



**НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В МЕДИЦИНЕ, БИОЛОГИИ,
ФАРМАКОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ**

материалы Международной конференции

NT + M&Ec`2019

(Гурзуф, с 01 по 11 июня 2019 года)

ВЕСЕННЯЯ СЕССИЯ

Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции NT+M&Ec`2019 (Гурзуф, с 01 по 11 июня 2019 г.). 2019. Весенняя сессия. 264 с.

ПРЕЗИДЕНТ КОНФЕРЕНЦИИ

член Президиума РАН академик РАН – *Ю.В. Гуляев*

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОРГКОМИТЕТ

Председатель – Е.Л. Глориозов

Сопредседатели:

С.К. Ахеджак-Нагузе, Г.Н. Болдырева, В.Г. Никитаев, П.Н. Власов, К. М. Резников, В.С. Хорошков, С.В. Шестаков, Н.В. Яглова

Члены Оргкомитета

М. М. Асланян, В.В. Вишневский, В.В. Гнездицкий, В.З. Журавлев, В.Ю. Иванов, В.К. Мазо, С.С. Обернихин, М. А. Рагульская, В. П. Реутов, О. Б. Сазонова, С.Н. Самсонов, А. Ф. Топунов, Е. М. Трошина, А. Шарова, И. П. Шабалова, Е. В. Шарова

При использовании материалов конференции в научных целях необходимо на них ссылаться. Пример ссылки на материалы конференции:

Фамилия И.О. Название статьи // Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции NT+M&Ec`2019 (Гурзуф, с 01 по 11 июня 2019г.). 2019. Весенняя сессия. С. XX-XX.

| | |
|---|----|
| СЕКЦИЯ 1. МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА: ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ | |
| АЛГОРИТМ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИХ ДАТЧИКОВ ПАРАМЕТРОВ ЖИДКОСТНЫХ ПОТОКОВ СИСТЕМ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ <i>Мурашкина Т.И., Бадеева Е.А., Шачнева Е.А., Хасанишина Н.А., Кукушкин А.Н.</i> | 9 |
| МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА: ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА МГУ – ИТЭФ <i>Канчели И.Н., Карпунин В.О., Кленов Г.И., Ломанов М.Ф., Лукьяшин В.Е., Хорошков В.С., Черняев А.П.</i> | 13 |
| ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОТОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ <i>Черных А.Н., Хорошков В.С.</i> | 17 |
| ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИЙ ДАТЧИК ДАВЛЕНИЯ ДЛЯ ГИДРОМАНЖЕТНОГО ТОНОМЕТРА <i>Бадеева Е.А., Геращенко С.И., Мурашкина Т.И., Янкина Н.Н., Геращенко М.С.</i> | 21 |
| ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫХ ЦИФРОВЫХ МОДЕЛЕЙ ПО ТОМОГРАФИЧЕСКИМ ДАННЫМ ПАЦИЕНТА <i>Новиков М.М., Внук В.В., Ипполитов Е.В., Черобыло С.А.</i> | 26 |
| АВТОДИННЫЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ЛАЗЕРНОМ РАССЕЧЕНИИ БИОТКАНЕЙ <i>Дмитриев А.К., Коновалов А.Н., Кортунюв В.Н., Ульянов В.А.</i> | 31 |
| РЕГИСТРАЦИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ НА ОСНОВЕ СТРУКТУР ДЕСКРИПТОРОВ <i>Захаров А.А., Булаев А.В., Жизняков А.Л.</i> | 34 |
| СЕКЦИЯ 2. ПРОБЛЕМЫ, МЕТОДЫ И ПРОДУКТЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ | |
| ФЕРМЕНТОЛИЗАТЫ БЕЛКА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА <i>Зорин С.Н., Петров Н.А., Сидорова Ю.С., Мазо В.К.</i> | 38 |
| СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА РЫБНОГО СЫРЬЯ <i>Абрамова Л.С., Козин А.В., Качала В.В.</i> | 41 |
| ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ БЕЛКИ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДЫ С МОДИФИЦИРОВАННЫМ ИЗОТОПНЫМ СОСТАВОМ <i>Василевская Е.Р.</i> | 46 |
| СОВРЕМЕННЫЕ МОДУЛЯЦИИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ШПИКА <i>Семенова А. А.</i> | 49 |
| ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ И ИХ ИНГРЕДИЕНТЫ С ОЖИДАЕМЫМ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ <i>Стефанова И.Л., Шахназарова Л.В., Клименкова А.Ю.</i> | 54 |
| ОЧИСТКА ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВЫХ СТОЧНЫХ ВОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУР ЦИАНОБАКТЕРИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ <i>Саванина Я.В., Барский Е.Л., Фомина И.А., Лобакова Е.С.</i> | 58 |
| СЕКЦИЯ 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА В ТРЕТЬЕМ ТЫСЯЧЕЛЕТИИ | |
| ЭНДОКРИННЫЕ ДИСРАПТОРЫ И ТИРЕОИДНАЯ ПАТОЛОГИЯ <i>Яглова Н.В.</i> | 62 |
| ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ОРИГИНАЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ИНГИБИТОРА НЕЙРАМИНИДАЗЫ В ЦИРКУЛИРУЮЩЕМ ПУЛЕ <i>Брюшнина О.С., Яновская Е.А., Зюзькова Ю.Г., Удут В.И.</i> | 66 |
| РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ КЛУБОЧКОВОЙ ЗОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРОМ OSTE4 <i>Обернихин С.С., Яглова Н.В., Назимова С.В., Яглов В.В.</i> | 70 |
| ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЛИПЕПТИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ SUS SCOFA НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ КРЫС <i>Джимак С.С., Федулова Л.В., Василевская Е.Р., Басов А.А.</i> | 73 |

| | |
|--|-----|
| НЕРВНЫЙ МЕХАНИЗМ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖКТ. ПРОФИЛАКТИКА И РЕАБИЛИТАЦИЯ <i>Черкасов А.Д.</i> | 79 |
| ОСОБЕННОСТИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ НА МОДЕЛИ ИССЕЧЕННОЙ РАНЫ <i>Федулова Л.В.</i> | 83 |
| ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ТРАКТОВ ФРОНТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ДО И ПОСЛЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ПРИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ <i>Ахеджак-Нагузе С. К.</i> | 86 |
| ВЛИЯНИЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ НА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ СТУДЕНТОВ <i>Ахеджак-Нагузе С. К.</i> | 89 |
| ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ У СТУДЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ МЕТОДОМ «ПРОГНОЗ» <i>Ахеджак-Нагузе С. К.</i> | 92 |
| БУВАНЕСТИН – НОВЫЙ АНЕСТЕТИК ДЛЯ СПИНАЛЬНОЙ, ЭПИДУРАЛЬНОЙ И РЕГИОНАЛЬНОЙ АНЕСТЕЗИИ <i>Васильков В.Г., Маринчев В.И., Осинькин Д.В., Емелина Н.Г.</i> | 94 |
| СТРУКТУРА ТИМУСА КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, РАЗВИВАВШИХСЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ДОЗ ДДТ <i>Цомартова Э.С., Тимохина Е.П., Горлушкин В.М.</i> | 98 |
| ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА ННХ И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК В КОРКОВОМ ВЕЩЕСТВЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ <i>Цомартова Д.А., Назимова С.В., Яглов В.В.</i> | 101 |
| МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЖИВАЮЩЕЙ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ КОЖНОЙ РАНЫ ПОСЛЕ ЕЕ ЗАКРЫТИЯ БИОДЕГРАДИРУЕМОЙ ПОЛИЛАКТИДНОЙ ПЛЕНКОЙ С КСЕНОФИБРОБЛАСТАМИ <i>Шаповалова Е.Ю., Барсуков Н.П., Бойко Т.А., Барановский Ю.Г., Барановский А.Г.</i> | 103 |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЛАНОЦИТОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В МИКРОТКАНИ, ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФУКОКСАНТИНА <i>Джуссоева Е.В., Колокольцова Т.Д., Устинова Е.Е., Сабурин И.Н.</i> | 108 |
| СЕКЦИЯ 4. ИНФОРМАЦИОННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ СРЕДА СОВРЕМЕННЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СОДЕЙСТВИЯ ТРУДОУСТРОЙСТВУ ВЫПУСКНИКОВ <i>Алексеенко С. Н., Гайворонская Т. В., Ахеджак-Нагузе С. К.</i> | 112 |
| ВЕБ-ИНТЕГРИРОВАННАЯ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ПРОТОТИПИРОВАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ УСКОРИТЕЛЕЙ <i>Аверьянов Г.П., Дмитриева В.В.</i> | 117 |
| ВОВЛЕЧЕНИЕ СТУДЕНТОВ В ОПТИМИЗАЦИЮ ПРОЦЕССА ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «ИСТОРИЯ ФАРМАЦИИ» С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНСТРУМЕНТОВ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА <i>Веселова Д.В., Верменникова Л.В., Губарев С.В., Васильев Ю.А.</i> | 121 |
| ОЦЕНКА РИСКОВ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ТРАВМ И УТРАТЫ ЗДОРОВЬЯ ВРАЧА В ПРОЦЕССЕ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ <i>Каритиди Р.К., Васильев Ю.Ю., Плотникова Е.Ю., Шиянов Г.П., Васильев Ю.А.</i> | 124 |
| ИЗУЧЕНИЕ ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ У ДЕТЕЙ КРУПНОГО РЕГИОНА РФ С УЧЕТОМ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ ДИНАМИКИ И ФАКТОРОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ <i>Васильев Ю.А., Учаева В.С., Грачева А.С., Плотникова Е.Ю., Удина И.Г.</i> | 128 |
| АНАЛИЗ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ ДЕТЕЙ В ОТДЕЛЕНИЕ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ ДЕТСКОЙ КРАЕВОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ <i>Волобуев В.В., Шильцова Т.А., Пономаренко Т.А., Васильев Ю.А., Ахеджак-Нагузе С.К.</i> | 131 |
| ОПЫТ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАЗВИТИИ АНОМАЛИЙ ЧЕЛЮСТНО -ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ <i>Васильев Ю.А., Терещенко Л.Ф., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю.Ю., Шиянов Г.П., Ахеджак-Нагузе С.К.</i> | 136 |

| | |
|---|-----|
| СЕКЦИЯ 5. КЛИНИЧЕСКИЕ НЕЙРОНАУКИ: НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ, НЕВРОЛОГИЯ, НЕЙРОХИРУРГИЯ, НЕЙРОХИМИЯ И НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ | |
| ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ФМРТ ОТВЕТЫ МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЛЕГКИМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИМ ГЕМИПАРЕЗОМ | 140 |
| <i>Болдырева Г.Н., Ярец М.Ю., Жаворонкова Л.А., Шарова Е.В., Купцова С.В., Трошина Е.М., Машеров Е.Л., Смирнов А.С.</i> | |
| ЭЭГ-МАРКЕРЫ КОГНИТИВНОГО ДЕФИЦИТА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ | 144 |
| <i>Жаворонкова Л.А., Максакова О.А., Скорятин И.Г.</i> | |
| ЭЭГ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОЙ ГЕМОДИНАМИКИ | 146 |
| <i>Сазонова О.Б., Шевченко Е.В., Трошина Е.М.</i> | |
| ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРИЗНАКОВ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И ЗАДЕРЖЕК РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ | 151 |
| <i>Балакирева Е.А., Проценко Р.В., Мацура М.М.</i> | |
| ДИСКРИМИНАНТНЫЙ И КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭЭГ ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ ЛИЦ БЕЗ ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ | 154 |
| <i>Кичук И.В., Митрофанов А.А., Соловьева Н.В., Чаусова С.В.</i> | |
| ИСТОРИЯ КЛАССИФИКАЦИИ ЭЭГ И АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ КОМПЬЮТЕРНЫХ ЗАКЛЮЧЕНИЙ | 159 |
| <i>Гнездицкий В.В., Айвазян С.О., Кузнецова Е.И., Карлов В.А.</i> | |
| СЕКЦИЯ 6. ОКСИД АЗОТА И ПРОДУКТЫ ЕГО МЕТАБОЛИЗМА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ | |
| НЕЙРОНЫ МОЗЖЕЧКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГЛУТАМАТА (Glu) и NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ (NO). Ультразвуковые и цитохимические изменения | 162 |
| <i>Реутов В.П., Самосудова Н.В., Сорокина Е.Г., Сурин А.М., Шарипов Р.Р., Пинелис В.Г.</i> | |
| МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА И ГЕН АПОПОЛИПРОТЕИНА Е В ИСХОДАХ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У ДЕТЕЙ | 170 |
| <i>Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Аверьянова Н.С., Лукьянов В.И., Карасева О.В., Арсеньева Е.Н., Реутов В.П., Рошаль Л.М., Пинелис В.Г.</i> | |
| НИТРОЗИЛЬНЫЕ [NFE-MS] КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА И ПОЛИМЕРНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ – НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ NO ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ | 175 |
| <i>Санина Н.А.</i> | |
| РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ – МОДУЛЯТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ ОКСИДА АЗОТА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ | 179 |
| <i>Дерягина В.П., Реутов В.П., Рыжова Н.И., Савлущинская Л.А., Голубева И.С.</i> | |
| ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В КУПИРОВАНИИ ГИПЕРТОНИЧЕСКИХ КРИЗОВ | 187 |
| <i>Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Петрова В.Д., Капланова Т.И., Потапова М.В.</i> | |
| СЕКЦИЯ 7. ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА И КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА | |
| КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА 2019: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ЖИЗНИ НА ЗЕМЛЕ | 190 |
| <i>Самсонов С.Н.</i> | |
| СЕРДЦЕ И СЛАБАЯ ГЕОМАГНИТНОЙ ВОЗМУЩЕННОСТЬ | 194 |
| <i>Самсонов С.Н., Маныкина В.И., Кобякова С.Е., Петрова П.Г., Стрекаловская А.А., Комзин К.В., Паршина С.С., Кодочигова А.И.</i> | |
| ГЕОМАГНИТНАЯ ВОЗМУЩЕННОСТЬ, РЕОЛОГИЯ И ГОМЕОПАТИЯ | 198 |
| <i>Паршина С.С., Самсонов С.Н., Афанасьева Т.Н., Токаева Л.К., Глухова Н.А.</i> | |
| СЕКЦИЯ 8. ПРОБЛЕМЫ ФАРМАКОЛОГИИ | |
| РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОЙ ОСНОВЫ ДЛЯ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ | 203 |
| <i>Резников К.М., Коваленко И.В.</i> | |

| | |
|--|-----|
| ОПТИМАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ АНАСТОМОЗОВ <i>Желудев А.А.</i> | 206 |
| СЕКЦИЯ 9. ДОСТИЖЕНИЯ СОВРЕМЕННОЙ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ | |
| ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НА ГЕМОЦИРКУЛЯЦИЮ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ <i>Ахуба Л.О., Матуа А. З., Каландия Т.З., Дობаджян Н.В., Джидарян А.А., Степанова А.А., Тратти Х.З., Миквабия З.Я.</i> | 210 |
| ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ ПРИ СОЗДАНИИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ <i>Симоненко Е.С., Золотин А.Ю., Фелик С.В., Седова А.Е.</i> | 213 |
| СЕКЦИЯ 10. ГЕМОГЛОБИНЫ, КРОВЬ, ЖЕЛЕЗО И СТРЕСС | |
| ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ NO НА ГЕМОГЛОБИН <i>Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Шумаев К.Б., Топунов А.Ф.</i> | 218 |
| ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛИТЕЛЕЙ И ЭЛЕКТРОФИЛОВ НА ПЕРЕХОД ГЕМОГЛОБИНА В МЕМБРАНОСВЯЗАННОЕ СОСТОЯНИЕ <i>Насыбуллина Э.И., Космачевская О.В., Пугаченко И.С., Шумаев К.Б., Блиндарь В.Н., Топунов А.Ф.</i> | 222 |
| ОСОБЕННОСТИ ГЕНДЕРНОГО ВЛИЯНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ БИОМОЛЕКУЛ SUS SCROFA ПРИ ЦИКЛОФОСФАМИД-ИНДУЦИРОВАННОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ У КРЫС <i>Басов А.А., Федулова Л.В., Василевская Е.Р.</i> | 227 |
| МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ КРИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ <i>Мухин В.А., Новиков В.Ю.</i> | 231 |
| ОБРАЗОВАНИЕ 8-ОКСОГУАНИНА И ОДНОНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ В ДНК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ <i>Текуцкая Е.Е.</i> | 235 |
| АНТИФИБРОЗНАЯ РОЛЬ ЦИТОГЛОБИНА В ЛАЗЕРНОМ ПЕРФОРИРОВАНИИ ПЕЧЕНИ <i>Тифлова О.А., Дмитриев А.К., Кортунов В.Н., Смирнова А.В., Сильверстова С.Ю., Калабина Е.А., Воронов П.Г.</i> | 239 |
| ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА И ЕГО ГИДРОФИЛЬНЫХ И ГИДРОФОБНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ОРГАНИЗАЦИЮ БЕЛКОВ В СТРУКТУРЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ <i>Алексеева О.М., Кременцова А.В., Кривандин А.В., Шаталова О.В.</i> | 244 |
| СИНХРОННОСТЬ РАБОТЫ МЕМБРАННЫХ ПОМП В ЭПИДЕРМИСЕ: ВОЗМОЖНОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ УРОВНЯ СИНХРОНИЗАЦИИ <i>Петухов В.И., Дмитриев Е.В., Баумане Л.Х., Скальный А.В.</i> | 248 |
| ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ КОНТИНУУМ ГЕМОГЛОБИНА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ <i>Топунов А.Ф., Космачевская О.В.</i> | 252 |
| НИТРОЛИПИДЫ: ОБРАЗОВАНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ <i>Пугаченко И.С., Шумаев К.Б., Космачевская О.В., Куставич Э.К., Мартусевич А.К., Топунов А.Ф.</i> | 254 |
| СЕКЦИЯ 11. ГЕНОМИКА. ГЕНЫ И БОЛЕЗНИ | |
| ИНТЕРФЕРОН-ЛЯМБДА 3: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И РАЗВИТИЕ ПНЕВМОНИИ <i>Николаева Л.И., Бурцева Е.И., Сапронов Г.В., Дьяченко В.В., Мукашева Е.А., Росаткевич А.Г., Гришечкин А.Е., Николаев Д.И.</i> | 258 |
| ПОЛИМОРФИЗМ Q192R ГЕНА PON1: ЭТНИЧЕСКИЕ И ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ <i>Эрдман В.Н., Насыбуллин Т.Р., Туктарова И.А., Тимашева Я.Р., Данилко К.В., Викторова Т.В., Матуа А.З., Мустафина О.Е.</i> | 261 |

| | |
|--|----|
| SECTION 1. MEDICAL PHYSICS: DIAGNOSTICS AND TREATMENT | |
| ALGORITHM OF DESIGN OF FIBER AND OPTICAL SENSORS OF PARAMETERS OF LIQUID STREAMS LIFE SUPPORT SYSTEMS | 9 |
| <i>Murashkina T.I., Badeeva E.A., Shachneva E.A., Hasanshina N.A., Kukushkin A.N.</i> | |
| MEDICAL PHYSICS: EDUCATIONAL PROGRAM MSU – ITEP | 13 |
| <i>Kancheli I.N., Karpunin V.O., Klenov G.I., Lomanov M.F., Lukjashin V.Ye., Khoroshkov V.S., Chernyaev A.P.</i> | |
| TECHNOLOGICAL FEATURES PROTON BEAM THERAPY INTRAOCULAR TUMORS | 17 |
| <i>Chernykh A.N., Khoroshkov V.S.</i> | |
| FIBER AND OPTICAL SENSOR OF PRESSURE FOR THE GIDROMANZHETNY TONOMETER | 21 |
| <i>Badeeva E.A., Gerashchenko S.I., Murashkina T.I., Yankina N.N., Gerashchenko M.S.</i> | |
| PROBLEMS OF FORMATION OF PERSONIFIED DIGITAL MODELS ACCORDING TO THE TOMOGRAPHIC DATA OF THE PATIENT | 26 |
| <i>Novikov M.M., Vnuk V.V., Ippolitov E.V., Cherebylo S.A.</i> | |
| AUTODYNE CONTROL DURING LASER DISSECTION OF BIOTISSUES | 31 |
| <i>Dmitriev A.K., Kononov A.N., Kortunov V.N., Ulyanov V.A.</i> | |
| IMAGE REGISTRATION BASED ON STRUCTURAL DESCRIPTORS | 34 |
| <i>Zakharov A.A., Bulaev A.V., Zhiznyakov A.L.</i> | |
| SECTION 2. PROBLEMS, METHODS AND PRODUCTS OF MODERN BIOTECHNOLOGY | |
| ENZYMATIC HYDROLYSATES OF WHEY PROTEIN: PHYSICAL-CHEMICAL AND IMMUNOCHEMICAL CHARACTERIZATION | 38 |
| <i>Zorin S.N., Petrov N.A., Sidorova Yu.S., Mazo V.K.</i> | |
| MODERN APPROACHES TO DETERMINING CRITERIA FOR ASSESSING THE QUALITY OF FISH RAW | 41 |
| <i>Abramova L.S., Kozin A.V., Kachala V.V.</i> | |
| TISSUE SPECIFIC PROTEINS EXTRACTED WITH WATER WITH MODIFIED ISOTOTIC COMPOSITION | 46 |
| <i>Vasilevskaya E.R.</i> | |
| MODERN MODULATIONS OF FATTY-ACID COMPOSITION OF PORK BACK FAT | 49 |
| <i>Semenova A.A.</i> | |
| FUNCTIONAL FOODS AND THEIR INGREDIENTS WITH EXPECTED HEALTH THE EFFECT | 54 |
| <i>Stefanova I.L., Shakhnazarova L.V., Klimenkova A.Y.</i> | |
| CLEANING OF ECONOMIC AND DOMESTIC WASTERWATER USING CULTURE OF CEANOBACTERIA AND MICROALGAE. | 58 |
| <i>Savanina Ya.V., Barsky E.L., Fomina I.A., Lobakova E.S.</i> | |
| SECTION 3. EXPERIMENTAL BIOLOGY AND CLINICAL MEDICINE IN THE THIRD MILLENNIUM | |
| ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS AND THYROID DISEASES | 62 |
| <i>Yaglova N.V.</i> | |
| PRECLINICAL STUDY OF PHARMACOKINETICS OF THE ORIGINAL DRUG BASED ON NEURAMINIDASE INHIBITOR IN A CIRCULATING POOL | 66 |
| <i>Brushinina O.S., Yanovskaya E.A., Zyuz'kova Yu.G., Udut V.V.</i> | |
| REGULATION OF ADRENAL ZONA GLOMERULOSA DEVELOPMENT AND FUNCTION BY TRANSCRIPTIONAL FACTOR OCT4 | 70 |
| <i>Obernikhin S.S., Yaglova N.V., Nazimova S.V., Yaglov V.V.</i> | |
| ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЛИПЕПТИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ INFLUENCE OF DIFFERENT POLYPEPTIDES FRACTIONS DERIVED FROM <i>SUS</i> SCOFA IMMUNE ORGANS ON THE RATS IMMUNOLOGICAL REACTIVITY | 73 |
| <i>Dzhimak S.S., Fedulova L.V., Vasilevsky E.R., Basov A.A.</i> | |
| NERVOUS MECHANISM OF GASTROINTESTINAL DISEASES. PREVENTION AND REHABILITATION | 79 |
| <i>Cherkasov A.D.</i> | |

| | |
|--|-----|
| FEATURE OF TISSUE SPECIFIC PROTEINS TRANSDERMAL DELIVERY IN INCLUSION WOUND MODEL <i>Fedulova L.V.</i> | 83 |
| THE ESTIMATION OF DYNAMICS OF TRACTS OF THE FRONTAL CORTICAL AREA OF THE HUMAN BRAIN BEFORE AND AFTER TRANSCRANIAL ELECTROSTIMULATION WITH EMOTIONAL STRESS <i>Akhedzhak-Naguze S.K.</i> | 86 |
| THE EFFECT OF TRANSCRANIAL ELECTRICAL STIMULATION ON THE STRESS OF STUDENTS <i>Akhedzhak-Naguze S.K.</i> | 89 |
| DETERMINATION OF STRESS RESISTANCE IN STUDENTS AFTER TRANSCRANIAL ELECTROSTIMULATION BY THE METHOD OF "PROGNOSIS" <i>Akhedzhak-Naguze S.K.</i> | 92 |
| BUVANESTIN - A NEW ANESTHETIC FOR SPINAL, EPIDURAL AND REGIONAL ANESTHESIA <i>Vasilkov V.G., Marinchev V.N., Osinkin D.V., Emelina N.G.</i> | 94 |
| THYMUS MORPHOLOGY IN PUBERTAL RATS AFTER DEVELOPMENTAL EXPOSURE TO LOW DOSES OF DDT <i>Tsomartova E.S., Timokhina E.P., Gorlushkin V.M.</i> | 98 |
| AGE-DEPENDENT CHANGES IN EXPRESSION OF HHEX AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF ADRENAL CORTICAL CELLS <i>Tsomartova D.A., Nazimova S.V., Yaglov V.V.</i> | 101 |
| MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE REGENERATING ISCHEMIC CUTANEOUS WOUND AFTER ITS DRESSING BY A BIODEGRADATE POLYLACTIC FILM WITH XENOFIBROBLASTS <i>Shapovalova Ye.Yu., Barsukov N.P., Boyko T.A., Baranovskiy Yu.G., Baranovskiy A.G.</i> | 103 |
| THE STUDY OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MELANOCYTES GROWN IN MICROTISSUE, UNDER THE INFLUENCE OF FUcoxanthin <i>Gussoeva E.V., Kolokol'tsova T.D., Ustinova E.E., Saburina I.N.</i> | 108 |
| SECTION 4. INFORMATION EDUCATIONAL ENVIRONMENT | |
| MODERN INNOVATIVE TECHNOLOGIES FOR ASSISTANCE TO EMPLOYMENT OF GRADUATES <i>Alekseenko S.N., Gaivoronskaya T.V., Akhedzhak-Naguze S.K.</i> | 112 |
| SCIENTIFIC AND EDUCATIONAL WEB-INTEGRATED ENVIRONMENT FOR SPECIALISTS IN MEDICAL ACCELERATORS <i>Averyanov G.P., Dmitrieva V.V.</i> | 117 |
| INVOLVING STUDENTS IN THE OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF TEACHING DISCIPLINE "HISTORY OF PHARMACY" WITH THE APPLICATION OF TOOLS OF PROTECTIVE PRODUCTION <i>Veselova D.V., Vermennikova L.V., Gubarev S.V., Vasilyev Yu.A.</i> | 121 |
| RISK ASSESSMENT OF WORK-RELATED INJURIES AND LOSS OF HEALTH OF THE PHYSICIAN IN THE COURSE OF EMPLOYMENT <i>Karipidi R.K., Vasiliev Yu.Yu., Plotnikova E., Shiyarov G.P., Vasiliev Yu.A.</i> | 124 |
| STUDY OF CONGENITAL PATHOLOGY OF MAXILLOFACIAL REGION OF CHILDREN IN A LARGE REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION CONSIDERING TEMPORAL AND SPACE DYNAMICS AND CONTAMINATION OF ENVIRONMENT <i>Vasiliev Yu.A., Uchaeva V.S., Gracheva A.S., Plotnikova E.Yu., Udina I.G.</i> | 128 |
| ANALYSIS OF HOSPITALIZATION CHILDREN DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL SURGERY OF PEDIATRIC HOSPITAL KRASNODAR KRAI <i>Volobuev V.V., Shiltsova T.A., Ponomarenko T.A., Vasilyev Yu.A., Akhedzhak-Neguse S.K.</i> | 131 |
| EXPERIENCE PREVENT THE DEVELOPMENT OF ANOMALIES OF THE MAXILLOFACIAL REGION <i>Vasilyev Yu.A., Tereshchenko L.F., Plotnikova E., Vasiliev Yu.Yu., Shiyarov G.P., Akhedzhak-Neguse S.K.</i> | 136 |

| | |
|---|-----|
| SECTION 5. CLINICAL NEURAL SCIENCES: NEUROPHYSIOLOGY, NEUROLOGY, NEUROSURGERY, NEUROCHEMISTRY, AND NEUROPHARMACOLOGY | |
| MOTOR FMRI RESPONSES OF THE BRAIN IN PATIENTS WITH MILD POST-TRAUMATIC HEMIPARESIS | 140 |
| <i>Boldyreva G., Yarets M., Zhavoronkova L., Sharova E., Kuptsova S., Troshina E.M., Macherov E., Smirnov A.</i> | |
| EEG-MARKERS OF COGNITIVE DEFICITS INPATIENTS AFTER CRANIO-CEREBRAL TRAUMA | 144 |
| <i>Zhavoronkova L.A. Maksakova O.A., Skorjatina I.G.</i> | |
| EEG IN CHILDREN WITH CHRONIC DISORDERS OF BRAIN HEMODYNAMICS | 146 |
| <i>Sazonova O.B, Shevchenko E.V., Troshina E.M.</i> | |
| THE RELATIONSHIP OF THE SIGNS OF CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA AND DEVELOPMENT DELAY OF SPEECH IN CHILDREN | 151 |
| <i>Balakireva E., Protsenko R.V., Matsura M.M.</i> | |
| DISCRIMINANT ANALYSIS EEG DATA IN SCHIZOPHRENIA DISORDERS AND HEALTHY HUMAN STATES | 154 |
| <i>Kichuk I.V., Mitrofanov A.A., Solov'eva N.V., Chausova S.V.</i> | |
| HISTORY OF EEG CLASSIFICATION AND AUTOMATED COMPUTER REPORTS | 159 |
| <i>Gnezditsky V.V., Ayvazyan S.O., Kuznetsova E.I.</i> | |
| SECTION 6. NITROGEN OXIDE AND PRODUCTS OF HIS METABOLISM IN BIOLOGICAL SYSTEMS | |
| CEREBELLAR NEURONS AFTER EXPOSED TO THE ACTION OF GLUTAMATE (GLU) AND NO-GENERATING COMPOUNDS (NO). ULTRASTRUCTURAL AND CYTOCHEMICAL CHANGES | 162 |
| <i>Reutov V.P., Samosudova N.V., Sorokina E.G., Surin A.M., Sharipov R.R., Pinelis V.G.</i> | |
| MARKERS OF BRAIN DAMAGE AND THE APOLIPOPROTEIN E GENE IN THE OUTCOMES OF SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY IN CHILDREN | 170 |
| <i>Sorokina E.G., Semenova Zh.B., Averyanova N.S., Lukianov V.I., Karaseva O.V., Arseneva E.N., Reutov V.P., Roshal L.M., Pinelis V.G.</i> | |
| NITROSYL [NFE-MS] IRON COMPLEXES AND POLYMERIC MATERIALS BASED ON THEM – NEW MEDICINAL TOOLS FOR NO THERAPY OF BACTERIAL INFECTIONS | 175 |
| <i>Sanina N.A</i> | |
| VEGETABLE POLYPHENOLS - MODULATORS OF THE FORMATION OF NITRIC OXIDE DURING CARCINOGENESIS | 179 |
| <i>Deryagina V.P., Reutov V.P., Ryzhova N.I., Savluchinskaya L.A., Golubeva I.S.</i> | |
| TERAHERTZ THERAPY POTENCY IN RELIEF OF HYPERTENSIC CRISES | 187 |
| <i>Parshina S.S., Afanasyeva T.N., Petrova V.D., Kaplanova T.I., Potapova M.V.</i> | |
| SECTION 7. HUMAN HEALTH AND SPACE WEATHER | |
| SPACE WEATHER OF 2019: CONSEQUENCES FOR LIFE ON THE EARTH | 190 |
| <i>Samsonov S.N.</i> | |
| HEART AND WEAK GEOMAGNETIC DISTURBANCE | 194 |
| <i>Samsonov S.N., Manykina V.I., Kobyakova S.E., Petrova P. G., Strekalovskaya A.A., Komzin K. V., Parshina S. S., Kodochigova A.I.</i> | |
| A GEOMAGNETIC ACTIVITY, RHEOLOGY AND HOMEOPATHY | 198 |
| <i>Parshina S.S., Samsonov S.N., Afanasyeva T.N., Tokayeva L.K., Glukhova N.A.</i> | |
| SECTION 8. PROBLEMS OF PHARMACOLOGY | |
| DEVELOPMENT OF AN OPTIMAL BASIS FOR INFUSION SOLUTIONS | 203 |
| <i>Reznikov R.M, Kovalenko I.V.</i> | |
| OPTIMUM PREVENTION OF INSOLVENCY OF GASTROINTESTINAL | 206 |
| <i>Zheludev A.A.</i> | |

| | |
|---|-----|
| SECTION 9. ACHIEVEMENTS OF MODERN BIOORGANIC CHEMISTRY AND PROSPECTS FOR THEIR APPLICATION | |
| INFLUENCE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS ON HEMOCIRCULATION IN AGE ASPECT <i>Akhuba L. O., Matua, A. Z., Kalandiya T. Z., Stepanova A.A., Dobadjan N.V., Djidaryan A.A., Trapsh H. Z., Mikvabiya Z. Y.</i> | 210 |
| USE OF ALTERNATIVE TYPES OF RAW MATERIALS FOR CREATING SPECIALIZED FOOD PRODUCTS FOR CHILDREN'S FOOD <i>Simonenko E., Zolotin A.Yu., Felik S.V., Sedova A.E.</i> | 213 |
| SECTION 10. HEMOGLOBIN, BLOOD, IRON AND STRESS | |
| PROTECTIVE ACTION OF NO METABOLITES ON HEMOGLOBIN <i>Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Topunov A.F.</i> | 218 |
| EFFECT OF OXIDATIVE AND ELECTROPHILIC COMPOUNDS ON THE TRANSITION OF HEMOGLOBIN TO MEMBRANE-BOUND STATE <i>Nasybullina E.I., Kosmachevskaya O.V., <u>Pugachenko I.S.</u>, Shumaev K.B., Blindar V.N., Topunov A.F.</i> | 222 |
| GENDER EFFECT PECULIARITIES OF THE TISSUE-SPECIFIC BIOMOLECULES <i>SUS SCROFA</i> ON IMMUNE SYSTEM FUNCTIONAL ACTIVITY IN CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED IMMUNODEFICIENCY RATS <i>Basov A.A., Fedulova L.V., Vasilevsky E.R.</i> | 227 |
| THE MECHANISMS OF ADAPTATIONS OF CRYORESISTENCE ENZYMES <i>Mukhin V.A., Novikov V.Yu.</i> | 231 |
| THE FORMATION OF 8-OXOGUANINE AND SINGLE-STRAND BREAKS IN DNA WHEN EXPOSED TO AN ELECTROMAGNETIC FIELD <i>Tekutskaya E.E.</i> | 235 |
| CYTOGLOBIN ANTIFIBROTIC ROLE IN LASER PERFORATION <i>Tiflova O.A., Dmitriev A.K., Kortunov V.N., Smirnova A.V., Silvestrova S.Yu., Kalabina E.A., Voronov P.G.</i> | 239 |
| THE ACTION OF SYNTHETIC ANTIOXIDANT FENOZAN AND ITS HYDROPHYLIC AND HYDROPHOBIC DERIVATIVES TO PROTEIN ORGANISATION AT ERITHROCYTE MEMBRANE'S STRUCTURE <i>Alekseeva O.M., Kremensova A.V., Krivandin A.V., Shatalova O.V.</i> | 244 |
| QUANTITATIVE EVALUATION OF THE LEVEL OF SYNCHRONIZATION IN THE WORK OF MEMBRANE PUMPS IN EPIDERMIC CELLS <i>Petukhov V.I., Dmitriev E.V., Baumane L.K., Skalny A.V.</i> | 248 |
| FUNCTIONAL CONTINUUM OF HEMOGLOBIN: PROBLEMS AND PERSPECTIVE <i>Topunov A.F., Kosmachevskaya O.V.</i> | 252 |
| NITROLIPIDS: FORMATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY <i>Pugachenko I.S., Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Ruuge E.K., Martusevich A.K., Topunov A.F.</i> | 254 |
| SECTION 11. GENOMICS, GENES AND DISEASES | |
| INTERFERON-LAMBDA 3: GENETIC POLYMORPHISM AND PNEUMONIA <i>Nikolaeva L.I., Burtseva E.I., Sapronov G.V., Dyachenko V.V., Mukasheva E.A., Rosatkevich A.G., Grishechkin A.E., Nikolaev D.I.</i> | 258 |
| Q192R POLYMORPHISM OF PON1 GENE: ETHNIC AND AGE ASPECTS <i>Erdman V.V., Nasibullin T.R., Tuktarova I.A., Timasheva Ya.R., Mustafina O.E., Danilko K.V., Viktorova T.V., Matua A.Z.</i> | 261 |

