронной плотности, занимавшими до половины объема цитоплазмы. Комплекс Гольджи и ЭПС были умеренно выражены. Лизосомы встречались редко. В цитоплазме наблюдались группы свободных рибосом, а также хорошо развитая гЭПС. На плазматической мембране в области контакта с перикапиллярным пространством микроворсинки были слабо развиты. Просветы капилляров, как правило, были заполнены эритроцитами.

Кортикостероциты клубочковой зоны крыс группы ДДТ Р0-Р42 по форме и размерам соответствовали значениям контрольной группы (рис. 1). Ядра располагались эксцентрично. Они характеризовались высоким содержанием эухроматина, центрально расположенным ядрышком и расширением перинуклеарного пространства. Митохондрии округлой и овальной формы не отличались по размеру от контрольных значений (рис. 1). Некоторые из них имели как пластинчатые, так и везикулярные и тубулярные кристы. Число митохондрий в  $\text{мм}^2$  цитоплазмы было увеличено (рис. 1). ЭПС была более выражена, чем у крыс контрольной группы. Ее каналы были расширены и заполнены содержимым низкой электронной плотности. Лизосомы встречались не во всех клетках. Содержание липидных включений в цитоплазме было значительно меньшим, чем в контрольной группе и группе ДДТ Е0-Р42 (рис. 1). Липидные капли отличались очень небольшими размерами (рис. 1). На плазмолемме были хорошо развиты микроворсинки.

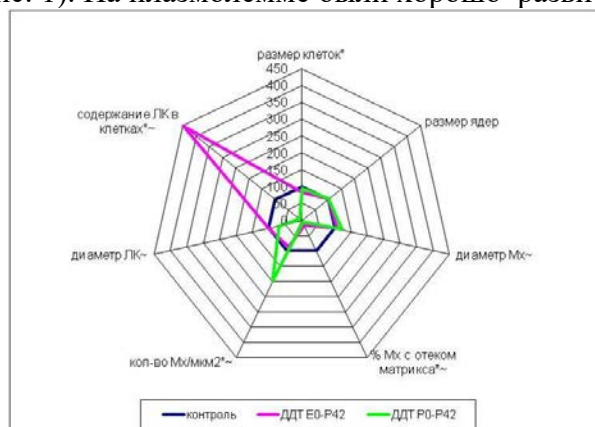


Рис. 1. Изменения ультраструктурных показателей кортикостероцитов клубочковой зоны коры надпочечников у крыс, развивавшихся в условиях воздействия низких доз ДДТ.

Примечания: значения контрольной группы приняты за 100%. \* – статистически значимые отличия группы ДДТ Е0-Р42, ~ – группы ДДТ Р0-Р42 от контрольной группы.

Морфологическое исследование надпочечников показало, что воздействие низких доз ДДТ не нарушает основные механизмы органогенеза, но у крыс, подвергавшихся

воздействию ДДТ в пре- и постнатальном периодах, приводит к уменьшению площади клубочковой зоны. Исследование гистологических препаратов выявило значительные нарушения микроциркуляции в клубочковой зоне, что приводит к гипоксии. Известно, что гипоксия вызывает снижение секреторной активности клеток клубочковой зоны [8]. Снижение функциональной активности проявляется уменьшением размеров клеток, уменьшением ЭПС, отсутствием отека матрикса и расширения крист митохондрий и накоплением липидов в цитоплазме [9]. Эти изменения наблюдались у крыс, подвергавшихся пре- и постнатальному воздействию дисраптора. Также наблюдались изменения, свидетельствующие об активации синтеза белков. У крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ только в постнатальном онтогенезе, уменьшения площади клубочковой зоны не было выявлено. Нарушений микроциркуляции практически не выявлялись. Наблюдались изменения ультраструктуры клеток, свидетельствующие об их усиленной секреторной деятельности: набухание митохондрий, расширение перинуклеарного пространства, более развитая ЭПС, уменьшение содержания липидов в цитоплазме [9]. Следовательно, уменьшение продукции альдостерона у крыс, подвергавшихся пренатальному и постнатальному воздействию, было связано не только с недостаточным развитием клубочковой зоны, но и снижением стероидогенной активности эндокриноцитов, во многом обусловленной нарушениями микроциркуляции, приводящими к гипоксии. Причины повышения продукции альдостерона у крыс, подвергавшихся воздействию дисраптора только в постнатальном периоде, могут быть связаны со стимулирующим действием ДДТ на ренин-ангиотензиновую систему, описанным М. La Merrill с соавт. у половозрелых мышей, подвергавшихся воздействию ДДТ в дозе 0,17 мг/кг с 11,5 суток пренатального до 5-х суток постнатального развития [10]. Но отсутствие повышения продукции альдостерона в пубертатном периоде, у подвергающихся ежедневному воздействию низких доз ДДТ крыс, указывают на ингибирование стероидогенной активности в клетках клубочковой зоны, а ультраструктурные изменения указывают на вероятное усиление синтеза ферментов, катализирующих реакции стероидогенеза. Возможно, что ДДТ, подавляя синтез гормона, вызывал реактивное повышение активности стероидогенеза, особенно в митохондриях, к пубертатному периоду, которое было выявлено у крыс, потреблявших ДДТ с первого дня жизни, а у крыс, подвергавшихся воздействию с пренатального периода, в аналогичном возрасте реактивные изменения могли уже истощиться. Аналогичные по характеру изменения были выявлены в изменении продукции тиреоидных гормонов при воздействии на организм различных по продолжительности и дозам воздействию ДДТ на половозрелых крыс Вистар [11, 12].

**Выводы:**

Воздействие низких доз ДДТ на организм с первого дня пренатального развития приводит к изменению продукции альдостерона в пубертатном периоде, имеющему мультифакториальный механизм и обусловленному нарушениями развития клубочковой зоны и микроциркуляторными расстройствами в ней, а также снижением стероидогенной активности клеток.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показано, что воздействие эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм способно вызывать значительные изменения в продукции альдостерона в пубертатном возрасте, сопровождающиеся компенсаторным усилением синтеза альдостерона с последующим снижением его продукции, обусловленные как морфогенетическими, так и функциональными нарушениями.

### **Литература**

1. Яглов В.В., Яглова Н.В. Морфологические и функциональные изменения щитовидной железы крыс при длительном воздействии низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана // Современные технологии в медицине. 2014. Т.6. №4. С.55–61.

2. Ozen S., Darcan S. Effects of environmental endocrine disruptors on pubertal development // J. Clin. Res. Ped. Endo. 2011. V. 3. No. 1. P. 1–6.
3. Asp V., Ulleras E., Lindstrom V. et al. Biphasic hormonal responses to the adrenocorticolytic DDT metabolite 3-methylsulfonyl-DDE in human cells // Toxicology and Applied Pharmacology. 2010. Vol. 242. P. 281–289.
4. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Обернихин С.С., Назимова С.В. Морфофункциональные изменения коркового вещества надпочечников крыс пубертатного возраста, потреблявших низкие дозы эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана с первого дня постнатального онтогенеза // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 4. С. 70–76.
5. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Яглов В.В. Особенности продукции стероидных гормонов надпочечников в пубертатном периоде у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии // Биомедицинская химия. 2017. Т.63. № 4. С. 306-311.
6. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». СПб.: ГИОРД, 2015. 176 с.
7. Yamazaki H., Takano R., Horiuchi K., Shimizu M., et al. Human blood concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) extrapolated from metabolism in rats and humans and physiologically based pharmacokinetic modeling // Journal of health science. 2010. No. 5. P. 566–575.
8. Lorente M., Mirapeux R., Miguel M., Longmei W., Volk D., Cervos-Navarro J. Chronic hypoxia induced ultrastructural changes in the rat adrenal zona glomerulosa // Histol.Histopathol. 2002. V. 17. P.185–190.
9. Гордиенко В.М., Козырицкий В.Г. Ультраструктура желез эндокринной системы. Киев: Здоров'я, 1978. 288с.
10. La Merrill M., Sethi S., Benard L., Moshier E., Haraldsson B., Buettner C. Perinatal DDT exposure induces hypertension and cardiac hypertrophy in adult mice // Environ. Health Perspect. 2016. V. 124. No. 11. P. 1722–1727.
11. Яглова Н.В., Яглов В.В. Изменения тиреоидного статуса крыс при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 156. № 12. С. 720–722.
12. Яглова Н.В., Яглов В.В. Цитофизиологические изменения фолликулярного эпителия щитовидной железы при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т.162. №11. С. 660–664.

#### **Altered aldosterone production after exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane**

*Sergey Stanislavovich Obernikhin, D.Med.Sc., Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory,*

*Natalia Valentinovna Yaglova, D.Med.Sc., Head of Endocrine System Development Laboratory,*

*Dibakhan Aslanbekovna Tsomartova, PhD, Research Worker of Endocrine System Development Laboratory,*

*Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology*

*The research found that exposure of rats to low levels of endocrine disruptor DDT during ontogeny under the permissive levels for humans caused both impaired development of adrenal zona glomerulosa and secretion of glomerulosa cells resulted in lowered aldosterone production.*

*Key words: aldosterone, DDT, endocrine disruptor, adrenal gland*

УДК 618.4

## ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ БЛОКА РОДОВСПОМОЖЕНИЯ

*Галина Ивановна Гурбич, к.м.н., доцент*

*E-mail: [dphksmu@mail.ru](mailto:dphksmu@mail.ru)*

*Екатерина Юрьевна Плотникова, врач-неонатолог*

*E-mail: [Yurii-59@mail.ru](mailto:Yurii-59@mail.ru)*

*Юрий Анатольевич Васильев, ассистент*

*E-mail: [yurii-59@mail.ru](mailto:yurii-59@mail.ru)*

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России  
350063, Краснодар, ул. Седина, 4.*

*<http://ksma.elrud.ru>*

*Недоношенный ребенок всегда требует пристального внимания неонатолога, так как в процессе его выхаживания нередко возникают проблемы. Прежде всего, это относится к детям с массой тела 1500 и ниже. Частота преждевременных родов весьма вариабельна, однако в последние 2 десятилетия достаточно стабильна и составляет 5-10% от числа родившихся детей.*

*Ключевые слова: неонатология, дети, рождаемость, бюро медико-социальной экспертизы.*

Неонатология - молодая наука. Если педиатрия, как самостоятельный раздел медицины, возникла лишь в первой половине 19 века, то неонатология – в 20 веке. Термин неонатология и неонатолог предложен американским педиатром Александром Шафером в 1960 году, в руководстве «Болезни новорожденных».

В ноябре 1987г в номенклатуру врачебных специальностей и должностей в нашей стране внесен врач-неонатолог. Высокая частота патологии у плода и новорожденного, которая в значительной степени предопределяет как постнатальное развитие ребенка, так и здоровье взрослого человека. В структуре перинатальной заболеваемости и смертности значительна роль акушерской и экстрагенитальной патологии беременной. Внутриутробной инфекции, родового травматизма. Очевидно, что снижение заболеваемости и смертности плода и новорожденного остается важной медицинской и социальной проблемой.

Здоровье женщин и детей стало во всем мире объектом повышенного внимания, как одной из важнейших стратегических направлений в деле улучшения состояния здоровья населения. В 80-х годах ВОЗ сформулировало концепцию безопасного материнства. Как совокупность социально-экономических, правовых и медицинских мероприятий, способствующих рождению желанных детей в оптимальные возрастные периоды без отрицательного влияния на здоровье женщины, сохраняющих их жизнь, предупреждающих инвалидность, обеспечивающих воспитание рожденных детей, сочетание материнства, домашних обязанностей и трудовой деятельности. В соответствии с этой концепцией, многими странами разработаны и приняты государственные программы, обеспечивающие безопасное материнство и детство. В России также принята федеральная целевая программа «Безопасное материнство и детство». Целью нашего исследования является изучение причин смертности новорождённых в учреждении четвёртого уровня.

Если проанализировать показатели суммарного уровня смертности плодов и живорожденных детей на протяжении первого года жизни, то можно отметить, что последнее десятилетие в России характеризовалось незначительной, но стабильной тенденцией к снижению этого показателя. Причем тенденция к снижению смертности достигнута не за счет снижения постнеонатальной смертности, как это обычно наблюдается в практике здравоохранения большинства стран, а за счет уменьшения мертворождаемости и неонатальной смертности.

На сегодняшний день в неонатологии особо остро обозначены две проблемы: инфекционные заболевания и малый вес новорождённых детей. Анализ заболеваемости новорожденных показывает возрастание значимости патологии плода, приводящей к нарушению или невозможности адаптации ребенка к внеутробной жизни. Это такие проблемы, как иммуноконфликтные беременности, врожденные инфекции, синдром дыхательных расстройств, пороки развития. Ближайшие и отдаленные последствия внутриутробной инфекции и отдаленные последствия являются частой причиной отклонений в состоянии здоровья у детей раннего возраста и инвалидизации в более старших возрастных группах. Все это свидетельствует о необходимости переноса внимания исследователей и представителей практического здравоохранения на проблемы пре- и перинатального периода в жизни человека, с целью обеспечения наиболее оптимального и наиболее эффективного развития плода. Вопрос выхаживания маловесных детей раньше был довольно философским. В процессе «выращивания» младенцев с низкой массой тела резко увеличивается риск патологии. Существовавшие критерии регистрации новорожденных не обязывали врачей спасать младенца с экстремально низкой массой тела на сроке 22 недели беременности. Однако в январе 2012 года Минздрав России изменил критерии регистрации новорожденных и обязал мед.персонал род.отделения спасать младенца весом 500гр.

Недоношенность представляет собой одну из важнейших проблем здравоохранения во всем мире. Статистика свидетельствует о наличии высокой смертности среди детей в перинатальном периоде и о несоразмерном с общим числом выживших недоношенных детей количества тех из них, которые страдают физической, интеллектуальной и эмоциональной неполноценности.

Проблема недоношенных затрагивает как богатые, так и менее богатые страны. Недоношенный ребенок всегда требует пристального внимания неонатолога, так как в процессе его выхаживания нередко возникают проблемы. Прежде всего, это относится к детям с массой тела 1500 и ниже. Частота преждевременных родов весьма вариабельна, однако в последние 2 десятилетия достаточно стабильна и составляет 5-10% от числа родившихся детей. Показатель неонатальной смертности недоношенных детей намного превышает таковую у родившихся в срок и в значительной степени зависит от эффективности оказания медицинской помощи: использование мониторингового наблюдения, правильно проводимая терморегуляция, коррекция ацидоза и электролитных нарушений, обеспечение полноценного питания, правильного назначения оксигенотерапии и профилактики инфекций. Однако выживаемость детей непосредственно зависит от срока гестации и веса при рождении. При этом доказано, что риск заболевания и смерти тем выше, чем меньше масса тела при рождении. Вероятность летального исхода у детей с массой тела меньше 2500г в 40 раз превышает таковую у детей с нормальной массой. А риск летального исхода у детей с весом до 1500г в неонатальном периоде в 200 раз. Риск же психоневрологических осложнений в 3 раза выше у маловесных детей по сравнению с детьми доношенными. Даже при интенсивном уходе отдаленные последствия для детей с массой тела менее 2000 г не всегда благоприятны.

Среди основных факторов приводящих к последующей инвалидизации детей, рожденных с низкой массой тела прежде всего выделяют поражения головного мозга различной степени выраженности. Частота церебральных повреждений у недоношенных детей колеблется в довольно широких пределах, но всегда остается высокой. Так, кровоизлияния в желудочки мозга и герминативный матрикс возникают в 42-90% случаев. Обращает на себя внимание и тот факт, что даже при массивных поражениях головного мозга неврологические симптомы могут отсутствовать и на первый план в клинической картине выступают общие симптомы, что значительно затрудняет диагностику.

В течении многих лет усилия акушеров и неонатологов были направлены на поиски путей оптимального снижения показателей ante- и перинатальной заболеваемости

и смертности путем создания принципиально новых диагностических программ, уникальных перинатальных технологий. Но оптимизм исследователей постепенно сменяется трезвым реализмом, а восторг от значительного снижения перинатальных показателей омрачается сложностями и проблемами в состоянии здоровья выживших детей. В литературе даже появляется новый термин «отсроченная смерть» или «жертвы прогресса». Он относится к тем детям, которые умирают от различных осложнений за пределами неонатального периода. Так по данным длительного катамнестического наблюдения за детьми, проводимого западными учеными, установлено, что процент развития ДЦП в группе детей с массой тела 1500 и ниже относительно стабилен и составляет 16%, причем в 1/3 случаев отмечается сочетание инвалидизирующих состояний: глухота, слепота, задержка умственного развития. У 30% детей отмечаются непреодолимые трудности при обучении в школе. Высокая заболеваемость ЦНС, и связанная с ней инвалидность с детства наносит значительный урон, как родителям больного ребенка, так и государству в целом. Прямые затраты на медицинскую помощь выжившему ребенку инвалиду могут достигать 40000\$ в год. Таким образом проблема недоношенных детей приобретает не только медицинский, но и социальный характер.

Нами проанализирована рождаемость на примерах родильного дома №4 за девять лет

годы	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
1000-1499	8(0,1%)	8(0,1%)	3(0,05%)	0(0%)	14(0,2%)	14(0,2%)	30(0,5%)	15(0,25%)	12(0,2%)
1500-1999	26(0,5%)	23(0,4%)	23(0,4%)	9(0,2%)	28(0,4%)	58(0,8%)	44(0,7%)	33(0,55%)	29(0,52%)
2000-2499	83(1,6%)	79(1,4%)	93(1,7%)	70(1,9%)	94(1,6%)	151(2,2%)	130(2,0%)	142(2,4%)	130(2,3%)
2500-2999	483(9,6%)	691(12,2%)	569(10,6%)	385(10,7%)	644(11,0%)	787(11,8%)	857(13%)	727(12,3%)	822(14,8%)
3000-3499	1975(39,4%)	2237(39,6%)	2163(40,5%)	1485(41,5%)	1826(31,3%)	2614(39,4%)	2616(40%)	2442(41,3%)	2187(39,5%)
3500-3999	1756(35%)	1925(34,1%)	1894(35,5%)	1210(33,8%)	2666(45,7%)	2233(33,6%)	2081(32%)	1919(32,4%)	1777(32,1%)
4000 и более	678(13,5%)	676(11,9%)	588(11%)	414(11,5%)	557(9,5%)	775(11,6%)	746(11,5%)	632(10,7%)	570(10,3%)

Количество детей рождённых с массой тела 1000-1499г за три последних года уменьшилось. По остальным весовым группам количество детей существенным образом не изменилось.