УДК 62.93, 62-791.2
ГРНТИ 59.14.17,
59.31.71

Мурашкина Т.И., Бадеева Е.А., Шачнева Е.А.,
Хасаншина Н.А., Кукушкин А.Н.
Пензенский государственный университет

АЛГОРИТМ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИХ ДАТЧИКОВ ПАРАМЕТРОВ ЖИДКОСТНЫХ ПОТОКОВ СИСТЕМ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ

В статье предложена структурная и конструктивная модели волоконно-оптического датчика параметров жидкостных потоков (объема, скорости, расхода) в системе жизнеобеспечения космонавтов.

Ключевые слова: волоконно-оптический датчик, космическая медицина, система жизнеобеспечения, параметры жидкостного потока, средство измерения, алгоритм проектирования

Murashkina T.I., Badeeva E.A., Shachneva E.A.,
Hasanshina N.A., Kukushkin A.N.
Penza state university

ALGORITHM OF DESIGN OF FIBER AND OPTICAL SENSORS OF PARAMETERS OF LIQUID STREAMS LIFE SUPPORT SYSTEMS

In article it is offered structural and constructive models of the fiber-optical sensor of parameters of liquid streams (volume, speed, an expense) in the life support system of astronauts.

Keywords: fiber-optical sensor, space medicine, life support system, parameters of a liquid stream, measuring instrument, design algorithm

Введение

В современной космической медицине, обеспечивающей как подготовку и реабилитацию космонавтов на Земле, так и длительные полеты различной степени дальности, в последнее время «электрические» средства измерений и контроля постепенно заменяются волоконно-оптическими, что связано с их основным преимуществом: отсутствием собственного электромагнитного излучения, негативно влияющего на здоровье космонавтов. В работах [1,2] предложен новый способ измерения параметров жидкостных потоков в системах жизнеобеспечения космонавтов (СЖО), для реализации которого авторами разрабатываются соответствующие волоконно-оптические датчики параметров жидкостей (ВОДПЖ).

Основными требованиями к разрабатываемым средствам измерений параметров жидкости для СЖО являются повышенные точность и надежность [3, 4].

Цель работы

Улучшение метрологических и эксплуатационных характеристик волоконно-оптических датчиков (ВОД) (расхода, объема, скорости, давления) различных типов жидкостей в СЖО на основе четкой последовательности процесса их проектирования.

Материалы и методы

Разработаны структурная и конструктивная схемы ВОДПЖ (рисунки 1 и 2).

Определение конструктивно-технологических параметров ВОДПЖ, у которых в качестве воспринимающего элемента (ВЭ) применяется цилиндр, жестко закрепленный на торце сильфона, где одновременно расположен модулирующий элемент (МЭ) в виде пластины с двумя отражающими поверхностями [5].

ВОД, предназначенный для измерения расхода и других параметров жидкости, работает следующим образом.

Напряжение питания $U_{П}$ преобразуется на источнике излучения ИИ в оптический сигнал Φ , Световые потоки Φ_1 и Φ_2 от ИИ через узлы юстировки УЮ1 и УЮ2 по подводным оптическим волокнам ПОВ1 и ПОВ2 направляются в зону измерения к первой и второй отражающим поверхностям пластины соответственно. Под действием силы $F_{ном}$, создаваемой жидкостным потоком, воспринимающий элемент ВЭ отклонится на некоторый угол α , соответственно на такой же угол отклонится модулирующий элемент МЭ (отражающая пластина). При изменении угла α изменяются интенсивности отраженных световых потоков $\Phi_1(\alpha)$ и $\Phi_2(\alpha)$ двух измерительных каналов, поступающих в отводящие оптические волокна ООВ1 и ООВ2 и передающиеся по ним через УЮ2 и УЮ3 к приемникам излучения ПИ1 и ПИ2 соответственно. С выхода оптоэлектронного блока ОЭБ снимается электрический сигнал $I_1(\alpha)$ и $I_2(\alpha)$ [3].

В качестве ВЭ выбран сильфон, но не исключена возможность использования других упругих элементов (например, полусферической мембраны). Одним торцом сильфон закреплен на

трубе, а другим – на платформе, на которой жестко закреплены с разных сторон воспринимающая пластина и зеркальная пластина (см. рисунок 1) [5].

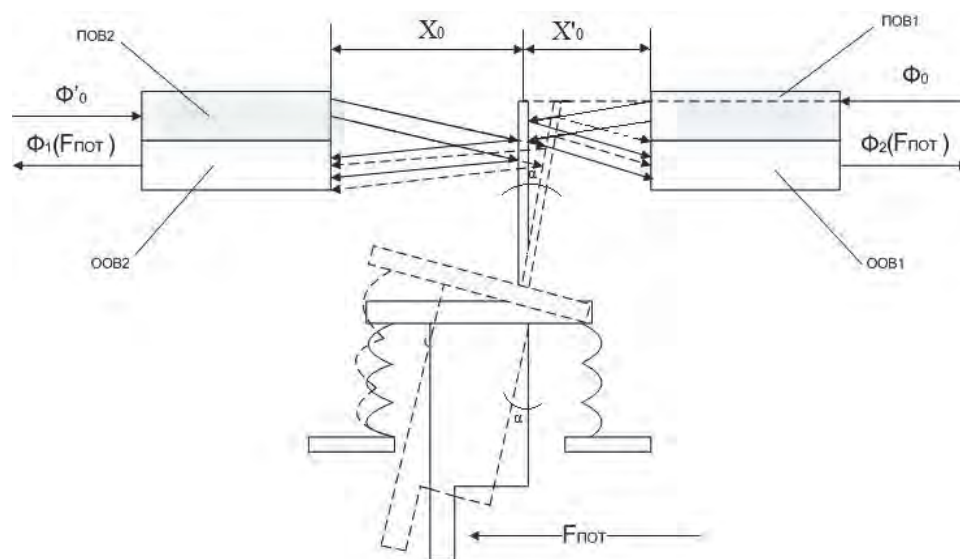


Рис. 2. Схема волоконно-оптического преобразователя силы потока жидкости

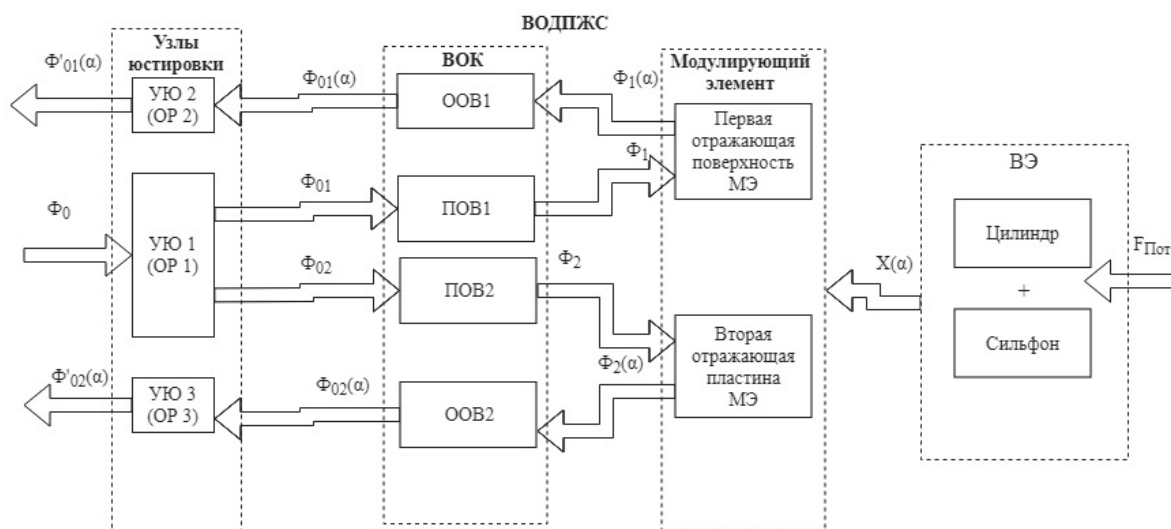


Рис. 1. Структурно-аналитическая схема ВОД параметров жидкостных потоков

Полученные результаты

Разработан алгоритм расчета ВОДПЖ, включающий 5 этапов (рисунок 3).

Этап I. Проводится анализ известных ВОД физических величин и обоснование значения внутреннего радиуса ВОДПЖ. Ограничим внутренний радиус R_C сильфона выражением $R_C \leq (0,8 \dots 1,0)$, где $R_{\text{ВОДср}}$ – средний внутренний радиус ВОД.

Этап II. Выбор сильфона по ГОСТ 21482 – 76 «Сильфоны однослойные измерительные металлические» [6]. Определяются внутренний и внешний радиусы, угловая жесткость или изгибная жесткость, габаритные размеры сильфона. Значения перечисленных параметров должны быть больше или равны значениям, указанным в ГОСТ, а высота сильфона должна быть минимальной. Высота сильфона определяется количеством гофр $n = 2..3$ и угловой жесткостью сильфона. Если сильфон нагружен поперечной силой, то при определении угловых или линейных перемещений его целесообразно заменить эквивалентным стержнем с изгибной жесткостью B [6].

В случае, если полученные значения удовлетворяют требованиям и входят в рамки ограничений, то сильфон считается рассчитанным, иначе процесс выбора параметров сильфона необходимо провести повторно, изменяя параметры сильфона в рамках оговоренных ограничений.

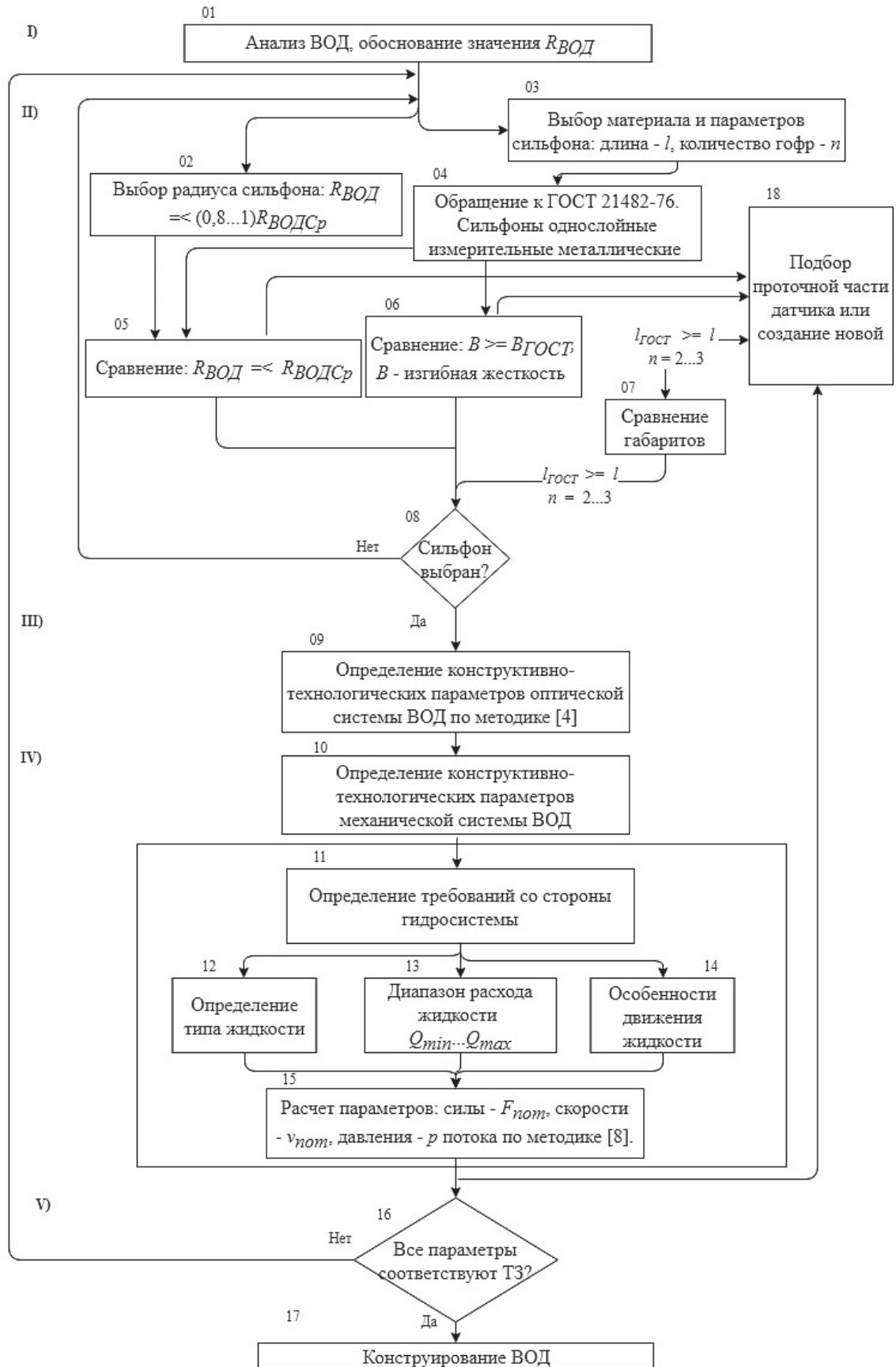


Рис. 2. Блок-схема алгоритма расчета ВОД

Этап III. Определение конструктивно-технологических параметров оптической системы ВОДПЖ:

- 1) расстояния X_0 между общим торцом подводящего оптического волокна (ПОВ) и отводящего оптического волокна (ООВ) и отражателем, при котором распределение освещенности в сечениях вдоль оси X равномерное;
- 2) габаритные размеры отражателя;
- 3) пространственное расположение оптических волокон в рабочем торце волоконно-оптического кабеля.

Примечание. Подробное описание методики математического моделирования оптической системы ВОД дано в работе [7].

Этап IV. Определение конструктивно-технологических параметров механической системы ВОДПЖ:

- определение требований со стороны гидросистемы: тип жидкости, особенности движения жидкости и диапазон расхода $Q_{min} \dots Q_{max}$ жидкости (небольшие диаметры трубопровода и датчика обеспечивают малое влияние турбулентности жидкости при движении, вязкость жидкости при нормальных температурных условиях меняется незначительно, что позволяет также не учитывать ее влияние на работу ВОД);
- определение схемы сил, действующих в узле ВЭ;
- прочностной и проверочный расчеты механической системы ВОДПЖ.

Этап V. Сравнительный анализ результатов механического расчета и расчета параметров ВОДПЖ.

Если все проанализированные и рассчитанные параметры определены верно (соответствие условиям блока 16), то переходим к конструированию ВОДПЖ, а если не удовлетворяют требованиям ТЗ, то действия следующие:

- 1) изменяется количество гофр, которое либо увеличивается, либо уменьшается, в зависимости от выявленных несоответствий;
- 2) изменяется материал сильфона, если выявлены прочностные несоответствия;
- 3) изменяется радиус сильфона. Если нужна большая чувствительность, то радиус увеличивается, если нужна меньшая чувствительность элемента, то уменьшается.

Проведенный метрологический анализ канала измерения расхода жидкости в системе жизнеобеспечения космического летательного аппарата позволил сделать вывод о том, что применение ВОДПЖ улучшает метрологические характеристики системы жизнеобеспечения космонавтов, подсистемы расхода и параметров жидкости.

Вывод. Разработанный алгоритм расчета конструктивных элементов ВОДПЖ обеспечивает логическую последовательности его проектирования.

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

- структурная и конструктивная модели ВОДПЖ;
- рекомендации по последовательности расчета конструктивно-технологических параметров ВОДПЖ.

Работа выполнена в рамках Госзадания №8.11785.2018/11.12 (Распоряжение Минобрнауки от 07.02.2018 № Р-67)

Литература

- 1 Способ измерения параметров жидкостных потоков/ Т.И. Мурашкина, Е.А. Бадеева, Е.А. Шачнева и [др.] // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии : материалы Международной конференции IT + M&Ec`2015. Гурзуф. 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 Мурашкина Т.И. Разработка и внедрение волоконно-оптических средств измерений на летательных аппаратах – качественный скачок отечественный измерительной техники // Устройства измерения, сбора и обработки сигналов в информационно-управляющих комплексах: Тезисы докладов 1-ой Всероссийской научно-практической конференции. – г.Ульяновск: УлГТУ, 2011. 219 с. С.145–150.

4 Development of fiber optic sensor for fluid flow of astronauts' life-support system/ E.A. Shachneva and T.I. 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

5 Shachneva E.A., Murashkina T.I. Development of fiber optic sensor for fluid flow of astronaut's life-support system // Journal of Physics: Conference Series. 2016. Т. 735. № 1. С. 012–036.

6 ГОСТ 21482–76. Сильфоны однослойные измерительные металлические. <http://docs.cntd.ru/document/1200023400>

7. Юрова О.В. Технологические процедуры изготовления волоконно-оптических преобразователей линейных и угловых перемещений отражательного типа. Автореф. дис... канд. техн. наук. ГОУ ВПО «Пензенский государственный университет (ГОУВПО «ПГУ»». 2011. 22 с.

Сведения об авторах

Татьяна Ивановна Мурашкина

д-р техн. наук, профессор

профессор

Эл. почта: timurashkina@mail.ru

Елена Александровна Бадеева

д-р техн. наук, доцент

профессор

Эл. почта: badeeva_elena@mail.ru

Елена Андреевна Шачнева

аспирант кафедры «Приборостроение»

Эл. почта: e_shachneva@mail.ru

Надежда Александровна Хасанишина

Магистр

инженер-исследователь

Эл. почта: nadin.gloria@mail.ru

Алексей Николаевич Кукушкин

Студент

Эл. почта: kukushkin.97@mail.ru

Пензенский государственный университет

Россия, Пенза

Information about authors

Tatyana Ivanovna Murashkina

Dr. of tech. sci., prof.

Professor

E-mail: timurashkina@mail.ru

Elena Aleksandrovna Badeeva

Dr. Sci. Tech., Docent

Professor

E-mail: badeeva_elena@mail.ru

Elena Andreevna Shachneva

Postgraduate

E-mail: e_shachneva@mail.ru

Nadezhda Aleksandrovna Hasanshina

Master

research engineer

E-mail: nadin.gloria@mail.ru

Alexey Nikolaevich Kukushkin

student

E-mail: kukushkin.97@mail.ru

Penza state university

RF, Penza

УДК 615.849, 621.384

¹Канчели И.Н., ¹Карпунин В.О., ¹Кленов Г.И., ¹Ломанов М.Ф.,

¹Лукьяшин В.Е., ¹Хорошков В.С., ²Черняев А.П.

¹НИЦ «Курчатовский институт» - (ИТЭФ)

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (МГУ)

МЕДИЦИНСКАЯ ФИЗИКА: ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА МГУ – ИТЭФ

В статье представлено содержание ведущегося для студентов 4 курса МГУ им. М.В. Ломоносова в Центре ПЛТ ИТЭФ спецкурса для работы в различных кластерах (лучевая терапия, лучевая диагностика, ядерная медицина) медицинской радиологии. Курс включает лекции и практикум, проводимый на действующем оборудовании Центра ПЛТ ИТЭФ.

Ключевые слова: Лучевая терапия, лучевая диагностика, ядерная медицина, информационные медицинские технологии.

¹Kancheli I.N., ¹Karpunin V.O., ¹Klenov G.I., ¹Lomanov M.F., ¹Lukjashin V.Ye., ¹Khoroshkov V.S., ²Chernyaev A.P.

¹Scientific research centre “Kurchatov institute” – FSBI A.I. Alikhanov “Institute for theoretical and experimental physics (ITEP)”.

²M.V. Lomonosov Moscow state university (MSU).

MEDICAL PHYSICS: EDUCATIONAL PROGRAM MSU – ITEP

This article presents contents of the special course that is conducted at the ITEP Proton therapy centre for M.V. Lomonosov MSU 4 year students specializing in various clusters of medical radiology (radiation therapy, radiation diagnostics, nuclear medicine). The course includes a lecture part and practical training that are conducted at the operating equipment of the ITEP Proton therapy center.

Keywords: Radiation therapy, radiation diagnostics, nuclear medicine, information medical technologies

Совместный спецкурс МГУ – ИТЭФ для студентов 4 курса кафедры «Ускорители и радиационная медицина» Физического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова проводится с 1997 г. В настоящей статье представлено содержание курса, его эволюция и расширение в течение двух десятков лет, место и методы проведения курса.

В первые годы обучения курс охватил лишь проблемы наиболее молодого направления дистанционной лучевой терапии – протонной лучевой терапии. Достаточно быстро стало ясно, что такой подход к представлению материала является крайне узким и недостаточным. Багаж знаний медицинских физиков, без которых функционирование современных радиологических отделений невозможно, должен быть кардинально шире и разностороннее. Абсолютно необходимо изначально дать будущим медицинским физикам информацию о медицинской радиологии во всем ее многообразии, дать представление о ее важнейших кластерах, о которых мы упомянули в аннотации. Поскольку основным полем деятельности лучевой, в том числе протонной терапии является крайне актуальные, важные и болезненные проблемы онкологии, необходимо дать хотя бы количественные оценки этой проблемы и динамику ее основных показателей – заболеваемость, смертность, успехи лечения онкологических больных и т.п. В последнее десятилетие название курса (и соответственно его содержание) кардинально изменилось, расширилось и звучит сегодня следующим образом: «Физические основы лучевой терапии и ядерной медицины, физика протонной лучевой терапии». Курс проводится в 7÷8 семестрах, как правило, один раз в неделю (4÷5 академических часов в день) и включает суммарно около 200 академических часов лекций и практических занятий на оборудовании Центра протонной лучевой терапии (ПЛТ) ИТЭФ. Центр оснащен четырьмя специализированными лучевыми установками для ПЛТ больных с различно локализованными злокачественными новообразованиями, локальной вычислительной сетью с терминалами на всех рабочих местах и инфраструктурой, свойственной современным радиологическим отделениям.

Наиболее полно содержание курса отражает недавно опубликованное Учебное пособие [1]. Поэтому ниже полностью представлено Содержание Учебного пособия и кратко изложено содержание отдельных разделов.

Хорошков В.С., Кленов Г.И. Физико-технические аспекты дистанционной лучевой терапии: от рентгена к адронам.

Учебное пособие можно найти на сайте ИТЭФ:

<http://www.itep.ru/activity/medphysics/index.php>

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| Часть 1. Онкология и медицинская радиология | 4 |
| Глава 1.1. Онкология: некоторые цифры и факты | 4 |
| Глава 1.2. Медицинская радиология: кластеры и терминология | 7 |
| Глава 1.3. Ионизирующие излучения и живые объекты | 9 |
| Часть 2. Физико-технические основы дистанционной лучевой терапии | 21 |
| Глава 2.1. Краткий исторический очерк..... | 21 |
| Глава 2.2. Технологии дистанционной лучевой терапии..... | 29 |
| Глава 2.3. Дозные распределения и конформность облучения..... | 36 |
| Глава 2.4. Клиническая дозиметрия..... | 39 |
| Часть 3. Адронная лучевая терапия..... | 41 |
| Глава 3.1. Предпосылки использования адронов в лучевой терапии | 41 |

| | |
|---|-----|
| Глава 3.2. Этапы развития адронной терапии..... | 44 |
| Глава 3.3. Протонная лучевая терапия..... | 60 |
| Часть 4. Ускорительная техника | 72 |
| Глава 4.1. Принципы ускорения заряженных частиц..... | 73 |
| Глава 4.2. Медицинские ускорители протонов и более тяжелых ионов.... | 81 |
| Глава 4.3. Перспективные ускорительные проекты и однокабинные комплексы протонной лучевой терапии..... | 88 |
| Заключение | 93 |
| Приложение 1. Прохождение заряженных частиц через вещество..... | 95 |
| Приложение 2. Пробег в воде протонов при различных энергиях..... | 97 |
| Приложение 3. Оценка необходимой интенсивности пучка протонов, генерируемого специализированным медицинским ускорителем центра протонной лучевой терапии..... | 98 |
| Литература | 100 |

Поскольку основной сферой использования дистанционной лучевой терапии является лечение онкологических больных, в первой части Учебного пособия приводятся основные факты и цифры, характеризующие непростую ситуацию в этой тревожной области здравоохранения – онкологии. Авторы, являясь физиками, не рассматривают клиническую сторону проблемы – медицинские технологии, клинические результаты, динамику их улучшения и т.п. – и лишь иногда при необходимости для понимания излагаемого материала касаются этих вопросов. Здесь же кратко рассмотрены радиобиологические механизмы воздействия ионизирующих излучений на живые объекты.

Использование дистанционной лучевой терапии в лечении больных началось в 1898 году, всего через три года после великого открытия В.К. Рентгена. За 120 лет, прошедших после открытия рентгеновского излучения, арсенал дистанционной лучевой терапии пополнился целым рядом источников и типов ионизирующих излучений. В Учебном пособии представлены история развития технических средств дистанционной лучевой терапии, их состояние сегодня, основные направления развития [2]. Рассмотрены аппаратные, технологические и методические аспекты использования дистанционной лучевой терапии. Хронологически последним, но, пожалуй, наиболее эффективным и зачастую безальтернативным инструментом дистанционной лучевой терапии оказались пучки ускоренных адронов – протонов и более тяжелых ионов. Их применение рассмотрено в Учебном пособии наиболее подробно.

В Учебном пособии кратко представлены принципы работы ускорителей различных типов и их использование в дистанционной лучевой терапии [3].

В то же время вовлекаемые в лучевую терапию достижения других областей знаний – лучевой диагностики, клинической дозиметрии, программного обеспечения, компьютерных технологий и т.п., без которых достигнутая сегодня высокая эффективность лучевого лечения невозможна, изложены в Учебном пособии лишь в общем виде. В спецкурсе эти вопросы освещаются гораздо шире, чем в Учебном пособии и их содержание представлено ниже.

Клиническая дозиметрия. Подробно рассматриваются практически все современные дозиметрические инструменты, применяемые в лучевой терапии – ионизационные камеры, полупроводниковые дозиметры, пленочные и термoluminesцентные дозиметры, индукционные методы измерения потока частиц. Рассматриваются механизмы генерации сигнала в различных типах дозиметров при их взаимодействии с ионизирующим излучением и сферы их использования для решения тех или иных задач – измерение поглощенной дозы в режиме реального времени, абсолютная дозиметрия, измерение дозных распределений, «свидетели» и т.п.

Дозно-анатомическое планирование облучения. В курсе рассматриваются характеристики различных видов мишени [4]; биологические аспекты расчёта дозы, в частности, факторы, влияющие на относительно биологическую эффективность ОБЭ, и математические модели ОБЭ; виды программ дозно-анатомического планирования [5]; учёт изменения синтопии (движения) органов и мишени при облучении (т.н. 4D планирование); учёт изменения анатомии зоны интереса в процессе курса лучевой терапии (т.н. 5D или адаптивное планирование); современные системы планирования (адаптивные системы RayStation и другие, использование метода Монте Карло); оценки качества плана; погрешности при планировании на всех этапах лучевой терапии;

их влияние на результаты лечения. Особенное внимание уделяется ЛТ детей и радиотерапевтическим рискам [6]. Рассматриваются вопросы оценки качества лучевой терапии [7].

Лучевая диагностика и топометрия (интроскопия). В спецкурсе представлены принципы и технологии получения изображений внутренних структур человека посредством аппаратных средств (модальностей), использующих различные типы излучений (как ионизирующих, так и неионизирующих): цифровые рентгеновские системы, рентгеновская, магнитно-резонансная, позитронная и однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ультразвуковая диагностика.

Для описания цифровых рентгеновских систем предварительно рассматриваются их основные особенности и характеристики: динамический диапазон, высококонтрастное пространственное разрешение, низкоконтрастное разрешение, квантовая эффективность регистрации и т.д. Далее производится рассмотрение общего принципа получения теневых двумерных изображений на рентгеновском аппарате с углубленным изучением работы цифровых приёмников рентгеновского изображения. К ним относятся системы с оцифровкой видеосигнала, генерируемого на выходе рентгеновского электронно-оптического преобразователя и системы компьютерной радиографии (CR – Computed Radiography, DR – Digital Radiography). Отдельное внимание уделяется использованию этих цифровых детекторов при проведении топометрии и позиционировании пациента во время сеансов лучевой терапии [8].

Отдельные лекции посвящены изучению аппаратных средств и математического аппарата получения трёхмерных изображений пациента посредством рентгеновской компьютерной томографии, томографии на основе ядерного магнитного резонанса, а также такой области ядерной медицины, как позитронная и однофотонная эмиссионная компьютерная томография. Обязательно поясняется и физически обосновывается роль рентгеновской компьютерной томографии в качестве основного средства топометрии пациента и источника исходной информации при проведении дозно-анатомического планирования лучевой терапии [9].

Информационные технологии. Для понимания принципов передачи, хранения и использования информации в спецкурсе рассматриваются основные способы представления и форматы хранения медицинских изображений, основные алгоритмы сжатия. Изучается международный стандарт и формат хранения цифровой медицинской информации DICOM. И наконец рассматривается проблема обработки, хранения и систематизации медицинской информации изучаются основные типы медицинских систем для радиологии: медицинская информационная система (МИС), радиологическая информационная система (РИС) и системы хранения и передачи медицинских изображений (PACS-системы), а также работа на специализированных рабочих станциях врача-диагноста.

В спецкурсе тщательно отслеживаются все значимые продвижения и инновационные процессы в области лучевой терапии и диагностики. В частности, материалы большинства публикаций, приведенных в списке литературы, уже излагались в спецкурсе в 2018-2019 г.г. Еще раз подчеркнем, что большинство тем спецкурса отрабатываются со студентами на практических занятиях, на действующем оборудовании Центра ПЛТ ИТЭФ.

Авторы считают, что практически все представленные в данной работе темы, составляющие содержание спецкурса, должны быть рассмотрены при обучении студентов, потенциально позиционирующих себя для дальнейшей работы в области медицинской радиологии. Лишь в этом случае выпускник – медицинский физик будет обладать достаточным изначальным общим багажом знаний, чтобы легко и без задержки войти в рабочий режим более детального освоения и исследований в той или иной более узкой сфере медицинской радиологии.

Литература

1. Физико-технические аспекты дистанционной лучевой терапии: от рентгена к адронам: Учебное пособие. – М.: Физический факультет МГУ, 2019. С. 1–103.
2. Кленов Г. И., Хорошков В.С. Адронная лучевая терапия: история, статус, перспективы // Успехи физических наук. 2016. Т. 186. № 8. С. 891.
3. Кленов Г.И., Хорошков В.С. Ускорители для протонной лучевой терапии // Медицинская физика. 2014. № 1. С. 5–17.
4. Стандартизация технологии в радиационной онкологии. Доклад ААРМ №263, 2018. Перевод М.А. Кузнецова. Редактор А.Н. Моисеев // Медицинская физика. 2018. № 2.

5. Климанов В.А. Дозиметрическое планирование лучевой терапии. – М.: Московский инженерно-физический институт (государственный университет), 2008.
6. Наркевич Б.Я. Радиационная безопасность в лучевой терапии // Региональные курсы по стратегии модернизации и развития лучевой терапии. 2 – 6 декабря 2013. Москва.
7. Yevgeny V. Khmelevsky, Irina N. Kancheli, Vladimir S. Khoroshkov, Andrey D. Kaprin. Morbidity dynamics in proton-photon or photon radiation therapy for locally advanced prostate cancer // Reports of Practical Oncology and Radiotherapy. 2018. N. 23. P. 21–27.
8. Карпунин В.О., Рязанцев О.Б., Хорошков В.С. Лучевая диагностика и терапия: современное развитие технологий и оборудования в мире и России // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции IT+ME'2015. 2015.
9. Матусова Т.В., Карпунин В.О., Рязанцев О.Б., Хайбуллин В.Г., Хорошков В.С. Экспериментальное исследование взаимосвязи рентгеновской плотности биологических тканей и их тормозной способности для протонов // Медицинская физика. 2010. № 2 (46). С.28–36.

Сведения об авторах

Ирина Николаевна Канчели

ведущий инженер-физик

Эл. почта: irina.kancheli@gmail.com

Владимир Олегович Карпунин

ведущий инженер-физик

Эл. почта: karpunin@itep.ru

Геннадий Иванович Кленов

д-р техн. наук

зам. начальника отдела «Медицинская физика»

Эл. почта: klenov@itep.ru

Михаил Федорович Ломанов

д-р физ.-мат. наук

вед. науч. сотрудник

Эл. почта: mlomanov6@gmail.com

Виктор Егорович Лукьяшин

вед. науч. сотрудник

Эл. почта: opposite69@rambler.ru

Владимир Сергеевич Хорошков

д-р техн. наук

начальник отдела «Медицинская физика» НИЦ

Эл. почта: Khoroshkov@itep.ru

НИЦ «Курчатовский институт–ИТЭФ»

Россия, Москва

Александр Петрович Черняев

зав. кафедры «Ускорители и радиационная медицина» Физического факультета

Эл. почта: a.p.chernyaev@Yandex.ru

МГУ им. М.В. Ломоносова

Россия, Москва

Information about authors

Irina N. Kancheli

leading engineer-physicist

E-mail: irina.kancheli@gmail.com

Vladimir O. Karpunin

leading engineer-physicist

E-mail: karpunin@itep.ru

Gennady I. Klenov

Doctor of tech. sci.

assistant chief of dep. “Medical physics”

E-mail: klenov@itep.ru

Michail F. Lomanov

Dr. of phys. and math.

sci., leading research worker

E-mail: mlomanov6@gmail.com

Victor Ye. Lukjashin

leading sci. officer

E-mail: opposite69@rambler.ru

Vladimir S. Khoroshkov

Dr. of tech. sci.

chief of the Medical physics dep.

E-mail: Khoroshkov@itep.ru

SRI “Kurchatov institute” – ITEP

Russia, Moscow

Alexander P. Chernyaev

head of the chair “Accelerators & Radiation medicine”

Phys. Faculty

E-mail: a.p.chernyaev@Yandex.ru

M.V. Lomonosov Moscow state University

Russia, Moscow

УДК 621.039.8
ГРНТИ 76.13.99

Черных А.Н., Хорошков В.С.
НИЦ «Курчатовский институт»–ИТЭФ

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОТОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ВНУТРИГЛАЗНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

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 50 % пациентов. Приведён обзор этапов проведения протонной лучевой терапии внутриглазных злокачественных новообразований и особенности позиционирования пациента и мишени.

Ключевые слова: онкоофтальмология, протонная терапия, увеальная меланома, позиционирование.

TECHNOLOGICAL FEATURES PROTON BEAM THERAPY INTRAOCULAR TUMORS

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 tumors and features positioning of patient is given.

Keywords: *oncological ophthalmology, proton therapy, uveal melanoma, positioning*

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 центров, а 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. 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 50 % пациентов [2, 3].

В статье рассматриваются основные технологические этапы проведения ПЛТ больных с внутриглазными злокачественными новообразованиями и особенности позиционирования мишени, определенные на основе опыта центра ПЛТ 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., которые проводили 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, топометрия;
- 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 (болус, коллиматор);
- позиционирование;
- протонная лучевая терапия (облучение);
- постлучевое наблюдение.

Подробный обзор этапов проведения протонной лучевой терапии приведен в [5]. В этой статье мы более подробно остановимся на этапе позиционирования и особенностях выполнения этого этапа.

Позиционирование

В лучевой терапии целью позиционирования мишени является точное совмещение, заданного при дозно-анатомическом планировании дозового распределения и облучаемой мишени. Цель позиционирования внутриглазной мишени достигается путем решения задачи совмещения системы координат глазного яблока с системой координат лучевой установки. В протонной онкоофтальмологии решение такой задачи осложнено рядом особенностей, которые

присущи исключительно протонной онкоофтальмологии внутриглазных ЗН, а именно:

- глазное яблоко подвижно - фиксация головы не обеспечивает фиксацию глазного яблока;
- глазное яблоко и ЗН рентгенопрозрачны;
- оси координат глаза не наблюдаемы оператором (наблюдаемы центр радужки и зрачка).
- направление зрительной оси глаза «знает» лишь организм больного.

На рисунке 1 приведена упрощенная модель глазного яблока, на которой показаны основные оси.

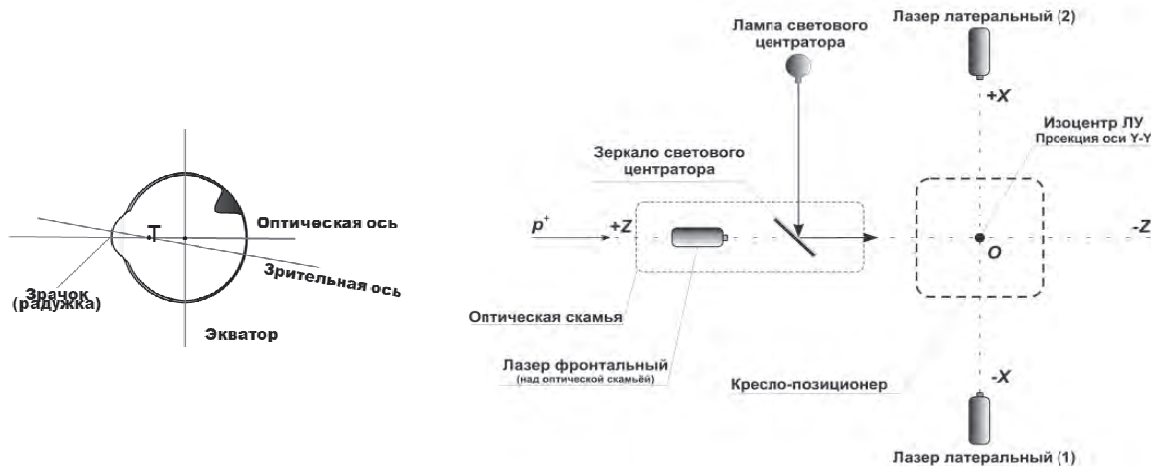


Рис. 1. Модель глазного яблока

Рис. 2. Схема размещения лазерных блоков системы лазерного позиционирования

Процедуру позиционирования и ориентации глаза больного перед проведением облучения внутриглазных ЗН можно разделить на три этапа:

1. размещение пациента таким образом, чтобы при направлении взгляда «вперед» глазные яблоки располагались таким образом, чтобы плоскость XY системы координат лучевой установки проходила по касательной к внешней поверхности роговицы обоих глаз, а ось XX проходила через точки касания (рис.3);
2. выведение мишени в положение, предусмотренное планом облучения;
3. 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 применяются такие устройства как: система лазерного позиционирования, фиксационная точка, система рентгеновского позиционирования.

Система лазерного позиционирования предназначена для световой визуализации системы координат лучевой установки. Для этого используются специальные лазерные блоки, которые создают развертку лазерного луча в вертикальной и горизонтальной плоскости. На рисунке 2 показана схема размещения лазерных блоков в процедурном помещении.

Таким образом, при помощи средств лазерного позиционирования медперсонал осуществляет первый этап позиционирования – привязку системы координат глаза к системе координат лучевой установки. На рисунке 3 схематично показано окончательное положение глазного яблока после выполнения первого этапа позиционирования.

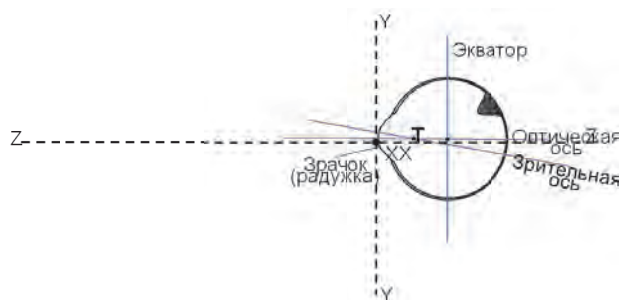


Рис. 3. Схема привязки системы глаза к системе координат лучевой установки

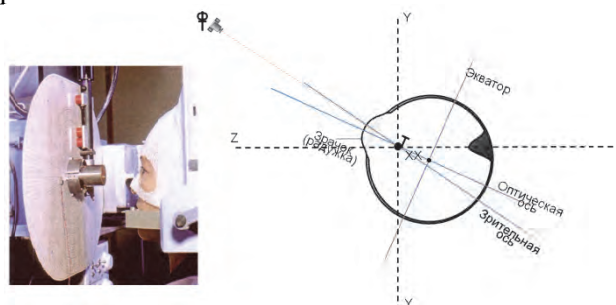


Рис. 4. Схема работы фиксационной точки

Второй этап выполняется путем добровольного направления взгляда на фиксационную точку, установленную согласно плану облучения в требуемое место.

В наиболее простом виде фиксационная точка представляет собой металлический диск, расположенный на лучевой установке перед пациентом, на котором размещается светодиод на магнитном подвесе. Разлиновка диска в полярной системе координат позволяет однозначно устанавливать светодиод в заданном системой дозно-анатомического планирования месте. На рисунке 4 показано устройство фиксационной точки, используемое в институте Пауля Шерера (PSI) и схематично показано окончательное положение глазного яблока после выполнения второго этапа позиционирования. После выполнения подобной манипуляции злокачественное новообразование оказывается на оси системы формирования дозового поля в соответствии с дозно – анатомическим планом облучения.

Отметим, что в реальности ситуация сложнее чем на рисунке 4, поскольку манипуляция осуществляется в 3D пространстве.

Для верификации плана облучения и контроля процедуры позиционирования применяется система рентгеновского позиционирования, которая позволяет выполнить два рентгеновских снимка глазного яблока - фронтальный и латеральный (рис. 5).

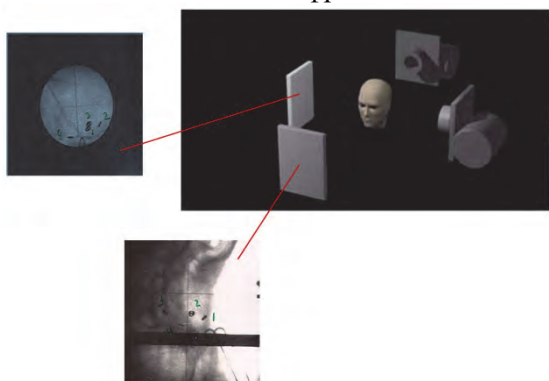


Рис. 5. Схема устройства системы рентгеновского позиционирования

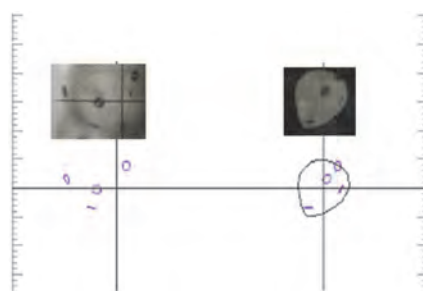


Рис. 6. Сравнение рентгеновских снимков с виртуальными рентгеновскими снимками, полученными на этапе дозно-анатомического планирования

Подшитые на склере глаза по границе основания опухоли рентгеноконтрастные скрепки должны занять на рентгеновских снимках предусмотренные планом места (рис.6).

При несовпадении рентгеновских снимков с данными плана требуется повторная (уточняющая) процедура планирования и/или позиционирования. Обычно требуется около трех - четырех итераций.

Развитие аппаратно программных средств позиционирования

Выше описаны общеиспользуемые аппаратные средства позиционирования пациента при проведении протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований. Как было отмечено, неточности на первом и втором этапах позиционирования могут приводить к существенным ошибкам положения мишени, что влечет за собой дополнительные временные затраты на корректировку положения глазного яблока, но так же и дополнительную лучевую нагрузку на пациента, связанную с выполнением дополнительных рентгеновских снимков.

Сотрудниками отдела медицинской физики НИЦ «Курчатовский институт» - ИТЭФ разработана методика позиционирования с использованием системы видеокамер, которая призвана повысить разрешающую способность аппаратных средств позиционирования. На практике характерная ширина линии развертки лазерного луча системы лазерного позиционирования обычно составляет $0,5 \pm 1$ мм. При этом разрешающая способность системы в рассматриваемом случае становится еще ниже в связи с тем, что при касании лазерного луча поверхности глазного яблока внутриглазная жидкость начинает подсвечиваться, создавая световой ореол, окончательно затрудняя визуальное наблюдение за совмещением поверхности роговицы глазного яблока с плоскостью развертки лазерного луча.

Разработанный аппаратно программный комплекс TV позиционирования имеет программное обеспечение, позволяющее визуализировать систему координат лучевой установки посредством нанесенного на изображение виртуального перекрестия, характерная толщина линий которого составляет 100мкм.



Рис. 7. Снимки с латеральной и фронтальной TV камеры системы TV позиционирования с наложенным виртуальным перекрестием

Таким образом, разрешающая способность метода может быть повышена, по крайней мере, на порядок величины.

Заключение

Авторы считают, что внедрение дополнительной TV системы позиционирования позволит повысить точность совмещения систем координат глазного яблока и лучевой установки, тем самым снизить ошибки позиционирования мишени.

Литература

1. 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).
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. Sheen M. Radiotherapy quality system for proton therapy EyePlan v3.01. // Eye program user manual. Clatterbridge Centre for Oncology, Internal Report, 1992.
5. Черных А.Н., Карпунин В.О., Хорошков В.С. Технологические этапы протонной лучевой терапии внутриглазных новообразований // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции IT+M&EC`2018. С. 225-234. <https://elibrary.ru/item.asp?id=35454586>

Сведения об авторах

Алексей Николаевич Черных

вед. инж.-физик

Эл. почта: chernykh-aleksey@yandex.ru

Владимир Сергеевич Хорошков

д-р техн. наук

нач. отд.

Эл. почта: khoroshkov@itep.ru

НИЦ «Курчатовский институт» - ИТЭФ

Россия, Москва

Information about authors

Aleksey Nikolaevich Chernykh

Principal Engineer-Physicist

E-mail: chernykh-aleksey@yandex.ru

Vladimir Sergeevich Khoroshkov

Dr. of tech. sci.

Head of department

E-mail: khoroshkov@itep.ru

NRC KI - ITEP

Russia, Moscow

УДК 62.93, 62-791.2, 61. 616-71

ГРНТИ 59.14.15, 59.31.71

**Бадеева Е.А., Геращенко С.И., Мурашкина Т.И.,
Янкина Н.Н., Геращенко М.С.**

Пензенский государственный университет

ВОЛОКОННО-ОПТИЧЕСКИЙ ДАТЧИК ДАВЛЕНИЯ ДЛЯ ГИДРОМАНЖЕТНОГО ТОНОМЕТРА

Предложена конструкция нового волоконно-оптического датчика давления повышенной чувствительности преобразования параметров пульсовой волны в изменение интенсивности оптического сигнала, который будет применен в двухкамерной гидроманжете электронного тонометра.

Ключевые слова: волоконно-оптический датчик, давление, чувствительность преобразования, артериальная гипертензия, артериальное давление, гидроманжета, тонометр.

Badeeva E.A., Gerashchenko S.I., Murashkina T.I.,
Yankina N.N., Gerashchenko M.S.
Penza state university

FIBER AND OPTICAL SENSOR OF PRESSURE FOR THE GIDROMANZHETNY TONOMETER

The design of the new fiber-optical sensor of pressure of hypersensitivity of transformation of parameters of a pulse wave to change of intensity of an optical signal which will be applied in a two-chamber hydrocuff of an electronic tonometer is offered.

Keywords: fiber-optical sensor, pressure, sensitivity of transformation, arterial hypertension, arterial blood pressure, hydrocuff, tonometer.

Введение

Для оценки значений артериального давления (АД) в бытовых условиях при самостоятельном контроле давления наиболее востребованными являются тонометры осцилляторного типа, так как они реализуют электронный способ измерения с цифровым и звуковым представлением информации, компактны, измерения осуществляются в автоматическом режиме неподготовленными пользователями [1]. Однако реальная погрешность приборов данного класса существенно выше погрешности механических тонометров, реализующих метод Короткова, и в соответствии с ГОСТ Р 50267.30 систематическая составляющая погрешности тонометров такого типа лежит в пределах ± 5 мм рт.ст., а случайная – в пределах ± 8 мм.рт.ст. Кроме того, дополнительную погрешность измерения может вносить смещенное позиционирование манжеты относительно артерии, несоответствие окружности руки размерам манжеты, неправильное положение руки пациента, наличие внешнего шума. В результате погрешность измерения может достигать 10...15 % [2].

Поскольку измерительное средство для достоверного контроля должно быть на порядок точнее измеряемого диапазона границы гипертензии, то для оценки систолического давления погрешность измерительного средства должна быть не более 1,0 мм рт. ст., а для диастолического - 0,5 мм рт. ст. Таким образом, разработка тонометра, обладающего высокой точностью, является важной задачей в медицине и здравоохранении. Для этого в работе [3] предложено вместо воздушной манжеты использовать гидроманжету, поскольку амплитуда пульсаций давления, проходящих через жидкостную среду гидроманжеты, намного выше, чем при использовании воздушной манжеты. При определении параметров систолического и диастолического давления данный подход дает существенное преимущество, поскольку амплитуда полезного сигнала существенно превышает уровень шума. Появляется возможность существенного увеличения амплитуды осцилляций, формируемых в манжете при прохождении через нее пульсовой волны. Это позволяет повысить точность измерения артериального давления и гемодинамических параметров. Но проведенные экспериментальные исследования показали, что требуемой точности данные приборы пока не достигли из-за применения в конструкции тонометров устаревших «электрических» датчиков давления.

Цель работы

Улучшение метрологических характеристик гидроманжетных электронных тонометров.

Материалы и методы

В современной медицине все чаще применяются волоконно-оптические средства измерений [4]. Погрешность измерения артериального давления можно значительно уменьшить, применяя в конструкции жидкостной манжеты волоконно-оптический датчик давления (ВОДД). Но чувствительность преобразования АД в параметры оптического сигнала известных ВОДД невысокая, что обусловлено особенностями упругого элемента, как правило, мембраны той или иной конструкции [5-7]. Кроме того, конструкции известных ВОДД не адаптированы к конструкции жидкостной манжеты. Датчик должен быть небольшим по габаритным размерам.

На рисунке 1 приведена конструкция предлагаемого ВОДД.

В корпусе датчика устанавливается узел юстировки и волоконно-оптический кабель, состоящий из подводящего (ПОВ) и отводящего (ООВ) оптических волокон. Напротив отполированного торца оптических волокон, закрепленного в отверстии юстировочного узла, с расчетным зазором устанавливается отражающая поверхность воспринимающего элемента. Это расстояние задается микровинтами, оси которых параллельны оптической оси датчика. Узел юстировки и корпус могут быть соединены между собой или микровинтами или с помощью сварки.

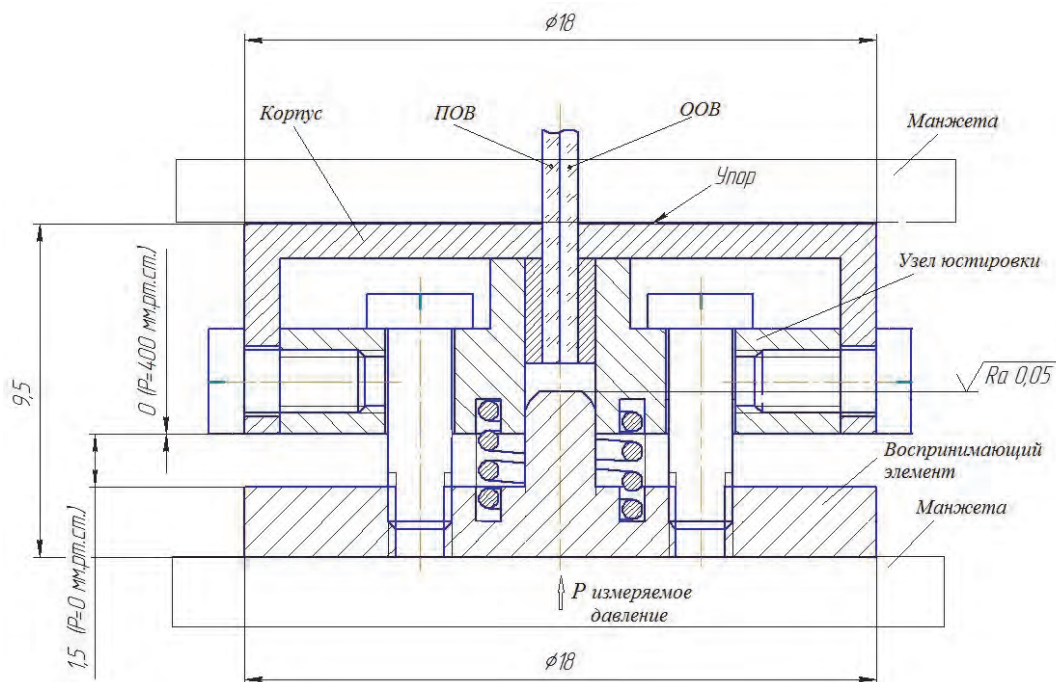


Рис. 1. Конструкция ВОДД для жидкостного тонометра

При воздействии на воспринимающий элемент измеряемого давления, его отражающая поверхность приближается к рабочим торцам оптических волокон, при этом интенсивность оптического сигнала изменяется. Когда давление падает возвратная пружина возвращает воспринимающий элемент в исходное состояние.

Электронный тонометр, в котором установлен ВОДД, включает в себя двухкамерную (1) и (2) компрессионную гидроманжету, первый (3) и второй (4) ВОДД, источник давления (5), содержащий резервуар с заданным объемом жидкости и устройство для подачи жидкости в камеры гидроманжеты, анализатор давления (6) амплитуды осцилляций второй (нижней) камеры гидроманжеты, блоки регистрации (7) и индикации (8), первый и второй (9,10) блоки управления источника давления (5) (рисунок 2) [8].

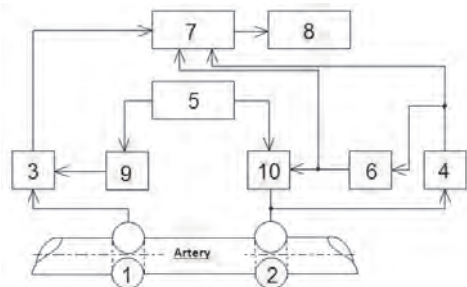


Рис. 2. Блок схема тонометра с двухкамерной гидроманжетой

Двухкамерная компрессионная гидроманжета перед началом измерения устанавливается на руке пациента так, что первая камера (1) устанавливается выше, чем вторая (2) по току крови. Жидкость из источника давления (5) через блок управления (10) поступает в камеру (2). В ней создается избыточное давление, при этом в ней начинает формироваться пульсация давления, вызванная прохождением пульсовой волны. Анализатор амплитуды (6) осцилляций второй (2) камеры осуществляет оценку значений амплитуд осцилляций и нахождение точки, соответствующей максимальной амплитуде осцилляций. Эта амплитуда соответствует среднему значению давления. После нахождения значения амплитуды осцилляций анализатор амплитуд (6) подает команду в блок управления (10) на прекращение подачи жидкости в нижнюю камеру (2). Это значение во второй камере сохраняется до окончания измерения. Далее жидкость начинает поступать в первую камеру (1). Подача жидкости производится до уровня достижения давления, превышающего значение систолического давления. После чего жидкость из первой камеры (1) через блок управления (9) перекачивается в источник давления (5). Начинается процесс декомпрессии давления. В момент появления пульсаций во второй камере (2) волоконно-оптическим датчиком давления (3) определяется значение давления в первой камере (1), которое передается в блок регистрации (7) и далее на блок индикации (8). Это позволяет фиксировать момент выравнивания давления в верхней манжете с систолическим и позволяет получить высокую точность измерения. Равномерное снижение давления в верхней манжете приводит к равномерному увеличению амплитуды пульсаций в нижней манжете. Прекращение роста амплитуды наступает в момент выравнивания диастолического давления с давлением в первой камере (артерия полностью открывает-

ся). Это создает условие максимального потока крови через нее, что характеризует максимальную амплитуду осцилляций. Далее анализатор амплитуды (6) фиксирует прекращение роста амплитуды осцилляций и подает команду на запись значений давления манжеты (1) из блока регистрации (7) на блок индикации (8).

Полученные результаты

На рисунке 3 представлен график изменения давления во второй и первой камерах компрессионной гидроманжеты при компрессии и декомпрессии, где появление первой пульсации во второй камере определяет значение систолического давления по значению давления в первой камере гидроманжеты, что соответствует моменту выравнивания давления в первой камере и систолического давления значения артериального давления (121 мм.рт.ст.).

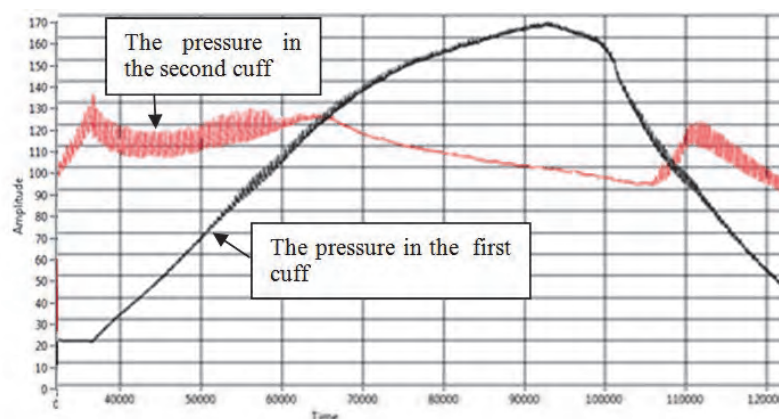


Рис. 3. График изменения давления во второй (нижней) и первой (верхней) камерах компрессионной гидроманжеты при компрессии и декомпрессии

Это соответствует началу прохождения крови по артерии ниже первой (верхней) камеры компрессионной гидроманжеты (точка А на рисунке 4).

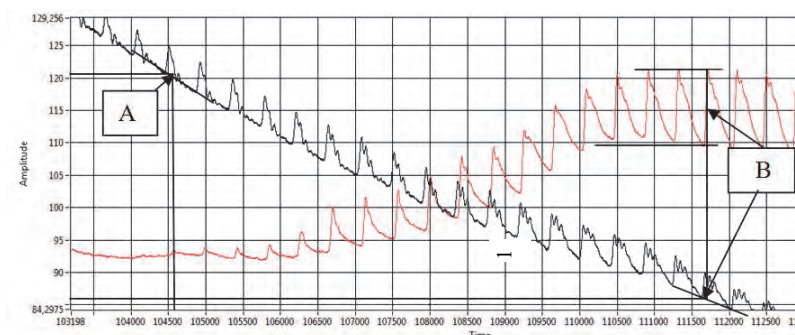


Рис. 4. Точки А и В, соответствующие систолическому и диастолическому значениям давления

Точка В на рисунке 4 соответствует максимальной амплитуде осцилляций во второй камере и соответствующего значения давления в первой камере гидроманжеты, соответствующего диастолическому давлению (85 мм.рт.ст.). Значение осцилляций во второй камере компрессионной гидроманжеты лежит в пределах 121-109 мм.рт.ст. При этом амплитуда осцилляций равна 13 мм.рт.ст., что составляет 36 % от вариации давления.

Выводы

Предлагаемое решение ВОДД в составе гидроманжетного тонометра создает предпосылки для реализации простого в обращении прибора для измерения артериального давления с погрешностью до 1 %.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются предложение использовать ВОДД в конструкции гидроманжетного электронного тонометра и конструкция ВОДД, обеспечивающие решение проблемы повышения точности приборов для оценки гемодинамических параметров.

Литература

1 Gerashchenko M.S., Gerashchenko S.M., Gerashchenko S.I., Yankina N.N. Application of the hydrocuff technology for blood pressure evaluation // International Journal of Applied Engineering Research. 2016. Т. 11, № 4. С. 2271-2274. Parker КН. 2009b. An introduction to wave intensity analysis. Med. Biol. Eng. Comput. 47:175–88.

2 Геращенко М.С., Геращенко С.И., Геращенко С.М. Оценка погрешности гидроманжетного тонометра // Измерение. Мониторинг. Управление. Контроль. 2016. № 4 (18). С. 106–111.