Заболеваемость

год	Всего заболело	Общая заболеваемость на 1000	Заболело доношенных	Заболеваемость доношенных на 1000	Заболеваемость недоношенных	Заболеваемость недоношенных на 1000
2015	1283	197	1091	173	192	932
2016	1046	177	877	153	172	950
2017	949	171	811	146	138	1000

Заболеваемость новорождённых в целом в родильном доме уменьшилась, но выросла заболеваемость недоношенных (с 932,0% до 1000%)

Внутриутробные инфекции (ВУИ)

годы	В/У инфекция	
	всего	на 1000
2009	456	90,9
2010	222	39,4
2011	142	27,1
2012	147	41

2013	158	32
2014	250	37,6
2015	144	22
2016	94	15,2
2017	24	4,4

Все дети имели низкую оценку по шкале Апгар и очень тяжёлое состояние сразу после рождения. Один прожил 5 часов, другой 1 сутки 5 часов, третий – 4 суток. Из них два недоношенных, маловесных ребёнка с гистационным сроком 31-32 недели. Было проведено патологоанатомическое вскрытие всех детей, которое подтвердило клинический диагноз.

Авторы считают, что материалы исследований позволили сделать важный вывод о том, что перинатальная смертность в 27,1% случаев была предотвратима и связана была с недостатками наблюдения женщин, поздней и неправильной диагностикой, неадекватным лечением, нерациональным ведением родов; в 30% случаев – непредотвратима; в 42,9% - условно предотвратима, так как для устранения указанных причин медицинские учреждения не располагали соответствующими возможностями. Таким образом, проблема охраны здоровья будущих поколений в большей мере определяется здоровьем родителей, особенно матерей, течением беременности, родов и раннего неонатального периода. Информация неонатологов, которые видят, наблюдают ребёнка при рождении должна быть единожды фиксирована и с участием членов бюро медико-социальной экспертизы при установлении диагноза инвалид-детства.

**Работа выполнена при частичной поддержке программы РФФИ (проект № 16-44-230636 р\_а) и Администрации Краснодарского края.**

### Список литературы.

1. «Неонатология». Шабалов Н.П. г.Санкт-Петербург, 2006г.
2. «Неонатология» Национальное руководство М -2007г. 847стр. (под редакцией академика РАМН Володина Н.Н.)
3. Справочник педиатра под редакцией проф. Шабалова Н.П. С-Петербург 2001 г.
4. Первичная и реанимационная помощь новорожденным детям . Методическое письмо под редакцией академика РАМН Володина Н.Н. М-2010г.
5. Интенсивная терапия и принципы выхаживания детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела при рождении. Методическое письмо под редакцией проф. Е.Н. Байбариной, Д.Н. Дегтярева. М – 2011г.
6. Принципы ведения новорожденных с респираторным дистресс синдромом. Методические рекомендации под редакцией академика РАМН Володина Н.Н. М-2008г.
7. «Сепсис у детей». Ю.Ф.Исаков, Н.В.Белобородов. М-2001г. Российская академия медицинских наук.
8. «Неотложная педиатрия в алгоритмах». Санкт-Петербург 1998г. Э.К.Цибулькин.
9. «Диагностика и лечение внутриутробных инфекций». Методические рекомендации для врачей-неонатологов. Под редакцией президента РАСПМ, профессора Н.Н.Володина, гл. неонатолога г. Москвы доц. Дегтярева Д.Н. М-1998г.
10. «Детские болезни». Н.П. Шабалов. 1999г.
- 11.«Принципы интенсивной терапии гнойно-септических заболеваний новорожденных». Под редакцией члена-корреспондента РАЕН, проф. Рокитского М.Р. Казань 1998г.
- 12.«Респираторный дистресс-синдром у новорожденных». Гребенников В.А., Миленин О.Б., Рюмина И.И. М-1998г.
- 13.«Внутриутробная пневмония» (критерии диагностики и стандарты лечения). Методические рекомендации. М-1997г.
- 14.«Руководство по неонатологии университета штата Айова». Под редакцией Джефери Л. Сегар. Санкт-Петербург 1997г.
- 15.Информационное письмо МЗ РФ. Развитие инициативы ВОЗ/ЮНИСЕФ «Больница, доброжелательная к ребенку». Москва 2000г.



16. «Руководство по безопасному материнству». Кулаков В.И., Серов В.Н., Барашнев В.И., Антоноф В.А., и др. М-2000г.
17. Грудное вскармливание и психологическое единство «мать-дитя». Фатеев Е.М. Царегородская Ж.В. М-2000г.
18. «Респираторная терапия у новорожденных». М.В. Фомченко. С.Петербург- 2000г.
19. Инфузионная терапия. Перевод с английского под редакцией к.м.н. Цейтлина. Москва 2005г.
19. Асфиксия новорожденных». Н.П Шабалов. В.А.Любименко. А.Б.Пальчик, В.К. Ярославский. М – 1999г
20. «Интенсивная терапия». Перевод с английского дополненный. Гл. редактор А.И. Мартынов акад. РАМН, вице-президент РАМН. М-1998г.
21. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Победоносцева Е.Ю. и др. Пространственно-временная динамика частот врождённых расщелин губы и/или нёба в Краснодарском крае. Кубанский научный медицинский вестник. 2010. №2. С.171-111.
22. Удина И.Г., Гуленко О.В. Молекулярно-генетические механизмы развития кариеса / Генетика, 2018, 54,4, с.426-434. DOI:10.7868/S0016675818040045

#### **Organizational aspects of the block of admissibility**

*Gurbich Galina Ivanovna, Ph.D., Associate Professor*

*Ekaterina Yuryevna Plotnikova, doctor-neonatologist*

*Yury Anatolievich Vasiliev, assistant*

*Federal state budgetary educational institution of higher professional education "Kuban state medical University" of the Ministry of health of Russia (FSBEI kubgmu Minzdrava Rossii), Krasnodar, 350063, ul Sedina, d. 4 <http://ksma.ru>*

*A premature baby always requires a close attention of a neonatologist, since in the process of nursing a child, problems often arise. First of all, this applies to children with body weight of 1500 and below. The frequency of preterm delivery is very variable, but in the last 2 decades it is quite stable and is 5-10% of the number of children born.*

*Key words: neonatology, children, fertility, bureau of medical and social expertise.*

УДК 591.3.591.443

#### **РАЗВИТИЕ ТИМУСА ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДДТ**

*Элина Сослановна Цомартова, ассистент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, E-mail: [tselso@yandex.ru](mailto:tselso@yandex.ru)*

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)*

*<http://www.sechenov.ru>*

*Наталья Валентиновна Яглова, докт. мед. наук, зав. лабораторией развития эндокринной системы, E-mail: [yaglova@mail.ru](mailto:yaglova@mail.ru)*

*ФГБНУ «НИИ морфологии человека»*

*<http://www.morfolhum.ru>*

*В статье изложены результаты исследования развития тимуса новорожденных крыс, подвергавшихся ежедневному воздействию низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в пренатальном периоде развития. Установлено, что воздействие дисраптора не вызывает аномалий развития органа.*

*Ключевые слова: тимус, пренатальное воздействие, эндокринный дисраптор, ДДТ*

#### **Введение**

Развитие органов лимфоидной системы в условиях воздействия на организм эндокринных дисрапторов – малоизученная область гистологии и эмбриологии. Повышенный интерес к этой проблеме связан с увеличением заболеваний, обусловленных нару-

шениями функционирования органов иммунной защиты, к которым относятся первичные иммунодефициты, лимфопролиферативные заболевания и аллергические реакции [1]. Существует точка зрения, что иммунопатологии детского возраста связаны с нарушением развития органов иммунной защиты во внутриутробном периоде [2, 3, 4]. В научной литературе имеются данные о негативном влиянии некоторых гормонов на развитие лимфоидных органов плода, а также влиянии состояния иммунной системы матери на формирование и развитие центральных и периферических органов иммунной защиты [5, 6, 7]. Известно, что длительное воздействие низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на организм половозрелых крыс приводит к ускорению инволютивных изменений в тимусе [8, 9].

Цель исследования – изучить строение тимуса новорожденных крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ в пренатальном развитии.

#### Материалы и методы

Исследование проведено на новорожденных самцах крыс Вистар (n=10), рожденных самками, которые с первого дня ссаживания с самцами вместо воды получали раствор о,п-ДДТ («Sigma-Aldrich», США) с концентрацией 20 мкг/л. Потребление беременными самками ДДТ составило мкг/кг/сут, что соответствует потреблению ДДТ человеком с продуктами питания с учетом максимально допустимых уровней его содержания в пищевых продуктах и особенностей метаболизма этого вещества в организме крысы [10, 11]. Определяли массу тела новорожденных крыс и массу тимуса с помощью полуаналитических весов.

Тимус фиксировали в жидкости Буэна. После стандартной гистологической обработки тимус заливали в парафин и изготавливали гистологические препараты, которые окрашивали гематоксилином и эозином («Биовитрум», Россия). Гистологические препараты изучали методом световой микроскопии и компьютерной морфометрии с использованием программы «ImageScope» («Leica Microsystems», Германия).

Статистическую обработку осуществляли с помощью программы Statistica 7.0 (Statsoft Inc., США). Сравнение независимых групп по количественному признаку выполняли с помощью критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ .

#### Результаты исследования

Масса новорожденных крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном периоде онтогенеза, не отличалась от значений контрольной группы.

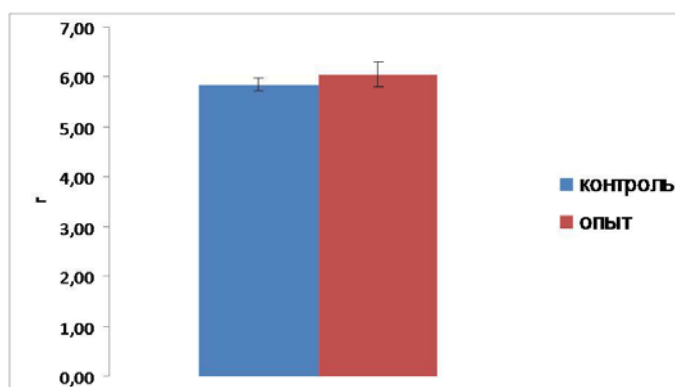


Рис. 1. Масса тела новорожденных крыс контрольной группы и группы, подвергавшейся пренатальному воздействию ДДТ ( $M \pm m$ ).

Тимус крыс опытной группы был хорошо развит, имел типичную форму и состоял из двух долей. Абсолютная масса тимуса крыс опытной и контрольной групп не имела статистически значимых отличий. Аналогично и относительная масса тимуса крыс, развивавшихся в условиях воздействия дисраптора не отличалась от значений контрольной группы.

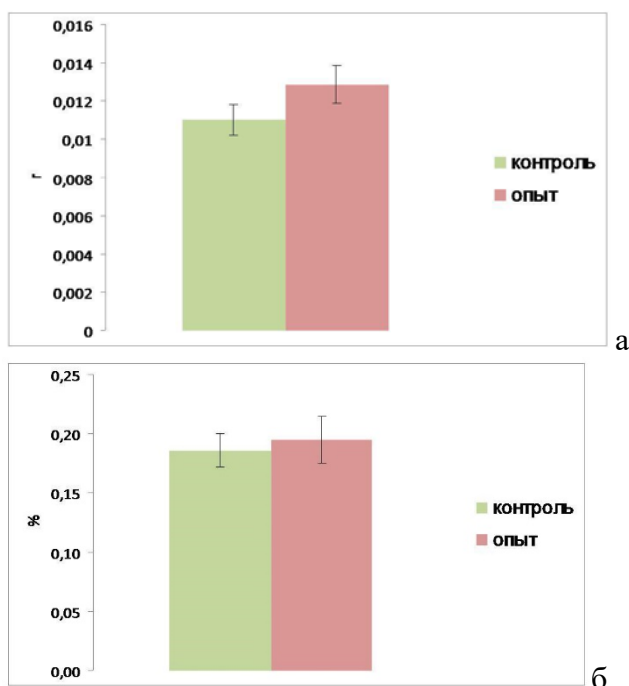


Рис. 2. Абсолютная (а) и относительная (б) масса тимуса новорожденных крыс контрольной группы и группы, подвергавшейся пренатальному воздействию ДДТ ( $M \pm m$ ).

Тимус крыс контрольной группы был покрыт соединительнотканной капсулой, от которой отходили перегородки, делящие доли тимуса на дольки. В дольках выделялось корковое и мозговое вещество. Граница между корковым и мозговым веществом была четкой. Корковое вещество было представлено плотно лежащими лимфоцитами. Под капсулой наблюдался широкий слой лимфобластов.

У крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном периоде онтогенеза, тимус имел типичное дольчатое строение. Под капсулой располагался слой лимфобластов, часто встречались картины митозов. Корковое вещество имело высокое содержание лимфоцитов. Граница между корковым и мозговым веществом также была четкой. Просветы сосудов были свободны или заполнены небольшим количеством форменных элементов и плазмы.

Соотношение коркового и мозгового вещества в тимусе крыс также не имело различий.

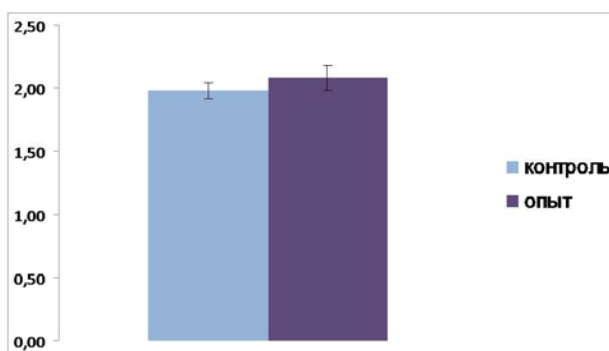


Рис. 1. Соотношение коркового и мозгового вещества тимуса крыс контрольной группы и группы, подвергавшейся пренатальному воздействию ДДТ ( $M \pm m$ ).

Макрометрия и микрометрия препаратов тимуса крыс контрольной и опытной групп показало отсутствие различий в строении органа, а органомерическое исследование не выявило изменений темпов развития тимуса.

Выводы:

Воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ на организм беременных крыс не вызывает аномалий развития тимуса у потомства. Степень развития тимуса новорожденных крысят соответствует возрастной норме.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показано, что воздействие эндокринного дисраптора ДДТ на развивающийся организм не изменяет пренатальный морфогенез тимуса.

#### **Литература**

1. Gore A., Chapell V., Fenton S., Flaws J., Nadal A., Prins J., Toppari J., Zoeller J. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine Disrupting Chemicals. // *Endocrine Reviews*. 2015. Vol. 36. No. 6. P. E1-E150.

2. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Развитие иммунной системы потомства после иммуностимулирующего воздействия в ранние сроки беременности. М.: Изд. «Инфра-М», 2017. – 220 с.

3. Soder O. Perinatal imprinting by estrogen and adult prostate disease // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005. V. 102. No. 5. P. 1269–1270.

4. Bellinger D., Lubahn C., Lorton D. Maternal and early life stress effects on immune function: relevance to immunotoxicology // *J. Immunotoxicol*. 2008. V. 5. No. 4. P. 419–444.

5. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Влияние активации иммунной системы материнского организма в ранние сроки беременности на постнатальный морфогенез органов иммунной системы потомства // *Проблемы репродукции*. 2013. Т. 19. № 1. С. 73-77.

6. Martinez-Arguelles D. B., Papadopoulos V. Epigenetic regulation of the expression of genes involved in steroid hormone biosynthesis and action // *Steroids*. 2010. V. 75, No. 7. P. 467–476.

7. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Морфофункциональные изменения тимуса у потомства мышей в период полового созревания и у взрослых особей после однократного иммуностимулирующего воздействия на материнский организм в ранние сроки беременности. // *Иммунология*. 2013. Т. 34. № 1. С. 15-19.

8. Родиченко Е.П., Яглова Н.В., Яглов В.В., Обернихин С.С. Влияние хронического воздействия низких доз ДДТ на морфофункциональное состояние тимуса крыс // *Российский медико-биологический вестник*. 2013. № 2. С. 36–41.

9. Яглова Н.В., Тимохина Е.П., Яглов В.В. Влияние низких доз дихлордифенилтрихлорэтана на морфофункциональное состояние тимуса крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. Т. 155. № 5. С. 657–660.

10. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». СПб.: ГИОРД, 2015. 176 с.

11. Yamazaki H., Takano R., Horiuchi K., Shimizu M., et al. Human blood concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) extrapolated from metabolism in rats and humans and physiologically based pharmacokinetic modeling // *Journal of health science*. 2010. No. 5. P. 566–575.

#### **Thymus development after prenatal exposure to DDT**

*Elina Soslanovna Tsomartova, postgraduate, Department of Histology, Cytology, and Embryology*

*Federal State Funded Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University*

*Natalia Valentinovna Yaglova, D.Med.Sc., Head of Endocrine System Development Laboratory,*

*Research Worker of Endocrine System Development Laboratory, Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology*

*The study was aimed at organogenesis of thymus in newly-born rats exposed to endocrine disruptor dichlorodiphenyltrichloroethane during prenatal development. Exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane did not disrupt thymus development.*

*Key words: thymus, prenatal exposure, endocrine disruptor, DDT*

УДК 611.453:57.044

### **ДИСРАПТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ДДТ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СЕТЧАТОЙ ЗОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ**

*Дибакхан Асланбековна Цомартова, канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы, E-mail: dtsomartova@mail.ru*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт морфологии человека»*

*<http://www.morfolhum.ru>*

Показано изменение биохимических и ультраструктурных показателей функциональной активности клеток сетчатой зоны половозрелых крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ в пренатальном и постнатальном периодах онтогенеза.

Ключевые слова: надпочечник, сетчатая зона, половые гормоны, ДДТ, эндокринные дисрапторы, онтогенез

#### **Введение**

Сетчатая зона коркового вещества надпочечников является продуцентом половых стероидов как до активации синтеза гормонов в половых железах, так и после нее [1]. Избыточная продукция женских или мужских половых гормонов в надпочечниках являются причиной ряда эндокринных заболеваний и снижения фертильности. В последние три десятилетия отмечается увеличение числа заболеваний, связанных с нарушением развития и функции репродуктивной системы, что связывают с воздействием на организм различных классов эндокринных дисрапторов [2]. Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) относится к дисрапторам с антиандрогенным механизмом действия [3], а также способен изменять продукцию тиреоидных гормонов и катехоламинов [4, 5]. Его влияние на функционирование сетчатой зоны коркового вещества надпочечников мало изучено.

Цель исследования – изучить влияние эндокринного дисраптора ДДТ на функционирование сетчатой зоны коркового вещества половозрелых крыс.

#### **Материалы и методы**

Эксперимент выполнен на самцах крыс Вистар (n=20). Опытную группу составило мужское потомство самок, которые с первого дня ссаживания с самцами вместо воды получали раствор о,п-ДДТ («Sigma-Aldrich», США) с концентрацией 20 мкг/л (n=10). В подсосном периоде новорожденные крысы потребляли ДДТ с молоком матери, а с трехнедельного возраста – самостоятельно тот же раствор о,п-ДДТ, до достижения ими пубертатного возраста. Расчет дозы ДДТ производили согласно с учетом требований к определению низких доз и нормативам содержания ДДТ в пищевой продукции согласно Техническому регламенту Таможенного Союза [6]. Среднесуточное самостоятельное потребление ДДТ самцами крыс составило  $2,90 \pm 0,12$  мкг/кг, что соответствует уровню потребления ДДТ человеком с продуктами питания с учетом особенностей метаболизма этого вещества в организме крысы [7]. Крысы контрольной группы (n=10) получали водопроводную воду. Методом газожидкостной хроматографии подтвердили отсутствие в воде и корме для животных ДДТ, его метаболитов и аналогов. Животных выводили из эксперимента передозировкой зоветила в возрасте 70-ти суток.

Концентрацию эстрогена и эстрадиола в сыворотке крови определяли крыс методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов («Cusabio», Китай). Изготавливали экваториальные парафиновые срезы надпочечников, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование гистологических препаратов проводили методом световой микроскопии и компьютерной морфометрии с использованием программы «ImageScore» («Leica Microsystems», Германия). Для электронно-микроскопического исследования надпочечники фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида с постфиксацией в 1% растворе тетраоксида осмия. После стандартной проводки заливали в смесь эпона и аралдита. Исследование проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа «Libra 120» («Carl Zeiss», Германия). Статистическую обработку осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (Statsoft Inc., США). Сравнение независимых групп по количественному признаку выполняли с помощью параметрического дисперсионного анализа. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ .

#### Результаты

У крыс, подвергавшихся воздействию дисраптора в пренатальном и постнатальном развитии, после достижения половой зрелости выявлены более низкое содержание эстрогена и повышенный уровень эстрадиола (рис. 1). Суммарное содержание эстрадиола и эстрогена в системном кровотоке не отличалось от контроля.

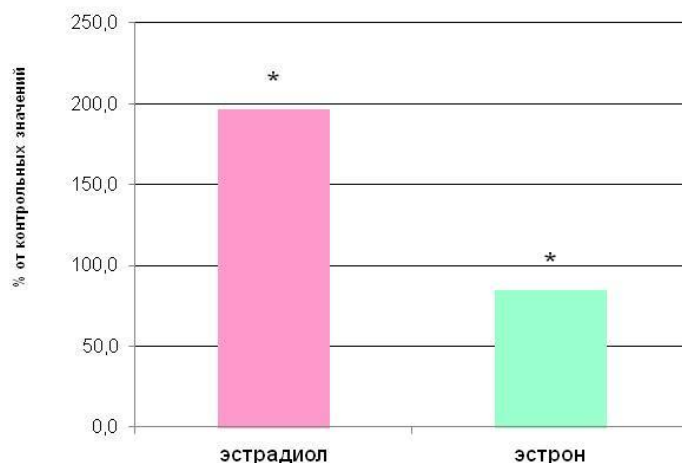


Рис. 1. Относительные изменения концентрации женских половых гормонов в сыворотке крови самцов крыс, развивавшихся в условиях пренатального и постнатального воздействия ДДТ.

\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем.

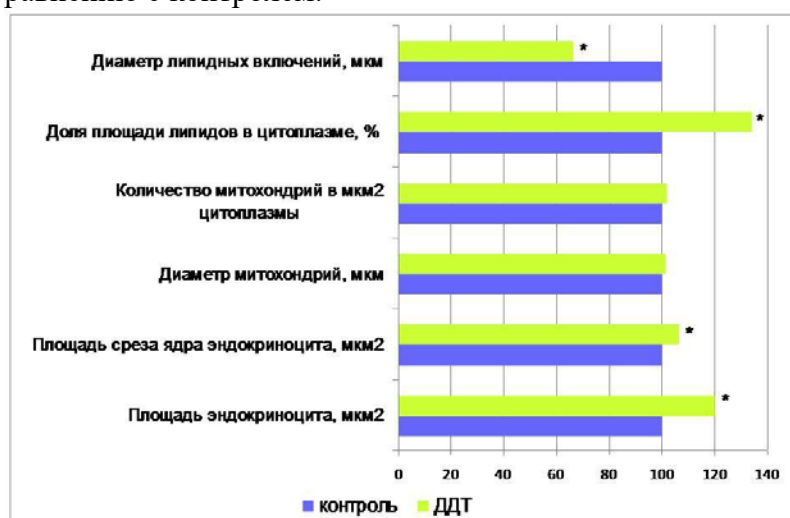


Рис. 2. Ультраструктурные изменения кортикостероцитов сетчатой зоны коркового вещества надпочечников половозрелых крыс контрольной группы и подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии. Значения контрольной группы приняты за 100%.

\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем.

Электронно-микроскопическое исследование сетчатой зоны показало, что у крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ, размеры кортикостероцитов сетчатой зоны и размеры их ядер превышали контрольные значения (рис. 2). Ядра имели неровный контур. Эухроматин преобладал над гетерохроматином как и в контрольной группе. Ядрышко располагалось центрально. Количество митохондрий в  $1 \mu\text{m}^2$  цитоплазмы и их размеры соответствовали значениям контрольной группы (рис. 2). Митохондрии имели везикулярные кристы, и, как правило, просветленный матрикс. Содержание липидных включений в цитоплазме превышало контрольные значения (рис. 2). По сравнению с контрольной группой размеры липидных капель были меньше (рис. 2), их электронная плотность также была повышена. Эндоплазматическая сеть была хорошо развита. В парануклеарной области часто наблюдался комплекс Гольджи.

#### Выводы

Кортикостероциты сетчатой зоны коркового вещества надпочечников крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, демонстрируют высокую функциональную активность. Снижение продукции эстрогена, являющегося производным надпочечникового андрогена андростендиона, свидетельствует о снижении ароматизации последнего, что обусловлено повышением уровня эстрадиола.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: показано, что низкие дозы ДДТ оказывают дисрапторное действие на функционирование сетчатой зоны коркового вещества надпочечников, и при развитии организма в условиях воздействия ДДТ повышают функциональную активность ее клеток после достижения организмом половой зрелости.

#### Литература

1. Яглов В.В., Яглова Н.В. Основы гистологии. М.: ИНФРА-М, 2017. 634с.
2. Gore A., Chapell V., Fenton S., Flaws J., Nadal A., Prins J., Toppari J., Zoeller J. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine Disrupting Chemicals. // *Endocrine Reviews*. 2015. Vol. 36. No. 6. P. E1-E150.
3. Endocrine disrupters and children health. Possible developmental early effects of endocrine disrupters on child health. WHO. Geneva: 2012, 93p.
4. Яглова Н.В., Яглов В.В. Изменения тиреоидного статуса крыс при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013. Т. 156. № 12. С. 720–722.
5. Яглова Н.В., Цомартова Д.А., Яглов В.В. Влияние пренатального и постнатального воздействия низких доз дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) на секрецию катехоламинов у крыс в разные периоды онтогенеза // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017. Т. 163. № 4. С. 415-418.
6. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». СПб.: ГИОРД, 2015. 176 с.
7. Yamazaki H., Takano R., Horiuchi K., Shimizu M., et al. Human blood concentrations of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) extrapolated from metabolism in rats and humans and physiologically based pharmacokinetic modeling // *Journal of health science*. 2010. No. 5. P. 566–575.

#### **Disruption of zona reticularis function by DDT**

*Dibakhan Aslanbekovna Tsomartova, PhD, Research Worker of Endocrine System Development Laboratory, Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology*

*Changes in biochemical parameters of functional activity and fine structure of adrenal zona reticularis in rats exposed to endocrine disrupter DDT during prenatal and postnatal development were investigated.*

*Key words: adrenals, zona reticularis, sex hormones, DDT, endocrine disrupter, development*

УДК 611.018:611.452

### **ЭКСПРЕССИЯ NHEX В ХРОМАФФИННЫХ КЛЕТКАХ НАДПОЧЕЧНИКОВ**

*Наталья Валентиновна Яглова, докт. мед. наук зав. лабораторией развития эндокринной системы, E-mail: yaglova@mail.ru*

*Светлана Владимировна Назимова, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы E-mail: pimka60@list.ru*

*Яглов Валентин Васильевич, докт. мед. наук, главный научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы, E-mail: vyaglov@mail.ru*

*Сергей Stanisлавович Обернихин, докт. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы, E-mail: ober@mail.ru*

*ФГБНУ «НИИ морфологии человека»*

*<http://www.morfolhum.ru>*

*Впервые выявлена способность хромаффинных клеток надпочечников экспрессировать транскрипционный фактор Nhex и показана его связь с морфогенетическими процессами, а также дисрапторное влияние дихлордифенилтрихлорэтана на экспрессию Nhex.*

*Ключевые слова: Nhex, хромаффинные клетки, мозговое вещество, надпочечник, эндокринные дисрапторы, дихлордифенилтрихлорэтан*

#### **Введение**

Nhex (PRH/Nhex, haematopoietically expressed homeobox) – транскрипционный фактор, регулирующий развитие сердца, печени, тимуса, щитовидной железы и переднего мозга в эмбриональном периоде [1, 2]. Основная роль Nhex заключается в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток путем подавления транскрипции ряда генов, таких как эндотелиально-клеточная специфичная молекула 1, фактор роста эндотелия сосудов A и его рецептор, хордин и др., и активации транскрипции эндоглина [3, 4, 5]. В постнатальном развитии Nhex экспрессируется многими клетками эндодермального и мезодермального происхождения, особенно миелоидными клетками. Роль Nhex в постнатальном развитии нервной системы заключается в подавлении роста аксонов нейронов в центральной нервной системе после травмы. В нейронах периферической нервной системе экспрессия Nhex практически не выявляется [6].

Целью нашего исследования было выявление экспрессии Nhex хромаффинными клетками надпочечников в различные этапы постнатального развития органа у интактных животных.

#### **Методика исследования**

Исследование проведено на самцах Вистар (n=42). Для изучения экспрессии PRH/Nhex в постнатальном развитии мозгового вещества надпочечников использовали потомство интактных самок (n=20) и крыс, подвергавшихся ежедневному воздействию низких доз (2,90±0,12 мкг/кг/сут) эндокринного дисраптора о,п-ДДТ с первого дня пренатального развития (n=22). Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила на 42-ые сутки постнатального развития, когда происходит интенсивное развитие надпочечника и на 70-ые сутки, когда орган достигает максимума своего развития [7]. Надпочечники фиксировали в формалине, изготавливали парафиновые срезы. Изучение экспрессии PRH/Nhex проводили методом иммуногистохимии с использованием поликлональных кроличьих антител к Nhex («Abcam» США), разведенных 1 : 100 в «Antibody Diluent» («Abcam» США). Ракцию визуализировали с помощью набора реактивов «Ultra Vision LP Detection System» («ThermoScientific», США) в соответствии с рекомендациями производителя. В качестве позитивного контроля использовали препараты щитовидной железы, в которых выявлена активная экспрессия PRH/Nhex фолликулярным эпителием с локализацией транскрипционного фактора в цитоплазме и ядре. Препараты



докрашивали гематоксилином Майера. Определяли процент PRH/Nhex-позитивных клеток.

Полученные данные подвергали статистическому анализу с помощью программы Statistica 7.0 («Statsoft Inc.», США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих приближенно нормальное распределение, описывали средним значением и стандартной ошибкой среднего значения ( $M \pm m$ ). Сравнение независимых групп по количественному признаку проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий. Статистически значимыми различия считались при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

У интактных крыс на 42-ые сутки постнатального развития в мозговом веществе обнаруживались немногочисленные PRH/Nhex-позитивные хромаффинные клетки (рис. 1). PRH/Nhex обнаруживался только в ядрах. На 70-ые сутки выявлены увеличение площади хромаффинных клеток в срезах надпочечников (рис. 2), а также почти десятикратное увеличение процента PRH/Nhex-позитивных хромаффинных клеток (рис. 1). Аналогично предыдущему возрасту PRH/Nhex обнаруживался только в ядрах.

В группе крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном онтогенезе, на 42-ые сутки площадь хромаффиноцитов в мозговом веществе была немного меньше значений контрольной группы (рис. 2). Наблюдалось статистически значимое трехкратное увеличение количества PRH/Nhex-позитивных хромаффинных клеток по сравнению с возрастным контролем (рис. 1). На 70-ые сутки постнатального развития площадь хромаффинных клеток была значительно меньше контрольных значений (рис. 2), а экспрессия транскрипционного фактора практически не изменялась и была в восемь раз меньше контрольных значений (рис. 1). Как и в контроле PRH/Nhex выявлялся только в ядрах клеток.

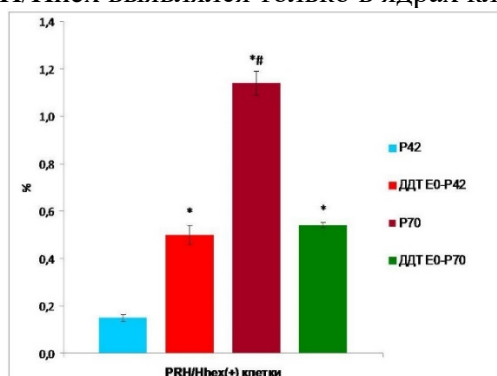


Рис. 1. Количество PRH/Nhex-позитивных клеток среди хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников крыс контрольной группы и крыс, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора ДДТ, на 42-ые и 70-ые сутки постнатального развития.

Примечания: \* – статистически значимые отличия от контроля, # – от предыдущего срока исследования.

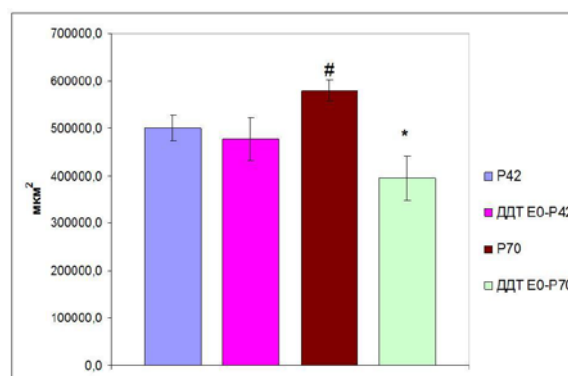


Рис. 2. Площадь, занимаемая хромаффинными клетками в срезах мозгового вещества надпочечников крыс контрольной группы и крыс, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора ДДТ, на 42-ые и 70-ые сутки постнатального развития.

Примечания: \* – статистически значимые отличия от контроля, # – от предыдущего срока исследования.

Полученные нами данные доказывают, что и измененные нейроны периферической нервной системы, которыми являются хромаффинные клетки, также экспрессируют PRH/Nhex в постнатальном развитии, и что он также участвует в регуляции постнатального морфогенеза мозгового вещества. У крыс контрольной группы к моменту максимального развития надпочечника отмечалось значительное увеличение экспрессирующего транскрипционный фактор Nhex эндокриноцитов в мозговом веществе. У крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ, выявлено отсутствие возрастного увеличения площади мозгового вещества и отличная от контрольной динамика экспрессии Nhex.

У крыс, подвергавшихся воздействию ДДТ в пре- и постнатальном периодах, динамики в возрастной экспрессии PRH/Hhex не отмечалось. Повышенный уровень экспрессии Hhex подавлял пролиферацию хромоаффиноцитов в пубертатном периоде, что обусловило отставание в развитии мозгового вещества к 70-ым суткам. Следовательно, Hhex играет важную роль в морфогенезе мозгового вещества надпочечников. Воздействие эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии нарушает экспрессию Hhex, что приводит к гипоплазии мозгового вещества.

#### **Выводы:**

Транскрипционный фактор Hhex экспрессируется хромоаффинными клетками мозгового вещества надпочечников крыс на разных этапах постнатального онтогенеза и играет роль в развитии мозгового вещества. Воздействие эндокринного дисраптора ДДТ является фактором, нарушающим постнатальный морфогенез мозгового вещества, в котором одним из механизмов является изменение экспрессии Hhex.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показана экспрессия транскрипционного фактора Hhex хромоаффинными клетками надпочечников и его связь с морфогенетическими процессами в мозговом веществе надпочечников, а также нарушение экспрессии Hhex при воздействии ДДТ.

#### **Литература**

1. Hallaq H., Pinter E., Enciso J., McGrath J., Zeiss C., Brueckner M., Madri J., Jacobs H.C., Wilson C.M., Vasavada H., Jiang X., Bogue CW. A null mutation of Hhex results in abnormal cardiac development, defective vasculogenesis and elevated Vegfa levels // *Development*. 2004. V. 131. No. 20. P. 5197–5209.
2. Martinez Barbera J.P., Clements M., Thomas P., Rodriguez T., Meloy D., Kioussis D., Beddington R.S. The homeobox gene Hex is required in definitive endodermal tissues for normal forebrain, liver and thyroid formation // *Development*. 2000. V. 127. No. 11. P. 2433–2445.
3. Cong R., Jiang X., Wilson C.M., Hunter M.P., Vasavada H., Bogue C.W. Hhex is a direct repressor of endothelial cell-specific molecule 1 (ESM-1) // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. V. 346. No. 2. P. 535–545.
4. Kershaw R.M., Siddiqui Y.H., Roberts D., Jayaraman P.S., Gaston K. PRH/HHex inhibits the migration of breast and prostate epithelial cells through direct transcriptional regulation of Endoglin // *Oncogene*. 2014. V. 33. No. 49. P. 5592–5600.
5. Noy P., Williams H., Sawasichai A., Gaston K., Jayaraman P.S. PRH/Hhex controls cell survival through coordinate transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor signaling // *Mol. Cell. Biol.* 2010. V. 30. No. 9. P. 2120–2134.
6. Simpson M., Venkatesh I., Ben Callif L., Thiel L., Coley D., Winsor K., Wang Z., Kramer A., Lerch J., Blackmore M. The tumor suppressor HHEX inhibits axon growth when prematurely expressed in developing central nervous system neurons // *Mol. Cell Neurosci.* 2015. V. 68. P. 272–283.
7. Pignatelli D., Xiao F., Gouvtia A., Ferreira J., Vinson G. Adrenarche in the rat // *Journal of Endocrinology*. 2006. Vol. 191. No. 1. P. 301–308.