3 Геращенко М.С., Геращенко С.И., Волчихин В.И., Бадеева Е.А., Янкина Н.Н. Применение гидроманжетной технологии для оценки гемодинамических параметров // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции. Весенняя сессия. Гурзуф / Под редакцией проф. Е.Л. Глориезова. 2018. С. 196–201.

4 Мурашкина Т.И., Бадеева Е.А., Бадеев А.В., Серебряков Д.И., Бростилова Т.Ю., Мотин А.В. Радиационно-стойкие волоконно-оптические датчики с открытым микро-оптико-механическим каналом для информационно-измерительных систем // Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность. 2018: Сб. статей. (24-27 сентября 2018)/ под ред. Л.И. Лукиной, Н.А. Бежина, Н.В. Ляминой. – Севастополь: СевГУ, 2018.С. 847–849.

5 Рубцов И.С., Серебряков Д.И., Бадеева Е.А., Коломиец Л. Н. Конструктивно-технологические особенности волоконно-оптического датчика разности давлений аттенуаторного типа // Датчики и системы. 2015. № 3. С. 30–33.

6 Fiber-optic differenzial pressure sensor wiht a cylindrical lens / T. I. Murashkina, E. A. Badeeva, E.A. Shachneva, A. V. Motin // Journal of Engineering and Applied Sciences. 2016. Vol. 11. Iss. 13. P. 2853–2857.

7 Development of Sensors and Systems for Remote Multidiagnostics and Rehabilitation for Medicine / T.V. Istomina, E.A. Badeeva, T.I. Murashkina // 5th Mediterranean Conference on Embedded Computing MECO-2016 (Montenegro Bar, 12–16 June 2016). – Montenegro Bar, 2016. P. 432–435.

8 Тонометр Геращенко // Патент RUS на полезную модель №:104437. 2011. [Электронный ресурс]. URL: <http://bankpatentov.ru/node/78436>

Сведения об авторах

Елена Александровна Бадеева

д-р техн. наук, доцент

профессор

Эл. почта: badeeva_elena@mail.ru

Сергей Иванович Геращенко

д-р техн. наук, профессор,

зав. каф.

Эл. почта: mpo@list.ru

Татьяна Ивановна Мурашкина

д-р техн. наук, профессор

профессор

Эл. почта: timurashkina@mail.ru

Наталья Николаевна Янкина

канд. техн. наук

доцент

Эл. почта: risend@yandex.ru

Михаил Сергеевич Геращенко

ассистент

Эл. почта: mpo@list.ru

Пензенский государственный университет

Россия, Пенза

Information about authors

Elena Aleksandrovna Badeeva

Dr.Sci.Tech., associate professor

professor

E-mail: badeeva_elena@mail.ru

Sergey Ivanovich Gerashchenko

Dr.Sci.Tech., professor,

head of the department

E-mail: mpo@list.ru

Tatyana Ivanovna Murashkina

Dr.Sci.Tech., professor

professor

E-mail: timurashkina@mail.ru

Natalya Nikolaevna Yankina

Cand.Tech.Sci.

associate professor

E-mail: risend@yandex.ru

Mikhail Sergeevich Gerashchenko

Assistant

E-mail: mpo@list.ru

Penza state university

Russia, Penza

ПРОБЛЕМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННЫХ ЦИФРОВЫХ МОДЕЛЕЙ ПО ТОМОГРАФИЧЕСКИМ ДАННЫМ ПАЦИЕНТА

В статье рассматриваются проблемы формирования персонафицированных цифровых моделей анатомических структур по томографическим данным пациента. Описываются принципы сегментации томографических изображений. Дается обзор и сравнение специализированного программного обеспечения для получения цифровых моделей по томографическим данным. Проводится оценка их функциональности, быстродействия и качества получаемых моделей. Даются практические рекомендации по использованию программного обеспечения для получения цифровых моделей анатомических структур для медицинского применения. Обсуждаются вопросы сертификации персонализированных моделей и изделий медицинского назначения.

Ключевые слова: *Спиральная компьютерная томография, цифровая модель, компьютерное моделирование, сегментация томографических данных.*

Novikov M.M., Vnuk V.V., Ippolitov E.V., Cherebylo S.A.
FSRCe "Crstallography and Photonics" RAS

PROBLEMS OF FORMATION OF PERSONIFIED DIGITAL MODELS ACCORDING TO THE TOMOGRAPHIC DATA OF THE PATIENT

The report deals with the problems of forming personalized digital models of anatomical structures according to patient's tomographic data. The principles of tomographic image segmentation are considered. A review and comparison of specialized software for obtaining of digital models using tomographic data is given. Evaluation of the functionality, speed and quality of the models obtained. Practical recommendations on the using of software for creating digital models for medical applications are given. The issues of certification of personalized models and medical products are discussed.

Keywords: *Spiral computed tomography, digital model, computer modeling, segmentation of tomographic data.*

Введение

Внедрение в практику здравоохранения информационных технологий значительно изменяет способы диагностики и лечения, формы взаимодействия врачей с пациентами и коллегами, организацию лечения и восстановления здоровья. Современная цифровая медицина, позволяющая повышать доступность, качество и эффективность медицинской помощи, - один из приоритетных проектов стратегического развития российского здравоохранения, разработанных Минздравом РФ.

Развитие современного трехмерного моделирования и внедрение нового поколения спиральных компьютерных томографов значительно расширило возможности использования этих информационных технологий в реконструктивной хирургии [1-4]. Специализированное программное обеспечение позволяет оперативно производить обработку томографических данных пациента и создавать цифровые трехмерные модели любого дефекта или зоны патологии. Цифровые модели все активнее используются при подготовке и планировании оперативного вмешательства в челюстно-лицевой хирургии, хирургии шеи и позвоночника, торакальной хирургии, ортопедии и нейрохирургии. Их можно напрямую использовать для создания копий патологий и дефектов конкретного пациента с помощью аддитивных технологий [1]. Персонафицированные пластиковые копии анатомических структур позволяют проводить эффективное предварительное планирование сложных операций. На основе цифровых моделей дефектов или зон патологий конкретных заболеваний человека можно создавать единые базы данных для интеллектуальных систем поддержки принятия врачебных решений.

Сегментация томографических данных

Основное назначение томографического исследования это медицинская диагностика, уточнения диагноза или отслеживание результатов лечения. Она позволяет выявить наличие патологии и получить о ней дополнительную информацию. В большинстве случаев это делается путем последовательного визуального анализа изображения срезов, сформированных компьютерным томографом. В настоящее время уже доступно формирование с помощью специализированными программами трехмерной реконструкции томографических данных, которая

позволяет значительно улучшить выявление патологий и проводить предварительное планирование сложных хирургических операций. Однако создание трехмерной реконструкции требует решения целого ряда задач, поскольку интересующие структуры и окружающие их ткани имеют сходную плотность и плохо различаются на томографических изображениях. В подобных случаях возникает необходимость в такой операции, как сегментация – программное выделение интересующих структур в требуемых границах с последующей их визуализацией, анализом и экспортом в виде файла цифровой модели.

Цифровая модель открывает дополнительные возможности:

– предоперационное моделирование высокоточных шаблонов и имплантатов на основе томографических данных конкретного пациента,

– изготовление с помощью аддитивных технологий копий дефектов и патологий для дальнейшего анализа и планирования операции,

– 3D-печать биологических тканей и матриц для непосредственного восстановления дефекта.

Базовые алгоритмы сегментации

Описание основных алгоритмов сегментации сделано на основе анализа работы программы Инобитек DICOM Просмотрщик.

Основная задача сегментации заданной области и выделение требуемой структуры это удаление всех остальных объектов на трехмерной реконструкции, полученной по томографическим данным [5]. В первую очередь устанавливаются пороговые значения плотности выделяемых тканей. В этом случае используются два алгоритма: цветовая таблица и маска видимости.

В томографическом изображении градация серого цвета соответствует конкретному значению плотности биологической структуры. Для цветовой сегментации реконструкции определенному диапазону плотности можно назначить конкретное значение цвета и видимости. Для этого формируется цветовая таблица, которая задает конкретной плотности значение цветового диапазона. В зависимости от выбранной цветовой таблицы плотности одного диапазона, соответствующие одному типу тканей, могут быть скрыты, а плотности других диапазонов, наоборот, сделаны видимыми и окрашены в выбранный цвет. Таким образом, разные цветовые таблицы позволяют проводить сегментацию и визуализировать разные органы и ткани. Другим параметром, определяющим текущую сегментацию, является маска видимости. В этой маске каждому пикселю соответствует один бит, который, соответственно, может иметь значение 0 – пиксель не отображается, 1 – пиксель отображается при визуализации. Следовательно, сегментация изображений определяется тремя основными параметрами: цветовой таблицей, окном плотности и маской видимости.

Основные инструменты сегментирования

1. Вырезание сегментированной структуры с помощью полигона. Инструмент применяется к трехмерной реконструкции. Возможны два варианта: удалить всё, попавшее в выделенную область, или, наоборот, удалить всё вокруг выделенной области.

2. Стирание или прорисовка требуемых структур изображения инструментом задаваемого размера в виде шара или цилиндра. Преимуществом этого инструмента является его локальность: всегда можно подобрать такой размер инструмента, чтобы удалить только то, что требуется. Кроме того, этот инструмент можно применять на двумерных срезах реконструкции, что позволяет выполнять посрезовую ручную сегментацию нужной структуры.

3. Выделение связанных областей. Для этого задается понятие минимальной толщины структуры, делающей объект связным, т.е. если две части объекта связаны некоторой структурой, толщина которой меньше указанного значения, то эти две части не будут считаться связными.

4. Морфологические операции – наращивание или сокращение объема реконструкции, позволяющие нарастить или сократить текущую сегментацию на заданное количество вокселей. Для удобства пользователя величина наращивания/сокращения задается в миллиметрах.

5. Сегментированные структуры позволяют проводить между ними бинарные операции: вычитание, пересечение, объединение. В любой из этих операций участвуют две сегментированные структуры. При вычитании из маски видимости целевой структуры вычитаются все воксели маски сегментации дополнительной структуры, в результате все видимые воксели дополнительной структуры становятся невидимыми в целевой структуре. При пересечении в маске видимости целевой структуры остаются только воксели, присутствующие одновременно в

маске сегментации целевой и дополнительной структуры. При объединении в маску видимости целевой структуры добавляются все воксели маски сегментации дополнительной структуры.

Сегментированная структура – это сохраненный результат сегментации, который можно редактировать и визуализировать независимо от других частей реконструкции. На основе любой сегментированной структуры можно построить её цифровую модель – аппроксимацию поверхности сегментированной структуры полигональными элементами (треугольниками). Это один из самых важных результатов сегментации, так как экспорт результатов сегментации в виде полигональной модели позволяет работать с ними в большинстве программ трехмерного моделирования. Для построения сеток используется алгоритм “марширующих кубов”, являющийся одновременно простым и наиболее эффективным для данной задачи (рис.1).

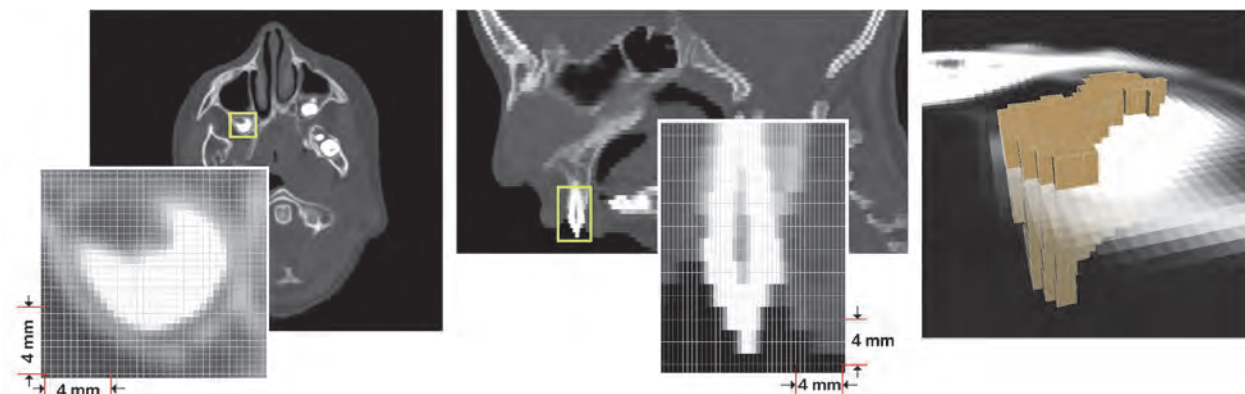


Рис.1. Данные томографического изображения: от пикселей до вокселей.

Трехмерная модель, построенная на основе томографических изображений состоит из кубических вокселей, и поэтому полигональная сетка, полученная при аппроксимации ее поверхности выглядит «ступенчатой». Сглаживание поверхности производится методом Лапласа, при котором координаты каждой вершины сетки заменяются усредненной координатой всех соседних вершин. В результате этого получаются

Программы обработки и конвертация изображений формата DICOM в трехмерную модель формата STL

В данной работе были рассмотрены несколько коммерческих и свободно распространяемых программных продуктов (таблица 1).

Таблица 1.

Программы обработки и конвертация изображений формата DICOM в трехмерную модель формата STL.

| Программа | Сайт | Лицензия | Общая оценка |
|------------------------|--|----------------------|--------------|
| Mimics Medical | https://www.materialise.com/en/medical Materialise, Бельгия | коммерческая | 9 |
| DICOM Про- смотрщик | https://inobitec.com/ Инобитек, Россия | коммерческая | 10 |
| 3DSlicer | https://www.slicer.org/ группа специалистов, США | free and open source | 7 |
| InVesalius | https://www.cti.gov.br/en/invesalius Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer, Бразилия | free and open source | 5 |
| Drishti | https://github.com/nci/drishti National Computational Infrastructure's VizLab, Австралия | free and open source | 3 |

Обработка томографических данных двух видов для оценки быстродействия проводилась на компьютере со следующей конфигурацией: процессор AMD Ryzen 7 1700 тактовая частота 3000 Гц, оперативная память DDR4 32 Гбайта, видеоплата Radeon RX 570 Series 4 Гбайта.

Сравнение времени обработки и конвертации томографических данных

| Программа | КТ головы 541 среза, объем 0.3Гбайт | | | | КТ тела 5502 срезов, объем 2.9Гбайт | | | |
|------------------------|-------------------------------------|---------|-------------------------------|------------|-------------------------------------|---------|-------------------------------|-------------|
| | Время загрузки КТ данных, с | | Время построения 3D модели, с | | Время загрузки КТ данных, с | | Время построения 3D модели, с | |
| | load | process | voxel | stl, Гбайт | load | process | voxel | stl, Гбайт |
| Mimics Medical | 2 | 2 | 39 | 74 0.35 | 35 | 48 | 298 | 490 1.85 |
| DICOM Про- смотрщик | 1 | 1 | 3 | 2 0.2 | 8 | 6 | 6 | 4 |
| 3DSlicer | 39 | 24 | 24 | 6 0.35 | 492 | 221 | 135 | 25 1.85 |
| InVesalius | 14 | 7 | 88 | 10 0.2 | 486 | 113 | 196 | 27 |
| Drishti | 54 | | 187 | | - | | - | |

Краткое сравнительно описание возможностей программного обеспечения.

Mimics Medical. Отличные функциональные возможности, хорошо проработанный интерфейс, широкие возможности по сегментации изображений, высокая стоимость лицензии.

DICOM Просмотрщик. Хорошие функциональные возможности, хорошо проработанный интерфейс, широкие возможности по сегментации изображений, удобная работа с воксельной моделью, высокое быстродействие, доступная стоимость лицензии.

3DSlicer. Достаточные функциональные возможности, модульный интерфейс, достаточные возможности по сегментации изображений, много готовых конфигураций для специализированных задач, бесплатная лицензия.

InVesalius. Хорошие возможности для начального уровня, модульный интерфейс, не достаточные возможности по сегментации изображений, бесплатная лицензия.

Drishti. Отдельные программы чтения и обработки, проблемы с чтением данных формата DICOM, модульный интерфейс, не достаточные возможности по сегментации изображений, бесплатная лицензия.

На рис.2 представлены картинки моделей в формате STL.



Рис.2. Примеры моделей, построенные по томографическим данным, слева направо результат программы Mimics, DICOM Просмотрщик, 3DSlicer, InVesalius.

Вопросы сертификации

Специальных стандартов и сертификации цифровых моделей в медицине в РФ на сегодня не разработано. Для применения цифровых моделей можно использовать пункт 5 статьи 38 «Медицинские изделия», Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации": «Медицинские изделия, которые изготовлены по индивидуальным заказам пациентов, к которым предъявляются специальные требования по назначению медицинских работников и которые предназначены исключительно для личного использования конкретным пациентом, а также медицинские изделия, предназначенные для

использования на территории международного медицинского кластера или на территориях инновационных научно-технологических центров, государственной регистрации не подлежат. На указанные медицинские изделия не распространяются положения части 3 настоящей статьи, предусматривающие разработку производителем (изготовителем) медицинского изделия технической и (или) эксплуатационной документации».

Американское Федеральное управление по надзору за качеством пищевых и лекарственных препаратов (FDA) в 2017 году выпустило новые рекомендации по созданию медицинских моделей с помощью 3D-принтеров. Рекомендации включают разделы по дизайну и процессу производства, испытанию моделей и составлению инструкций. При создании моделей на основе изображений, полученных при КТ-сканировании, должны учитываться минимальное качество изображения и его разрешение, алгоритмы обработки изображений, которые могут изменять размеры модели по сравнению с реальными органами, а также сохранность и определимость анатомических ориентиров, используемых для адаптации модели. В разделе по испытанию моделей приводятся требования к их описанию, результатам механических испытаний, измерению размеров, характеристикам материала, стерилизации и биосовместимости. Каждое устройство должно иметь инструкцию, где будут указаны идентификатор пациента, назначение модели и его окончательный дизайн, а также предупреждение о необходимости предварительного обследования пациента для исключения любых изменений, которые могут отличать модель от реальной анатомической структуры.

Заключение

Описанные в данной статье инструменты и подходы являются универсальными и могут быть использованы для сегментации любых анатомических структур. При потоковой диагностике может стоять задача сегментации одних и тех же органов на основе данных одного типа исследования много раз подряд. В этом случае использование универсальных инструментов может быть не самым быстрым и удобным способом сегментации, и в таких задачах эффективнее использовать специализированные инструменты. Специализированный инструмент сегментации может быть реализацией шаблона применения универсальных подходов, либо же специально разработанные для конкретного случая алгоритмы и методы. Следующей задачей данной работы является разработка специализированных инструментов и улучшения их функционала. Проведенный сравнительный анализ позволяет из протестированных программ обработки и конвертации изображений формата DICOM в трехмерную модель формата STL рекомендовать к использованию DICOM Просмотрщик Инобитек и 3DSlicer.

Данная работа сделана при финансовой поддержке РФФИ (Грант мк № 18-29-03238).

Литература

1. Ипполитов Е.В., Новиков М.М., Чербыло С.А., Евсеев А.В. Применение лазерной стереолитографии в медицине // Современные лазерно-информационные технологии: Монография / Под ред. В.Я. Панченко и Ф.В. Лебедева. – М.: Интерконтакт Наука, 2015. С. 358–373. ISBN 978-5-902063-52-0.
2. Guang-Ye Wang, Wen-Jun Huang, Qi Song, Yun-Tian Qin & Jin-Feng Liang Computer-assisted virtual preoperative planning in orthopedic surgery for acetabular fractures based on actual computed tomography data, *Computer Assisted Surgery*, 2016, 21:1, 160–165, DOI: 10.1080/24699322.2016.1240235.
3. Мирзоев М.Ш., Шакиров М.Н., Хушвахтов Д.И., Джонибекова Р.Н., Григорьев Е.Г. Устранение дефектов нижней челюсти эндопротезами, созданными по технологии аддитивного стереолитографического моделирования. *Вестник Авиценны*. 2018. № 20 (2-3). С. 170–175. <http://dx.doi.org/10.25005/2074-0581-2018-20-2-3-170-175>.
4. Maureen van Eijnatten, Juha Koivisto, Kalle Karhu, Tymour Forouzanfar, Jan Wolff The impact of manual threshold selection in medical additive manufacturing, *J CARS* 2017. N. 12. P. 607–615. DOI 10.1007/s11548-016-1490-4.
5. Мусатян С.А., Ломакин А.В., Сартасов С.Ю., Попыванов Л.К., Монахов И.Б., Чижова А.С. Способы сегментации медицинских изображений. *Труды ИСП РАН*, 2018. Т. 30, Вып. 4. С. 183–194.

Сведения об авторах

Новиков Михаил Михайлович

руководитель отдела

Эл. почта: novikov@rambler.ru

Внук Вячеслав Владимирович

младший научный сотрудник

Эл. почта: vnuk@shatura.laser.ru

Ипполитов Евгений Викторович

младший научный сотрудник

Эл. почта: ippolitov@shatura.laser.ru

Чербыло Светлана Александровна

научный сотрудник

Эл. почта: Svetlana.cherebylo@rambler.ru

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

Россия, Московская обл., Шатура

Information about authors

Novikov Mikhail

head of lab

E-mail: novikov@rambler.ru

Vnuk Vyacheslav

Junior Researcher

E-mail: vnuk@shatura.laser.ru

Ippolitov Evgeniy

Junior Researcher

E-mail: ippolitov@shatura.laser.ru

Cherebylo Svetlana

Researcher

E-mail: Svetlana.cherebylo@rambler.ru

FSRSe "Crystallography and Photonics" RAS

Russia, Moscow region, Shatura

УДК 671.373

ГРНТИ 29.33.47

Дмитриев А.К., Коновалов А.Н., Кортунов В.Н., Ульянов В.А.

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

АВТОДИННЫЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ЛАЗЕРНОМ РАССЕЧЕНИИ БИОТКАНЕЙ

Исследуются возможности автодинного метода диагностики и контроля испарения биотканей излучением одномодовых CO₂ лазеров с импульсно-периодической накачкой активной среды. Выявлены изменения спектральных характеристик автодинных сигналов при прохождении лазерным излучением границы раздела слоев биотканей.

Ключевые слова: лазерное излучение, автодинный сигнал, биоткань

Dmitriev A.K., Konovalov A.N., Kortunov V.N., Ulyanov V.A.

FRC "Crystallography and Photonics" RAS

AUTODYNE CONTROL DURING LASER DISSECTION OF BIOTISSUES

The possibilities of the autodyne method of diagnosing and controlling biotissues evaporation by radiation of single-mode CO₂ lasers with pulse-periodic pumping of the active medium are investigated. Changes in the spectral characteristics of autodyne signals are detected when laser radiation passes the interface between the layers of biological tissues.

Keywords: laser radiation, autodyne signal, biological tissue

Введение

Лазерные скальпели широко применяются в хирургической практике. Вместе с тем использование высокоинтенсивного лазерного излучения в хирургии имеет свои особенности, обусловленные высокой скоростью испарения ткани и локальностью лазерного воздействия. Это накладывает жесткие требования на профессионализм хирурга, который должен быстро отслеживать результат воздействия излучения на ткань и принимать адекватные ходу операции решения. В связи с этим во многих операциях с использованием лазерного скальпеля необходимы оперативный мониторинг и управление процессом воздействия на биоткань, например, когда требуется удалить только определенную ткань без повреждения другой [1]. Такого рода задачи, связанные с определением момента прохождения излучения через границы раздела слоев тканей, возникают, в частности, при удалении злокачественных новообразований - испарение патологически измененной ткани без повреждения здоровой.

Для контроля процесса испарения биотканей излучением одномодовых CO₂ лазеров нами разработан метод автодинного детектирования обратно рассеянного излучения [2]. В этом методе лазер используется и как источник для силового воздействия излучения на биоткани, и как средство диагностики. Операционное лазерное излучение одновременно является и диагностирующим. По сравнению с активно развиваемыми в настоящее время для этих целей оптико-акустическими методами, такая диагностика дает возможность получать информацию в реальном масштабе времени непосредственно из зоны воздействия лазерного излучения.

В данной работе исследованы возможности автодинного контроля процессов лазерного рассеяния и выпаривания биомоделей *in vitro* при использовании одномодовых CO₂ лазеров с импульсно-периодической накачкой активной среды.

Материалы и методы

В качестве источников лазерного излучения использовались: модифицированная медицинская лазерная установка «Ланцет» на основе одномодового волноводного CO₂ лазера производства ООО «Русский инженерный клуб» с максимальной выходной мощностью – 20 Вт, медицинская лазерная установка «ЛМед» на основе одномодового CO₂ лазера фирмы Coherent (модель diamond C-30A), с максимальной выходной мощностью – 30 Вт; серийно выпускаемое лазерное устройство фирмы Synrad, модель 48-2W с максимальной выходной мощностью – 25 Вт.

В качестве биомоделей были выбраны свежеприготовленные образцы ткани свиньи, содержащие мышечную и жировую компоненту, которые размещались на подвижном координатном столике и равномерно перемещались (со скоростью 0,75 мм/с) в фокусе лазерного пучка. Часть рассеянного излучения из зоны лазерного реза (2%) с помощью светоделительной пластины отводилась на приемную площадку ИК фотоприемника (неохлаждаемый быстродействующий КРТ датчик со встроенным усилителем). На выходе фотоприемника формируется электрический сигнал, промодулированный разностной частотой, и представляющий собой биения, спектр которых однозначно определяется спектром рассеянного света. Сигнал от фотоприемника подается на один из каналов быстродействующего аналого-цифрового преобразователя (АЦП), на второй канал импульс синхронизации. Были записаны и обработаны автодинные сигналы, полученные при лазерном рассеянии многокомпонентных биомоделей, при среднем уровне мощности - $6,7 \pm 0,2$ Вт.

При попадании в резонатор лазера рассеянного излучения от движущихся продуктов разрушения биоткани возникает дополнительная модуляция выходной мощности лазерного излучения на доплеровской частоте (рис.1). Величина автодинного сигнала зависит как от коэффициента обратного рассеяния, так и от автодинного усиления [2].

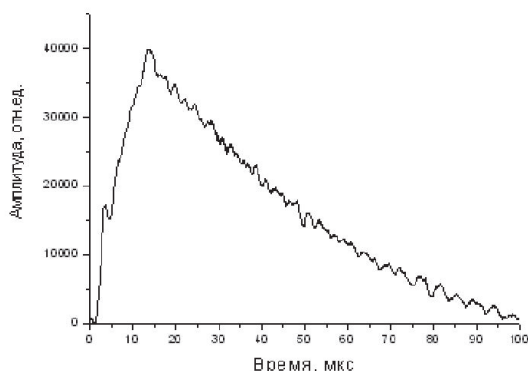


Рис. 1. Вид автодинного сигнала (CO₂ лазер Coherent), возникающего при обратном рассеянии излучения из зоны лазерного рассеяния биоткани

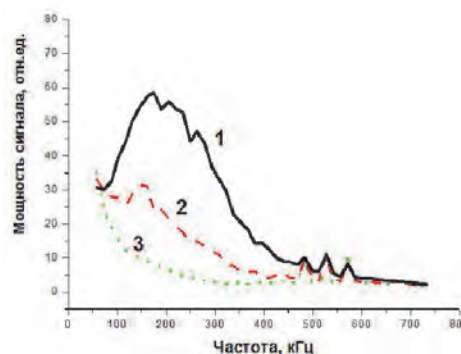


Рис.2 Спектры мощности автодинного сигнала формирующиеся в CO₂ лазере Synrad при испарении биотканей. 1 – жировая ткань; 2 – мышечная ткань; 3 – шумы. Мощность излучения - 6.7 Вт.

Основной метод для анализа регистрируемого автодинного сигнала - спектральный метод. Процедура обработки сигнала и выделения информационной компоненты включает применение к регистрируемому сигналу быстрого (оконного) фурье-преобразования и получение доплеровского спектра (зависимости автодинного сигнала от доплеровского сдвига частоты). Для характеристики спектров сигналов обратного рассеяния и для контроля испарения биоткани мы использовали величину мощности автодинного сигнала в выбранном диапазоне частот. При исследовании процессов лазерного рассеяния биомоделей измерялась мощность автодинного сигнала в диапазоне частот 70 – 520 кГц.

Результаты и обсуждения

Получены спектры мощности автодинного сигнала, возникающего при испарении биотканей излучением CO₂ лазеров с импульсно-периодической накачкой. На рис.2 приведены усреднённые спектры мощности автодинного сигнала формирующегося в CO₂ лазере Synrad при испарении жировой и мышечной тканей излучением выходной мощности 6.7 Вт.

Лазерное рассеяние биомодели - жировая ткань/мышечная ткань осуществлялось с одновременной записью автодинного сигнала (рис.3). Цель измерений - определение момента пересечения лазерным излучением границы слоев с различным типом тканей. Видно, что момент перехода лазерного луча с мышечной ткани на жировую и обратно фиксируется достаточ-

но определенно, величина спектральной мощности автодинного сигнала изменяется более чем в 2 раза.

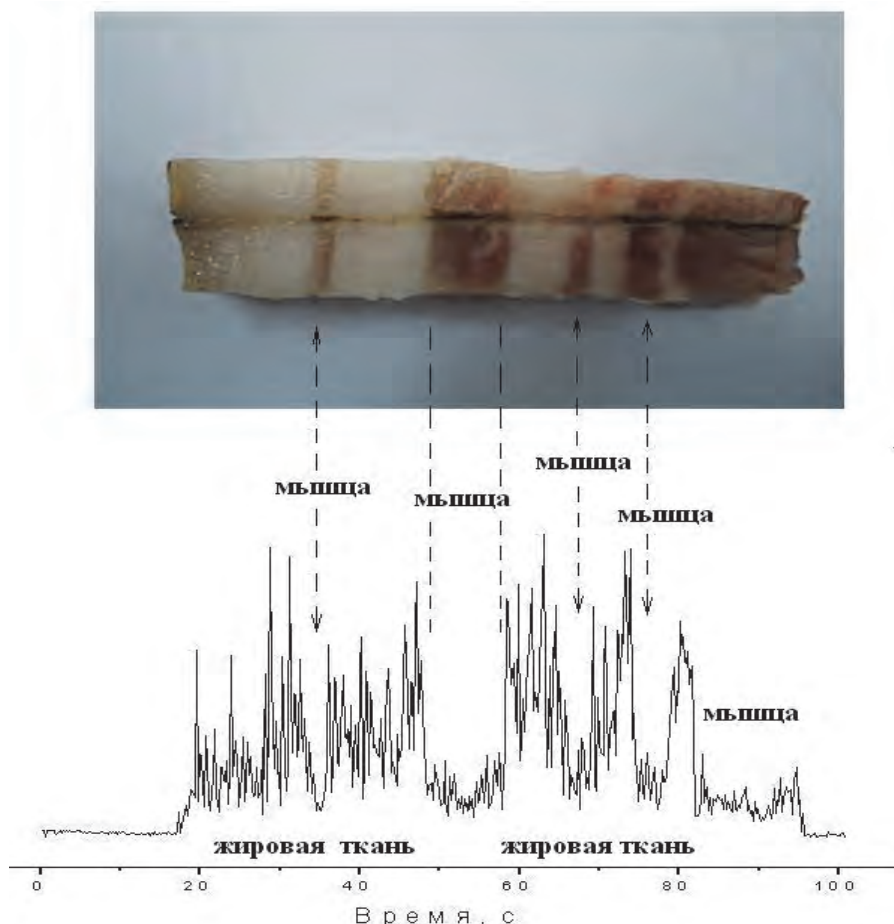


Рис.3. Лазерное рассеяние биомодели - жировая ткань/мышечная ткань с одновременной записью автодинного сигнала. Источник излучения – CO₂ лазер Synrad. Мощность излучения - 6,7 Вт.

Сравнительные результаты исследований автодинного приёма в CO₂ лазерах при испарении биотканей представлены в табл. 3. В таблице приведено отношение сигнал/шум в спектральном диапазоне 70-520 кГц.

Таблица 3.

Отношение сигнал/шум автодинного сигнала в CO₂ лазерах исследуемых установок.

| Лазер | Coherent, 6,5W | Ланцет, 6,8W | Synrad, 6,7W |
|----------------|----------------|--------------|--------------|
| Сигнал/шум | | | |
| Мышечная ткань | 1,7 | 1,15 | 2,0 |
| Жировая ткань | 3,1 | 1,4 | 3,8 |

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: все исследуемые CO₂ лазеры с импульсно-периодической накачкой позволяют детектировать автодинный сигнал при испарении биотканей, наибольшей чувствительностью автодинного приема обладает CO₂ лазер Synrad модель 48-2W. Значительные отличия спектров автодинного сигнала от жировой и мышечной тканей позволяют уверенно диагностировать эти ткани во время их лазерного испарения.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН в части разработки методики диагностики лазерного испарения биотканей и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-02069-мк) в остальной части.