#### **Expression of Hhex in adrenal chromaffin cells**

*Natalia Valentinovna Yaglova, D.Med.Sc., Head of Endocrine System Development Laboratory, Svetlana Vladimirovna Nazimova, PhD, Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory,*

*Valentin Vasilyevich Yaglov, D.Med.Sc., Professor, Principal Research Worker of Endocrine System Development Laboratory,*

*Sergey Stanislavovich Obernikhin, D.Med.Sc., Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory,*

*Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology*

*It is a first report on expression of Hhex in chromaffin cells of rat adrenal gland, association between development of adrenal medulla and activation of Hhex, and affection of Hhex expression by endocrine disruptor dichlorodiphenyltrichloroethane.*

*Key words: Hhex, chromaffin cells, adrenal medulla, adrenal gland, endocrine disruptors, dichlorodiphenyltrichloroethane*

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ТРЕБОВАНИЙ К СТОЙКОСТИ ФУНКЦИИ БЕЗОПАСНОСТИ ИНФОРМАЦИИ В МЕДИЦИНСКИХ ИНФОРМАЦИОННЫХ СИСТЕМАХ**

**Игорь Эдуардович Есауленко**, д.м.н., профессор, ректор ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж  
E-mail: mail@vrngmi.ru

**Владимир Павлович Гулов**, д.б.н., профессор, профессор каф. общественного здоровья, здравоохранения, гигиены и эпидемиологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж  
E-mail: voldemar1908@mail.ru

**Виктор Анатольевич Хвостов**, к.т.н., доцент каф. информационной безопасности ФГОУ ВО ВГУТ, Воронеж  
E-mail: hvahva1@mail.ru

**Владимир Петрович Косолапов**, д.м.н., доцент, заведующий каф. общественного здоровья, здравоохранения, гигиены и эпидемиологии ИДПО ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж  
E-mail: kosolapov.vl.p@gmail.com

**Галина Владимировна Сыч**, к.м.н., доцент, доцент каф. общественного здоровья, здравоохранения, гигиены и эпидемиологии ИДПО ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж  
E-mail: sichgala@gmail.com

**Елена Ивановна Пелешенко**, к.т.н. нач. отдела защиты объектов интеллектуальной собственности ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж  
E-mail: elena.vsm@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» министерства здравоохранения Российской Федерации  
394036, ул. Студенческая, д.10, Воронеж  
<http://www.vsmaburdenko.ru>

Дан анализ проблем разработки и обеспечения стандартов информационной безопасности медицинских информационных систем (МИС) в форме количественных требований к индикаторам безопасности. Приведено математическое описание проблемы стандартизации требований для безопасности. Предложен алгоритм нормирования, на основе методов эволюционного моделирования защиты информации в МИС. Представлены результаты стандартизации требований для безопасности на основе использования эволюционного моделирования в глобальной сети в соответствии со стандартными уровнями внедрения угроз безопасности.

**Ключевые слова:** медицинские информационные системы, стандарты информационной безопасности, защита информации, моделирование, глобальная сеть.

**Введение.**

В настоящее время в здравоохранении России в соответствии с федеральной целевой программой «Здравоохранение России» реализуются проекты по внедрению в поликлиниках и больницах электронных медицинских карт пациентов, предоставлению услуг «электронной регистратуры», созданию территориальных медицинских регистров и МИС [2, 4, 6]. Эта качественно новая технологическая среда информационного взаимодействия создает также и множество новых проблем, связанных с обеспечением конфиденциальности медицинской информации и сохранением врачебной тайны при их использовании [3].

Особую актуальность при реализации этих проектов приобретает проблема обеспечения защиты конфиденциальной информации в отношении специфичного класса защищаемой информации – персональных данных (ПДн), гарантия защиты которых закреплена законодательно.

**Цель работы.** Обоснование требований к системам защиты информации (СЗИ) в целях защиты информации при обработке ПДн является одной из ключевых задач, решаемых при проектировании МИС.

**Материалы и методы.** Содержащиеся в [5] рекомендации по выполнению технических мероприятий по обеспечению безопасности ПДн разделяются на две категории. Обязательные технические мероприятия при реализации МИС любого класса и технические мероприятия, реализуемые при наличии соответствующего финансирования.

К первому классу относятся наиболее простые, но необходимые технические мероприятия по защите информации, такие как:

1. установка антивирусной защиты на все элементы МИС;
2. установка межсетевого экрана на границе сети;
3. использование криптозащиты.

Все остальные технические мероприятия, традиционно применяемые при решении задачи обеспечения БИ [5], относятся ко второму классу. При этом возможность их реализации в МИС в основном связана с объемом финансирования.

**Полученные результаты.** В этом случае актуальным является повышение защищенности информации МИС за счет целенаправленного объединения элементов СЗИ в систему. Последняя приобретает специфические свойства, изначально не присущие ни одной из ее составных частей. При системном подходе учитываются свойства СЗИ, которые определяют взаимодействие элементов друг с другом и оказывают влияние на АС в целом, а также на достижение поставленной цели безопасности.

Для этого показатели эффективности СЗИ должны представлять собой количественные значения показателей защищенности информации от несанкционированного доступа (НСД) — нормы безопасности информации. Разрабатываемая в настоящее время теория нормирования БИ МИС [1] основывается на решении оптимизационной задачи в следующей постановке.

Найти такой вектор значений показателей ИБ  $\vec{K} = \langle k_1, k_2, \dots, k_p \rangle$ , (1)

удовлетворяющего совокупности исходных данных  $\{V, O_s, S, O_k, \Phi_c\}$  и обладающего при этом характеристикой наилучшего в смысле выбранного критерия предпочтения.

$k_i$  – числовая характеристика защищенности, связанная с эффективностью ЗИ НСД монотонной зависимостью. Чем меньше  $k_i$ , тем лучше система при прочих равных условиях, т. е. при неизменных  $\{V, O_s, S, O_k, \Phi_c, O_s\}$  и неизменных значениях остальных  $m-1$  показателей качества защиты.

$V$  – совокупность условий применения СЗИ вида  $V = \{V_1, V_2, \dots, V_l\}$ ;

$O_s$  – совокупность ограничений на структуру параметры СЗИ НСД вида  $O_s = \{O_{s1}, O_{s2}, \dots, O_{sq}\}$ ;

$S$  – множество реализуемых или проектируемых СЗИ (вариантов построения системы) вида  $S = \{S_1, S_2, \dots, S_d\}$ .  $d$  – допустимое множество СЗИ как существующих так и перспективных;

$O_k$  – ограничения на показатели качества  $O_k = \{O_{k1}, O_{k2}, \dots, O_{kh}\}$ . В случае выбора показателей качества в вероятностном виде ограничения принимают следующий вид:  $0 < O_i < 1$  в виде диапазона.

$\Phi_c$  – векторная функция связи показателей числовых характеристик защищенности с эффективностью МИС по прямому назначению.

В качестве целевой функции, используется марковская модель защиты информации, моделирующая обобщенный алгоритм реализации полного множества угроз НСД к информации в условиях реализации различных мер по защите информации.

Модель защиты предназначена для оценки целевой функции ИБ – вероятности реализации различных вариантов угроз и механизмов защиты в виде:

$$P_{ис0} = \prod_{i=1}^3 (1 - 1 / (1 + \sum_{j=1}^{n,k,m} \frac{\lambda_i^j}{\mu_i^j} (1 + \beta_i^j \frac{\mu_i^j}{v_i^j}))) \quad (2)$$

$i$  – этап реализации угрозы ИБ;

$j$  – способ  $i$ -го этапа реализации имеет экспоненциальное распределение с параметром  $\lambda_{ij}$ ;

$\beta_i^j$  – доля не обнаруживаемых СЗИ типовых угроз ИБ для  $j$ -го способа  $i$ -го этапа реализации;

$v_i^j$  – время задержки обнаружения скрытых действий по НСД  $j$ -го способа  $i$ -го этапа реализации угрозы;

$\mu_i^j$  – параметр экспоненциального времени нейтрализации обнаруженных действий  $j$ -го способа  $i$ -го этапа реализации угрозы;

$n, k, m$  – количество способов реализации угроз НСД первого, второго и третьего этапов.

Значения  $\lambda_i^j$  определяются моделью полного множества угроз ИБ.

**Результаты апробации системы.** Анализ математического выражения (2) показал, что применение стандартных градиентных методов оптимизации затруднен в силу ряда особенностей этого математического выражения. В частности оно имеет многопиковый вид, что приводит к проблемам преждевременной сходимости. Большое количество оптимизируемых переменных приводит к значительным вычислительным затратам.

В этой связи для решения задачи нормирования предлагается использовать методы эволюционного моделирования. В основе метода лежат генетические алгоритмы (ГА) [2], являющиеся адаптивными алгоритмами оптимизации, использующими как аналог механизма генетического наследования, так и аналог естественного отбора.

В общем виде использование эволюционного моделирования для решения задачи нормирования можно представить в виде алгоритма представленного на рисунке 1.

Генетические алгоритмы по сравнению с градиентными методами оптимизации обладают рядом преимуществ, например, такими как:

1. не требуют никакой информации о поведении функции (например, дифференцируемости и непрерывности);
2. разрывы, существующие на по-

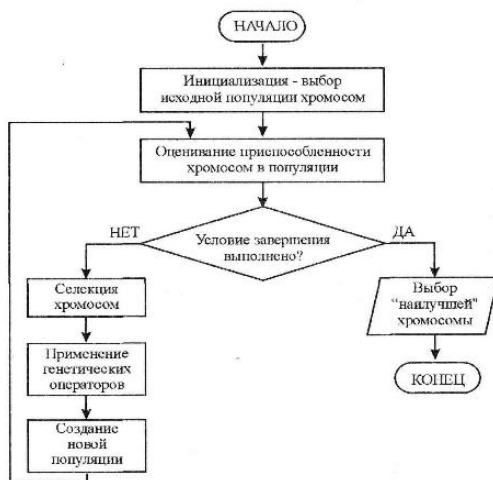


Рисунок 1. Обобщенная схема генетического алгоритма

верхности ответа, имеют незначительный эффект на полную эффективность оптимизации;

3. относительно стойки к попаданию в локальные оптимумы;

Однако существует ряд трудностей в практическом использовании эволюционного моделирования, а именно, в многоэкстремальных задачах ГА сталкивается с множеством аттракторов.

Решение задачи нормирования БИ МИС с использованием модели защиты (1) с использованием эволюционного метода сводится к построению генетического кода, представляющего структуру модели защиты (2), подобно тому, как ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) представляет фенотипические свойства организма. При этом «хромосома» (генетический код) с эволюционной модели используемой при нормировании требований к БИ МИС составляется в виде цепочек единиц и нулей, каждая из которых кодирует наличие или отсутствие одного из свойств модели защиты (2). Структура «хромосомы» процесса нормирования требований БИ МИС представлена на рисунке 2. Поиск оптимальных решений заключается в поиске цепочек из всего их многообразия, обеспечивающих максимум функции приспособляемости.

В соответствии с решаемой задачей нормирования требований к БИ МИС в качестве функции приспособляемости математическое выражение модели защиты (1).

В качестве исходных данных при проведении эволюционного моделирования целесообразно использовать стандартные данные, содержащиеся в наиболее известной общедоступной базе данных реализации угроз БИ накапливаемой DARPA (DARPAIntrusionDetectionAttacksDatabase) [2]. Анализ данных позволил определить статистические характеристики реализации угроз БИ по данным записей эксперимента в виде, представленном в таблице 1. При этом использовались следующие параметры ГА [1, 2]:

1. вероятность кроссинговера 80–95 %;
2. вероятность мутации 0,5–1 %;
3. размер популяции 100;
4. рулеточный отбор новой популяции;
5. критерий остановки численного эксперимента ГА окончание роста функции приспособляемости.

Таблица 1. Статистические характеристики реализации угроз БИ по данным записей эксперимента.

№ п.п.	Наименование атаки	Вид параметров модели защиты	Параметр времени реализации	Интенсивность реализации
Сбор информации о топологии и принципах функционирования автоматизированной системы (Probes)				
1	Ipsweep	$v_1^1 \lambda_1^1$	0.01	4,59e-6
2	Mscan	$v_1^2 \lambda_1^2$	0.01	1,83e-7
3	Nmap	$v_1^3 \lambda_1^3$	0.01	3,30e-6
4	Saint	$v_1^4 \lambda_1^4$	0.01	3,67e-7
5	Satan	$v_1^5 \lambda_1^5$	0.01	3,30e-6
Непосредственное проникновение в автоматизированную систему (RemotetoLocalUserAttacks)				
6	Dictionary	$v_2^1 \lambda_2^1$	0.001	9,18e-7
7	Ftpwrite	$v_2^2 \lambda_2^2$	0.01	5,51e-7
8	Guest	$v_2^3 \lambda_2^3$	0.01	7,34e-7
9	Imap	$v_2^4 \lambda_2^4$	0.01	5,51e-7
10	Named	$v_2^5 \lambda_2^5$	0.01	1,28e-6
11	Phf	$v_2^6 \lambda_2^6$	0.01	5,51e-7
12	Sendmail	$v_2^7 \lambda_2^7$	0.0001	3,67e-7
13	Xlock	$v_2^8 \lambda_2^8$	0.001	3,67e-7
14	Xsnoop	$v_2^9 \lambda_2^9$	0.01	3,67e-7
Установление контроля над автоматизированной системой (UsertoRootAttacks)				
15	Eject	$v_3^1 \lambda_3^1$	0.001	8,45e-6
16	Ffbconfig	$v_3^2 \lambda_3^2$	0.001	4,77e-6

17	Fdformat		0.001	3,49e-6
18	Perl		0.01	2,93e-6
19	Ps		0.01	7,34e-7
20	Xterm		0.01	5,51e-7

Результаты проведения нормирования БИ МИС с использованием эволюционного моделирования представлены на рисунках 3-5.

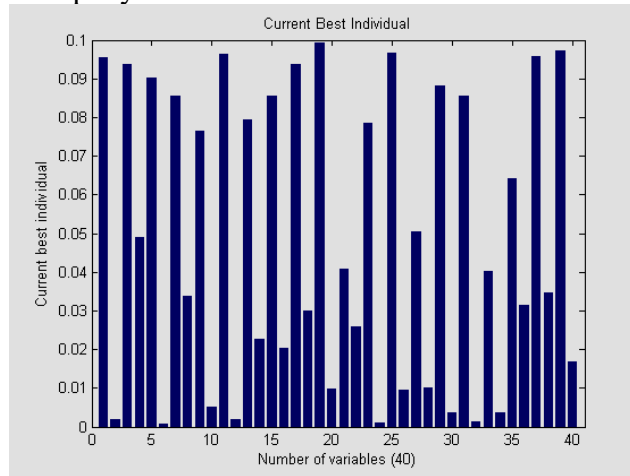


Рисунок 3. Результаты нормирования требований к БИ МИС с использованием эволюционного моделирования.

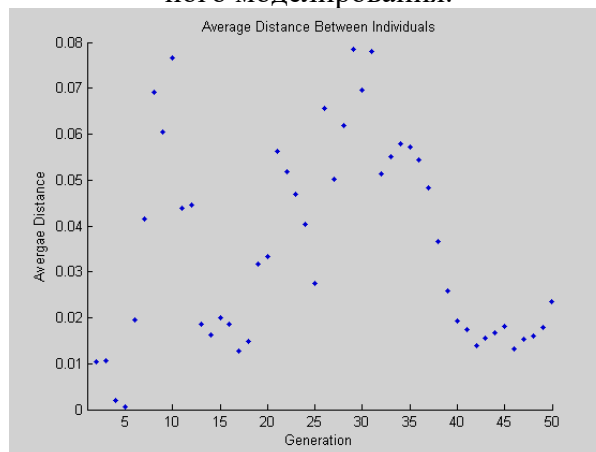


Рисунок 4. Расстояние по Хеммингу между возможными вариантами СЗИ.

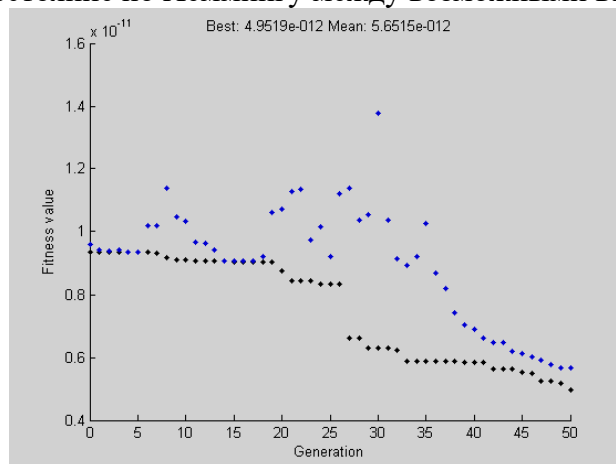


Рисунок 5. Среднее и наилучшее значения функции приспособляемости (2) при эволюционном моделировании.

**Заключение.** Авторы считают, что получены новые данные, касающиеся нормирования требований в соответствии с математической постановкой (1) применительно к модели

защиты в виде математического выражения (2) и исходных данных содержащиеся в общедоступной базе данных реализации угроз БИ накапливаемой DARPA.

**Цитируемая литература.**

1. Анализ архитектуры и кластеризация структуры автоматизированных систем при обосновании требований к информационной безопасности / И.Г. Дровникова, Е.А. Рогозин, А.В. Хвостов, А.А. Змеев // Технологии техносферной безопасности. – М., 2016. – №3 (67). – С. 277-283
2. Гулов В.П., Хвостов В.А. Прогностическая модель реализаций угроз информационной безопасности технологическим медицинским информационным системам / Гулов В.П., Хвостов В.А. // Прикладные информационные аспекты медицины. 2015. Т. 18. № 2. С. 3-10.
3. Модели и алгоритмы прогноза возможностей реализации угроз несанкционированного доступа к информации технологических медицинских информационных систем / Гулов В.П., Скрыпников А.В., Хвостов В.А., Пелешенко Е.И. // В сборнике: Научные исследования: теория, методика и практика сборник материалов Международной научно-практической конференции. 2017. С. 285-288.
4. Некоторые аспекты организации информационных систем в стоматологии / Чернов В.И., Ипполитов Ю.А., Чернов П.В. // Прикладные информационные аспекты медицины. 2004. Т. 7. № 2. С. 45-51.
5. Об одном способе формализации понятия стойкости функции безопасности ГОСТ ИСО/МЭК 15408 / О.Ю. Макаров, В.А. Хвостов и др. // Вестник Воронежского государственного технического университета. – Воронеж, 2009. – Т.5. – №2. – С. 94-98
6. Рационализация управления региональными системами на основе использования методов системного анализа, информационных и гис-технологий / Чопоров О.Н., Гладских Н.А., Пронин С.С., Чудинов М.И., Семенов С.Н., Матюшевский К.Л. // Прикладные информационные аспекты медицины. 2007. Т. 10. № 2. С. 15-19..