Литература

1. А.И. Неворотин. *Введение в лазерную хирургию* (СПб.: СпецЛит, 2000).
2. A.N. Kononov and V.A. Ul'yanov. Self-mixing detection of backscattered radiation in single-mode pulse-periodic CO₂ lasers. *Applied Optics* 2012. Vol. 51. N. 17. P. 3900–3906.

Сведения об авторах

Александр Константинович Дмитриев

науч. сотр.

Эл. почта: dmitriev_a62@mail.ru

Коновалов Алексей Николаевич

канд. физ.-мат. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: alex_konov@mail.ru

Кортунов Владимир Николаевич

науч. сотр.

Эл. почта: vnkor@yandex.ru

Ульянов Валерий Андреевич

канд. техн. наук

зам. дир.

Эл. почта: vaul595@mail.ru

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

Россия, Московская обл., Троицк

Information about authors

Dmitriev Alexandr Konstantinovich

Researcher

E-mail: dmitriev_a62@mail.ru

Kononov Aleksey Nikolaevich

candidate of sciences

senior researcher

E-mail: alex_konov@mail.ru

Kortunov Vladimir Nikolaevich

Researcher

E-mail: vnkor@yandex.ru

Ulyanov Valerii Andreevich

candidate of sciences,

deputy director

E-mail: vaul595@mail.ru

FRC "Crystallography and Photonics" RAS

Russia, Moscow region, Troitsk

УДК 004.93

ГРНТИ 28.23.15

Захаров А.А., Булаев А.В., Жизняков А.Л.

Владимирский ГУ им. А.Г. и Н.Г. Столетовых,

Муромский институт (филиал)

РЕГИСТРАЦИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ НА ОСНОВЕ СТРУКТУР ДЕСКРИПТОРОВ

Рассматривается разработка модуля системы регистрации медицинских изображений с использованием структур дескрипторов. Структуры дескрипторов описываются с использованием графа. Приведены результаты работы алгоритма.

Ключевые слова: регистрация изображений, медицинские информационные системы, структуры дескрипторов.

Zakharov A.A., Bulaev A.V., Zhiznyakov A.L.

Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs,

Murom Institute (branch)

IMAGE REGISTRATION BASED ON STRUCTURAL DESCRIPTORS

Development of the module system of registration of medical images using descriptors structures considered in the article. Descriptor structures are described using a graph. The results of the algorithm are given.

Keywords: image registration, medical information systems, descriptor structures.

Введение

Регистрация медицинских изображений – это процесс преобразования различных снимков в одну систему координат [1, 2]. Цель регистрации изображений – найти преобразование, которое наилучшим образом выравнивает интересующие структуры входных изображений. Регистрация изображений необходима для того, чтобы иметь возможность сравнивать или интегрировать данные, полученные при различных условиях. Точная интеграция полезной информации из нескольких медицинских снимков очень важна для правильной постановки диагноза.

На результат регистрации изображений влияют следующие особенности: углы съемки, характеристики датчиков, временные различия съемки, Кроме того, существенные ограничения

накладывают не только параметры съемки, но и геометрические и физические характеристики самой сцены: расположение источников света и элементов сцены, отражательные и рассеивающие свойства поверхностей, повторяемость объектов в сцене, форма объектов [3, 4].

Существует следующая классификация способов регистрации медицинских изображений [5]: размерность данных (2D/2D, 2D/3D, 3D/3D, последовательности изображений), область трансформации (локальная или глобальная), характер регистрируемых изображений; виды трансформации (аффинные и проективные преобразования, деформации), взаимодействие (интерактивное, полуавтоматическое или автоматическое), вычислительные процедуры (прямое вычисление, оптимизационные алгоритмы), регистрация субъекта (один субъект, разные субъекты), объекты регистрации (голова, грудная клетка, живот и т.д.).

Целью работы является разработка алгоритма нахождения соответствий на медицинских изображениях с использованием структур дескрипторов. Использование структур дескрипторов позволит повысить точность нахождения соответствий, что положительно отразится на процессе регистрации.

Регистрации изображений на основе структур дескрипторов

В работе предлагается алгоритм нахождения соответствий на основе структур дескрипторов. Для уменьшения количества ложных соответствий предлагается совместно использовать дескрипторные подходы (например, SIFT, SURF и др.) и спектральную теорию графов. Преимуществом структурных подходов на основе графов для анализа изображений является то, что они позволяют оценивать большое множество элементов на основе малого количества простых составляющих и правил формирования графической модели. Также структурные методы позволяют описать те характеристики объекта, которые исключают его отнесение к другому классу, что повышает надежность распознавания [6-8].

Разработан алгоритм на основе сингулярного разложения матриц. В разрабатываемом алгоритме предлагается совместно использовать алгоритм Лонгуэтта-Хиггинса [9] и дескрипторные подходы. Таким образом, уменьшение количества ложных соответствий достигается за счет анализа взаимного расположения особенностей и сравнения их свойств на основе известных дескрипторов.

Пусть имеются два множества особенностей $S_1 = \{f_{1i} \mid i = 1, \dots, m\}$ и $S_2 = \{f_{2j} \mid j = 1, \dots, n\}$, которые получены на основе изображений I_1 и I_2 . Для нахождения соответствий строится матрица расстояний G . Элементы матрицы G находятся в диапазоне от 0 до 1.

Каждый элемент матрицы вычисляется на основе гауссовой метрики:

$$G_{ij} = e^{-\frac{r_{ij}^2}{2\sigma^2}}, \quad (1)$$

где $r_{ij} = \|f_{1i} - f_{2j}\|$ – евклидово расстояние между особенностями f_{1i} и f_{2j} двух изображений; σ – коэффициент, который регулирует степень взаимодействия между особенностями.

Уменьшить количество выбросов предлагается за счет использования коэффициента наличия соответствия K . Если соответствие на основе дескриптора найдено, то $K = 1$, иначе $K = 0$.

Алгоритм нахождения соответствий в этом случае имеет вид.

Шаг 1. Построение матрицы расстояний G .

Шаг 2. Выполнение сингулярного разложения матрицы G : $G = TDU^T$, где D – матрица собственных значений; T и U – матрицы собственных векторов.

Шаг 3. Вычисление матрицы соответствий P путем замены матрицы D на единичную матрицу E : $P = TEU^T$. Это делается для формирования ортогональной матрицы, которая взаимосвязана с матрицей G . По алгоритму Лонгуэтта-Хиггинса, если текущий элемент матрицы P является максимальным в строке и в столбце, то между особенностями f_{1i} и f_{2j} имеется соответствие. Это объясняется тем, что одновременно используются принцип близости и принцип исключения [9]. Принцип близости реализуется за счет матрицы расстояний, а принцип исклю-

чения – за счет ортогональной матрицы P , в которой взаимно ортогональные строки содержат информацию о связи между особенностями первого и второго изображений [9].

Однако информации о взаимном расположении особенностей на основе евклидова расстояния не всегда достаточно для нахождения соответствий. Поэтому предлагается дополнительно использовать дескрипторные подходы. Для этого в разрабатываемом алгоритме на шаге 4 вводится матрица K_{ij} , определяющая наличие соответствий на основе дескриптора SURF.

Шаг 4. Вычисление матрицы $M_{ij} = K_{ij}P_{ij}$, где K_{ij} – матрица коэффициентов, определяющих наличие соответствия между i -ой и j -ой особенностями первого и второго изображений.

Шаг 5. Формирование бинарной матрицы L . Идея состоит в том, чтобы получить на основе матрицы M матрицу L , в которой значения, равные 1, свидетельствуют о наличии соответствий между особенностями f_{1i} и f_{2j} . Если значение элемента матрицы L равно нулю, то соответствий между особенностями не существует. Если значение элемента матрицы L равно единице, то соответствие между особенностями с индексами, равными номерам строк и столбцов, присутствует. Для значений матрицы M , устанавливается порог z . Значение порога равно $0 < z < 1$. Если значение $M_{ij} < z$, то найденное соответствие на основе используемого дескриптора исключается из рассмотрения.

Результаты работы

Тестирование метода и разработанной системы проводилось на медицинских изображениях (рис. 1).

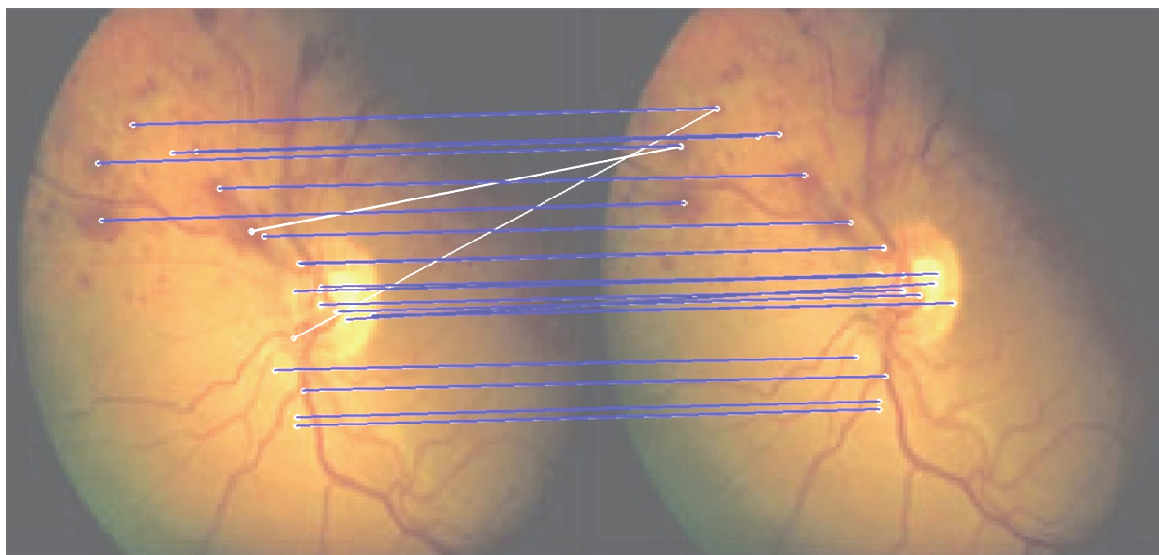


Рис.1. Регистрация изображений сетчатки глаза, полученных с разницей во времени 165 дней (синими линиями показаны верные соответствия, обнаруженные разработанным алгоритмом. Белыми линиями показаны ложные соответствия)

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: 1) разработан метод регистрации медицинских изображений на основе структур дескрипторов; 2) метод показал высокую точность нахождения соответствий (на используемых наборах данных точность соответствий составила 98,7%); 3) разработан программный модуль регистрации изображений на языке C++ и библиотеки OpenCV.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания Минобрнауки России (проект № 2.1950.2017/ПЧ).

Литература

1. Khalifa F., Beache G. M., Gimelfarb G., Suri J. S., El-Baz A. State-of-the-Art Medical Image Registration Methodologies: A Survey // Multi Modality State-of-the-Art Medical Image Segmentation and Registration Methodologies. – Boston: Springer, 2011. P. 235–280.
2. Alam F., Ur Rahman S., Ud Din A., Qayum F. Medical image registration: classification, applications and issues // Journal of Postgraduate Medical Institute. 2018. Vol. 32 (4). P. 330–337.

3. Гай В.Е., Дмитриев А.В., Милов В.Р., Викулова Е.Н., Кувшинов А.С., Никифоров Н.А. Система тестирования процедур обнаружения и распознавания образов в видеопотоке // Информационно-измерительные и управляющие системы. 2017. № 8. С. 47–54.
4. Krig S. Computer vision metrics. Survey, taxonomy, and analysis. – Berkeley: Apress, 2014. 498 p.
5. Maintz J.B.A., Viergever M.A. A survey of medical image registration // Medical Image Analysis. 1998. N. 2 (1). P. 1–36.
6. Захаров А.А., Баринов А.Е., Жизняков А.Л., Титов В.С. Поиск объектов на изображениях с использованием структурного дескриптора на основе графов // Компьютерная оптика. 2018. Т. 42. № 2. С. 283–290.
7. Varinov A.E., Zakharov A.A. Graph matching algorithm in position and orientation estimation tasks // CriMiCo 2014 – 24th International Crimean Conference Microwave and Telecommunication Technology Conference Proceedings. 2014. С. 411–412.
8. Zakharov A., Tuzhilkin A., Zhiznyakov A. Finding correspondences in images using descriptors and graphs // Procedia Engineering. 2015. N. 129. P. 391–396.
9. Scott G., Longuet-Higgins H. An algorithm for associating the features of two images // Proceedings of Royal Society. 1991. Vol. 244. P. 21–26.

Сведения об авторах

Алексей Александрович Захаров

канд. техн. наук, доц.
вед. науч. сотр.

Эл. почта: aa-zaharov@ya.ru

Булаев Александр Владимирович

инженер ВЦ

Эл. почта: bulaevav.work@gmail.com

Жизняков Аркадий Львович

д-р техн. наук, проф.

зав. кафедрой

Эл. почта: lvovich1975@mail.ru

Муромский институт (филиал) ФГБОУ ВО

«Владимирский государственный

университет имени А.Г. и Н.Г. Столетовых»

Россия, Муром

Information about authors

Zakharov Alexei Alexandrovich

candidate of Sciences (PhD), associate professor,
leading researcher

E-mail: aa-zaharov@ya.ru

Bulaev Alexander Vladimirovich

computing center engineer

E-mail: bulaevav.work@gmail.com

Zhiznyakov Arkady Lvovich

doctor of technical sciences, professor

head of ce department

E-mail: lvovich1975@mail.ru

Murom Institute (branch), Vladimir State Uni-

versity named after Alexander and Nikolay

Stoletovs

Russia, Murom

ФЕРМЕНТОЛИЗАТЫ БЕЛКА МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Представлена сравнительная характеристика методических подходов к получению ферментативных гидролизатов белка молочной сыворотки со сниженной антигенностью с применением технологий ультра- и нанофильтрации с использованием различных ферментных препаратов.

Ключевые слова: ферментативный гидролизат, белок молочной сыворотки, панкреатин, алкалаза, антигенность, молекулярно-массовое распределение

Zorin S.N., Petrov N.A., Sidorova Yu.S., Mazo V.K.
Federal Research Centre of Food and Biotechnology

ENZYMATIC HYDROLYSATES OF WHEY PROTEIN: PHYSICAL-CHEMICAL AND IMMUNOCHEMICAL CHARACTERIZATION

A comparative description of methodological approaches to the production of enzyme hydrolysates of whey protein with reduced antigenicity using ultra- and nanofiltration technologies with various enzyme preparations is presented.

Keywords: enzymatic hydrolysate, whey protein, pancreatin, alcalase, antigenicity, molecular weight distribution

Введение. В последние десятилетия частота пищевой аллергии постоянно нарастает, что определяет значимость проблемы, связанной с возможностями снижения проявлений этого заболевания путем включения специализированных пищевых продуктов (СПП) со сниженной потенциальной аллергенностью в питание детей и взрослых, страдающих пищевой аллергией или предрасположенных к этому заболеванию. Соответственно оценка качества и эффективности СПП для профилактики или диетической коррекции пищевой аллергии, несомненно, актуальна и должна занять свое место в общей системе контроля безопасности пищевых продуктов. В подавляющем большинстве случаев причинно значимыми аллергенами пищевых продуктов являются белки. Способность белка выступать в роли аллергена у генетически предрасположенных индивидов зависит от наличия антигенных структур («эпитопов», «аллергенных детерминант»), которые могут вызвать специфическую активацию Th2 хелперов и выработку IgE антител. В результате ферментативного гидролиза антигенные структуры белка элиминируются, однако на практике в ферментативных гидролизатах, не подвергнутых дальнейшему фракционированию, остаются в заметных количествах нерасщепленные антигены. Современные пищевые технологии позволяют в значительной мере преодолеть эти трудности, используя в сочетании с ферментативным гидролизом мембранную ультрафильтрацию и/или нанофильтрацию [1, с.70]. В результате удается получить пептидные смеси, в которых содержание антигенных структур, снижено на несколько порядков величины не только по сравнению с исходным белком, но и с его ферментативным гидролизатом. Внедрение в питание человека, страдающего пищевой аллергией, СПП полученных с использованием методов современной биотехнологии, требует разработки комплексного подхода к оценке их потенциальной аллергенности, включающего стадии экспериментального и последующего клинического исследований. В ходе доклинической оценки потенциальной аллергенности ферментативных белковых гидролизатов первый этап должен быть представлен их физико-химической и иммунохимической характеристикой *in vitro*. Наиболее важным из физико-химических показателей представляется молекулярно-массовое распределение пептидных фракций в составе ферментолизата. Иммунохимическая характеристика заключается в выявлении в ферментолизате сохранившихся антигенных структур исходного белка.

Целью данного исследования была сравнительная характеристика молекулярно-массового распределения пептидных фракций и остаточной антигенности в составе ферментоллизатов белка коровьего молока, получаемых при использовании различных протеолитических ферментов.

Материалы и методы исследования

Концентрат сывороточных белков коровьего молока (КСБ) «Лакпродан 80» (Дания), со-

держание белка в продукте 80%. Коммерческий ферментный препарат «ПАНКРЕАТИН» (КНР, протеолитическая активность 2,39 Егг.у/мг). Коммерческий ферментный препарат «АЛКАЛА-ЗА» (производство «NOVOZYME», Дания) с протеолитической активностью 2,4 АУ/г.

Получение ферментоллизатов КСБ. Ферментативный гидролиз КСБ проводили после предварительной инкубации 5,0% раствора белка при перемешивании в течение 2 часов при температуре 50±2°C (при использовании панкреатина) и 60±2°C (при использовании алкалазы). Реакцию ферментоллиза вели в течение 3 часов при вышеуказанных температурах и поддержании pH 5,0% раствором КОН/NaOH (2/1) в диапазоне значений 7,4-7,6 (для панкреатина) и 7,5-7,7 (для алкалазы). Соотношение фермент/субстрат (по сухим веществам) было 3,0%, как для панкреатина, так и для алкалазы. По окончании реакции ферменты инактивировали при температурах +75°C (для панкреатина) и +85°C (для алкалазы) в течение 10-15 минут, после чего проводили ультрафильтрацию на установке «Лабораторная установка для микро- и ультрафильтрации на базе фильтродержателя АСФ-018» («ВЛАДИСАРТ», РФ) через мембраны пористости 10 кД со сбором низкомолекулярной фракции. Затем образцы концентрировали методом обратного осмоса на «Установке с фильтром рулонным мембранным УРФ-1812» («ВЛАДИСАРТ», РФ) и лиофильно высушивали (лиофильная сушилка ЛС-500, «Проинтех», РФ).

Вышеописанные процессы протеолиза были повторены трижды как при использовании панкреатина, так и алкалазы и соответственно были проанализированы 6 полученных образцов пептидных смесей.

Хроматографический анализ. В полученных гидролизатах КСБ оценивали молекулярно-массовое распределение методом эксклюзионной жидкостной хроматографии высокого давления согласно [2, с. 77] на колонке Супероза 12, 1,0*30 см, предварительно откалиброванной по стандартным глобулярным водорастворимым белкам производства «SERVA» (Германия). В качестве элюента использовали 0,2 М хлористый натрий при скорости элюирования 0,4 мл/мин и длинах волн проточного УФ детектора UV/VIS-151 (GILSON, США) 214 и 280 нм (программа обработки данных «Мультихром 3.1»). Хроматограммы интегрировались весовым методом в диапазоне молекулярных масс от свободного до полного объема хроматографической колонки.

Иммунохимический анализ. Остаточные количества иммунореактивного белка молочной сыворотки определяли методом торможения непрямого твердофазного иммуоферментного теста [3, с.121] с использованием в качестве стандарта концентрата белков молочной сыворотки «Мультилак S14» (Дания), гипериммунных сывороток человека против белков коровьего молока и антивидового конъюгата против IgG (H+L) человека, меченного пероксидазой (филиал «МЕДГАМАЛ» ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи). Измерение оптической плотности проводили при длине волны 492 нм на автоматическом иммуоферментном анализаторе «ЭФОС» (производства «НПО Сапфир», Россия). Кратность снижения антигенности рассчитывали по отношению к антигенности стандарта КСБ, принятой за 100%

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 приведены результаты определения кратности снижения антигенности и оценки молекулярно-массового распределения пептидных фракций в гидролизатах КСБ, полученных с использованием панкреатина и алкалазы с последующей ультрафильтрацией через мембрану пористости 10 кД со сбором низкомолекулярной фракции. Анализ представленных результатов свидетельствует, что при ферментоллизе КСБ алкалазой и последующей ультрафильтрации антигенность собираемой низкомолекулярной фракции снижается, в среднем, более чем в 170000 раз. Среднее значение содержания пептидных фракций с молекулярными массами более 8,7 кД, определяющими основную остаточную антигенность полученных ферментоллизатов составляет приблизительно 17%.

Таблица 1.
Физико-химическая и иммунохимическая характеристика ферментоллизатов КСБ.

| Фермент | Диапазон молекулярных масс, кД | % содержания фракции в полученном ферментоллизате | Кратность снижения исходной антигенности КСБ |
|------------|--------------------------------|---|--|
| панкреатин | >8,7 | 7,2 | 77300±3100 |
| | 8,7-2,6 | 34,7 | |
| | <2,6 | 58,1 | |

| | | | |
|------------|---------|------|--------------|
| панкреатин | >8,7 | 17,3 | 78900±3000 |
| | 8,7-2,6 | 59,6 | |
| | <2,6 | 23,1 | |
| панкреатин | >8,7 | 17,9 | 90500±2400 |
| | 8,7-2,6 | 64,1 | |
| | <2,6 | 18,0 | |
| алкалаза | >8,7 | 18,2 | 163000±11000 |
| | 8,7-2,6 | 68,3 | |
| | <2,6 | 13,5 | |
| алкалаза | >8,7 | 15,0 | 256000±15000 |
| | 8,7-2,6 | 74,1 | |
| | <2,6 | 10,9 | |
| алкалаза | >8,7 | 13,5 | 264000±27000 |
| | 8,7-2,6 | 74,7 | |
| | <2,6 | 11,8 | |

Использование панкреатина, сочетающееся с последующей ультрафильтрацией, оказалось менее эффективным в плане снижения антигенности получаемой низкомолекулярной фракции. Среднее значение кратности снижения антигенности равно 82000 раз, то есть в 2 раза ниже, чем для алкалазы. При этом среднее значение содержания пептидных фракций с молекулярными массами более 8,7 кД, составило приблизительно 18%, то есть практически не отличалось от соответствующего показателя для алкалазы.

Анализ научной литературы, патентной информации и документации зарубежных фирм производителей позволяет дифференцировать продукты лечебного назначения, которые могут использоваться в качестве единственного источника питания при вскармливании детей первого года жизни, страдающих тяжелыми и средней тяжести аллергическими реакциями, и продукты лечебно-профилактического и профилактического назначения, которые могут потребляться детьми с нетяжелыми формами аллергических проявлений, а также входящими в группы риска, и в качестве дополнительного источника питания при недостатке материнского молока.

Продукты первой группы содержат гидролизаты с высокой степенью расщепления белка, в них практически отсутствуют пептиды с молекулярными массами более 10 кД; преобладающее количество пептидного материала сосредоточено в области 1-7 кД и весьма значительно содержание свободных аминокислот и коротких пептидов. В профилактических и лечебно-профилактических продуктах второй группы ферментолитат характеризуется в большинстве случаев средней степенью гидролиза и обладает значительно лучшими органолептическими свойствами. Наименьшей остаточной антигенностью (на уровне 10^{-6} от антигенности негидролизованного белка) характеризуются глубокие ферментативные гидролизаты первой группы. Антигенность так называемых «частичных» гидролизатов второй группы существенно выше, составляя (10^{-5} – 10^{-4}) и даже (10^{-3} и более) процентов от исходной антигенности.

Авторы считают, что в представленной ими работе новым является результат, свидетельствующий о том, что при протеолизе с использованием двух различных ферментов (алкалазы и панкреатина) полученные пептидные смеси с очень близким молекулярно-массовым распределением пептидных фракций значительно (в 2 раза) отличаются по остаточной антигенности. Соответственно иммунохимическая характеристика ферментолитата является необходимым условием его дифференцированного использования в составе специализированных продуктов для лиц с пищевой аллергией.

Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания ПНИ, тема № 0529-2018-0113 «Развитие методической и нормативной базы для обеспечения современных требований к качеству пищевой продукции и разработка технологий оценки эффективности специализированных пищевых продуктов» Раздел Методические рекомендации «Дифференцированные критерии гипоаллергенности специализированных пищевых продуктов на основе ферментолитатов белков для профилактики и диетотерапии пищевой аллергии.

Литература

1. Ногаллер А.М., Гуцин И.С., Мазо В.К., Гмошинский И.В. Пищевая аллергия и непереносимость пищевых продуктов. – М.: Изд-во «Медицина», 2008. 336 с.
2. Зорин С.Н. Получение ферментативных гидролизатов пищевых белков с использова-

нием некоторых коммерческих ферментных препаратов и различных схем проведения гидролиза / С.Н. Зорин, М. Баяржаргал / Биомедицинская химия. 2009. Т. 55. № 1. С. 73–80.

3.Мамонова Л.Г. Анализ остаточной антигенности молочного белка в гипоаллергенных пищевых продуктах для детского питания / Л.Г. Мамонова, И.В. Гмошинский, Т.Э. Боровик // Питание детей- XXI век: Материалы I Всероссийского конгресса с международным участием. – М. 2000. С. 121–122.

Сведения об авторе

Сергей Николаевич Зорин

канд. биол. наук

ст. науч. сотр. лаб. пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

Эл. почта: zorin@ion.ru

Никита Александрович Петров

аспирант

Эл. почта: petrov-nikita-y@mail.ru

Сидорова Юлия Сергеевна

канд. биол. наук

ст. науч. сотр. лаб. пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

Эл. почта: sidorovaulia28@mail.ru

Владимир Кимович Мазо

д-р биол. наук., проф.

вед. науч. сотр. лаб. пищевых биотехнологий и специализированных продуктов¹

Эл. почта: mazo@ion.ru

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Россия, Москва

Information about authors

Sergey Nikolaevich Zorin

PhD

art. science. et al. lab. food biotechnology and specialty products

E-mail: zorin@ion.ru

Nikita Aleksandrovich Petrov

postgraduate

E-mail: petrov-nikita-y@mail.ru

Yuliya Sergeevna Sidorova

PhD

art. science. et al. lab. food biotechnology and specialty products

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Vladimir Kimovich Mazo

Professor

leading researcher at the laboratory of food biotechnology and specialized products

E-mail: mazo@ion.ru

Federal Research Centre of Food and Biotechnology

Russia, Moscow

УДК 664.951:658.562.012.7

ГРНТИ 69.51.03

¹Абрамова Л.С., ¹Козин А.В., ²Качала В.В.

¹Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии
²ООО «Брукер»

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА РЫБНОГО СЫРЬЯ

В статье обсуждается проблема выявления объективных показателей, характеризующих качество филе минтая мороженого. Метод ЯМР рекомендуется для комплексного анализа метаболического профиля мышечной ткани филе рыбного и получения достоверной количественной информации о сырье.

Ключевые слова: филе минтая, ЯМР-спектроскопия, критерии качества, умами, интенсивность вкуса.

¹Abramova L.S., ¹Kozin A.V., ²Kachala V.V.

¹Federal Research Institute of Fisheries & Oceanography
²Bryker Ltd.

MODERN APPROACHES TO DETERMINING CRITERIA FOR ASSESSING THE QUALITY OF FISH RAW

The article discusses the problem of identifying objective indicators characterizing the quality of fish products. The NMR method is recommended for complex analysis of the metabolic profile of muscle tissue of fish fillets and obtaining reliable quantitative information about raw materials.

Keywords: *Theragra chalcogramma* fillet, NMR spectroscopy, quality criteria, umami, flavor intensity.

Введение

Согласно стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года, утвержденной 29 июня 2016 г. № 1364-р [1], предусмотрено совершенствовать методологическую базу для оценки соответствия показателей качества, разработать методы оценки показателей качества пищевой продукции с точки зрения их соответствия целям приобретения и заявленным потребительским свойствам.

Сложной и не решенной на должном уровне является проблема оценки свойств мороженой рыбной продукции. Объективно оценить качество мороженой продукции важно не только для обеспечения потребительского спроса, но для последующей переработки и создания различного ассортимента пищевой рыбной продукции. Для оценки качества мороженой продукции могут быть использованы такие показатели, как содержание влаги, водоудерживающая способность (ВУС) мышечной ткани, которая характеризует состояние белка и отчасти отражает условия и сроки хранения сырья. Кроме того, определяются органолептические показатели продукции, такие как внешний вид, цвет, запах, консистенция (для мороженой продукции после размораживания), которые регламентируются ГОСТ 7631 [2]. Однако оценить вкус мороженой продукции с использованием объективных и доступных методов практически невозможно.

До 1980-х годов предполагали, что есть только четыре основных вкуса: сладкий, соленый, кислый и горький. Все другие вкусы считались комбинациями этих четырех, точно так же, как основные цвета объединяются, чтобы произвести все цвета спектра. В начале двадцатого века профессор Икеда определил уникальный вкус, описав его как вкусно, несладко и назвал его умами - вкусный вкус [3, с. 820–836]. В результате научных исследований было установлено, что вкус умами определяется в основном содержанием глутаминовой кислоты (Glu) или ее солей и инозин-5'-монофосфатом (IMP). Показано, что вкус умами может служить интегральным показателем содержания белков в пище, так как глутаминовая кислота является самой распространенной в природе аминокислотой. Человек с детства привыкает к этому вкусу, так как из 20 свободных аминокислот в грудном молоке человека глутаминовая кислота содержится в наибольшем количестве, на ее долю приходится более 50% общего содержания свободных аминокислот [4, с. 23-38].

Были предложены математические зависимости интегральной интенсивности вкуса (умами) от содержания глутаминовой кислоты и инозин-5'-монофосфата, которые позволяли количественно охарактеризовать интенсивность вкусовых ощущений с использованием следующей формулы [5, с 473-478]:

$$Y = u + 1218 * u * v \quad (1)$$

где u и v - концентрации глутаминовой кислоты и инозин-5'-монофосфата в экстракте, соответственно, Y - интенсивность вкусовых ощущений (умами), которая выражается как эквивалентная концентрация глутаминовой кислоты.

Для характеристики содержания основных метаболитов в мороженом рыбном сырье, может быть использован метод ЯМР спектроскопии, который позволяет количественно определить аминокислоты, витамины, спирты, углеводы, полипептиды, целый ряд аминов.

В работе проведены исследования по установлению возможности применения комплексного анализа метаболического профиля ^1H -ЯМР спектров мышечной ткани рыбного сырья и корреляции с органолептическими показателями для получения достоверной количественной информации о сырье.

Цель работы

Научное обоснование критериев качества филе минтая мороженого для оценки потребительских свойств.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования использовали мороженые образцы филе минтая из торговой сети различных производителей.

Содержание влаги и водоудерживающей способности филе минтая определяли по ГОСТ 7636. 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 рН 7,8. Раствор фильтровали через бумажный фильтр (№ 1) и хранили при температуре минус 25°C до проведения измерений.

Для записи ЯМР-спектров образцы размораживали и аликвоту полученного раствора 500 мкл переносили пипеткой в стандартную ЯМР-ампулу диаметром 5 мм и добавляли 50 мкл D_2O с TSP (3-(trimethylsilyl)-propionic-2,2,3,3- d_4 acid sodium salt) концентрацией 23 ммоль/л. Регистрацию спектров проводили на приборе Bruker AV-600 (Германия) в ИОХ РАН. Обработку

спектров выполняли с использованием стандартного программного обеспечения фирмы Bruker (TopSpin 3.5 pl7).

Полученные результаты

Филе минтая является наиболее массовым продуктом, который стоит недорого, а по полезным качествам не уступает другим видам рыб, имеющих белую мышечную ткань, в связи с этим представляло интерес провести мониторинг качества филе минтая мороженого для получения объективной картины качества продукции и обоснования рекомендаций его более широкого потребления.

В образцах филе минтая было определено содержание влаги и ВУС. Полученные результаты, приведенные в таблице 1, показывают, что два образца №1 и № 8 отличаются повышенным содержанием влаги и низкими значениями водоудерживающей способности. Это может свидетельствовать о том, что филе изготовлено из мороженого сырья и в процессе переработки было специально обработано для увеличения выхода продукции за счет повышения содержания влаги.

Для обоснования критериев качества филе минтая проведен качественный и количественный сравнительный анализ метаболического профиля ¹H-ЯМР спектров экстрактов мышечной ткани образцов рыбного сырья. ¹H-ЯМР-спектры экстрактов мышечной ткани минтая отличались характерными интенсивными дублетами молочной кислоты (La) -2,34 ppm, синглетными сигналами диметиламина (N-DMA) -2,90 ppm, триметиламина (N-TMAO) - 4,13 ppm, гипоксантина (Hx)- 8,21 ppm, инозина (Ino)- 8,46 ppm, инозинмонофосфата (IMP) – 8,56 ppm, а также мультиплетом глутамата (Glu) – 2,73 ppm. Количественное содержание перечисленных метаболитов в образцах мышечной ткани филе минтая приведены в таблице 1.

Таблица 1
Содержание влаги, водоудерживающая способность и идентифицированные метаболиты в мышечной ткани филе минтая

| Обр. | Содержание влаги | ВУС | La d-2,34 | Glu m-2,73 | N-DMA s-2,90 | N-TMA s-3,28 | N-TMAO s-4,13 | Hx s-8,21 | Ino s-8,46 | IMP s-8,56 |
|------|------------------|-----|-----------|------------|--------------|--------------|---------------|-----------|------------|------------|
| № | % | % | мг/100 г | | | | | | | |
| 1 | 88,6 | 41 | 30,1 | 3,8 | 4,9 | 0,2 | 122,4 | 2,3 | 22,8 | 14,2 |
| 2 | 81,9 | 53 | 74,2 | 5,2 | 5,8 | 0,3 | 331,4 | 3,4 | 33,1 | 86,3 |
| 3 | 82,4 | 43 | 134,4 | 8,9 | 7,7 | 0,5 | 302,3 | 3,3 | 34,4 | 50,0 |
| 4 | 83,0 | 48 | 66,0 | 8,5 | 9,4 | 0,5 | 252,9 | 4,7 | 49,5 | 36,8 |
| 5 | 84,6 | 47 | 46,7 | 6,4 | 7,6 | 0,3 | 222,8 | 4,0 | 46,1 | 16,8 |
| 6 | 82,0 | 52 | 62,5 | 3,9 | 4,8 | 0,2 | 309,6 | 1,8 | 27,2 | 80,7 |
| 7 | 82,3 | 53 | 80,1 | 6,2 | 7,6 | 0,4 | 374,8 | 2,4 | 33,5 | 90,1 |
| 8 | 91,3 | 35 | 9,3 | 3,2 | 1,8 | 0,2 | 50,6 | 0,9 | 9,6 | 2,4 |
| 9 | 82,6 | 52 | 33,5 | 5,4 | 7,3 | 0,4 | 161,0 | 4,8 | 37,8 | 1,5 |
| 10 | 81,9 | 51 | 51,8 | 6,9 | 14,2 | 0,9 | 254,5 | 5,6 | 46,3 | 18,5 |
| 11 | 82,3 | 55 | 43,0 | 4,1 | 5,1 | 0,3 | 197,1 | 8,5 | 49,2 | 9,4 |
| 12 | 83,1 | 44 | 126,5 | 9,3 | 10,0 | 0,8 | 311,2 | 5,0 | 57,5 | 20,3 |
| 13 | 82,2 | 52 | 73,0 | 10,0 | 8,3 | 0,7 | 244,9 | 5,8 | 65,2 | 1,4 |
| 14 | 85,5 | 49 | 27,6 | 3,2 | 6,6 | 0,3 | 137,7 | 2,7 | 33,0 | 13,9 |
| 15 | 81,5 | 56 | 151,6 | 9,1 | 6,8 | 0,4 | 388,5 | 5,2 | 61,6 | 66,5 |
| 16 | 81,5 | 56 | 104,6 | 7,4 | 9,1 | 0,6 | 315,9 | 5,1 | 55,8 | 37,0 |

На основании данных интегральных интенсивностей инозина, инозин-5'-монофосфата, гипоксантина рассчитаны значения коэффициентов качества K_1 по формуле, приведенной в работе [7].

Исходя из содержания инозин-5'-монофосфата и глутаминовой кислоты рассчитаны значения Y - интенсивности вкусовых ощущений по формуле 1. Для комплексной оценки качества филе минтая проанализировали зависимость значения Y от коэффициента качества K_1 . Из данных, приведенных на рисунке 1 видно, что с увеличением K_1 , то есть с ухудшением свойств продукции, наблюдается снижение интенсивности вкусовых ощущений Y .

В соответствии с рекомендациями, приведенными в литературных источниках, значение K_1 около 80 % является предельным порогом качества, при больших значениях рекомендуется отказ от употребления данной продукции для пищевых целей. При значениях величины K_1 до 20 % сырье считается безупречно свежим и может использоваться в сыром виде, без глубокой тепловой обработки, при 30-40% - рыба классифицируется как превосходного качества и рекомендуется для реализации или переработки [9, с. 471-480; 10, с. 12-22]. Из представленных данных рисунка 1 видно, что для образцов высокого качества, то есть имеющих K_1 ниже 40%, показатель интенсивности вкусовых ощущений Y составляет более 5000. Эти образцы отличаются низким содержанием влаги - не более 82% и высокими значениями ВУС - не менее 53%, что также подтверждает их высокое качество. Филе минтая с показателем K_1 от 40 до 70 и Y не ниже 1500 можно классифицировать как среднего качества, подлежащее обязательной технологической переработке.

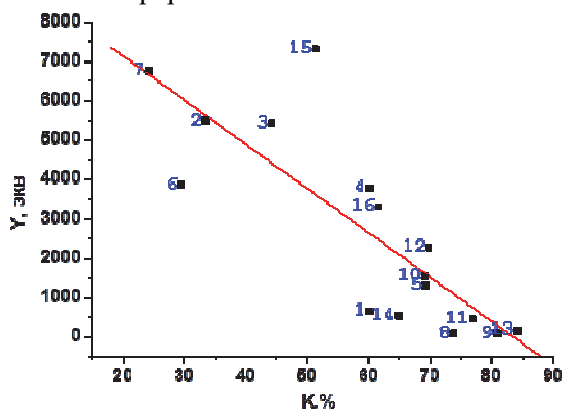


Рис 1. Зависимость интенсивности вкусовых ощущений Y от коэффициента качества K_1 для образцов филе минтая (номера соответствуют номерам образцов филе минтая, приведенным в таблице 1)

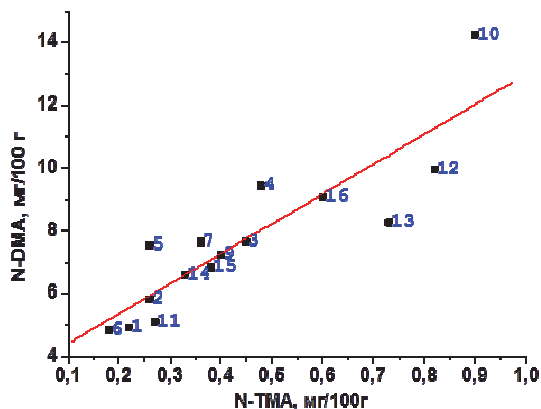


Рис. 2. Содержание N-TMA и N-DMA в образцах филе минтая (номера соответствуют номерам образцов филе минтая, приведенным в таблице 1).

Одно из часто встречающихся претензий покупателей к качеству филе минтая является наличие специфического, а иногда и неприятного запаха. Доказано, что запах рыбе придают летучие азотистые соединения (аммиак, триметиламин, диметиламин, холин и др.), которые образуются, в основном, из триметиламинооксида (N-TMAO): в случае микробиологической порчи накапливается триметиламин (N-TMA), а под действием фермента триметиламин-N-оксидиметилазы N-TMAO может трансформироваться в диметиламин (N-ДМА), а затем в формальдегид [11, с. 814-818; 12, с. 49-56; 13, с. 6889-6895]. Накопление диметиламина при хранении происходит не у всех видов рыбного сырья, но характерно для минтая.

На рисунке 2 представлены значения содержания N-ДМА и N-TMA для различных образцов филе минтая. Как видно из представленных данных, в образцах, содержащих большее количество N-ДМА, отмечается и более высокое содержание N-TMA. Оценка образцов филе минтая по органолептическим показателям показала, что у всей продукции был запах, свойственный свежей рыбе. Это подтверждается также данными по содержанию N-TMA, которое не превышает значений 0,9 мг в 100 г филе. Известно, что при содержании триметиламина 4-6 мг на 100 г мышечной ткани рыбы появляется небольшой неприятный запах в мясе рыбы, при содержании 8-10 мг на 100 г отчетливо ощущается неприятный запах, а при 20 мг на 100 г и выше запах становится резко неприятным [8, с. 102].

Образцы филе минтая, имеющие более высокое содержание N-TMA и N-DMA имеют высокие значения коэффициента качества K_1 , что свидетельствует о глубоких изменениях в сырье в результате нарушения условий его хранения.

Заключение

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

- для количественной характеристики качества рыбного сырья могут использоваться два показателя: интенсивность вкусовых ощущений Y (умами) и коэффициент качества K_1 ;
- образцы филе минтая, имеющие значения коэффициента качества K_1 ниже 40% и показатель интенсивности вкусовых ощущений Y более 5000 относятся к продукции высокого качества;

– в процессе холодильного хранения в мышечной ткани минтая происходит образование как триметиламина, так и диметиламина, что является специфической особенностью данного вида рыбы.

Литература

1. Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 г. Утв. Распоряжение Правительства 29 июня 2016 г. № 1364-р.
2. ГОСТ 7631-2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей. Стандартиформ. 2010. 11 с.
3. K. Ikeda. On a new seasoning // Journal of the Tokyo Chemical Society. 1908. V. 30. P. 820–836.
4. K. Ninomiya. Umami: a universal taste // Food Reviews International. 2002. N. 18 (1). P. 23–38.
5. S. Yamaguchi. The Synergistic Taste Effect of Monosodium Glutamate and Disodium 5'-Inosinate // Journal of Food Science. 1967. V. 32. P. 473–478.
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 ^1H - NMR Spectroscopy // Nutrients. 2012. N. 4 (6). P. 542–553.
7. Абрамова Л.С., Козин А.В. Метод ЯМР-спектроскопии для оценки показателей качества пищевой рыбной продукции // Контроль качества продукции. 2018. № 10. С. 56–61.
8. Быков В.П. Изменения мяса рыбы при холодильной обработке: Автолитические и бактериальные процессы. – М.: Агропромиздат, 1987. 221 с.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Gill T. A., Paulson A. T. Localization, characterization and partial purification of TMAO-ase // Comp. Biochem Physiol. 1982. 71.B. P. 49–56.
13. 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 ^1H NMR Metabolite Profiling for Classification of the Products Using Multivariate Data Analyses // J. Agric. Food Chem. 2005. V. 53 (17). P. 6889–6895.

Сведения об авторах

Любовь Сергеевна Абрамова

д-р техн. наук, проф.

советник по качеству рыбной продукции

Эл. почта: abramova@vniro.ru

Андрей Валерьевич Козин

канд. хим. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: kozin82a@gmail.com

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии

Вадим Вадимович Качала

канд. хим. наук

специалист по спектроскопии ЯМР

Эл. почта: vadim.kachala@bruker.com

ООО «Брукер»

Россия, Москва

Information about authors

L.S. Abramova

doctor of Technical Science, professor

fish product quality Advisor

E-mail: abramova@vniro.ru

Andrey Valerievich Kozin

PhD in Chemical sciences

Senior Researcher

E-mail: kozin82a@gmail.com

Federal Research Institute of Fisheries & Oceanography

Vadim Vadimovich Kachala

PhD in Chemical sciences

NMR spectroscopy specialist

E-mail: vadim.kachala@bruker.com

Bryker Ltd.

Russia, Moscow

ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ БЕЛКИ, ПОЛУЧЕННЫЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОДЫ С МОДИФИЦИРОВАННЫМ ИЗОТОПНЫМ СОСТАВОМ

*Идентифицирован ряд белковых соединений из комплекса экстрактов тканей *Sus Scrofa* (тимус, селезенка, лимфатические узлы), обнаружены соединения, вовлеченные в иммунный ответ. Сравнительный анализ показал, что вода с модифицированным изотопным составом как экстрагент, помимо количественных изменений в белковом профиле экстрактов, приводит к индукции нетрадиционного модифицирования гемоглобинов, идущего по разным вариантам аминокислотных остатков, что может привести к образованию биологически активных соединений с разными свойствами.*

Ключевые слова: иммунитет, дейтерий, легкая вода, экстракция, двумерный электрофорез

Vasilevskaya E.R.

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS

TISSUE SPECIFIC PROTEINS EXTRACTED WITH WATER WITH MODIFIED ISOTOPIC COMPOSITION

*Abstract. A number of protein compounds from *Sus Scrofa* tissues complex extract (thymus, spleen, lymph nodes) have been identified, compounds involved in the immune response have been detected. A comparative analysis showed that water with a modified isotopic composition as an extractant, in addition to quantitative changes in extracts protein profile, leads to induction of hemoglobins unconventional modification, following different amino acid residues, which can lead to formation of biologically active compounds with different properties.*

Keywords: immunity, deuterium, light water, extraction, two-dimensional electrophoresis

Восстановление нарушений иммунной системы, которые сопровождают практически любое заболевание, будет оставаться актуальной проблемой во все времена. Снижение иммунологической реактивности пытаются предупредить использованием как натуральных иммуностимуляторов и адаптогенов (растительных и животных), так и синтетических, а также препаратов микробного происхождения [1,2].

Иммуномодулирующие препараты эндогенного происхождения представлены в основном монопрепаратами - иммунорегуляторными цитокинами и пептидами из периферических иммунных органов, например, селезенки, костного мозга, тимуса, преимущественно эмбрионов или молодняка крупного рогатого скота или свиней. Полипептиды тимуса нормализуют и повышают функциональную активность Т-системы иммунитета и гемопоэза, усиливают клеточные иммунные реакции и реакции антителогенеза, свертывающей и антисвертывающей системы, нейроэндокринной регуляции, репаративной регенерации тканей [3, 4]. В селезенке содержится большое количество тимус-независимых, макрофагальных и тимус-зависимых иммунных факторов, например неспецифического тетрапептида сывороточного туфтсина, который входит в Fd-фрагмент IgG, который влияет на функциональные свойства полиморфно-ядерных лейкоцитов и макрофагов [5], компоненты комплемента - фрагменты C3 и C4, например, C3b, фактор Р и т. д., которые можно рассматривать как основу для разработки и создания широкого спектра лекарственных препаратов на основе биологически активных веществ, выделенных из селезенки молодых сельскохозяйственных животных [6]. Также большой потенциал имеют лимфатические узлы, как маленькие депо активных факторов в организме, в которых можно найти иммунорегуляторные соединения различных типов [7]. Так, для исследования потенциальных иммуномодулирующих биомолекул были выбраны ткани селезенки, тимуса и брыжеечных лимфатических узлов свиней в возрасте 8-9 месяцев. Предыдущие исследования показали высокий потенциал активных биомолекул, выделенных из этих органов, в качестве иммуномодулятора в различных исследованиях [8, 9].

Все перечисленные выше причины послужили основой для этой научной работы, целью которой является изучение тканеспецифических белков иммунокомпетентных органов *Sus scrofa*, выделенных с использованием воды с пониженным содержанием дейтерия, с использованием методов двумерного электрофореза и масс-спектрометрии.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования являлись смеси экстрактов тканей и органов *Sus scrofa* (тимус, селезенка и мезентеральные лимфатические узлы) на основе 0,9 % растворов хлорида натрия в дистиллированной воде (ДВ, содержание дейтерия 140 ppm) и воде с модифицированным изо-

топным составом (ВМИС, содержание дейтерия 40 ppm), гидромодуль 1:5, 400 об/мин.

Анализ фракционного состава белков в тестируемых образцах проводился методом Лемми: одномерный электрофорез в 12,5% SDS-PAGE в ПААГ в камере VE-10 (Helicon, США) при постоянном напряжении 160 В. В качестве стандарта электрофореза был использован маркер (Thermo, США). Окрашивание проводили красителем Кумасси G-250.

Двумерный электрофорез (ДЭ) проводился по методу О'Фаррелла с изоэлектрофокусированием в амфолиновом (IEF-PAGE) градиенте pH; последующую детекцию белков проводили окрашиванием азотнокислым серебром. Идентификацию белковых фракций на ДЭ осуществляли после трипсинолиза методами MALDI-TOF MS и MS/MS масс-спектрометрии на MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex («Bruker», Германия) с УФ-лазером (336 нм) в режиме положительных ионов в диапазоне масс 500-8000 Да с калибровкой их по известным пикам автолиза трипсина. Анализ полученных масс-спектров триптических пептидов выполняли с помощью программы Mascot, опция Peptide Fingerprint («Matrix Science», США), с точностью определения массы MH^+ равной 0.01%, осуществляя поиск по базам данных Национального центра биотехнологической информации США (NCBI). Далее проводили анализ белково-пептидного состава электрофоретическим методом в соответствии с базой данных UniProt Protein DataBase.

Результаты исследований

Установлено, что экстракция исследуемых белков в раствор с пониженным содержанием дейтерия обеспечивает почти двукратное увеличение количества экстрагируемых белков и пептидов, что может быть вызвано изменением ионной силы раствора при изменении количества дейтерия. Основными белковыми компонентами экстрактов являются только 8 фракций, которые по результатам компьютерной денситометрии содержат от 11 до 20% общего белкового материала, визуально обнаруженного на DEP, при окрашивании красителем SVV-250.

DEP-детектируемые белки являются представителями семейств цепей α и β гемоглобина, и только в одном случае было обнаружено присутствие соединения профилин-1 (актинсвязывающий белок, который присутствует во многих типах клеток). Более того, фракции гемоглобинов оказались посттрансляционно модифицированными. Во фракции β -цепей гемоглобина наблюдается дезаминирование аминокислотных остатков (Q) глутамина или (N) аспарагина, и его комбинация была различной для разных фракций. В случае фракций α -цепей гемоглобина была обнаружена другая модификация Lys-Allylsine (окисление лизина до аминокислотного полуальдегида) - с образованием альдегида аллизина. Катаболизм L-лизина начинается с конденсации лизина с кетоглутаровой кислотой с последующим восстановлением основания Шиффа, образованного при участии дегидрогеназы в сахаропине. Комбинации положений модифицированных аминокислотных остатков (a.r.) лизина (K) также различались в разных фракциях. Этот эффект может быть вызван повышенным содержанием в иммунокомпетентных органах значения ферментов, вызывающих эти виды модификации или изменения физико-химических свойств среды.

В базе данных Uniprot отсутствует информация по посттрансляционным модификациям гемоглобинов Sus Scrofa [P02067 (HBB_PIG) и P01965 (HBA_PIG)]. У человека, как наиболее изученного объекта [P68871 (HBB_HUMAN) и P69905 (HBA_HUMAN)], некоторые посттрансляционные модификации подтверждены экспериментально, но также других типов. Полученные результаты показали, что в экстрактах иммунокомпетентных органов индуцируется нетрадиционное модифицирование гемоглобинов, идущее по разным вариантам аминокислотных остатков, и, следовательно, могут образовываться биологически активные пептиды с разными свойствами. Роль таких модификаций для функциональных пептидов совершенно неясна и требует дальнейшего изучения.

Деиминирование аминокислотных остатков глутамина (Q) или аспарагина (N) относят к неферментативному отщеплению аммиака от амидной группы аспарагина или глутамина через образование промежуточного продукта – циклического имида. Скорость образования этого продукта определяется локальным аминокислотным окружением, свойствами раствора (pH и составом). Остаток аспарагина в белках подвергается деамидированию в 40 раз чаще, чем остаток глутамина, при этом скорость деамидирования аспарагина в 100 раз быстрее скорости деамидирования глутамина, что частично наблюдалось и в данном случае в экстрактах иммунокомпетентных клеток. В разных фракциях выявлено деиминирование от 4 до 7 а.о. аспарагина, а по глутамину от 1 до 4 а.о.

Реакция деамидирования приводит к появлению дополнительной ионизируемой карбоксильной группы, имеющей при физиологических значениях pH отрицательный заряд, что меняет общий заряд белка и его пространственную структуру, как и наблюдалось в данном случае, где фракции HBB сместились в кислую сторону по pI в зависимости от количества модифицированных остатков N/Q.

Реакция деамидирования N/Q *in vivo* корректируется с помощью протеинизоаспартил-О-метилтрансферазы (PIMT), широко распространенного клеточного фермента, а дефицит PIMT вызывают серьезные заболевания у человека: катаракту, болезнь Альцгеймера, аутоиммунные заболевания, прион-зависимые энцефалопатии. В условиях *in vitro* (аутопсийные ткани и органы) фермент инактивируется, и не регулирует модифицирование. В таком случае использование тканей иммунокомпетентных органов в пищевой промышленности становится неоднозначным. Особенно учитывая данные, что деамидирование может вызываться и бактериальными токсинами. Так, цитотоксический некротический фактор 1 из *Escherichia coli* (CN F1) и дермонекротический токсин *Bordetella* (DNT) деамидируют малые GTPазы человека: Rho A (Gln63), Rac1 и Cdc42 (Gln61), что приводит к блокированию гидролиза GDP и нарушению регуляции перестроек цитоскелета клетки.

Три фракции ингибитора Rho GDP-диссоциирующего ингибитора идентифицированы в экстрактах иммунокомпетентных органов, и возможно их наличие может нивелировать этот процесс.

Деамидирование часто сопряжено с последующим трансамидированием (взаимодействием ϵ -аминогруппы остатка лизина в белке с боковой цепью остатка глутамин в том же белке), представляющим собой один из видов сшивок, характерных для посттрансляционной модификации.

В результате образуются многочисленные связи между остатками глутамин и лизина в молекулах белка, что приводит к образованию белкового агрегата с большой молекулярной массой, субъединицы которого связаны поперечными сшивками, что, возможно, мы наблюдали ранее, при выявлении агрегатов белков в ряде образцов мясного сырья и мясной продукции в условиях кислородного стресса.

Модификация Lys-Allylsine (образованием альдегида аллизина) осуществляется внеклеточной лизилоксидазой в присутствии ряда витаминов, ее обычно связывают с созреванием коллагена. Но в данном случае, в условиях *in vitro*, это произошло прицельно с фракциями α цепей гемоглобина, что показывает определенную специфичность модифицирования белков иммунокомпетентных органов в условиях *in vitro*.

Была установлена максимальная плотность потенциальных биомолекул, идентифицированных нитратом серебра в диапазоне менее 30 кДа. Масс-спектрометрически идентифицировано 20 фрагментов белка.

Обнаружены тканеспецифичные белки, которые непосредственно участвуют в формировании врожденного иммунитета и отвечают за первичную защитную реакцию организма: белок бета-интерферона, сигнальный пептид с противовирусной и иммуномодулирующей активностью; индуцируемая гамма-интерфероном лизосомальная тиоловая редуктаза, основной фермент, влияющий на представление антигена макрофагами; миелоидно-дифференцирующий белок первичного иммунного ответа, белок цитозольного адаптера; провоспалительный цитокин интерлейкин-12 бета-субъединица; аннексин A1, одна из сигнальных молекул, которая активирует иммунодепрессивные, противовоспалительные, противоаллергические эффекты; антиген основного комплекса гистосовместимости 1-го класса, участвующий в распознавании инородного тела и развитии иммунного ответа; сигнальный иммунный пептидный хемокиноподобный рецептор 1. Также было обнаружено присутствие соединений, которые участвуют во вторичном иммунном ответе и ответственны за процессы адаптации в организме: трансферрин, который влияет на кроветворение и играет важную роль в делении клеток; фосфоглицерат мутаза B; ингибитор диссоциации Rho GTPase, участвующий в активации кислорода супероксид-генерирующей НАДФ-оксидазой фагоцитов; глутатион-S-трансфераза, которая является одним из важнейших средств защиты от токсинов; серпин B9, который контролирует процессы коагуляции и воспаления. Был выявлен ряд белков, участвующих в метаболизме - глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, цистатин-B, малат-дегидрогеназа, альдолаза.

Выводы

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: на основе идентифицированных активных биомолекул, выделенных из иммунокомпе-

тентных органов свиньи в среде с модифицированной D/H композицией в качестве базовой матрицы, возможно создать инновационный иммуностимулирующий активный комплекс, который соответствует концепции экологически безопасного устойчивого промышленного развития за счет снижения потребления и производства абиотических компонентов окружающей среды и повышения качества и безопасности продукции животноводства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного Фонда, проект № 15-16-00008.

Литература

1. Kell A. Pathogen-Associated Molecular Pattern Recognition of Hepatitis C Virus Transmitted/Founder Variants by RIG-I Is Dependent on U-Core Length/ A. Kell, M. Stoddard, H. Li, J. Marcotrigiano, G. M. Shaw, M. Gale // Jr.J Virol. 2015. V. 89 (21). P. 11056–11068.
2. Romo M. R. Innate immunity in vertebrates: an overview. /M. R. Romo, D. P. Martínez, C. C.Ferrer// Immunology. 2016. V. 148 (2). P. 125–139.
3. Sumner R. P. Are Evolution and the Intracellular Innate Immune System Key Determinants in HIV Transmission? / R. P. Sumner, L. G. Thorne, D. L. Fink, H.Khan, R. S. Milne, G. J. Towers // Front Immunol. 2017. V. 8. P. 1246.
4. Pulendran B. Innate Immune Sensing and Response to Influenza/ B.Pulendran, M. S. Maddur // Curr Top Microbiol Immunol. 2015. V. 386. P. 23–71.
5. Liu J. Cellular and molecular regulation of innate inflammatory responses / J. Liu, X. Cao // Cell Mol Immunol. 2016. V. 13 (6). P. 711–721.
6. Levy O. Innate immune memory: implications for development of pediatric immunomodulatory agents and adjuvanted vaccines / O. Levy, M. G. Netea// Pediatr Res. 2014. V. 75 (0). P. 184–188.
7. Boraschi D. Innate Immune Memory: Time for Adopting a Correct Terminology/ D. Boraschi, P. Italiani // Front Immunol. 2018. V. 9. P. 799.
8. Chernukha I.M. Comparative study of biocorrective protein-peptide agent to improve quality and safety of livestock products/ I.M. Chernukha, L.V. Fedulova, E.R. Vasilevskaya, E.A. Kotenkova. //Potravinarstvo Slovak J. of Food Sciences. 2017. V. 11 (1). P. 539–543.
9. Fedulova L.V. Influence of different polypeptides fractions derived from sus scrofa immune organs on the rats immunological reactivity / L.V. Fedulova, E.R. Vasilevskaya, E.A. Kotenkova, A.A. Elkina, M.G. Baryshev, A.B. Lisitsyn // J. of Pharmacy and Nutrition Sciences. 2017. V. 7 (2). P. 35–40.

Сведения об авторе

Екатерина Романовна Василевская

науч. сотр.

Эл. почта: e.vasilevskaya@fnrcps.ru

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова»

Россия, Москва

Information about author

Ekaterina Romanova Vasilevskaya

Researcher

E-mail: e.vasilevskaya@fnrcps.ru

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS

Russia, Moscow

УДК 664.325

ГРНТИ 65.09.05

Семенова А.А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

СОВРЕМЕННЫЕ МОДУЛЯЦИИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ШПИКА

Проведены исследования жирнокислотного состава шпика в четырех регионах Российской Федерации. Анализ результатов исследований показал, что по содержанию полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) значимых изменений состава шпика не наблюдалось. В 100 г шпика их массовая доля составляла 90-240% от суточной потребности. Соотношение ω -6/ ω -3 составило (6-11)/1, при рекомендуемом предельном значении (9-10)/1. Полученные данные сопоставлены с результатами аналогичного исследования в Европе (Чехия).

Ключевые слова: шпик, жирнокислотный состав, НЖК, МНЖК, ПНЖК, омега-6, омега-3.

MODERN MODULATIONS OF FATTY-ACID COMPOSITION OF PORK BACK FAT

Fatty acid composition of pork back fat was studied in four regions of the Russian Federation. Analysis of the research results showed that the content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) showed no significant changes in the fat composition. In 100 g of back fat their content was 90-240% of the daily requirement. The ratio ω -6/ ω -3 was (6-11)/1 and was near to the recommended maximum value (9-10)/1. The obtained data are compared with the results of a similar study in Europe (Czech Republic).

Keywords: *pork back fat, fatty acid composition, SFA, MUFA, PUFA, omega-6 (n-6), omega-3 (n-3).*

Шпик или свиной подкожный жир в питании жителей большинства стран, включая Россию, является традиционным источником полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). За последние 30-40 лет направленность свиноводства на разведение сальных и мясосальных пород свиней резко изменилась в пользу мясных пород и гибридов. За такой, сравнительно короткий, исторический период промышленное производство свинины добилось снижения содержания жировой ткани в свиных тушах более, чем в 3 раза. При этом толщина подкожного слоя жировой ткани сократилась с 6-8 см до 1,5 см и менее. Такой разворот в сторону постной свинины был продиктован двумя основными обстоятельствами: во-первых, снижением ежедневной потребности современного человека в жире, во-вторых, экономическими причинами (производство постной свинины более рентабельно, чем жирной), определяющими дальнейшее интенсивное развитие сельского хозяйства.

Многочисленные исследования ученых разных стран показали, что, свиньи, по сравнению со всеми другими продуктивными животными, обладают максимально значимым потенциалом изменения не только анатомо-морфологического состава туш, но и жирнокислотного состава жировой ткани. Такая вариабельность зависит от многих факторов, среди которых наиболее значимо влияние рационов откорма свиней [1, 2].

Несмотря на такие значительные успехи свиноводства в снижении объемов производства жирного сырья, жирнокислотный состав продолжает оставаться важнейшей составляющей качества свинины, выгодно отличающей ее от говядины и баранины, а вместе с ней, конечно, и главной характеристикой шпика, определяющей его пищевую ценность, пригодность к переработке и органолептические характеристики. Более высокое содержание в свинине жирных кислот, в основном, ПНЖК C18:2, C20:4 и C22:6, повышает ее вкусовые качества [3].

ПНЖК, относящиеся к ω -3, играют важную роль в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний и снижению смертности от них, оказывает гипохолестеринемическое и гипотензивное действие, положительно влияют на иммунную систему человека [4, 5]. Таким образом, достижение высокого содержания ω -3 в шпике способствует обеспечению формирования у населения более здорового рациона питания. Вместе с тем, жирнокислотный состав шпика остается в зоне критики диетологов ввиду повышенного содержания в нем ω -6, и насыщенных жирных кислот (НЖК). В целом, считается, что сегодня рацион европейцев не достиг рекомендаций ФАО относительно снижения соотношения ω -6/ ω -3 [5, 12].

После стагнации в период распада Советского Союза, отечественное свиноводство практически полностью переориентировалось на западную генетику, технологии разведения, содержания и откорма, которые направлены, прежде всего, на высокую экономическую эффективность производства свинины. Это позволило в сравнительно короткий период решить проблему импортозамещения и обеспечить внутренний рынок российской мясной продукцией. Удовлетворение потребностей внутреннего рынка и новые задачи по обеспечению конкурентоспособности российских продуктов питания на внешних рынках сегодня заставляют всесторонне задуматься над проблемой качества свинины, и, в первую очередь, ее пищевой ценностью. В этой связи целью настоящей работы получение новых данных по жирнокислотному составу российского шпика современного промышленного производства и проведение сравнительного анализа с использованием ранее опубликованных результатов отечественных и зарубежных исследований.