**Quantitative values of requirements to the stability of the safety function in medical information systems**

*I.E. Esaulenko professor, the Voronezh State Medical University, V.P. Gulov professor, the Voronezh State Medical University, A.V. Khvostov associate professor, the Voronezh State University of Engineering Technologies V.P. Kosolapov professor, the Voronezh State Medical University, G.V. Sych, associate professor the Voronezh State Medical University, E.I. Pelechenko? candidate of science, the Voronezh State Medical University*

*The analysis of the problem of justifying the information security standards of medical information systems in the form of quantitative requirements to the indicators of security. The mathematical statement of the problem of the standardization of the requirements for the security is given. The algorithm of rationing, based on the methods of evolutionary modeling of information protection in IIAs, is proposed. The results of the standardization of the requirements for the security are presented using evolutionary modeling when connecting to the Internet network in accordance with the standard levels of security threats implementation.*

*Keywords: medical information systems, standards of information security, information security, modeling, global network.*

УДК: 616-092.

**СТРАТЕГИЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ СУСТАВНЫХ БОЛЕЙ  
И ОСТЕОХОНДРОЗА ПОЗВОНОЧНИКА**

*Черкасов Анатолий Данилович, E-mail: healthsys@mail.ru, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИИ общей патологии и патофизиологии РАН*

*Исследования причин остеохондроза позвоночника и болевых синдромов в спине и суставах (колени) методами МРТ и мануальной диагностики позволили установить их*



*причины и разработать стратегию устранения болевых синдромов и предотвращения или остановки развития остеохондроза позвоночника.*

*Ключевые слова: МРТ, суставы, мышцы, миофасциальный синдром, остеохондроз позвоночника, спастические состояния мышц.*

## **1. Введение**

Боли в коленных суставах встречаются достаточно часто. Это заметно, когда наблюдаешь, как некоторые люди поднимаются по лестницам, переступая со ступеньки на ступеньку только одной ногой. При обращении к врачу-ортопеду врач ставит диагноз артрит – воспалительный процесс в тканях сустава, а при назначении МРТ-исследования не всегда, но часто обнаруживаются изменения структуры костной ткани и скользящих синовиальных поверхностей сустава. В этом случае пациенту ставится диагноз – артроз коленного сустава.

Однако научные МРТ-исследования причин болей в коленных суставах показывают, что в коленных суставах при такого рода болях отсутствуют проявления артрита и артроза. Но что же тогда вызывает адскую боль в суставах? При наблюдении за больными было замечено, что в положении лёжа на спине небольшие перемещения ног или изменения позы приводят к исчезновению боли в суставе на некоторое время. Проф. Л.Ф. Васильева объясняет этот феномен наличием обратимого функционального нарушения – функционального блока в мышцах – гипертонуса мышц [1]. То есть боль вызвана не артритом или артрозом, а нарушениями в работе мышц. Как правило, этот феномен встречается у молодых людей, когда артроза ещё не может быть, а проявления артрита (опухание сустава) также отсутствуют.

Боли в спине до недавнего времени отождествляли с остеохондрозом позвоночника. Остеохондроз позвоночника называли «Бичом XX века». Проблема остеохондроза позвоночника касается каждого человека, так как остеохондроз позвоночника считается одним из самых распространённых заболеваний человека. Остеохондрозу, по теории проф. Я.Ю. Попелянского, приписывается множество неврологических синдромов (комплексов симптомов) в позвоночнике и во всём теле [5]. Термин "остеохондроз позвоночника" практически стал синонимом боли в спине. По этой теории остеохондроз позвоночника является нейро-ортопедическим заболеванием, то есть его лечением занимаются и невропатологи, и ортопеды, и нейрохирурги, и мануальные терапевты. «Первично это заболевание позвоночника, и значительная часть его клинических проявлений носит характер ортопедических синдромов» (вертебральные синдромы, по Я. Ю. Попелянскому). Развитие процесса приводит к воздействиям на нервные образования (и на питающие их сосуды) в позвоночном канале и межпозвоночных отверстиях, обуславливая неврологические синдромы – их компрессии или ишемии (синдромы, вертеброгенные по происхождению, но неврологические по своему характеру).

В последнее десятилетие наметился серьёзный пересмотр взглядов на проблему остеохондроза позвоночника. Огромный материал, накопленный благодаря развитию диагностических методов МРТ и КТ, наводит на мысль, что термин «остеохондроз» следует оставить только за дистрофическим изменениям тел позвонков и межпозвоночных дисков, и при этом остеохондроз не вызывает боли в спине и позвоночнике. В 1995 в Вене на съезде вертебологов и ортопедов д-р Вольф (G.D.Wolf) в своём докладе привёл результаты обследования 50000 пациентов с пояснично-крестцовой радикулопатией. 40% больных с изменениями на рентгенограммах не имели клинических проявлений. И, наоборот, 40% больных имели клиническую симптоматику без рентгенологической. Брейсфорд, проанализировав 10000 рентгеновских исследований при поясничных болях, нашёл остеохондроз только в 10% случаев. С обычной частотой встречались туберкулёз, остеомиелит, сколиозы и полная норма [9]. Диагноз, который ещё недавно не вызывал сомнения – «дискогенный радикулит», объявлен не соответствующим действительности. В поясничном отделе уже нет спинного мозга и, соответственно, нервных корешков, но имеются

нити «конского хвоста», компрессия которых даёт другую симптоматику. Другим аргументом против радикулитов – воспалений корешков – является неэффективность применения антибиотиков при болях в пояснице. Таким образом, диагноз «пояснично-крестцовый радикулит» это нонсенс. По данным рентгенологии, не только остеохондроз позвоночника, но и грыжи дисков не вызывают болевых синдромов в спине, позвоночнике и конечностях [2,3]. Болевые синдромы могут быть вызваны так называемыми туннельными эффектами – компрессией нервов при прохождении между мышцами [4]. Работами мануальных терапевтов показано, что боли в спине исчезают после лечебных поздвижений [6], серии сеансов массажа или мануальной терапии [7,8], в то время как остеохондроз остаётся.

На конференции, проводимой ежегодно на кафедре нервных болезней 1-го Медицинского университета им. Сеченова, «Боль в спине – междисциплинарная проблема», в 2015 г. было принято решение не связывать более боль в спине с остеохондрозом позвоночника и называть боли в спине «неспецифическим болевым синдромом», причины которого неизвестны, и «специфическим болевым синдромом», вызванным грыжами межпозвонковых дисков. Соотношение между неспецифическим и специфическим болевыми синдромами это 80% и 20%. Таким образом, отечественная медицина до сих пор не знает причин болевых синдромов ни в позвоночнике, ни в суставах.

## **2. Задачи исследования.**

На основе комплексного исследования состояния тканей суставов и позвоночника (МРТ, термография, мануальная диагностика, функциональные пробы на подвижность позвоночника) выявить причину развития дистрофических явлений в скелетно-мышечной системе и разработать стратегию немедикаментозного устранения болевых синдромов, а также предотвращения развития остеохондроза позвоночника.

## **3. Методы и обследуемый контингент.**

### **3.1. Контингент обследованных.**

Всего в обследовании участвовало 70 человек. В обследовании состояния мышечного корсета и состояния позвоночника принимало участие 40 практически здоровых лиц мужского пола в возрасте от 18 до 48 лет, занимающихся физической культурой и спортом (далее – спортивная группа). В этой группе мы применяли следующие методы для исследования состояния мышечного корсета позвоночника: мануальная диагностика (40 обследованных) и измерение подвижности сегментов позвоночника при функциональных пробах (30 обследованных).

Контрольная группа включала в себя 30 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 48 лет, не занимающихся физической культурой и спортом. Все 30 человек прошли мануальную диагностику и измерение подвижности сегментов позвоночника при функциональных пробах. Состояние позвонков, межпозвонковых дисков и мышц позвоночника оценивалось по результатам обследований с помощью методов МРТ (10 обследованных из контрольной группы). Эти 10 лиц прошли курсы мануальной терапии – миофасциального релизинга с целью устранения имевшихся у них нарушений в мышечном корсете позвоночника.

### **3.2. Методы мануальной диагностики мышечного корсета позвоночника по локализации спастических состояний.**

При мануальном обследовании паравертебральных зон отыскивали области, характеризующиеся постоянными болями, зоны, отвечающие болями при вибрационном воздействии на мышцы, и области спины, характеризующиеся гипертрофированным развитием длиннейших мышц спины, как симметрично, так и асимметрично относительно позвоночника. Обследованию подвергались лица, страдающие хроническими болями в позвоночнике в течение года или более. Состояние поверхностных мышц оценивалось по следующим критериям: 1) норма – нормальные по размеру эластичные мышцы, не прояв-

ляющие болезненность при вибрационном воздействии; 2) гипертрофия – мышцы увеличенного объёма, сохраняющие свою эластичность, находящиеся в безболезненном состоянии; 3) умеренное спастическое состояние мышц – мышцы, имеющие плотные, потерявшие эластичность участки, отвечающие болями при вибрационном воздействии на них; 4) сильная спастика мышц – мышцы, характеризующиеся постоянными болями, жесткостью, потерей эластичности, повышением температуры кожного покрова над мышцей на 2° – 3° С. Температура кожного покрова измерялась бесконтактным электронным термометром DT-634 фирмы AND (Япония). Состояние глубоких межпозвонковых мышц оценивалось по болевому эффекту от вибрационного воздействия или наличию постоянных болей в области позвоночника при отсутствии боли в длиннейшей мышце спины при мануальном воздействии на неё в этой области позвоночника.

### **3.3. Методы диагностики подвижности двигательных сегментов позвоночника**

Проводилось измерение подвижности сегментов позвоночника при функциональных пробах. Для этого на поверхность кожи в точках, соответствующих проекции центра остистого отростка каждого позвонка, ставились метки. Далее производилось фотографирование спины обследуемого для выявления сколеоза. Затем обследуемый изгибал позвоночник по всей длине без наклона в области таза в правую и левую стороны – выполнялись функциональные пробы. По фотографиям, сделанным при функциональных пробах, измерялись углы наклона линий, проходящих через каждые два смежных позвонка. По этим данным строились графики подвижности сегментов позвоночника по всему позвоночнику. Угол наклона в 4° – 5° рассматривался нами как норма. Угол от 2° до 4° рассматривался как умеренное спастическое состояние межпозвонковых мышц. Угол менее 2° рассматривался как полная блокада межпозвонковых мышц. Угол более 5° рассматривался как гиперподвижность сегментов позвоночника.

**3.4. Методика анализа результатов обследований позвоночника с помощью МРТ.** Часть лиц, проходивших комплексное обследование позвоночника, описанное выше, проходила обследование позвоночника с помощью методов магнитно-резонансной томографии. Материалы обследования подробно изучались с привлечением специалистов. Нами анализировались признаки и степень выраженности дегенеративно-дистрофических изменений в межпозвонковых дисках (изменение качества, плотности и толщины дисков, наличие грыж дисков), в телах позвонков (наличие выростов или изменение формы позвонка, грыжи Шморля, гемангиомы, компрессионные переломы), а также состояние мышц позвоночника – гипертрофия (увеличение размера и изменение профиля мышц), отёчность (потемнение мышечной ткани), наличие жировых прослоек (яркие светлые полосы в мышечной ткани) как признака фиброза или потери сократительной способности в результате многолетней детренированности и пассивности.

### **3.5. Методы реабилитации лиц, имеющих проблемы позвоночника.**

В качестве реабилитационных методов мы применяли специальную гимнастику для позвоночника на основе гимнастических упражнений китайской гимнастики цигун, выполняемых по схеме аутомануального комплекса Норбекова. В отличие от гимнастики Норбекова все гимнастические упражнения выполнялись синхронно с дыханием, как этого требуют принципы гимнастики цигун. Другим методом реабилитации стала мануальная терапия - массаж мышечного корсета позвоночника по разработанной нами методике на основе методов китайской восстановительной медицины. По своим механизмам и результатам они соответствуют европейским методам миофасциального релизинга.

## **4. Результаты. Исследование состояния позвоночника у пациентов с болевым синдромом в позвоночнике**

#### 4.1. Клинико-статистический анализ дегенеративно-дистрофических проявлений в позвоночнике

Мы проанализировали 500 амбулаторных обследований, проводившихся с помощью методов магнитно-резонансной томографии у лиц, обратившихся в диагностическое отделение КБ №1 УД президента РФ по поводу болей в позвоночнике. Анализ производился на основе заключений специалистов об обнаружении и степени выраженности признаков дегенеративно-дистрофических изменений. Мы анализировали распределение по отделам позвоночника и протяженность областей дегенеративно-дистрофических изменений в межпозвонковых дисках (изменение качества, плотности и толщины дисков, грыжи дисков), телах позвонков (наличие выростов или изменение формы позвонка, грыжи Шморля, гемангиомы, компрессионные переломы). По результатам анализа строились диаграммы частот проявлений всех видов дегенеративно-дистрофических изменений для каждого сегмента позвоночника. Эти состояния нередко интерпретировались врачами как остеохондроз позвоночника. Был проведён анализ частоты проявления ДИП по данным МРТ для трёх отделов позвоночника: поясничного (n=141), грудного (n=294) и шейного (n=165) для трёх возрастных групп: 18 – 35 лет, 36 – 50 лет, более 50 лет.



Рис. 1. МРТ обследование грудного отдела позвоночника пациентки 17 лет. В области болевого синдрома (6 – 8 грудные позвонки) наблюдается более тёмный тон межпозвонковых мышц, истончение слоя подкожно-жировой клетчатки.

Установлены общие закономерности развития дистрофических изменений в позвоночнике. Сравнение по всем возрастным группам показало, что максимальное число обнаруженных ДИП во всех возрастных группах попадает на следующие области позвоночника: в шейном отделе на позвонки С4, С5, в грудном отделе на позвонки Th7, Th8, в поясничном отделе на позвонки L4, L5. Эти области соответствуют участкам максимальной кривизны для каждого из отделов позвоночника. Участки поражения ДИП шириной 2 – 3 сегмента соответствуют возрастным группам 18 – 35 лет. С возрастом области позвоночника, охваченные дегенеративно-дистрофическим процессом, расширяются при сохранении положения максимумов. Более 50% обнаруженных ДИП приходится на области С3 – С6, Th5 – Th11 и L3 – L5. Области, максимально подверженные ДИП, совпадают с участками максимальной кривизны позвоночника в каждом из 3-х отделов. В этих же областях обнаружены спастические состояния в межпозвонковых мышцах,

#### 4.2. Анализ результатов обследований позвоночника с помощью МРТ.

Состояние позвонков, межпозвонковых дисков и мышц позвоночника контингента обследуемых оценивалось по результатам обследований с помощью методов МРТ (10 обследованных из контрольной группы). В дополнение к этому нами были также в присутствии специалистов проанализированы 60 МРТ обследований амбулаторных пациентов с болями в области позвоночника.

На снимках у всех из них были обнаружены различные дегенеративно-дистрофические изменения позвонков, дисков, мышц и каналов, по которым из межпозвонковых отверстий выходят нервные корешки и кровеносные сосуды.



Рис. 2. МРТ поясничного отдела шестидесятилетнего пациента.

У всех этих пациентов были обнаружены области позвоночника с изменённым состоянием межпозвонковых мышц. Мы приводим два примера обследований наших пациентов. В каждом из этих случаев, особенно у лиц молодого возраста (рис. 1), мы наблюдали более тёмные области (признак увеличения доли воды в составе тканей и снижения доли жира) в мышечном корсете позвоночника. В ряде случаев мы наблюдали отёк тканей в мышцах позвоночника. Одновременно в этих областях слой подкожно-жировой клетчатки становится более тонким, как следствие интенсивной работы мышц. У лиц старшей возрастной группы мы наблюдали мышцы с жировыми прослойками (рис. 2). Спазмированные в течение длительного времени (годы и десятилетия) мышцы на МРТ снимках показали повышенную плотность жировых скоплений, видимые как яркие прослойки в области 4 – 5 поясничных позвонков. Это является признаком потери сократимости или фиброза у лиц старшего возраста. В области 12 грудной – 3 поясничной позвонки имеется участок межпозвонковых мышц без жировых прослоек с более тёмным тоном. По данным мануальной диагностики это область болевого синдрома (радикулопатия). Межпозвонковые диски в этой области имеют нормальное состояние.

В области позвоночника с болевым синдромом, но с хорошим состоянием межпозвонковых дисков, межпозвонковые мышцы жировых прослоек не имеют, а их структура имеет более тёмную текстуру, чем нормальные мышцы. В зависимости от плотности тёмного тона это является признаком высокой активности мышц, наличием воспалительного процесса в мышцах или признаком отёка. Это признаки спастических состояний мышц. Именно в этой области пациент испытывает боль, а не там, где имеется остеохондроз или грыжа диска. Для лиц средней возрастной группы часто локализация спастиче-

ских состояний мышц совпадает с областями, в которых наиболее часто возникают дистрофические проявления.

#### **4.3. Выводы из анализа МРТ-обследований**

На основе проведённого анализа и наших многолетних наблюдений можно сделать заключение об особенностях и этапах развития остеохондроза позвоночника:

1. Локализация спастических состояний межпозвонковых мышц совпадает с областями, в которых люди испытывают боли, называемые по ошибочному представлению неврологов остеохондрозом позвоночника. С другой стороны, в областях позвоночника с дисками, затронутыми остеохондрозом, видны межпозвонковые мышцы, исчерченные светлыми тонкими полосками. Это жировые прослойки между пучками мышечных волокон. Их наличие является признаком пассивности этих мышц, потери их сократимости и их фиброзного перерождения.

2. Спастические состояния межпозвонковых мышц могут существовать многие месяцы и годы, приводя к развитию остеохондроза вследствие нарушения кровообращения в позвонках и их трофики.

3. Спастические состояния мышц не являются болезнью. Эти состояния являются обратимыми функциональными нарушениями в работе мышц. Спастические состояния межпозвонковых мышц могут быть разрушены, а боли устранены с помощью массажа позвоночника по типу миофасциального релизинга и релаксационных гимнастик для позвоночника по принципам китайской релаксационной гимнастики Цигун.

4. Анализ возрастных закономерностей развития остеохондроза позвоночника показал, что остеохондроз позвоночника может начаться в 17 лет, но может отсутствовать и в 78 лет. У подростков локализация боли в позвоночнике совпадает с локализацией мышечных блоков без дистрофических изменений, присущих остеохондрозу позвоночника, или с начальной фазой их образования. У лиц среднего возраста области локализации болей в позвоночнике и области мышечных блоков совпадают с областями дистрофических изменений в межпозвонковых дисках и позвонках, т.е. с остеохондрозом позвоночника. У лиц старшей возрастной группы в областях с дистрофическими изменениями тканей позвоночника боли отсутствуют и, наоборот, боли имеются в тех областях, где ещё нет далеко зашедших дистрофических изменений, но имеются длительно существующие мышечные блоки. Начальным этапом развития остеохондроза позвоночника является образование мышечных блоков и болевой синдром в спине и позвоночнике. Существующие в течение ряда лет мышечные блоки, нарушая кровообращение и трофику (питание и регенерацию тканей) в сегменте позвоночника, приводят к развитию дистрофических изменений в дисках и позвонках – остеохондрозу.