Объекты и методы исследований

Объектами исследований являлись образцы хребтового шпика, который отбирали от свиных туш через 24 часа после убоя животных на уровне 5-7 грудных позвонков. Отбор шпика проводили в четырех регионах на промышленных предприятиях по убою и первичной переработке, имеющих собственные свиноводческие хозяйства. Отбор осуществляли в два этапа. На

первом этапе отбирали парные туши, имевшие массу не менее 90 кг и толщину хребтового шпика не менее 2 см. Такие условия отбора туш полностью соответствовали характеристикам современного производства товарных свиней. После охлаждения проводили второй этап отбора при разделке охлажденных полутуш, выделяя на исследование образец шпика в шкуре массой около 0,5 кг. В условиях лаборатории удаляли шкуру, шпик измельчали на микроизмельчителе тканей при 2000 об/мин и хранили в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С до полного завершения испытания в течение суток. Для определения жирнокислотного состава от каждого измельченного образца отбирали 3 пробы массой по 10 г. Выделение липидов из проб проводили экстракцией хлороформ/метанолом по методу Фолча. Состав жирных кислот определяли на газовом хроматографе HP 6890 фирмы “Hewlett Packard” [6]. Общее количество проб, отобранных в каждом регионе, составляло не менее десяти. Полученные результаты обрабатывали статистически, принимая в качестве уровня достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследований

В связи с интенсификацией свиноводства широко распространено мнение об увеличении содержания ПНЖК в шпике [2, 4, 8]. Как следует из табл.1, жирнокислотный состав шпика был представлен НЖК на 48,80-57,48 %, мононенасыщенные жирные кислоты (МНЖК) на 35,28-36,90 % и ПНЖК на 7,12-12,00 %. Сравнение со справочными данными [7, 8], не позволило подтвердить возрастание содержания ПНЖК в российском шпике, так как этот показатель и ранее характеризовался еще более значительными колебаниями – от 3,2 до 16,3 % [7]. Содержание только линолевой кислоты в зависимости от рациона кормления свиней может колебаться в шпике от 2% до 32% [8].

Таблица 1.

Жирнокислотный состав шпика

| Наименование и обозначение жирной кислоты | Содержание жирной кислоты, г/100 г жира, | | | | | | | |
|---|--|------|-----------------|------|-------------------|------|---------------|------|
| | Тамбовская обл. | | Пензенская обл. | | Белгородская обл. | | Липецкая обл. | |
| | М | ±s | М | ±s | М | ±s | М | ±s |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Капроновая C6:0 | 0,07 | 0,02 | 0,05 | 0,01 | 0,06 | 0,03 | 0,09 | 0,10 |
| Каприловая C8:0 | 0,13 | 0,05 | 0,11 | 0,02 | 0,17 | 0,03 | 0,11 | 0,05 |
| Каприновая C10:0 | 0,46 | 0,04 | 0,63 | 0,13 | 0,34 | 0,09 | 0,28 | 0,07 |
| Дециловая C10:1 | 0,06 | 0,05 | 0,13 | 0,03 | 0,06 | 0,04 | 0,07 | 0,02 |
| Ундециловая C11:0 | 0,15 | 0,02 | 0,14 | 0,02 | 0,16 | 0,02 | 0,03 | 0,05 |
| Лауриновая C12:0 | 0,42 | 0,06 | 0,47 | 0,04 | 0,34 | 0,09 | 0,37 | 0,05 |
| Тридекановая C13:0 | 0,10 | 0,08 | 0,22 | 0,15 | 0,26 | 0,04 | 0,14 | 0,02 |
| Миристиновая C14:0 | 2,85 | 0,20 | 2,02 | 0,28 | 2,77 | 0,18 | 2,08 | 0,26 |
| Миристолеиновая C14:1 | 0,27 | 0,03 | 0,32 | 0,08 | 0,22 | 0,07 | 0,38 | 0,09 |
| Пентадекановая C15:0 | 0,45 | 0,12 | 0,48 | 0,14 | 0,37 | 0,15 | 0,49 | 0,06 |
| Цис-10-пентадеценивая C15:1 | 0,33 | 0,05 | 0,40 | 0,15 | 0,22 | 0,01 | 0,29 | 0,06 |
| Пальмитиновая C16:0 | 22,95 | 1,23 | 23,71 | 1,36 | 22,17 | 0,82 | 25,05 | 0,74 |
| Пальмитолеиновая C16:1 | 6,07 | 0,25 | 6,20 | 0,25 | 6,20 | 0,06 | 6,49 | 0,52 |
| Маргариновая C17:0 | 0,44 | 0,06 | 0,46 | 0,04 | 0,60 | 0,15 | 0,36 | 0,05 |
| Гептадеценивая C17:1 | 0,31 | 0,07 | 0,47 | 0,05 | 0,26 | 0,00 | 0,19 | 0,04 |
| Стеариновая C18:0 | 22,06 | 0,62 | 23,36 | 1,03 | 20,59 | 0,97 | 14,06 | 0,70 |
| Олеиновая C18:1 n9c | 26,82 | 0,86 | 25,52 | 1,37 | 28,04 | 0,93 | 27,67 | 0,86 |
| Элаидиновая C18:1 n9t | 0,08 | 0,03 | 0,07 | 0,04 | 0,06 | 0,04 | 0,01 | 0,02 |
| Линолевая C18:2 n6 | 6,55 | 0,45 | 5,00 | 1,06 | 6,76 | 0,37 | 10,38 | 0,93 |
| γ-Линоленовая C18:3 n6 | 0,34 | 0,06 | 0,12 | 0,08 | 0,24 | 0,07 | 0,24 | 0,06 |
| α-Линоленовая C18:3 n3 | 0,16 | 0,02 | 0,11 | 0,07 | 0,18 | 0,06 | 0,12 | 0,03 |
| Нондекановая C19:0 | 0,20 | 0,09 | 0,25 | 0,08 | 0,18 | 0,15 | 0,33 | 0,10 |
| Арахидиновая C20:0 | 1,63 | 0,05 | 1,93 | 0,38 | 1,24 | 0,06 | 2,00 | 0,12 |
| Гадолеиновая C20:1 n9 | 0,81 | 0,07 | 0,99 | 0,29 | 1,19 | 0,35 | 0,36 | 0,09 |
| Цис-11,14-эйкозацикленовая C20:2 | 0,11 | 0,05 | 0,07 | 0,05 | 0,16 | 0,04 | 0,08 | 0,05 |
| Цис-8,11,14-эйкозатриеновая C20:3 n6 | 0,22 | 0,11 | 0,31 | 0,06 | 0,28 | 0,04 | 0,14 | 0,07 |
| Цис-11,14,17-эйкозатриеновая C20:3 n3 | 0,21 | 0,02 | 0,24 | 0,05 | 0,21 | 0,03 | 0,02 | 0,04 |

| | | | | | | | | |
|-----------------------------------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|
| Арахидоновая C20:4 n6 | 0,62 | 0,08 | 0,93 | 0,43 | 0,43 | 0,14 | 0,51 | 0,12 |
| Эйкозапентаеновая C20:5 n3 | 0,09 | 0,04 | 0,04 | 0,05 | 0,10 | 0,04 | 0,06 | 0,04 |
| Генэйкозановая C21:0 | 1,38 | 0,11 | 0,64 | 0,42 | 1,43 | 0,15 | 1,44 | 0,10 |
| Бегеновая C22:0 | 2,12 | 0,95 | 1,97 | 0,82 | 2,77 | 0,52 | 1,42 | 0,53 |
| Эруковая C22:1 n9 | 0,25 | 0,04 | 0,46 | 0,02 | 0,24 | 0,01 | 0,23 | 0,05 |
| Цис-13,16,17-докозадиеновая C22:2 | 0,26 | 0,08 | 0,26 | 0,06 | 0,15 | 0,12 | 0,41 | 0,11 |
| Докозапентаеновая C22:5 n3 | 0,05 | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,18 | 0,12 | 0,02 | 0,04 |
| Докозагексаеновая C22:6 n3 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | 0,04 | 0,19 | 0,06 | 0,02 | 0,03 |
| Трикозановая C23:0 | 0,16 | 0,13 | 0,36 | 0,07 | 0,26 | 0,08 | 0,28 | 0,12 |
| Лигноцериновая C24:0 | 0,31 | 0,07 | 0,68 | 0,32 | 0,51 | 0,07 | 0,26 | 0,08 |
| Тетракозеновая C24:1 n9 | 0,29 | 0,23 | 0,19 | 0,13 | 0,40 | 0,10 | 0,23 | 0,07 |
| Всего: | | | | | | | | |
| НЖК | 56,07 | 1,22 | 57,48 | 0,97 | 54,21 | 0,74 | 48,80 | 1,04 |
| МНЖК | 35,28 | 0,78 | 35,41 | 0,54 | 36,90 | 1,04 | 35,90 | 0,96 |
| ПНЖК, в том числе: | 8,65 | 0,51 | 7,12 | 0,61 | 8,89 | 0,31 | 12,00 | 1,06 |
| ω-3 (n3) | 0,54 | 0,18 | 0,42 | 0,21 | 0,86 | 0,31 | 0,24 | 0,18 |
| ω-6 (n6) | 7,73 | 0,7 | 6,36 | 1,63 | 7,71 | 0,62 | 11,27 | 1,18 |
| ω-9 (n9) | 27,96 | 1,00 | 27,04 | 1,72 | 29,53 | 1,33 | 28,27 | 1,02 |

Учитывая, что нормой поступления ПНЖК для взрослых людей является 5-8 г в сутки [8], то представленные в таблице 1 данные свидетельствовали о высоком содержании ПНЖК в 100 г шпика в количестве 90-240% от суточной потребности.

Оптимальной в биологическом отношении формулой сбалансированности жирных кислот в рационе питания является соотношение НЖК:МНЖК:ПНЖК, равное 30:(50-60):(10-20) [5, 7]. Анализ соотношения по полученным результатам исследований показал, что фактическое количество НЖК в шпике было в 1,6-1,9 раза выше рекомендуемого значения. Все образцы шпика были достаточно богаты МНЖК, однако их содержание находилось на уровне 70% от рекомендуемого значения для рациона питания в целом. Наибольшая вариабельность в зависимости от региона отбора образцов наблюдалась в содержании ПНЖК, которое составляло от 70% до 120% от рекомендуемого значения, что свидетельствовало о высокой пищевой ценности шпика в качестве источника ПНЖК в рационе населения.

Все образцы шпика имели в своем составе высокое содержание ω-9 МНЖК – от 27 до 28 г/100 г жира. Считается, что в составе ПНЖК максимальное соотношение жирных кислот ω-6 и ω-3 должно быть (9-10):1 [9]. Для образцов шпика от трех регионов соотношение ω-6 и ω-3 ПНЖК составило от 9:1 до 15:1, что свидетельствовало о незначительном превышении рекомендуемого значения и соответствовало справочным данным [8]. Однако для образцов из четвертого региона фактическое значение соотношения ω-6 и ω-3 составило 47:1. Это объяснялось крайне низким значением содержания ω-3 при одновременно повышенном значении содержания ω-6.

Таким образом, сопоставление результатов исследований жирнокислотного состава шпика с отечественными справочными данными, полученными до интенсивного развития свиноводства в нашей стране, не показали каких-либо кардинальных изменений в пищевой ценности шпика.

Трансфер технологий, особенно в отношении сложных биологических объектов, всегда вызывает большое количество вопросов, касающихся их правильного применения и достижения конечного результата в конкретных условиях. Так, например, по некоторым данным [8], на прижизненное формирование жирнокислотного состава шпика может оказать влияние климат. В шпике от животных, выращенных в умеренном и/или холодном климате, следует ожидать более высокое содержание ПНЖК, чем от животных из стран с жарким климатом.

Для сопоставления достигнутых отечественным свиноводством результатов в отношении пищевой ценности шпика были выбраны аналогичные исследования, проведенные в 2017 году в Чехии [10]. Современное содержание свиней практически исключает влияние климатических факторов. Однако, следует отметить, что среднегодовая температура в Чехии составляет от 5 до 10 °С, что практически соответствует среднегодовой температуре в выбранных для исследования российских регионах (от 4,7 °С /Пенза/ до 6,9 °С /Белгород).

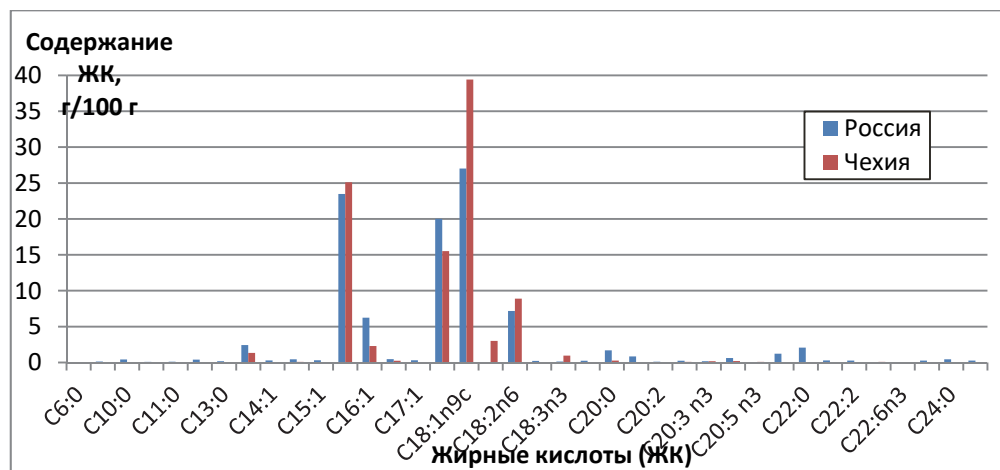


Рис.1. Сравнение усредненных данных жирнокислотного состава шпика российского и европейского производства

Как видно из рис.1, шпик российского и европейского промышленного производства, основанного на использовании гибридных животных мясного направления, имел сходный жирнокислотный состав. В шпике, произведенном в Чешской Республике, содержание НЖК, МНЖК и ПНЖК составило, соответственно, 43,04 %, 45,78 % и 11,18 %. В составе ПНЖК было отмечено жирных кислот ω -9 42,42 %, ω -6 – 9,80 %, а ω -3 – 1,38 % [10]. Таким образом, шпик европейского производства характеризовался, главным образом, более низким содержанием НЖК (в среднем в 1,25 раза) и более близким к оптимальному значению соотношением ПНЖК ω -6/ ω -3, равным 7:1.

Выводы

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие результаты и положения: проведена актуализация сведений о жирнокислотном составе шпика российского промышленного производства. Отмечено, что при современном интенсивном свиноводстве собственные шпигу модуляции жирнокислотного состава остаются и влияют на показатели пищевой ценности. В условиях повышения внимания потребителей к качеству продуктов питания и своему здоровью, а также насыщения внутреннего рынка, дальнейшее улучшение показателей пищевой ценности может стать важным фактором конкурентных преимуществ. В частности, необходима разработка научно обоснованных мероприятий, позволяющих достичь увеличения содержания в российском шпике ω -3 ПНЖК не менее чем в 3 раза.

Литература

1. J. Flanzy. Utilisation metabolique des acides gras chez le porc. /J. Flanzy, A. C. François, A. Rérat, Jacqueline Meurot. // Annales de biologie animale, biochimie, biophysique. 1970. Vol. 10 (4). P. 603–620.
2. P. Morand-Fehr. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. / P. Morand-Fehr, G. Tran. // INRA Prod. Anim. 2001. Vol. 14 (5). P. 285–302.
3. Cameron N.D. Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat / Cameron N.D., Enser M., Nute G.R., Whittington F.M., Penman J.C., Fisker A.C., Perry A.M., Wood J.D. // Meat Sci. 2000. Vol. 55. P. 187–195.
4. Nuernberg K. Sea buckthorn pomace supplementation in the finishing diets of pigs – are there effects on meat quality and muscle fatty acids? / Nuernberg K., Nuernberg G., Priepke A., Dannenberger D. // Arch. Anim. Breed. 2015. Vol. 58. P. 107–113.
5. FAO. Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. Report of an Expert Consultation. Food Nutr. Pap. 2010. V. 91. P. 1–166.
6. ГОСТ Р 55483-2013 Мясо и мясные продукты. Определение жирнокислотного состава методом газовой хроматографии.
7. Химический состав российских пищевых продуктов: Справочник / Под ред. член-корр. МАИ, проф. И. М. Скурихина и академика РАМН, проф. В. А. Тутельяна. – М.: ДеЛи принт, 2002. 236 с.
8. Заяс Ю.Ф. / Заяс Ю.Ф. / Качество мяса и мясопродуктов. – М: Легкая и пищевая промышленности. 1981. С. 73–85.

9. Нечаев А.П., Кочеткова А.А. Растительные масла функционального назначения. / Нечаев А.П., Кочеткова А.А. // Масложировая промышленность. 2005. № 3. С. 20.

10.P. Nevrlka. Meat quality and fatty acid profile of pork and backfat from an indigenous breed and a commercial hybrid of pigs. / P. Nevrlka, W. Kapelański, E. Václavková, Z. Hadaš, A.Cebulska, P. Horký // Annals of Animal Science. 2017. Vol. 17 (4). P. 1215–1227.

Сведения об авторе

Анастасия Артуровна Семенова

д-р техн. наук, проф.

заместитель директора по научной работе

Эл. почта: a.semenova@fncps.ru

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Россия, Москва

Information about author

Anastasia Arturovna Semenova

doctor of Technical Science, professor

deputy director of science

E-mail: a.semenova@fncps.ru

V.M. GorbatoV Federal Research Center for Food Systems of RAS

Russia, Moscow

УДК 637.4.04

ГРНТИ 65.61.03, 65.13:62.99

Стефанова И.Л., Шахназарова Л.В., Клименкова А.Ю.

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ И ИХ ИНГРЕДИЕНТЫ С ОЖИДАЕМЫМ ОЗДОРОВИТЕЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ

Представлены результаты исследований по созданию новых функциональных пищевых продуктов из яиц путем использования комплексного биотехнологического подхода, обеспечивающего обогащение яйцепродуктов эссенциальными нутриентами (селеном, витамином E, ω -3 ПНЖК, кальцием, йодом, органическим цинком) на всех этапах получения продуктов.

Ключевые слова: *яйцепродукты, функциональный пищевой продукт, коагулированный яичный белок и меланж, антигенность, обогащение*

Stefanova I.L., Shakhnazarova L.V., Klimentkova A.Y.

All-Russian Research and Technological Poultry Institute of RAS

FUNCTIONAL FOODS AND THEIR INGREDIENTS WITH EXPECTED HEALTH THE EFFECT

The results have been presented of researches in creation of some new functional foods from eggs by the way of complex biotechnologic approach that provide egg products enrichment with essential nutrients such as selenium, vitamin E, ω -3 PUFA, calcium, iodine, organic zinc, at all stages of these products obtaining.

Keywords: *egg products, functional food, coagulated egg white and mélange, antigenicity, enrichment.*

Приоритетной задачей государственной политики в области питания является развитие производства пищевых продуктов оздоровительного действия с целью сохранения и укрепления здоровья населения, профилактики заболеваний, обусловленных неполноценным и несбалансированным питанием. Практическая реализация этого положения предполагает, в частности, разработку и производство широкого ассортимента функциональных пищевых продуктов (ФПП).

Соответственно для повышения эффективности питания в сохранение и улучшение состояния здоровья населения целесообразно развитие новых пищевых технологий, направленных на модификацию привычных продуктов, путем включения в них ингредиентов высокой биологической и пищевой ценности, то есть на создание расширенного ассортимента функциональных пищевых продуктов.

Перспективным источником пищевого сырья с высокой биологической ценностью для производства ФПП являются куриные яйца, в первую очередь благодаря значительному содержанию сбалансированного по аминокислотному составу белка, полноценному липидному комплексу, широкому спектру макро- и микроэлементов и витаминов.

В связи с этим становится очевидной перспективность и актуальность создания новых ФПП массового потребления на основе куриного яйца, причем, для потребителя важными факторами, определяющими спрос на эти продукты, являются их безопасность и пищевая ценность, органолептические свойства и ожидаемый оздоровительный эффект.

Цель данной работы заключается в создании новых функциональных пищевых яйцепродуктов высокой биологической и пищевой ценности путем использования комплексного био-

технологического подхода, который должен обеспечить обогащение яйцепродуктов эссенциальными нутриентами на всех этапах их получения.

На первом этапе исследования были разработаны медико-биологические требования к функциональным продуктам, обусловившие составы функциональных пищевых ингредиентов (ФПИ), уровень их внесения и технологические приемы, необходимые для достижения поставленной цели.

Разрабатываемые ФПП отнесены к группе продуктов с высоким содержанием белка (не менее 20%). Они также являются источником кальция, цинка, йода, селена, ПНЖК ω -3 и витамина Е, и соответственно их содержание в составах внесения ФПИ обеспечивает 25–30% суточной потребности человека в этих нутриентах [1, с. 24-27].

Для получения функциональных продуктов использовали функциональные яйца, обогащенные ПНЖК ω -3, селеном и витамином Е [2, с. 349-366; 3, с. 700-715; 4, с. 1094-1104].

С целью получения функциональных продуктов разработан способ коагуляции яичного белка и меланжа с одновременным обогащением кальцием и йодом [5, с. 472; 6, с. 479]. Способ основан на коагуляции белка или меланжа в процессе нагрева при контролируемом рН, в результате чего вносимые кальций и йод связываются с белком.

По результатам эксперимента обоснован уровень введения в яйцепродукты порошка «Ламинар» (мелкоизмельченной высушенной морской капусты). Установлено, что введение в сырые яйцепродукты порошка «Ламинар» в количестве 0,5% обеспечивает содержание 1,43 мг йода в 100 г яйцепродуктов в коагулированном яичном белке (КЯБ) и коагулированном меланже (КМ). Исследована зависимость содержания кальция в КЯБ и КМ от уровня введения в сырые яйцепродукты минерального обогатителя в количестве 1,0; 1,3; 1,5 и 1,8% (от 525,00±0,05 до 963,60±0,096 мг/100 г). Обоснован уровень введения 1,0% минерального обогатителя из скорлупы яиц, что обеспечивает содержание кальция в КЯБ и КМ от 525,00±0,05 до 660,50±0,076 мг/100 г.

При этом обогащение меланжа кальцием приводило к повышению выхода продукта примерно на 3%.

Исследование влияния температуры нагрева на содержание йода в КЯБ в процессе коагуляции показало, что при обогащении белка 0,2% порошка «Ламинар», или 456 мкг йода на 100 г белка, массовая доля йода составила 298; 253; 311 и 281 мкг/100 г соответственно температуре нагрева (84–90°C). Потери йода составили 34,6; 44,5; 31,8 и 38,4% соответственно. При обогащении белка 0,5% порошка морской капусты «Ламинар» получена аналогичная зависимость.

При обогащении меланжа 0,2% порошка морской капусты «Ламинар» массовая доля йода в КМ в зависимости от температуры нагрева (86–92°C) составляла 0,203; 0,243; 0,258 и 0,273 мкг/100 г соответственно. При обогащении меланжа 0,5% порошка «Ламинар» массовая доля йода в КМ составляла 0,355–0,487 мкг/100 г. Таким образом, доля йода, связанная меланжем, была ниже, чем при обогащении яичного белка, что связано, по-видимому, с меньшим содержанием белка в нем.

Изучение влияния нагрева на содержание йода в обогащенных морской капустой КЯБ и КМ в процессе коагуляции показало, что содержание йода в КЯБ незначительно увеличивается при повышении конечной температуры коагуляции от 86 до 90°C. При этом выход КЯБ увеличился с 70,5 до 79,0%. Содержание йода в КМ при температуре 88; 90 и 92°C практически не менялось, при этом выход обогащенного КМ снижался по мере повышения температуры и составил 95,8; 92,3 и 89,9% соответственно.

Исследование содержания кальция в КЯБ в зависимости от уровня нагрева белка (при введении минерального обогатителя в количестве 1% от массы белка) в процессе одновременного обогащения белка кальцием и йодом выявило, что данный показатель снижается при повышении температуры коагуляции с 84 до 90°C и составляет 551,98; 518,95; 470,86 и 439,00 мг/100 г белка соответственно. Потери кальция при повышении температуры от 84 до 90°C происходили за счет выделения его с сывороткой и составили 25,2; 28,4; 35,0 и 39,4% соответственно.

Была проведена оценка *in vivo* биологической и пищевой ценности КЯБ [7, с. 44-50]. Сравнение средних значений коэффициента эффективности казеина, исходного белка и КЯБ показало, что КЭБ для животных, получавших КЯБ (1,96±0,04), был значительно выше ($p < 0.01$) по сравнению с КЭБ для животных, получавших казеин или исходный белок (1,49±0,05) и (1,60±0,02) соответственно. Также был проведен сравнительный анализ содержания антигенных структур интактного овальбумина в исходном белке и КЯБ. Результаты иммуноферментного тестирования свидетельствовали, что антигенность овальбумина исходного белка составила 33,0% относительно стандарта интактного овальбумина, антигенность которого принята за 100%. Тепловое воздействие в сочетании с подкислением белкового раствора привело к сниже-

нию этого показателя в КЯБ до 2,17% [7, с. 44-50].

Осуществлена экспериментальная сравнительная физиолого-биохимическая оценка *in vivo* влияния потребления коагулированного меланжа растущими крысами-самцами линии Вистар на их ростовые показатели и физическую выносливость.

Потребление в составе рациона КМ значительно эффективнее увеличивало их ростовые показатели и физическую выносливость по сравнению с потреблением животными рациона с некоагулированным меланжем. Эти результаты свидетельствуют о перспективности использования КМ в качестве ФПИ в составе ФПП, способствующих повышению физической выносливости и работоспособности [8, с. 18-24].

Были разработаны рецептуры функциональных продуктов (4 наименования), предусматривающие обогащение продуктов на данном этапе ферментализатом цинка [9, с. 70-75].

В результате разработанной технологии, получены продукты: «Белок функциональный коагулированный со сливками», обогащенный кальцием и органической формой цинка, «Белок функциональный коагулированный с фруктовым наполнителем», обогащенный кальцием, йодом и органической формой цинка, «Меланж функциональный коагулированный с пряными травами», обогащенный кальцием, йодом и органической формой цинка, «Меланж функциональный коагулированный с маслинами», обогащенный кальцием, йодом и органической формой цинка. Все продукты имели приятный вкус, устойчивую консистенцию. Была проведена комплексная оценка, подтвердившая соответствие функциональных продуктов установленным требованиям безопасности и качества. Состав функциональных продуктов представлен в табл. 1.

Таблица 1.

Состав разработанных продуктов

| Наименование параметра | Наименование продукта | | | |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------|
| | Белок функциональный коагулированный | | Меланж функциональный коагулированный | |
| | со сливками | с фруктовым наполнителем | с пряными травами | с маслинами |
| Массовая доля влаги, % | 80,7 | 72,3 | 69,5 | 72,5 |
| Массовая доля белка, % | 12,8 | 13,0 | 14,0 | 11,5 |
| Массовая доля жира, % | 2,0 | следы | 10,3 | 11,0 |
| Железо, мг/кг | 5,23 | 2,32 | 2,1 | 1,9 |
| Кальций, мг/кг | 4423,00 | 3622,00 | 4090,0 | 3554,5 |
| Магний, мг/кг | 148,70 | 149,80 | 99,7 | 89,55 |
| Калий, мг/кг | 1228,00 | 1101,20 | 1685,0 | 1413,8 |
| Натрий, мг/кг | 2890,00 | 3213,40 | 4573,0 | 5045,1 |
| Фосфор, мг/100 г | 36,00 | 31,70 | 238,2 | 198,2 |
| Йод, мг/100 г | - | 0,250 | 0,28 | 0,210 |
| Селен, мкг/100 г | 20,84 | 18,85 | 21,08 | 20,35 |
| Свинец, мг/кг | 0,19 | 0,19 | менее 0,1 | менее 0,1 |
| Кадмий, мг/кг | менее 0,01 | менее 0,01 | менее 0,01 | менее 0,01 |
| Мышьяк, мг/кг | менее 0,01 | 0,06 | менее 0,1 | менее 0,1 |
| Ртуть, мг/кг | менее 0,0005 | менее 0,0005 | 0,006 | 0,006 |
| Левомицетин, мг/кг | менее 0,0003 | менее 0,0003 | менее 0,0003 | менее 0,0003 |

В настоящий момент ведется работа по разработке и созданию новых функциональных продуктов с оздоровительным эффектом путем концентрирования полифенолов сорбций на белковых матриксах.

Выводы

Установлена эффективности комплексного обогащения пищевых яиц кур ω -3 полиненасыщенными жирными кислотами, витамином Е и селеном без негативного влияния на жизнеспособность и продуктивность кур, а также стоимость комбикормов. Разработаны рецептуры комбикормов.

В соответствии с разработанными медико-биологическими требованиями создана технология переработки обогащенных яиц и создания функциональных яйцепродуктов, включающая откорм птицы, обеспечивающий получение обогащенных яиц со стабильным составом функциональных компонентов, разбивание яиц, сбор меланжа или получение белка путем разделения содержимого яйца на белок и желток, составление реакционной смеси посредством внесения в белок или меланж раствора лимонной кислоты и соли, порошка морской капусты «Лами-

нар» и минерального обогатителя, перемешивание, выдержка, нагревание до температуры коагуляции, отпрессовывание сыворотки, охлаждение КЯБ и КМ, перемешивание белка или меланжа с наполнителями и ферментализатом цинка измельчение (при необходимости в зависимости от вида используемых наполнителей), фасовка, упаковка.

Разработаны рецептуры функциональных пищевых продуктов на основе яйца, с ожидаемым оздоровительным эффектом.

Авторы считают, что в данной работе новым являются положения о возможности создания функциональных продуктов на основе яйца и результаты иммуноферментного анализа интактного овальбумина в КЯБ, результаты исследования биологической ценности КЯБ и КМ в опытах на животных.

Работы выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-16-04047.

Литература

1. Стефанова И.Л., Мазо В.К., Кавтарашвили А.Ш., Мокшанцева И.В. Разработка комплексной технологии производства функциональных яйцепродуктов // Птица и птицепродукты. 2018. № 2. С. 24–27.
2. Кавтарашвили А.Ш. Производство функциональных яиц. Сообщение 1. Роль Ω -3-полиненасыщенных жирных кислот / Кавтарашвили А.Ш., Стефанова И.Л., Свиткин В.С., Новоторов Е.Н. // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 2. С. 349–366.
3. Кавтарашвили А.Ш. Производство функциональных яиц. Сообщение II. Роль селена, цинка и йода / А.Ш. Кавтарашвили, И.Л. Стефанова, В.С. Свиткин, Е.Н. Новоторов // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 4. С. 700–715.
4. Кавтарашвили А.Ш. Биофортификация куриного яйца: витамины и каротиноиды / А.Ш. Кавтарашвили, В.М. Коденцова, В.К. Мазо, Д.В. Рисник, И.Л. Стефанова // Сельскохозяйственная биология. 2017, Т. 52. № 6. С. 1094–1104.
5. New functional egg products based on melange and enriched with macro- and micronutrients/Stefanova I.L., Mazo V.K., Kavtarashvili A.Sh., Shakhnazarova L.V., Klimenkova A.Yu. // World's Poultry Science Journal The XV European Poultry Conference Dubrovnik, Croatia 17-21 september 2018. P. 472.
6. The technology of new functional foodstuffs based on egg albumen enriched with calcium and iodine / Stefanova I.L., Mazo V.K., Gushchin V.V., Klimenkova A.Yu. // World's Poultry Science Journal The XV European Poultry Conference Dubrovnik, Croatia 17-21 september 2018. P. 479.
7. Сидорова Ю.С. Оценка биологической ценности и антигенности коагулированного белка куриного яйца / Сидорова Ю.С., Мазо В.К., Зорин С.Н., Стефанова И.Л. // Вопросы питания. 2018. № 1. С. 44–50.
8. Стефанова И.Л. Влияние коагулированного яичного меланжа на физическую выносливость растущих крыс-самцов линии Вистар: физиолого-биохимическая оценка. / Стефанова И.Л., Гушин В.В., Зорин С.Н., Мазо В.К. // Вопросы питания. 2019. № 2. С. 18–24.
9. Стефанова И.Л. Получение и физико-химическая характеристика функционального пищевого ингредиента – комплекса цинка с ферментализатом белка куриного яйца / И.Л. Стефанова, В.К. Мазо, И.В. Мокшанцева // Вопросы питания. 2017. № 2. С. 70–75.