#### **5. Исследование состояния коленного сустава и методы реабилитации.**

Нами были проведены измерения температуры поверхности кожи в области больного сустава бесконтактным термометром. Измерения показали, что в области болевой синдромы температура кожного покрова повышена на 3 – 5 градусов. Это говорит о том, что какая-либо мышца сустава перенапряжена или спазмирована. Наиболее часто мы наблюдали такие состояния для мышцы на внутренней поверхности коленного сустава. В медицинской литературе эти мышцы ошибочно называют связками. Но на МРТ хорошо видно, что это не связки, а тонкие и широкие мышцы.

Наблюдения за 5 нашими пациентами показали связь хронических болевых синдромов с питанием: с избыточным количеством сахара и продуктов с повышенным содержанием крахмала. Наши рекомендации по снижению потребления этих продуктов приводили к полному избавлению от болей в коленных суставах. Один из наших пациентов отказался выполнять эти рекомендации (врачи поставили диагноз артроз тазобедренных суставов). В течение 5 лет нашего наблюдения у пациента развился спастический паралич нижних конечностей, приведший к инвалидности.

С помощью МРТ исследовано состояние тканей коленных суставов при хронических болях. У молодых людей с сильными болями в коленных суставах, как правило, не обнаруживаются признаки артроза суставных поверхностей и отсутствуют проявления артрита. На снимках МРТ видно, что мышцы на боковых поверхностях сустава имеют более темный тон. Это говорит о повышенном содержании воды и отсутствии жировых прослоек в мышце, что является признаком спастического состояния мышцы.



**Рис. 4. МРТ коленного сустава без признаков артрита и артроза (по заключению специалистов) пациентки, страдающей сильными болями в колене.**

#### **6. Обсуждение. Механизм возникновения мышечной спастики.**

Причины и механизмы возникновения спастических состояний в мышцах практически не изучены. У нас имеется ряд наблюдений за некоторыми нашими пациентами, страдающими болями в коленях. Наблюдения показывают, что физические или стрессовые перегрузки являются лишь провокаторами спастики, а главной причиной спастических состояний является изменение ионного состава в мышцах и их энергетического обеспечения.

Здесь стоит вспомнить о болезни бери-бери.

Заболевание бери-бери было широко известно и распространено повсеместно в Юго-Восточной Азии. Бери-бери сопровождается параличами и потерей чувствительности нижних конечностей, а также поражениями сердца и легких, часто приводит к смертельному исходу. Там ежегодно от бери-бери умирало до двухсот тысяч человек. Смерть наступала по причине кардиомиопатии – разрушения мышечных волокон миокарда.

В Японии ежегодно от бери-бери умирало до 50 тысяч человек.

В конце XIX века в Голландской Индии вновь встала проблема бери-бери. Было зафиксировано много смертельных случаев среди европейцев, в связи с чем правительство Голландии учредило специальную комиссию, призванную изучить этот вопрос. В комиссию вошел врач Христиан Эйкман. В то время господствовавшей парадигмой был тезис «болезнь должна обязательно вызываться каким-то болезнетворным агентом». Этого же мнения вначале придерживался и молодой голландец Христиан Эйкман, работавший на острове Ява в качестве главврача тюремных больниц. Однажды доктор Эйкман, выглянув из окна своей квартиры в Батавии, увидел двух куриц, движения которых напомнили доктору больных бери-бери, которых он постоянно наблюдал среди заключенных как тюремный врач. Этим кур кормили остатками пищи тюремной больницы. Поэтому Эйкман решил проверить влияние различных видов риса на возникновение болезни, посчитав, что рис может быть заражен бактериями. Рис, которым питались военнослужащие, был очищенным (полированным), тогда как рис, кормление которым привело к выздоровлению цыплят, был неочищенным. Когда Эйкман вновь стал кормить половину выздоровевших цыплят полированным рисом, те снова заболели; а другие, кормившиеся неочищенным, остались здоровыми. Более того, когда повторно заболевших цыплят снова стали кормить неочищенным рисом, они опять поправились. Эйкман задался вопросом: а не может ли очищенный и неочищенный рис играть какую-либо роль в возникновении бери-бери у человека? Оказалось, что у заключенных тюрем, получавших очищенный рис, частота возникновения бери-бери была в 300 раз выше, чем там, где для приготовления пищи использовался рис неполированный.

Вернувшись в Голландию в 1896 г. Эйкман написал о своих экспериментах отчет. В 1911 г. работа Эйкмана случайно попала в руки молодого польского исследователя Казимира Функа. Функ выделил из рисовой шелухи вещество, препятствующее развитию этого заболевания. Это вещество, которое сегодня называется тиамин, или витамином

В<sub>1</sub>, не содержится в очищенном от шелухи рисе. Функ предложил для подобных веществ термин «витамины» – от латинских слов «vita» (жизнь) и «amine» (азот). Однако первым человеком, заявившим, что существуют пищевые продукты, без которых жизнь не возможна, был Фредерик Хопкинс. В 1929 г. Эйкману совместно с Фредериком Хопкинсом за вклад в открытие витаминов была присуждена Нобелевская премия. Витамин В<sub>1</sub> способствует нормальному протеканию процессов углеводного и жирового обмена. Его дефицит приводит к накоплению в крови человека пировиноградной кислоты и её повышенной концентрации в нервной системе. Последствием такого биохимического нарушения обмена веществ являются поражения нервной системы. Инфекционный агент бери-бери так и не был обнаружен. Болезнь бери-бери оказалась полиневритом – множественным воспалением периферических нервов.

Таким образом, наши наблюдения выявили три основных фактора, приводящих к развитию долговременной мышечной спастики. Это избыточное потребление сахара, крахмала и пива, недостаток витамина В<sub>1</sub> и недостаток микроэлементов: кальция, магния и цинка. Нами было проверено, что устранение трех этих факторов приводит к исчезновению болей в суставах при сохранении имеющих место артрозов. Мы рассматриваем боли в спине, мышцах и суставах как европейский вариант болезни бери-бери.

Наши многолетние наблюдения выявили ещё одну особенность болей в суставах: боли появляются на следующий день после потребления избыточного количества сахара, крахмала, сладких напитков и пива. Кроме того, не все люди, позволяющие себе это, страдают болями в суставах. Это позволяет сделать заключение, что болевой синдром появляется после окончания метаболических процессов по усвоению сладких продуктов и продуктов, содержащих крахмал в высокой концентрации (например, рис), в кишечнике. Таким образом, виновником болевых синдромов является не только неправильное питание, но и обитающая в кишечнике микрофлора. Именно микрофлора производит высокоатомные спирты (сивушные масла), нарушающие работу кальциевых насосов в мышцах. Хорошо известно, что блокирование кальциевых насосов в мышечных волокнах не мешает сокращению волокна при приходе нервного импульса, но время расслабления волокна увеличивается во много раз. Вероятно, спазмирование мышц вызвано присутствием каких-то вредных штаммов дрожжей, вырабатывающих токсины, блокирующих кальциевые насосы. Эта гипотеза ещё ждёт своего научного подтверждения.

**7. Заключение.** По результатам наших пятнадцатилетних исследований и практики реабилитации у нас сформировались следующее представление о предмете и стратегия предотвращения остеохондроза позвоночника и его последствий:

1. Остеохондроз позвоночника не является заболеванием позвоночника, которое может быть вылечено, а является необратимым дистрофическим процессом т.е. преждевременным старением тканей.

2. Болевой синдром в позвоночнике и суставах также не является заболеванием, которое может быть вылечено с помощью болеутоляющих препаратов, а является обратимым функциональным нарушением в работе мышц.

3. Спастические состояния межпозвоковых мышц и мышц суставов являются следствием недостатка витамина В<sub>1</sub> и чрезмерным потреблением продуктов, содержащих крахмал и сахар, т.е. европейским вариантом болезни бери-бери.

4. Проблема предотвращения или остановки развития остеохондроза позвоночника, как ведущего фактора нездоровья человека, является не медицинской проблемой, а проблемой правильного питания и физической культуры.

5. Остеохондроз позвоночника не является ни возрастным процессом (несмотря на наличие возрастной тенденции развития), ни расплатой за прямохождение человека – неустраняемым фактором, не предусматривающим профилактику.

6. Развитие остеохондроза может быть предотвращено и остановлено на протяжении всей жизни методами устранения спастических состояний межпозвоковых мышц –



массажем мышц спины и позвоночника по принципам миофасциального релизинга (расслабления глубоких мышц позвоночника), гимнастикой для позвоночника и обязательно употреблением витамина В1.

7. Физическая культура в XXI веке должна быть ориентирована не на усиление мышц спины и позвоночника с помощью тренажеров, а на их расслабление и регулярное поддержание подвижности всех сегментов позвоночника, который нуждается в постоянном контроле за образованием мышечных блоков, гимнастике для позвоночника и массаже глубоких мышц позвоночника.

8. Лечение остеохондроза существующими в настоящее время методами – абсурд, т.к. не устраняет спастические состояния мышц и способствуют прогрессу дистрофических процессов.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: Болевые синдромы в суставах и позвоночнике вызываются спастическими состояниями мышц. Причиной спастических состояний являются обратимые функциональные нарушения, вызванные блокадой кальциевых насосов в мышечных волокнах. При болях в позвоночнике и суставах лечить нужно не артроз и остеохондроз, а болезнь бери-бери.

### **Литература**

1. Васильева Л.Ф. Функциональные блоки суставов позвоночника и конечностей. (Мануальная диагностика и терапия с основами прикладной кинезиологии). / Л.Ф. Васильева. – Новокузнецк: ОАО «Новокузнецкий полиграфкомбинат», 1999. – 159 с.
2. Жарков П.Л. Поясничные боли. / П.Л. Жарков, А.П. Жарков, С.М. Бубновский. – М.: ООО «Юниартпринт», 2001. – 143 с.
3. Жарков П.Л. Что такое остеохондроз в клинической практике? / П.Л. Жарков // Бюллетень №5. XIII-я конференция мануальных терапевтов. Актуальные вопросы мануальной терапии. – Москва, 2003, – С. 97-98.
4. Жулев Н.М. Остеохондроз позвоночника. Руководство для врачей. / Н.М. Жулев, Ю.Н. Бардзгардзе, С.Н. Жулев. – СПб.: Лань, 1999.
5. Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. / Я.Ю. Попелянский. – М.: Медицина, 1989.
6. Ситель А.Б. Соло для позвоночника. / А.Б. Ситель. – М.: Метафора, 2006. – 224 с.
7. Черкасов А.Д. Пути предотвращения остеохондроза позвоночника. Часть 1. Локализация дегенеративно-дистрофических изменений в позвоночнике. // Фундаментальные исследования. – 2008. - № 7. – С. 41-44.
8. Черкасов А.Д. Пути предотвращения остеохондроза позвоночника. Часть 2. Характеристики мышечных блоков в позвоночнике. // Фундаментальные исследования. – 2008. - № 7. – С.45-49.
9. Brailsford J.F. Lessons of the intervertebral disks. Some personal reflections // Brit. Journ. Radiol. – 1995. – №28. – P.415-431.

### **Strategy for the prevention of neurological syndromes and spinal osteochondrosis**

*Cherkasov Anatoliy, E-mail: [healthsys@mail.ru](mailto:healthsys@mail.ru), senior science collaborator of the institute of general pathology and pathophysiology RAS. [niiopp@mail.ru](mailto:niiopp@mail.ru).*

**Key Words:** *MRI, muscle, knee, spine, osteochondrosis, spastic, neurologic syndromes, rehabilitation.*

**Summary.** *We investigate the causes of spinal osteochondrosis and pain syndromes in the back and in the knee by MRI and by the methods of manual diagnostics. We have established that these states have a common source - the spastic states of intervertebral and knee muscles. We have developed a strategy to eliminate neurological syndromes and prevent or stop the development of osteochondrosis of the spine.*

## НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИЯ: ЧТО ВАЖНЕЕ МОЗГОВЫЕ ВОЛНЫ ИЛИ МОЗГОВЫЕ КАРТИНКИ?

**Виктор Васильевич Гнездицкий**, д.б.н., проф., лаб. клин. Нейрофизиологии [gnezdvv@mail.ru](mailto:gnezdvv@mail.ru)  
ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва,  
125367, Волоколамское ш., 80., [institute@neurology.ru](mailto:institute@neurology.ru)  
<http://www.neurology.ru>.

**Оксана Михайловна Борисова** к.м.н., врач невролог [oxsana.borisova@yandex.ru](mailto:oxsana.borisova@yandex.ru)  
ГБУЗ ГП №175 ДЗМ

*В статье обсуждаются вопросы усовершенствования электрофизиологических методов исследования для диагностики различных патологических процессов в головном мозге, помогающих более точному восстановлению источников генерации, их компонент по всему объему мозга и анализ изменений БЭА головного мозга при различной патологии: инсульте, рассеянном склерозе, эпилепсии, нейродегенеративных и других заболеваниях мозга.*

*Ключевые слова: ЭЭГ, ВП. Методы нейровизуализации. Обратная задача ЭЭГ и ВП. Локализация источников нормальных и патологических паттернов ЭЭГ. Компоненты ВП. Совмещение электрофизиологических методов исследования с другими методами нейровизуализации.*

**Введение.** Изучение патологических состояний головного мозга осуществляется двумя основными подходами: методами клинической нейрофизиологии (на основе регистрации активности - электрические или магнитные сигналы ЭЭГ и ВП) – мозговые волны и нейровизуализационными методами исследования на основе томографии (КТ, МРТ в различных вариантах, включая функциональную МРТ (фМРТ) на основе регистрации зон повышенной оксигенации) – мозговые картинки. По отношению к их применению в неврологии могут быть высказаны следующие соображения. Методы клинической нейрофизиологии являются важными разделами в неврологии, но они отстают от нейровизуализационных методов - КТ, МРТ по их наглядности. В то же время электроэнцефалография - компьютерная ЭЭГ, видео- ЭЭГ, холтер-ЭЭГ, ЭЭГ высокого разрешения и совмещения с МРТ дает более полное представление о функциональном состоянии головного мозга и топическом расположении очага патологической активности. ВП различных модальностей, включая когнитивные и вегетативные ВП, представляются важным, но еще недооцененным направлением, имеющим хорошее временное разрешение и отношение сигнала / шуму. В ряде случаев электрофизиологические методы исследования могут даже конкурировать с МРТ и фМРТ [1] Также как метод ТМС, активно развивающееся направление, в том числе ТМС – навигация, ТМС-ЭЭГ, имеет не только важное диагностическое, но и лечебное применение

Отсюда возникает вопрос - что в целом важнее для клинической неврологии - мозговые волны, изучаемые с помощью инструментальных методов нейрофизиологии –ЭЭГ, ВП ТМС или мозговые картинки, получаемые с помощью КТ , МРТ.

В последнее время, лидируют вторые методы, как более наглядные и имеющие возможность получения мозговых картинок. Несмотря на то, что методы клинической нейрофизиологии позволяют нам оценить функциональную активность головного мозга, они отстают от нейровизуализационных методов - КТ, МРТ по возможности нейровизуализации в объеме мозга. История изучения локализаций функций мозга и функционального картирования относит нас к таким работам как: Пенфильд У., Джаспер Г. Эпилепсия и локализация мозговых функций, 1958.; Лурия А.Р. Высшие корковые функции человека, 1969 Лурия А.Р. Хомская Е.Д. Лобные доли и регуляция психических процессов, 1966; и особенно Прибрам К. Языки мозга, 1973 и многие другие [2-6].

Они основывались на методах, явившихся источником наших знаний о функциональной организации мозга: 1) данные сравнительной анатомии; 2) результаты, полученные при разрушении различных участков мозга (экспериментальные, клинические наблюдения); 3)

стимуляция различных участков мозга (экспериментальные, клинические наблюдения); 4) на основе регистрация ответов мозга на различные сенсорные и эндогенные события у животных и у человека 5) данные современных методов функциональной нейровизуализации по результатам томографии, а также возможность нейровизуализации на основе анализа многоканальных записей ЭЭГ и ВП. В совокупности все эти данные привели к мнению о наличии трех блоков функциональных систем мозга [3; 4]:

- Блок регуляции тонуса и бодрствования («энергетический блок» , [5;6] - неспецифическая активация, тоническая форма, ориентировочный рефлекс (нейроны новизны, компаративная функция и механизмы памяти)

- Блок приема, обработки и хранения поступающей информации (первичные проекционные , вторичные и ассоциативные зоны мозга) [ 3 - 5]

- Блок программирования, регулирования и контроля сложных форм деятельности (организация целенаправленной активной сознательной деятельности)[ 5 ].

**Цель работы.** В связи с этим, целью нашего исследования, было оценить возможности функционального картирования мозга с помощью инструментальных нейрофизиологических методов- ЭЭГ и ВП. Учитывая, что методы нейрофизиологии остаются важными направлениями в исследовании мозга, как в клинической неврологии так и в нейрореабилитации, мы поставили перед собой вопрос – «можно ли улучшить их применение, совершенствуя методы локализации их источников?».

**Материалы и методы.** Проведен анализ ЭЭГ и мультимодальных ВП (зрительных – ЗВП на реверсивный шахматный паттерн (РШП), АСВП - акустических стволовых ВП и ССВП-соматосенсорных ВП верхних и нижних конечностей) у 620 больных, обследованных в динамике в лаборатории клинической нейрофизиологии НЦ неврологии с 2005 по 2016г. Регистрация мультимодальных ВП (ЗВП, АСВП и ССВП) проводилось на нейроусреднителе Нейро-МВП (фирма Нейрософт, Иваново). Условия стимуляции, регистрации и усреднения подробно изложены в нашей монографии [3, 4]. Для локализации источников на основе многоканальных записей ЭЭГ и ВП использовалось программное обеспечение Brainlock -:6 [14-16].

**Результаты.** Из представленного выше анализа встает вопрос? Станет ли ЭЭГ и ВП методами нейровизуализации, и в какой мере они будут востребованы? Структурные методы - КТ и МРТ, и также функциональные методы нейровизуализации, к которым относят: f-МРТ ОФЭКТ ПЭТ – заняли основную нишу диагностического алгоритма при множестве заболеваний головного мозга. Возникает вопрос относительно инструментальных методах нейрофизиологии ЭЭГ и ВП? Могут ли они быть востребованы как методы нейровизуализации? [14]. Ниже в статье приведены ряд примеров функционального картирования мозга на основе ЭЭГ и ВП многоканальных записей.

Функциональное картирование мозга на основе анализа ЭЭГ с применением дипольной локализации источников фокальной дельта активности, ответственной за выпадение функций мозга, имеет диагностическую значимость и позволяет решить ряд вопросов. Нейровизуализации функционального состояния ишемического очага по ЭЭГ. Связь функциональных проявлений очага и структурной визуализации. Связь с сопутствующими очагами (эпилептиформными, зоной преходящей ишемии и др.).

Особое значение анализ мозговых волн играет в изучении проблемы пароксизмальной активности в ЦНС и в ВНС [8;17], что недоступно при исследовании мозговых картинок на КТ и МРТ.

Основные преимущества методов нейрофизиологии (ЭЭГ и ВП) состоят в том, что они могут сказать какое событие происходит в мозге, в том числе и имеющее клиническое значение (спайки, патологические медленные волны, компоненты ВП, и др) т.е. Что происходит), они могут сказать Когда эти события происходят в мозге, с точностью до мсек , но, к сожалению, нейрофизиологические методы не могут показать Где точно эти события

происходят, с какими структурами мозга связано появление этих событий .

В то же время показано, что из всех методов ЭЭГ больше всего связана с функцией и дисфункцией нейронов, где показана тесная связь гистограммы нейронной активности с поверхностными потенциалами ЭЭГ [13]. Поэтому позже были разработаны методы решения обратной задачи ЭЭГ, позволяющие по многоканальным записям ЭЭГ восстановить источники их активности в объеме мозга [11;12].

Сущностью метода локализации и решения обратной задачи ЭЭГ является последовательный поиск источника, максимально хорошо описывающего распределение потенциалов на поверхности головы. Собственно процедура локализации сводится к трем этапам. Первый этап — анализ картины потенциального поля, выделение источников, поле которых может быть описано как поле источника дипольного типа, и определение количества таких источников. Наличие одного или двух экстремумов одного знака говорит о возможно дипольной структуре источника. На втором этапе проводится трехмерная локализация источника, которая сводится к следующему: вычисляются потенциалы в точках измерения (установки электродов) при произвольном начальном расположении источника; производится сравнение вычисленных потенциалов и измеренных и, варьируя параметрами диполя, отыскиваются такие его значения, при которых расхождение вычисленных и измеренных значений будет минимальным; потом меняют начальные условия и повторяют процедуру, полностью восстанавливая источник, максимально хорошо описывающий картину распределения потенциального поля. На третьем этапе, значимые источники воспроизводятся в трех ортогональных проекциях или на соответствующих срезах МРТ, чтобы визуализировать зону генерации в объеме мозга. Процедура поиска источников получила название “многошаговой дипольной локализации” (МДЛ) [10] (Schneider, 1972). Более подробно [8; 12]

Иллюстрация метода многошаговой дипольной локализации (МДЛ) для восстановления местоположения источников электрической активности мозга показана на следующем рисунке (при локализации источников роландической эпилепсии (Рис 1).

Показана также возможности дифференцировки локализации спайковой и медленно-волновой пароксизмальной активности. во время приступа (Рис 2).

Также важный вклад применения метода дипольной локализации при абсансной эпилепсии [17] (рис 3.).

Важный вклад метод МДЛ дал при анализе очаговой медленной активности ЭЭГ при инсульте [7-8;16-18]. Следующий пример показывает возможность локализации очага патологической медленно-волновой активности в объеме мозга при инсульте (рис 4). Этот пример показывает возможность 3-х мерной локализации в объеме мозга медленно-волновой активности «волн спазма» при ишемиях мозга по ЭЭГ [20-21].

Другая важная перспектива метода исследования ВП - это функциональное картирование мозга на основе анализа многоканальных записей ВП - нейровизуализация по ВП [18-21] Направление начинает активно разрабатываться в связи с успехами функциональной МРТ и разработкой методов мультимодальной нейровизуализации, включающие и методы ВП [1].

Перечислим несколько примеров из литературы по нейровизуализации компонент ВП. Что же можно визуализировать ВП мозга исходя из этих данных?

- Структуры мозга, участвующие в формировании компонент ВП (кора, ствол)
- Функциональное состояние сенсорных областей коры различных модальностей
- Функциональное состояние ствола мозга
- Зоны мозга, участвующие в реализации когнитивных функций

На последнем можно остановиться подробнее (P300- когнитивные ВП ответы, выделяемые из ЭЭГ в условиях опознания значимого стимула). Здесь уместно остановиться на классификации ВП выделяемых с помощью методов когерентного усреднения.

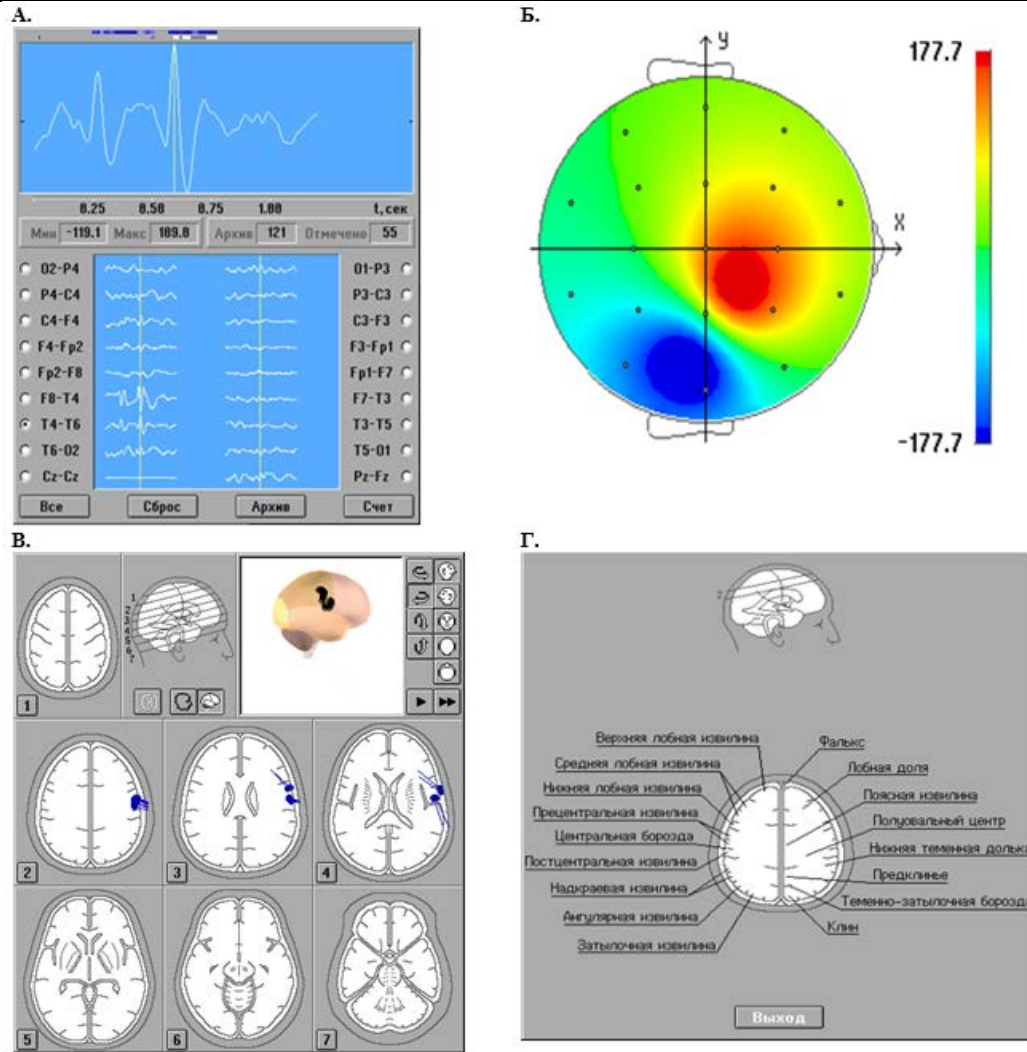


Рис.1. Рис.1. Последовательные этапы локализации источников паттернов ЭЭГ роландической эпилепсии. А. ЭЭГ со спайк-волновой активностью, сверху зона интереса для локализации и выделенные сечения, используемые для локализации источников для этих срезов. Б. Потенциальные карты для одного из срезов реальной ЭЭГ и на модели. В. Данные локализации и формализованных срезах МРТ (в правой пре центральной извилине Г. Данные локализации на срезах МРТ и подсказка программы для зоны локализации спайка и медленной волны (программа BrainLoc-6)

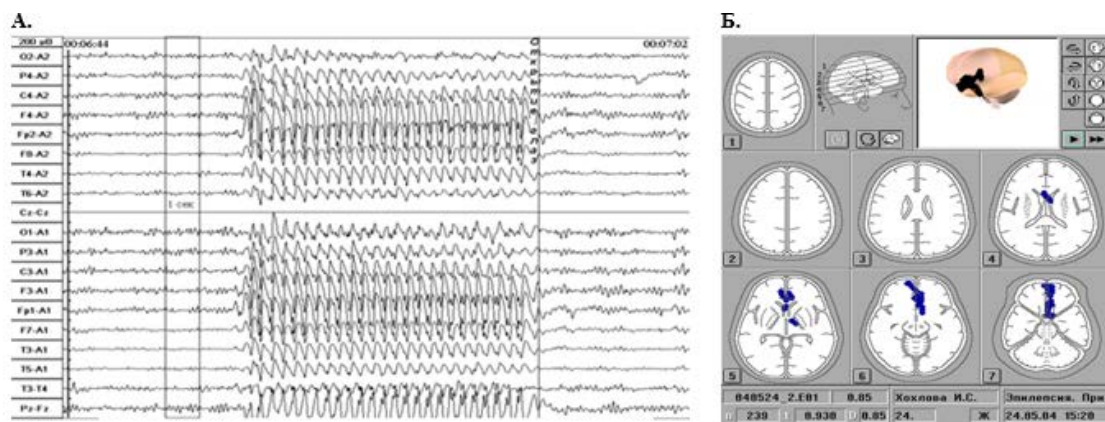
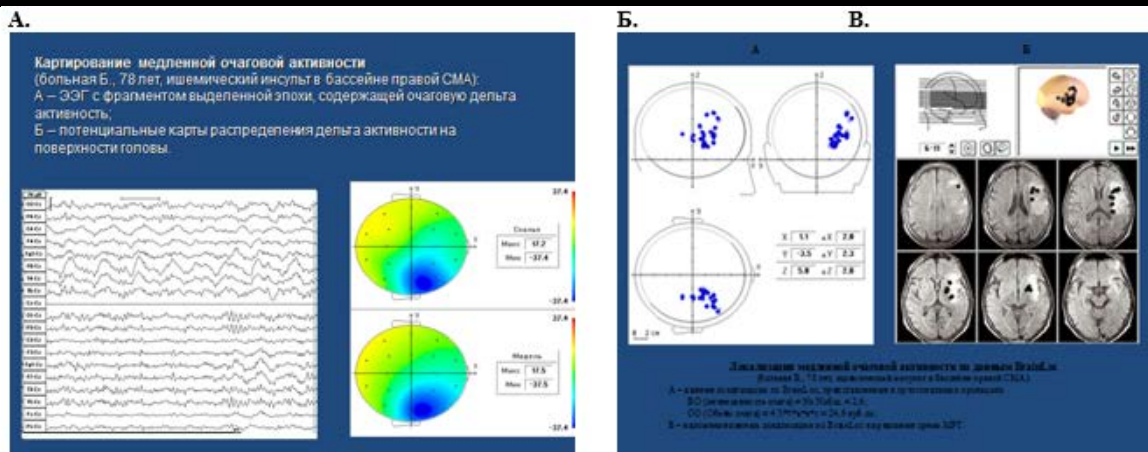


Рис 2. А Фрагмент записи ЭЭГ, с коррелятом абсанса, для локализации ее источника. Больная X., 24 г. Диагноз: эпилепсия: абсансы. Б. 3-х мерная локализация эпилептиформной активности у б X. 24 года с абсансной эпилепсией в орбито-фронтальной коре.



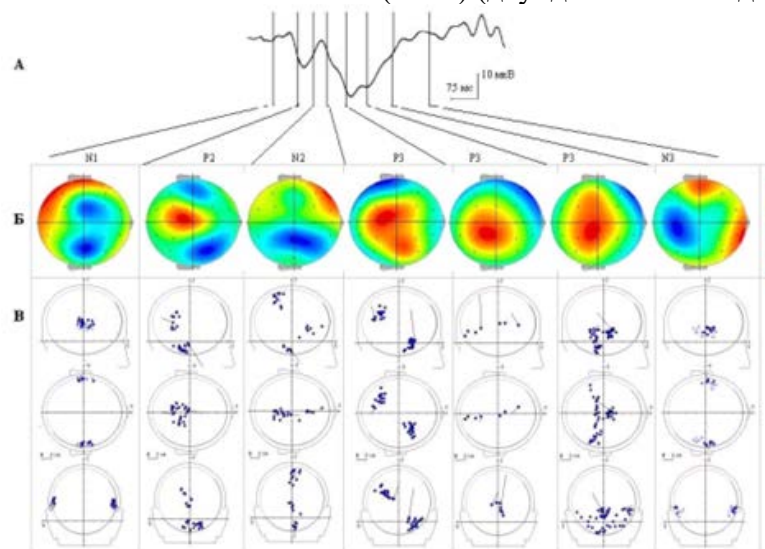


**Рис 3. А.** Картирование медленно-волновой очаговой активности (больная Б., 78 лет, ишемический инсульт в бассейне правой СМА): А – ЭЭГ с фрагментом выделенной эпохи, содержащей очаговую дельта активность в правом полушарии электроды F8-S4 (левосторонний парез); справа – потенциальные карты распределения дельта активности на поверхности головы. **Б и В.** – 3 х мерная локализация очаговой медленно-волновой активности на идеализированных ортогональных проекциях (Б) и на реальных срезах МРТ больной (В) (источники дельта волн в перифокальной зоне от очага деструкции).

**Классификация ВП I.** По модальности стимула (зрительные, слуховые, соматосенсорные, обонятельные, болевые, вестибулярные и др). **II** по условиям выделения ВП, коротколатентные и длиннолатентные ВП и **III.** Экзогенные и эндогенные ВП (ERP-потенциалы, связанные с событием в мозге – P300, MMN и др). Важно, что этим методом можно обнаруживать изменения в когнитивной сфере по когнитивным ВП (P300), на ранней стадии заболевания. Имеется возможность дифференцировки ранних когнитивных нарушений от депрессии. Чувствительность метода P300 в обнаружении когнитивных нарушений составляет 77% по показателю латентности и 85% с учетом латентности и амплитуды [7-9]

Количественные воспроизводимые оценки по P300 когнитивных нарушений позволяют использовать их для доказательной фармакотерапии и в оценке эффективности лечения при когнитивных нарушениях [7- 9].

На следующем рисунке (рис.4) показан пример локализация источников последовательных компонент когнитивных ВП (P300) (двухдипольная модель).



**Рис. 4.** Локализация источников последовательных компонент когнитивных ВП (P300).(двухдипольная модель). **А** – зона интереса, компоненты P300; **Б** — потенциальные карты для выделенных сечений. **В**- локализация источников для этого диапазона выделенных компонент P300 в трех проекциях (вид справа, сверху и сзади)

Что могут в целом визуализировать ВП мозга? Структуры мозга, участвующие в формировании компонент ВП (кора, ствол). Функциональное состояние сенсорных областей коры различных модальностей. Функциональное состояние ствола мозга. Зоны мозга, участвующие в реализации когнитивных функций

**Выводы.** Полученные данные и приведенный обзор методов анализа ЭЭГ в направлении трехмерной локализации источников говорит, что ЭЭГ уже становится одним из методов функциональной нейровизуализации.

У метода ЭЭГ и ВП есть перспективы стать одним из равноценных методов функциональной нейровизуализации наряду с другими методами нейровизуализации.

Может эффективно применяться в контексте клинической картины и в совокупности с другими инструментальными методами обследования для диагностики различных патологических состояний головного мозга.

Нейрофизиологические методы исследования – ЭЭГ и ВП могут широко использоваться для оценки динамики функционального состояния головного мозга и эффективности проводимого лечения.

Нейровизуализация по ВП - это функциональное картирование мозга на основе анализа многоканальных записей ВП. Это направление имеет большой клинический интерес в связи с успехами ф МРТ и разработкой методов мультимодальной нейровизуализации, включающие и методы ВП [1;9;12].

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новым является следующее положение: расширяются возможности локализации источников патологической активности в ЭЭГ и компонент ВП ( мозговых волн) и их нейровизуализация , что расширяет возможности и улучшает интерпретацию данных, получаемых с помощью мозговых картинок (по КТ и МРТ).

#### Литература

1. Mulert Ch .Lemieux L. EEG – fMRI / Springer. 2010.
2. Пенфильд Y., Джаспер Эпилепсия и функциональная анатомия головного мозга человека. М.ИЛ.1958 130 с.
3. Лурия А.Р. Высшие корковые функции человека. - СПб.: Питер, 2008.-624 с.
4. Прибрам К. Языки мозга. Изд Прогресс, М., 1975. 464 с.
5. Hebb D.O. Drivers and CNS . 1966.
6. Мэгун Г. Бодрствующий мозг, М. Мир ,1965.
7. Гнездицкий В.В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике. 2 доп. изд. М. Медпресс-информ, 2003, 264 с.
8. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография (картирование и трехмерная локализация источников электрической активности мозга). 2-е издание, дополненное. Переработанное, Москва, Изд-во «МЕДпресс-информ», 2004 ,624 стр.
9. Гнездицкий В.В., Корепина О.С. Атлас по вызванным потенциалам мозга (практическое руководство). Иваново, «Пресс-100», 2011, 530с.
10. Steriade M. Science, 1996 V272: 225-229.
11. Schneider M.R. A multistage process for computing virtual dipolar sources of EEG discharges from surface information. / IEEE Trans. Biomed. Eng., v.BME-19, p. 1-12, 1972.
12. Fender D.H. Source localization of brain electrical activity. In A.S. Gevins and A. Remond.(Eds) Handbook of EEG and clin. Neurophys. - 1987. - v.1, Elsevier, Amsterdam, P. 355-403
13. Steriade M. Cellular substrates of brain rhythms . In Neadermeyer E ., Lopas de Silva eds., Electroencephalography: basic principles, clinical applications and related fieldes. Baltimore., Williams and Wilkins,1998; 2003, 27-62
14. Гнездицкий В.В., Корепина О.С., Пирлик Г.П. Станет ли ЭЭГи ВП методом нейровизуализации? Биоуправление – 4. Теория и практика, Новосибирск 2002: 313-328
15. Карлов В.А., Гнездицкий В.В. Абсансная эпилепсия у детей и взрослых. Издательский дом Пресссервис. М., 2005 г., 69 с.

- 16.Kavanagh R.N., Darcey T.M., Lehmann D., Fender D.H. Evaluation of method for three-dimensional localization of electrical sources in the human brain. / IEEE Trans. Biomed. Eng., v.BME-25, 1978, p. 421-429.
- 17.Stock C.J. The inverse problem in EEG and MEG with application to VEP. / University of Twente, Edd. PH.D.Thesis, 1986.
- 18.Scherg M. Functional Imaging and Localization of Electromagnetic Brain Activity / Brain Topogрю, 5 2004
- 19.Nagata K. Studying EEG topography in patients with brain ischemia with aphasia. Brain Ischemia: Quantitative EEG and imaging techniques progress ir brain research. Edd. Pfurtgheller, Lopes da Silva. Elsevier. 1984; 62: 271.
- 20.Nakajima Y., Homma S., Musha T. Dipole- tracing of abnormal slow brain potentials after cerebral stroke – EEG, PET, MRI correlations. Neuroscience Let. 1999; 112: 59-64.
- 21.Ueno S., Matsuoka J. Topographic display of slow wave types of EEG abnormality in patients with brain lesions. Jpn. Med. Electr. Eng. 1986; 14 (12): 118-124.

**Neuroimaging: what more importnt- brain waves or brain pictures?**

*Victor Vasilievich Gnezdickij, Phd., Prof. Lab. Clinical neurophysiology*

*Oksana Mihailovna Borisova, neurologist*

*Research Center of Neurology, Moscow, 125367 / Volokolamskoe Sch, 80.*

*This article discusses the questions of improvement of electrophysiological techniques to aid restoration of generation sources more accurately their component throughout the brain and the analysis of their changes when there are several brain diseases: stroke, MS and in neurodegenerative and other diseases of the brain.*

*Keywords: EEG, evoked potential EP. Neuroimaging methods. Inverse problem of EEG and EP. Localizing sources of normal and pathological EEG patterns and components EP. Combination with other neuroimaging techniques.*



## ЭКСПРЕССИЯ NO-СИНТАЗ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СКОРОСТИ РОСТА ОПУХОЛИ

*Валентина Петровна Дерягина, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.*

*E-mail: [derygina@inbox.ru](mailto:derygina@inbox.ru)*

*Людмила Александровна Савлущинская, канд. биол. наук, науч. сотр.*

*E-mail: [centervpr@mail.ru](mailto:centervpr@mail.ru)*

*Лейла Владимировна Кривошеева, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.*

*E-mail: [lvkrivosheeva@mail.ru](mailto:lvkrivosheeva@mail.ru)*

*Ирина Сергеевна Голубева, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.*

*E-mail: [irinagolubeva52@mail.ru](mailto:irinagolubeva52@mail.ru)*

*Наталья Ильинична Рыжова, к.б.н., ст. науч. сотр.*

*E-mail: [1124415@mail.ru](mailto:1124415@mail.ru)*

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, <http://www.ronc.ru>

*В экспериментах на мышах изучена в динамике экспрессия индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) в перевиваемых опухолях, отличающихся скоростью роста. Показано, что экспрессия iNOS и eNOS выявлялась в опухолях с более высокой скоростью роста у всех мышей. В медленно-растущих опухолях экспрессия iNOS практически отсутствовала.*

*Ключевые слова: индуцибельная NO-синтаза, эндотелиальная NO-синтаза, карцинома Эрлиха, оксид азота.*

**Введение.** К настоящему времени получены убедительные доказательства участия оксида азота (NO) в патогенезе злокачественных опухолей. NO – короткоживущая гидрофобная молекула со свойствами радикала, образующаяся из предшественника L-аргинина с участием специфичных NO-синтаз (NOS). Макрофаги, дендритные и опухолевые клетки обладают повышенной способностью продуцировать NO ( $\geq$ мкМ) вследствие активации индуцибельной NO-синтазы (iNOS) под влиянием интерлейкина  $1\beta$ , фактора некроза опухоли  $\alpha$ , интерферона  $\gamma$ , бактериальных липополисахаридов, белков теплового шока и др. [1, 360 с; 2, с. 118; 3, с.337-344; 4, с. 311-320]. Определенный вклад в образовании NO в опухолях, может вносить также эндотелиальная NO-синтаза (eNOS) [5, с. 23-38]. NO и его метаболиты - активные формы азота (АФА): пероксинитрит, окислы азота, нитриты, нитрозосоединения и др. оказывают разнонаправленное действие на рост опухолей. Биологический ответ опухолевых клеток зависит от концентрации NO в клетках и межклеточной среде, реакций NO с ключевыми реагентами (кислород и его активные формы, углекислый газ и др.) и мишенями (металлы, тиолсодержащие аминокислоты, гем-содержащие белки) и др. [6, с. 18-31]. В клинических исследованиях выявлена положительная корреляция между активностью iNOS и стадией онкологического заболевания [7, с. 2408-2416]. Наряду с этим, исследований, посвященных возможной связи между скоростью роста опухоли и выраженностью экспрессии NOS, крайне мало.

**Целью** настоящего исследования является выявление закономерностей экспрессии iNOS и eNOS в перевиваемых опухолях, отличающихся скоростью роста у мышей различных линий.

**Материалы и методы.** Работа проведена на мышах-самцах F1(CBA/Lac×C57BL/6) (далее F1, 50 жив.), и F1(C57BL/6×DBA/2) (далее BDF1, 50 жив.), полученных из питомника «Столбовая». Опухолевые клетки КЭ ( $10^6$  клеток на мышь) перевивали подкожно в правую подмышечную область мыши. Для выделения

опухолей на соответствующий контрольный срок мышей умерщвляли под эфирным наркозом.

Экспрессию iNOS и eNOS определяли иммуногистохимическим методом в парафиновых микросрезках опухолей КЭ согласно [8, с. 2408-2416; 9, с. 73-80]. Инкубацию с первичными поликлональными кроличьими антителами (Santa Cruz Biotechnology, США) в разведении 1:100 проводили при 4° С в течение 16-18 часов. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали проявочную тест-систему (Invitrogen, США). Проверку значимости различий между данными (представленными как среднее арифметическое значение ± выборочное стандартное отклонение) проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

**Полученные результаты.** Сравнительный анализ средних значений массы опухолей, отличающихся скоростью роста, показал, что масса КЭ у мышей F1 превышала в 2,36-5,34 раза ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) аналогичный показатель у мышей BDF1 практически на всех контрольных сроках роста опухолей. Максимальное различие в скорости роста опухолей у мышей F1 и BDF1 регистрировали на 17 и 21 сутки, масса опухолей у мышей F1 в эти сроки, соответственно, в 5,34 и 4,55 раза ( $p < 0,01$ ) была больше, чем у мышей BDF1 (табл. 1).

Иммуногистохимическое определение экспрессии iNOS в микросрезках опухолевой ткани быстрорастущей КЭ выявило фермент в 29,2-46,2 % опухолевых клеток (преимущественно в цитоплазме) у всех исследованных мышей F1 на всех контролируемых сроках роста опухолей (табл. 2). С учетом суммарного значения количественного и качественного показателей, экспрессию, в основном, оценили, как «положительная». Усиление экспрессии iNOS до «умеренной» регистрировали только на 24 сутки роста КЭ. Инкубирование микросрезков опухолей с первичными антителами к eNOS выявило окрашивание 28,5-35,0% опухолевых клеток (на 10, 17 сутки), а также эндотелия сосудов (на 10, 17, 24 сутки) у мышей F1 (табл. 2). Следует отметить, что в выполненной нами ранее работе суммарная концентрация метаболитов NO – нитритов и нитратов в опухолевой ткани в процессе роста КЭ (эквивалентной по скорости роста) увеличивалась, достигая максимума на трехнедельный срок у мышей F1 [9, с.73-80; 10, с. 661-667]. Можно отметить наличие синхронности изменения показателей концентрации метаболитов NO и экспрессии NO-синтаз у мышей F1 в двух независимых экспериментах.

Результаты определения iNOS в медленно-растущих опухолях КЭ у мышей BDF1 существенно отличались от аналогичных показателей у мышей F1. На 7, 14, 21 и 28 сутки роста КЭ экспрессия iNOS в опухолях практически отсутствовала. Только на 35 сутки роста в опухолевой ткани КЭ наблюдали положительную реакцию на фермент неравномерную по интенсивности (табл. 2).

Как показали собственные и исследования других авторов, участие iNOS в стимулировании опухолевого процесса может осуществляться с помощью разных механизмов, включая повреждение АФА молекулы ДНК, влияние на онкогенные сигнальные пути, пролиферацию, иницирование апоптоза и иммуносупрессию и др. [2, с. 118; 3, с. 337-344; 11, с. 64-69; 12, с. 56-68; 13, с. 25-37].

По гистологическому строению, солидная карцинома Эрлиха является низкодифференцированной опухолью, которая утратила тканевую специфичность исходной злокачественной опухоли молочной железы. Клеточный состав КЭ включает как активно пролиферирующие, так и находящиеся в состоянии некроза и апоптоза опухолевые клетки и варьирует в зависимости от стадии развития опухоли. Выявленное нами неравномерное распределение экспрессии iNOS и eNOS в различных участках опухоли, а также различие в их уровнях, может повлечь за собой выраженную гетерогенность концентрации NO и АФА –  $N_2O_3$ ,  $NO_2^-$ ,  $ONOO^-$  и др. в растущих с разной скоростью опухолях. Полагают, что при достижении локальной концентрации

## **Секция 5. Оксид азота и продукты его метаболизма в биологических системах**

NO ткани  $\geq 1$  мкмоль создают условия, способствующие образованию более реакционноспособных (чем оксид азота) АФА, которые могут оказывать цитостатическое действие, инициировать апоптоз и некроз [14, с. 45-55]. В тоже время АФА, в реакциях нитрозирования, нитрования, окисления и др. вызывают химические модификации ДНК, а также белков, липидов и др. молекул, критических для канцерогенеза, что может активировать рост опухолей [3, с. 337-344; 13, с. 25-37]. Влияние NO и его метаболитов на пролиферацию может иметь как стимулирующую, так и ингибирующую направленность. Как показали авторы [6, с. 18-31; 15, с. 2329-2344; 16, с. 1297-1302], при концентрации NO  $< 100$  нмоль в культуре опухолевых клеток молочной железы MDA-MB-231 и MCF-7, регистрируют усиление пролиферации, наряду с этим, высокие концентрации NO ингибируют прогрессию, увеличивая число заблокированных опухолевых клеток карциномы толстой кишки и простаты при переходе G2/M фазы.

Таблица 1

Изменение массы опухолей в процессе роста карциномы Эрлиха у мышей BDF1 и F1

Сутки роста	Масса карциномы Эрлиха, мг		Уровень значимости, p
	Мыши BDF1	Мыши F1	
5	50 $\pm$ 21	76 $\pm$ 35	0,19
7	70 $\pm$ 30	175 $\pm$ 82	0,03*
10	200 $\pm$ 79	424 $\pm$ 271	0,11
14	312 $\pm$ 165	1375 $\pm$ 330	$< 0,01$ **
17	400 $\pm$ 148	2136 $\pm$ 418	$< 0,01$ **
21	571 $\pm$ 225	2600 $\pm$ 650	$< 0,01$ **
24	800 $\pm$ 272	2948 $\pm$ 1295	$< 0,01$ **
28	1113 $\pm$ 364	3350 $\pm$ 1340	$< 0,01$ **
31	1375 $\pm$ 481	3876 $\pm$ 1055	$< 0,01$ **
35	1749 $\pm$ 676	4125 $\pm$ 1402	$< 0,01$ **

Примечание: в группе 5 мышей. Различие между показателями у мышей F1 и BDF1 достоверно (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ).

Таблица 2

Экспрессия индуцибельной (iNOS) и эндотелиальной (eNOS) NO-синтаз в процессе роста карциномы Эрлиха у мышей F1 и BDF1

Сутки роста опухоли	Экспрессия NO-синтаз			
	в опухолевой ткани мышей F1		в эндотелии сосудов мышей F1	в опухолевой ткани мышей BDF1
	iNOS	eNOS	eNOS	iNOS
7	-	-	-	0
10	+	+	+	-
14	-	-	-	0
17	+	+	+	-
21	-	-	-	0
24	++	0	+	-
28	-	-	-	0
31	+	0	0	-
35	-	-	-	+

Примечание. «0» – отсутствие экспрессии;  
 «+» – положительная экспрессия;  
 «++» – умеренная экспрессия;  
 – не определяли.

Активированная eNOS также вовлекается в инициирование и поддержание опухолевого роста через нитрозилирование онкобелков, стимулирование ангиогенеза и др. механизмов [17, с. 646-650]. В исследованиях, проведенных с использованием трансгенной модели и ксенографтов опухолей человека показано, что у дефицитных по гену eNOS мышей частота преинвазивных повреждений поджелудочной железы снижалась, а продолжительность жизни мышей с опухолями этой локализации увеличивалась, что свидетельствует о важной роли eNOS в онкогенезе [18, с. 4472-4482].

**Выводы.** Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что при более интенсивном росте КЭ у мышей F1 выявлена положительная экспрессия iNOS и eNOS, в то время как в медленно растущей КЭ экспрессия iNOS практически не выявлялась. Это может указывать на стимулирующую роль iNOS и eNOS в прогрессии опухолей КЭ у мышей.

**Заключение.** Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показано, что более выраженная прогрессия перевиваемых опухолей карциномы Эрлиха сопровождается усилением экспрессии индуцибельной NO-синтазы.

### **Литература**

1. Граник В.Г., Григорьев Н.Б. Оксид азота. М.: Вузовская книга, 2004. –360 с.
2. Nitric oxide and cancer: a review. Choudhari Sh.K., Chaudhary M., Bagde S., Gadbaile A.R., Joshi V. // *World J. Oncol.* – 2013. – N 11. – P. 118.
3. Muntane J. and De la Mata M. Nitric oxide and cancer. // *W. J. Hepatol.* – 2010. – V. 2(9). – P. 337-344.
4. The role of nitric oxide in cancer. Xu W., Liu L.Z., Loizidou M., Ahmed M., Charles I.G. // *Cell Res.* – 2002. –V. 12. – P. 311-320.
5. Kashatus D.F. and Counter C.M. A role for eNOS in oncogenic Ras-driven cancer. // In *Nitric oxide (NO) and Cancer, Cancer Drug Discovery and Development.* Bonavida B. (ed). Springer Science, 2010. – P. 23-38.
6. The Chemical Biology of nitric oxide. Implication in Cellular Signaling. Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S., Flores-Santana W., Switzer Ch.H., Donzellie S., Hussain P., Vecoli C., Paolocci N., Ambs S., Colton C., Harris C., Roberts D.D., Wink D.A. // *Free Rad. Biol. Med.* – 2008. – V.45(1). – P. 18-31.
7. Mocellin S., Bronte V., Nitti D. Nitric oxide, a double edged sword in cancer biology: searching for therapeutic opportunities. // *Med. Res. Rev.* – 2006. – V. 27(3). – P. 317-352.
8. Inducible nitric oxide synthase expression, apoptosis, and angiogenesis *in situ* and invasive breast carcinomas. Vakkala M., Kahlos K., Lakari E., Paakko P., Kinnula V., Soini Y. // *Clin. Cancer Res.* – 2000. – V. 6(6). – P. 2408-2416.
9. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Кривошеева Л.В., Голубева И.С., Савлучинская Л.А., Хоченков Д.А. Экспрессия iNOS и биосинтез метаболитов оксида азота при росте опухолей различного гистогенеза // *Успехи Мол. Онкол.* – 2016. – Т. 3, №2. – С. 73-80.
10. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Кривошеева Л.В., Голубева И.С. Образование метаболитов оксида азота при росте перевиваемых опухолей с разным метастатическим потенциалом // *Биомед. Химия.* – 2014. – Т. 60, Вып. 6. – С. 661-667.
11. Реутов В.П., Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Голубева И.С. Активность нейтрофилов крови и перитонеальных макрофагов в процессе развития опухолей у мышей: возможная роль активных форм кислорода и оксида азота // *Евразийское научное объединение.* -2016. -Т. 1, № 1(13). -С. 64-69.
12. Турпаев К.Т., Литвинов Д.Ю. Редокс-зависимая регуляция экспрессии генов, индуцируемых окисью азота. // *Мол. Биол.* – 2004. – Т.38, №1. – С. 56-68.

13. Felley-Bosco E. Role of nitric oxide in genotoxicity: implication for carcinogenesis // *Cancer Metast. Rev.* – 1998. – V.17(1). – P. 25-37.
14. Hirst D.G., Robson T. Nitrosative stress as a mediator of apoptosis: implications for cancer therapy. // *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – V. 16(1). – P. 45-55.
15. Villalobo A. Nitric oxide and cell proliferation. // *FEBS J.* –2006. – V. 273. – P. 2329-2344.
16. NCX 4016, a nitric oxide-releasing aspirin derivative, exhibits a significant antiproliferative effect and alters cell cycle progression in human colon adenocarcinoma cell lines. Tesei A., Ricotti L., Ulivi P., Medri L., Amadori D., Zoli W. // *Int. J. Oncol.* –2003. –V.6. –P. 1297-1302.
17. Tumour maintenance is mediated by eNOS. Lim K.H., Ancrile B.B., Kashatus D.F., Counter C.M. // *Nature.* – 2008. – V. 452(7187). – P. 646-650.
18. Targeting eNOS in pancreatic cancer. Lampson B.L., Kendall S.D., Ancrile B.B., Morrison M.M., Shealy M.J., Barrientos K.S., Crowe M.S., Kashatus D.F., White R.R., Gurley S.B., Cardona D.M. and Counter Ch. M. // *Cancer Res.* – 2012. – V. 72(17). – P. 4472-4482.

### **The expression of NO-synthases depending on the growth rate of tumors**

*Valentina P. Deryagina, Ph. Dr., senior research. employee*

*Ludmila A. Savluchinskaya, Ph. Dr., scientific. employee*

*Leyla V. Krivosheeva, Ph. Dr., the vedas. scientific. employee*

*Irina S Golubeva, Ph. Dr., the vedas. scientific. employee*

*Natalya I Ryzhova Ph. Dr., senior research. employee*

*FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology»*

*The expression of inducible NO-synthase (iNOS) and endothelial NO-synthase (eNOS) in dynamics was investigation on mice with subcutaneously transplanted tumors, differing in growth rate. It was shown that positive expression of iNOS detected in tumors mice (with a higher growth rate) at all controlled dates. The expression of iNOS practically was not revealed in slowly growing tumors of mice.*

*Key words: inducible NO-synthase, endothelial NO-synthase, Ehrlich carcinoma, nitric oxide.*