Сведения об авторах

Изабелла Львовна Стефанова

д-р техн. Наук

главн. Научн. сотр. лаб. технологии детских и специальных продуктов ВНИИПП

Эл. почта: dp.vniipp@mail.ru

Людмила Васильевна Шахназарова

канд. техн. Наук

вед. Науч. сотр. лаб. технологии детских и специальных продуктов ВНИИПП

Эл. почта: dp.vniipp@mail.ru

Анастасия Юрьевна Клименкова

Науч. сотр. лаб. технологии детских и специальных продуктов ВНИИПП

Эл. почта: dp.vniipp@mail.ru

ВНИИПП- филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН

РФ, Московская обл., Солнечногорский р-н, пос. Ржавки

Information about authors

Izabella Lvovna Stefanova

the Doctor in Technics

the chief researcher of the laboratory for child and special products, ARSRIPPI

E-mail: dp.vniipp@mail.ru

Liudmila Vasilevna Shakhnazarova

Phd in Technics

the leading researcher of the laboratory for child and special products, ARSRIPPI

E-mail: dp.vniipp@mail.ru

Anastasia Yurevna Klimenkova

the researcher of the laboratory for child and special products ARSRIPPI

E-mail: dp.vniipp@mail.ru

ARSRIPPI

Russia, Moscow Province

ОЧИСТКА ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВЫХ СТОЧНЫХ ВОД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУР ЦИАНОБАКТЕРИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Рассмотрены возможности использования для очистки сточных вод культур микроводорослей и цианобактерий, либо отходов переработки древесины, с последующим использованием органического материала.

Ключевые слова: цианобактерии, микроводоросли, бактерии, иммобилизованные культуры, водная токсикология, биологическая очистка.

¹Savanina Ya.V., ¹Barsky E.L., ²Fomina I.A., ¹Lobakova E.S.
¹M.V. Lomonosov Moscow State University
²Department of Federal service for supervision
in the sphere of nature in the Central Federal district

CLEANING OF ECONOMIC AND DOMESTIC WASTERWATER USING CULTURE OF CEANOBACTERIA AND MICROALGAE.

The possibilities of use for sewage treatment of microalgae and cyanobacteria cultures, or wood processing waste, with the subsequent use of organic material are considered.

Keywords: cyanobacteria, microalgae, bacteria, immobilized cultures, water toxicology, biological cleaning

Введение. Вода является одним из важнейших экономических ресурсов России. Регулирование водных отношений осуществляется исходя из представления о водном объекте как о важнейшей составной части окружающей среды, среде обитания объектов животного и растительного мира, в том числе водных биологических ресурсов, а также как о природном ресурсе, используемом человеком для личных и бытовых нужд. При использовании водных объектов необходимо минимизировать негативное воздействие на окружающую среду [1].

Постоянно возрастающий уровень антропогенного воздействия на водную среду приводит к ухудшению ее качества. Процессы самовосстановления и самоочищения уже не справляются с поступающими в окружающую среду загрязняющими веществами. В городской среде к основным загрязнителям почв и поверхностных вод по объему поступления и по потенциальной биологической и экологической опасности относятся тяжелые металлы, углеводороды, включая полициклические ароматические углеводороды, и хлорорганические соединения (растворители, пестициды). В качестве основных источников загрязнения природных вод выделяют предприятия металлургической и горнодобывающей промышленности, тепловые электростанции, предприятия по переработке нефти, строительство и транспорт [2]. Важным вопросом общей проблемы охраны водоемов является биологическая очистка сточных вод, основанная на деятельности различных микроорганизмов. В системе очистных сооружений для доочистки различных типов сточных вод наиболее широко используют биологические пруды, биофильтры, поля фильтрации. Биологическое самоочищение в них осуществляется в результате жизнедеятельности всех групп организмов, входящих в данную экосистему [2].

Развитие и застройка ряда территорий, где наблюдается значительный физический износ инженерных систем и технологического оборудования существующих очистных сооружений приводят к необходимости дополнения существующих систем очистки.

Цель работы. Проанализировать возможность дополнения имеющихся систем очистки сточных вод на основании обследования очистных сооружений городского округа Власиха

Материалы и методы. Отбор проб – п. Власиха, Московская область, водопроводные сети МУП. Методы испытаний приведены в табл.1.

Результаты и обсуждение. В таблицах 1-3 мы приводим данные, полученные при обследовании сточных вод городского округа Власиха Московской области. Водоотведение от потребителей, включая население (27 тыс. чел.), административные здания (столовые, детсады, школы и медучреждения), а также сезонные паводковые, дождевые и грунтовые воды в среднем составляет около 5,4 тыс.м³, что соответствует норме водопотребления населения. В паводковые месяцы количество фактически приходящих на комплекс очистных сооружений в

среднем за два года несколько дней было выше 7,9 тыс.м³ в сут. В ближайшие годы объем сточных вод, приходящихся на комплекс очистных сооружений, превысит 10 тыс. м³ в сутки.

Измерения проводились в зимний период (декабрь, март). Было отмечено превышение нормы (ПДК) по аммонийному азоту и нитратам, органическим веществам (БПК), фосфатам, а также СПАВ и нефтепродуктам (табл. 1), причем со значительной частью загрязнений не справляется и самоочистка водотока (табл. 2. 3). Таким образом, технологический цикл очистки не обеспечивает нормативных показателей качества очищенной воды.

Таблица 1.

Гидрохимические показатели хозяйственно-бытовых сточных вод п. Власиха Московской области на входе (1) и выходе (2) очистных сооружений (01.02. 2017).

| Гидрохимический показатель, мг/л | 1 | 2 | ПДК | Метод испытаний |
|----------------------------------|-------|------|------|-------------------------|
| NH ₄ ⁺ | 50 | 3,7 | 0,5 | МВИ 01.1:1.2.4.16-05 |
| БПК (O ₂) | 267 | 4,2 | 2,0 | ПНД Ф 14.1:2:3:4.123-97 |
| Взвешенные в-ва | 104 | 5,0 | 10,0 | ПНД Ф 14.1:2.110-97 |
| Fe (общее) | 1,8 | 0,17 | 0,1 | МВИ 01.1:1.4.2.2.18-05 |
| Нефтепродукты | 0,91 | 0,06 | 0,05 | ПНД Ф 14.1:2.4.128-98 |
| NO ₂ ⁻ | 1,5 | 12,4 | 40,0 | ПНД Ф 14.1:2.4.4-95 |
| NO ₃ ⁻ | <0,02 | 1,51 | 0,08 | ПНД Ф 14.1:2.4.3-95 |
| СПАВ | 2,6 | 0,17 | 0,1 | ПНД Ф 14.1:2.4.256-2009 |
| SO ₄ ²⁻ | 222 | 98 | 100 | ПНД Ф 14.1:2.159-2000 |
| PO ₄ ³⁻ | 17 | 5,1 | 0,2 | РД 52.24.382-2006 |
| Cl ⁻ | 77 | 55 | 300 | ПНДФ 14.1:2.111-97 |

Таблица 2.

Гидрохимические показатели хозяйственно-бытовых сточных вод п. Власиха Московской области на входе (1) и выходе (2) очистных сооружений, а также выше (3) и ниже (4) по течению (21.12. 2016)

| Гидрохимический показатель, мг/л | 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| NH ₄ ⁺ | 50,9 | 3,21 | 3,16 | 1,01 |
| БПК (O ₂) | 210 | 6,6 | 4,6 | 0,7 |
| Взвешенные в-ва | 203 | 13 | 5 | <3,0 |
| Fe (общее) | 0,94 | 0,32 | 0,4 | 0,13 |
| Нефтепродукты | 1,49 | 0,19 | 0,09 | 0,029 |
| NO ₂ ⁻ | 1,9 | 49 | 48 | 10,2 |
| NO ₃ ⁻ | <0,02 | 1,85 | 2,04 | 0,08 |
| СПАВ | 2,7 | 0,064 | 0,071 | 0,05 |
| SO ₄ ²⁻ | 232 | 183 | 196 | 118 |
| PO ₄ ³⁻ | 17,9 | 4,53 | 4,18 | 0,5 |
| Cl ⁻ | 23,0 | 37 | 52 | 87 |

Таблица 3.

Гидрохимические показатели хозяйственно-бытовых сточных вод п. Власиха Московской области на входе (1) и выходе (2) очистных сооружений, а также выше (3) и ниже (4) по течению (15.03. 2017)

| Гидрохимический показатель, мг/л | 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------------------------------|-------|--------|--------|--------|
| NH ₄ ⁺ | 18,0 | 5,1 | 0,22 | 2,7 |
| БПК (O ₂) | 185 | 1,8 | 3,5 | 2,9 |
| Взвешенные в-ва | 136 | <3,0 | 5 | 9 |
| Fe (общее) | 1,57 | 1,0 | 1,25 | 1,04 |
| Нефтепродукты | 1,16 | 0,12 | 0,20 | 0,14 |
| NO ₂ ⁻ | <0,6 | 7,9 | 27,0 | 42 |
| NO ₃ ⁻ | <0,02 | 2,69 | 0,093 | 1,39 |
| СПАВ | 0,19 | <0,025 | <0,025 | <0,025 |
| SO ₄ ²⁻ | 177 | 169 | 50 | 104 |
| PO ₄ ³⁻ | 15,2 | 4,9 | <0,05 | 2,2 |
| Cl ⁻ | 66,0 | 57 | 96 | 89 |

Для доочистки сточных вод можно предложить следующие варианты:

1) цианобактерии и микроводоросли, растущие в интенсивной культуре – в биореакторе или иммобилизованные на носителе.

«Экстенсивная» доочистка различных типов сточных вод осуществляется в биологических прудах, биофильтрах, на полях фильтрации в результате жизнедеятельности всех групп организмов, входящих в данные экосистемы. Для ускорения многих процессов биологического самоочищения и улучшения питьевых качеств воды большое значение имеет обогащение ее кислородом, который выделяется водорослями в процессе фотосинтеза. Установлено, что фотосинтетическая аэрация водоемов соизмерима с атмосферной.

Основными группами фототрофных микроорганизмов в водоемах, в которые поступают сточные воды, являются зеленые, эвгленовые и диатомовые микроводоросли, а также цианобактерии. Среди зеленых микроводорослей доминируют обычно Chlorococcales, устойчивые к длительному воздействию многих токсических веществ.

При культивировании зеленых микроводорослей на сточных водах в них снижается содержание минеральных форм азота и фосфора, увеличивается рН среды, что является одним из существенных факторов очистки. Как источник фосфора микроводоросли могут утилизировать даже синтетические детергенты. Клетки микроводорослей способны аккумулировать из воды различные химические элементы, включая металлы, с достаточно высокими коэффициентами накопления [3].

Интенсивность очистки повышается при использовании биореакторов, либо клеток, иммобилизованных на носителе. Иммобилизованная культура (в гранулах геля, на синтетическом волокне) характеризуется сниженной скоростью роста и фотосинтеза при сохранении высокой скорости метаболизма (). Биомасса водорослей может быть использована для получения ряда ценных органических веществ или для производства удобрений [4].

2) использование для доочистки сточных вод древесных отходов. При ежегодной заготовке древесины в России на уровне 500 млн. м³ общий выход ее отходов составляет 300 млн. м³ ().

В зависимости от производства, при котором образуются древесные отходы, их можно подразделить на два вида: отходы лесозаготовок и отходы деревообработки. Отходы лесозаготовок - это отделяемые части дерева в процессе лесозаготовительного производства. К ним относятся хвоя, листья, недревесневшие побеги, ветви, сучья и пр. Древесные отходы также образуются при рубке низкокачественной древесины, вершин, крупномерных сучьев, при санитарной рубке, в процессе ухода за зелеными насаждениями на улицах, в парках, скверах, бульварах и лесопарках [5].

Отходы деревообработки - это горбыль, стружка, опилки и пр. На долю коры приходится от 8 до 15% объема древесины. Ежегодно на предприятиях образуется около 30 млн. м³ коры. Даже незначительное количество древесных отходов приводит с течением времени к образованию больших отвалов, где они подвергаются действию атмосферного воздуха, влаги, микроорганизмов и различных беспозвоночных. При этом биомасса отходов разрушается с выделением большого количества различных веществ, многие из которых токсичны и канцерогенны [5].

Отходы деревопереработки и отходы коры могут использоваться для очистки и доочистки сточных вод, в частности, от нефтепродуктов. Нефтепродукты являются одними из наиболее опасных компонентов загрязнений. В воде они могут находиться в различных миграционных формах – растворенной, эмульгированной, сорбированной на взвешенных частицах и донных отложениях, в виде пленки на поверхности воды.

Показано, что эффективность сорбента из измельченной коры и древесины зависит от наличия достаточной площади поверхности. Увеличение сорбционной способности наблюдается с повышением температуры и при увеличении концентрации адсорбируемых веществ. Чем выше начальная концентрация бензина в анализируемой пробе, тем более полно идет его поглощение отходами деревопереработки [6].

Использованные при доочистке сточных вод древесные отходы в дальнейшем могут применяться для производства гумуса. В естественных условиях под воздействием комплекса почвенных микроорганизмов кора разлагается несколько десятков лет. Корокомпосты обеспечивают накопление гумуса на 15 - 20% больше, чем обычные органические удобрения (). В тоже время для коры характерно неблагоприятное соотношение углерода и азота (C:N=150:1), что затрудняет микробиологические окислительные процессы. При внесении азота и фосфора (до 1-1,5 %) в измельченную кору скорость окисления содержимого клеток увеличивается до нескольких месяцев (). Лучшими источниками азота являются аммонийные формы удобрений, которые создают нейтральную реакцию среды. Сточные воды (табл. 1-3) содержат избыток азота.

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

Для дополнения существующих очистных сооружений (на время их реконструкции) предлагается использовать интенсивную культуру микроводорослей (цианобактерий) либо в качестве загрузочного материала измельченные древесные отходы (городского хозяйства). Переработанные органические материалы также могут быть использованы в производстве гумуса.

Литература

1. Водный кодекс Российской Федерации от 03.06.2006 N 74-ФЗ (ред. от 31.10.2016) (статья 5)
2. Янин Е.П. Ремедиация территорий, загрязненных химическими элементами: общие подходы, правовые аспекты, основные способы (зарубежный опыт). Проблемы окружающей среды и природные ресурсы: обзорная информация/ ВИНТИ РАН. 2014. № 3. С. 3–105.
3. <http://volimo.ru/books/item/f00/s00/z0000018/st064.shtml>. 17.04.2019.
4. Васильева С.Г., Лобакова Е.С., Лукьянов А.А. 2016. Применение иммобилизованных водорослей в биотехнологии // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – М.: Изд-во Моск. ун-та, № 3. С. 65–72.
5. Никишов В.Д. Комплексное использование древесины: учебник для вузов/В.Д. Никишов. – М.: Лесная промышленность, 1985. 264 с.
6. <https://cyberleninka.ru/article/n/novaya-tehnologiya-borby-s-neftyanymi-zagryazneniyami-na-osnove-gidrofobnyh-i-oleofilnyh-sorbentov>. дата обращения 16.04.2019
7. Способ получения органического удобрения из древесной коры. Патент РФ №1052505. 1983. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <#"justify">28.Сомин В.А. Очистка воды от ионов металлов на сорбентах из древесных отходов и минерального сырья/В.А. Сомин, А.А. Фогель, Л.Ф. Комарова // Экология и промышленность России. 2014. № 2. С. 56–60.

Сведения об авторах

Янина Вячеславовна Саванина

канд. биол. наук

науч. сотр.

Эл. почта: v.savanin@gmail.com

Евгений Львович Барский

канд. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: gene_b@mail.ru

Елена Сергеевна Лобакова

д-р биол. наук

проф.

Эл. почта: elena.lobakova@gmail.com

МГУ имени М.В. Ломоносова

Ирина Алексеевна Фомина

канд. биол. наук

Эл. почта: irinafomina.net@mail.ru

Департамент Федеральной службы по надзору в сфере природопользования по Центральному федеральному округу

Россия, Москва

Information about authors

Yanina V. Savanina

Ph.D.

research fellow

E-mail: v.savanin@gmail.com

Evgeny L. Barsky

Ph.D.

leading sci. officer

E-mail: gene_b@mail.ru

Elena S. Lobakova

DS

Prof.

E-mail: elena.lobakova@gmail.com

M. V. Lomonosov Moscow State University

Irina A. Fomina

Ph.D.

E-mail: irinafomina.net@mail.ru

Department of Federal service for supervision in the sphere of nature in the Central Federal district Russia, Moscow

ЭНДОКРИННЫЕ ДИСРАПТОРЫ И ТИРЕОИДНАЯ ПАТОЛОГИЯ

Проведено сравнительное исследование влияния эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана на функционирование щитовидной железы в различные возрастные периоды и показана роль дисраптора в развитии тиреоидной патологии.

Ключевые слова: эндокринный дисраптор, щитовидная железа, гипотиреоз, ДДТ, секреция, тиреоидные гормоны, развитие

Yaglova N.V.

Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology

ENDOCRINE DISRUPTING CHEMICALS AND THYROID DISEASES

Affection of thyroid function by endocrine disrupter dichlorodiphenyltrichloroethane in different periods of ontogeny was investigated. The results of the study revealed relationship between DDT exposure and development of thyroid pathology.

Key words: endocrine disrupter, thyroid gland, hypothyroidism, DDT, secretion, thyroid hormones, development

По имеющимся оценкам, факторы окружающей среды связаны с возникновением до 24% всех заболеваний и нарушений здоровья на планете, и до 80% заболеваний, вносящих наибольший вклад в общую смертность, таких как злокачественные опухоли, респираторные и сердечнососудистые заболевания [1]. Поскольку нарушение работы эндокринной системы является основным фактором для наиболее распространенных из этих заболеваний, то эндокринные дисрапторы могут вносить в них решающий вклад. Эндокринных дисрапторы – вещества, способные влиять на эндокринную функцию природных гормонов, нарушая любые этапы продукции и взаимодействия гормонов с клетками-мишенями, при этом действуя в ничтожно низких дозах, аналогичных дозам естественных гормонов [2]. Среди большого количества дисрапторов особую значимость имеют исследования дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) – пестицида, широкое применение которого в сельском хозяйстве в прошлом веке и в качестве средства для борьбы с трансмиссивными заболеваниями в настоящее время, а также длительный период полураспада привели к распространению и персистенции абсолютно во всех экосистемах планеты. На территории Российской Федерации ДДТ также повсеместно выявляется в почвах и водах, и соответственно, в биомассе. В 2006г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) приняла решение о продолжении применения ДДТ для контроля малярии в 12-ти странах мира. В их числе страны Латинской Америки, Индия, некоторые африканские государства. В развитых странах основным источником воздействия низких доз ДДТ являются продукты питания. Их содержание нормируется максимально допустимыми уровнями.

По данным ВОЗ заболевания щитовидной железы (ЩЖ) заняли ведущее место среди патологий эндокринной системы [1]. На сегодняшний день заболевания ЩЖ выходят на лидирующие позиции в общей структуре заболеваемости развитых стран. В начале 21 века они опередили сердечно-сосудистую патологию по распространенности, а поскольку не все заболевания ЩЖ своевременно диагностируются, то реальная заболеваемость может быть значительно выше. Одновременно регистрируется и постепенное, но уверенное увеличение числа случаев врожденного гипотиреоза [3, 4]. В России также отмечается увеличение числа заболеваний ЩЖ как у взрослого, так и у детского населения [5].

В связи с вышесказанным перед исследователями ВОЗ и Международное общество эндокринологов поставило задачи по выявлению проявлений действия дисрапторов, механизмов их действия, дозозависимых эффектов. Второй большой раздел исследований – это воздействие дисрапторов на развивающийся организм в пренатальном и постнатальном периодах, определение периодов критической уязвимости, особенностей реагирования клеток, тканей и органов развивающегося организма и адаптации.

Цель исследования – изучить влияние тех низких доз, в которых ДДТ оказывает именно гормоноподобное, а не токсичное действие и которым человек ежедневно подвергается, потребляя продукты питания согласно максимально допустимым уровням содержания ДДТ, на ЩЖ взрослого и развивающегося организма.

Методика исследования

Исследования выполнены на самцах крыс Вистар (n=50). Половозрелые крысы потребляли раствор о,п,-ДДТ с концентрацией 20 мкг/л (n=20). Новорожденные крысы (n=20) подвергались воздействию низких доз ДДТ лактационным путем в течение 21 суток, затем потребляли самостоятельно аналогичный раствор ДДТ. Среднесуточное потребление ДДТ составило от 1,8 мкг/кг у взрослых и 3,8 мкг/кг у развивающихся животных, что соответствует фоновому воздействию ДДТ на организм человека с учетом различий в кинетике ДДТ. Крысы контрольной группы потребляли водопроводную воду. Крыс выводили из эксперимента через 4, 6 и 10 недель после начала потребления ДДТ. Проводили гистологическое, иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование ЩЖ, определяли показатели тиреоидного статуса организма.

Результаты исследования

Исследование показало, что даже столь низкие дозы ДДТ подавляют функциональную активность ЩЖ взрослого организма, что подтверждается результатами морфологических исследований, выявивших типичные пониженной функциональной активности, такие как снижение высоты фолликулярных тироцитов, уменьшение размеров ядер тироцитов и увеличение размера фолликулов и снижение концентрации тироксина [6]. Изучение молекулярных основ этих изменений показало, что одной из главных причин снижения функционального потенциала является нарушение первой фазы секреторного цикла фолликулярного тироцита – поступление в клетку исходных продуктов, а именно йода по причине снижения синтеза натрий-йодного симпортера, осуществляющего проникновение йодидов в клетку против электрохимического градиента [7, 8]. Это приводит к снижению йодирования тироглобулина.

Вторая причина - снижение синтеза тироглобулина и лизосомальных белков, что подтверждается уменьшением площади гЭПС, количества лизосом и, как следствие, застоем резорбированного коллоида в цитоплазме, количества микроворсинок на апикальной поверхности клеток, что свидетельствует о снижении транспорта тироглобулина через апикальную мембрану. Снижение продукции тиреоидных гормонов вызывало увеличение секреции ТТГ по принципу обратной связи, что влекло за собой реактивные изменения в ЩЖ. Через 6 недель после начала потребления ДДТ в ЩЖ и фолликулярных тироцитах появляются признаки увеличения функциональной активности, направленные на усиление захвата йода и его органификации, а именно увеличения экспрессии тиропероксидазы – фермента, обеспечивающего йодирование молекулы тироглобулина в полости фолликулов.

Электронно-микроскопические исследования показали, что реактивные изменения на повышение уровня ТТГ на фоне воздействия дисраптора отличаются более слабой синхронизацией секреторной деятельности паренхимы. У крыс в строении долей ЩЖ выделяется периферическая, более синхронно и упорядоченно функционирующая зона и центральная зона, в которой, как правило, асинхрония более выражена, поскольку именно в этих участках происходят реактивные изменения, обеспечивающие поддержания необходимого для гомеостаза уровня гормонов.

При воздействии ДДТ в клетках периферической зоны мы наблюдали выраженную асинхронию фаз секреторного цикла. Встречались клетки, с развитой гЭПС, активно осуществляющие синтез тироглобулина, но не лизосомальных ферментов, клетки, синтезирующие тироглобулин, но без признаков оформления секрета и слабо выделяющие его в полость фолликулов, а также клетки, усиливающие как синтез тироглобулина, так и формирование лизосом, секреторных везикул, увеличение числа и длины микроворсинок, то есть с нормализацией процессов транспорта через апикальную мембрану. В фолликулярных тироцитах центральной зоны долей отмечалось усиление формирования лизосом и расщепления тироглобулина. Эти процессы превалировали над процессами синтеза и выделения тироглобулина в полость фолликулов.

В целом, это приводило к увеличению продукции тироксина, но в значительной степени его конвертации в более активную форму трийодтиронин, что свидетельствует о развитии существенного йододефицита под действием ДДТ [].

Уже на стадии реактивного усиления функциональной активности клеток было выявлено появление фолликулов меньшего размера в центральной зоне долей. Это указывает на то, что стимулирующее воздействие ТТГ способно усилить синтез и расщепление резорбированного

тироглобулина, но не способно восстановить экспрессию натрий-йодного симпортера, подавленную дисраптором.

Увеличение количества тироцитов позволило повысить общую продукцию натрий-йодного симпортера и снизить экспрессию тирепероксидазы до нормального уровня. Несмотря на это, тиреоидный статус животных характеризовался как гипотиреоз, так как отмечался дефицит трийодтиронина. Причиной этого была неспособность повышенного уровня ТТГ восстановить секреторную деятельность тироцита, продолжавшего находиться под дисрапторным действием ДДТ.

Исследование показало, что в ЩЖ фолликулярные тироциты подразделялись на 2 вида по особенностям секреторного процесса. Первый – это клетки, адекватно реагирующие на стимуляцию рецепторов ТТГ. Они характеризовались активацией и процессов резорбции и расщепления тироглобулина и его синтеза, о чем свидетельствовали увеличение размеров клеток и их ядер, расширение канальцев гЭПС, расширение цистерн комплекса Гольджи, увеличение количества секреторных везикул и лизосом, удлинение микроворсинок и даже появление макропиноцитоза коллоида. Эти клетки встречались в составе микрофолликулов и видимо являлись результатом пролиферации эпителия.

Второй тип клеток характеризовался отсутствием микроворсинок или уменьшением их числа, опустошением апикальной части клеток, отсутствием лизосом и секреторных везикул. Логично предположить, что это более старые клетки, находящиеся под более длительным воздействием дисраптора, а поэтому слабо реагирующие на стимулы ТТГ. То есть дисрапторное действие ДДТ в определенной степени сходно с ингибирующим действием тироглобулина и нарушает базально-апикальную регуляцию тироцитов, оказывая прессиорное и стимулирующее действие на одни и те же процессы. Так, например, в клетках с резким уменьшением числа микроворсинок, стимул ТТГ вызывал удлинение оставшихся ворсинок и даже макропиноцитоз ими коллоида, но не вызывал усиление образования лизосом, способных осуществить протеолиз резорбированного тироглобулина. Это приводило к компенсаторным изменениям секреторной деятельности тироцитов, таким как микроапокриновый способ выделения секрета путем клазматоза апикальной части цитоплазмы. Таким образом, клетки переходили с регулируемого типа секреции на конститутивный, то есть выделение синтезируемых продуктов без оформления секреторных гранул, минуя комплекс Гольджи. При этом в полость фолликула попадает не только тироглобулин, но и протеаза катепсин К, обычно не оформляемая в лизосомы, что позволяет расщеплять тироглобулин непосредственно в полости фолликулов. Таковы были основные механизмы и проявления дисрапторного действия ДДТ на функционально зрелую железу.

Вторым этапом исследования было воздействие низких доз ДДТ на развивающийся организм с первого дня постнатального онтогенеза.

Установлено, что воздействие дисраптора вызывает нарушения функционирования ЩЖ, приводящие к развитию гипотиреоза к пубертатному периоду (6 недель).

Также как и у половозрелых особей ДДТ подавляет синтез натрий-йодного симпортера, но оно развивалось более медленными темпами и начиналось с периферических зон долей ЩЖ. Недостаточное поступление йода обуславливало уменьшение продукции тироксина. Это, как и у взрослых, вызывало адекватную реакцию со стороны гипоталамо-гипофизарного комплекса и приводило к реактивному повышению секреции ТТГ и рецепторов к нему.

Повышенный уровень ТТГ стимулировал синтетическую активность клеток, в том числе и синтез тиреопероксидазы, особенно в центральной зоне долей щитовидной железы. То есть мы наблюдали аналогичные реактивные изменения, направленное на восстановление эутиреоза.

Электронно-микроскопические исследования выявили снижение формирования лизосом в клетках. Особенно сильно дефицит лизосом был выражен в тироцитах центральной зоны долей железы. Отмечалось нарушение транспорта тироглобулина через апикальную мембрану, более выраженное в периферических зонах долей. Наблюдалось как замедление выделения секреторных гранул в полость фолликулов, так и еще более выраженное снижение резорбции тироглобулина, что подтверждало отсутствие коллоидных капель в цитоплазме тироцитов, которые неизбежно скапливаются в ней при дефиците лизосом. Нарушения секреторного цикла фолликулярных тироцитов приводили к скоплению тироглобулина в полости фолликулов и к увеличению размеров фолликулов в щитовидной железе.

Исследование, проведенное через 10 недель после начала эксперимента, то есть после достижения крысами половой зрелости показало, что в отличие от взрослых особей продолжающееся воздействие ДДТ не вызывало развития компенсаторных изменений. Более того, нарушения в органификации йода в железе усиливались. Это было связано с продолжающимся подавлением экспрессии как натрий-йодного симпортера, охватившем всю паренхиму железы, а также и снижением синтеза тиреопероксидазы в центральной зоне долей. В сумме эти изменения являлись причиной уменьшения продукции тиреоидных гормонов. То есть также как и в пубертатном периоде у половозрелых крыс наблюдался гипотиреоз, но уже с дефицитом наиболее активной формы гормонов – трийодтиронина. На данном этапе были выявлены нарушения в регуляции деятельности железы гипоталамо-гипофизарным комплексом. Повышенный уровень ТТГ сохранялся и продолжал стимулировать синтетическую активность тироцитов. Это способствовало нормализации фаз секреторного цикла. Важно отметить, что это происходило без изменения типа секреции с сохранением регулируемого типа и мерокринового способа выделения секрета фолликулярными тироцитами. Столь длительное и значительное усиление синтетических процессов в фолликулярных эпителиоцитах приводило к их гибели, гибели фолликулов и даже целых долек, а не к микрофолликулярной перестройке, как при воздействии на взрослый организм.

Это свидетельствует о нарушении гистофизиологии органа и его неспособности к развитию ТТГ-зависимых типовых приспособительных изменений, направленных на восстановление эутиреоза, таких как увеличение числа фолликулов в единице объема паренхимы, как при йодной недостаточности и эндемическом зобе.

Выводы

Все вышесказанное позволяет сделать вывод, что ДДТ как эндокринный дисраптор нарушает секреторную деятельность фолликулярных тироцитов, снижая экспрессию натрий-йодного симпортера, транспорт тироглобулина через апикальную мембрану, выключает функцию комплекса Гольджи и нарушает баланс регуляции клеток тиреотропным гормоном и тироглобулином. Воздействие низких доз эндокринного дисраптора ДДТ с первого дня постнатального онтогенеза вызывает изменения гистофизиологии ЩЖ и приводит к снижению продукции гормонов, а также нарушение развития ТТГ-зависимых приспособительных изменений, что указывает на снижение адаптационных возможностей ЩЖ, а, следовательно, предрасполагает к развитию тиреоидной патологии.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показаны механизмы дисрапторного действия низких доз ДДТ на ЩЖ при сформированной морфологически и функционально гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси и на развивающуюся ЩЖ и формирующуюся гипоталамо-гипофизарную регуляцию ее деятельности, а также особенности формирования компенсаторно-приспособительных реакций ЩЖ при воздействии ДДТ с первого дня постнатального развития.

Литература

1. World Health Organization. 2006. Preventing disease through healthy environments - towards an estimate of the environmental burden of disease. Geneva: World Health Organization.
2. Diamanti-Kandarakis E.; Bourguignon J.P.; Giudice L.C.; Hauser R.; Prins G.S.; Soto A.M.; Zoeller R.T.; Gore A.C. Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement // *Endocr. Rev.* 2009. V. 30. P. 293–342.
3. Gore A.C., Chappell V.A., Fenton S.E., Flaws J.A., Nadal A., Prins G.S., Toppari J., Zoeller R.T. EDC-2, The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals // *Endocr. Rev.* 2015. V. 36. E1–E150.
4. Calsolaro V., Pasqualetti G., Niccolai F., Caraccio N., Monzani F. Thyroid disrupting chemicals // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. No. 12. P. 2583.
5. Заболеваемость всего населения в России в 2017г. Статистические материалы // Министерство здравоохранения и социального развития РФ. Москва, 2018.
6. 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.
7. 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.

8. Яглова Н.В., Яглов В.В. Механизмы дисрапторного действия дихлордифенилтрихло-рэтана (ДДТ) на функционирование фолликулярных эпителиоцитов щитовидной железы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т.160. № 8. С. 196–199.

Сведения об авторе

Яглова Наталья Валентиновна

Д-р мед. Наук

зав. Лаб. развития эндокринной системы

Эл. почта: yaglova@mail.ru

ФГБНУ «НИИ морфологии человека»

Россия, Москва

Information about author

Natalia Valentinovna Yaglova

D. Med. Sc.

Head of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: yaglova@mail.ru

Research Institute of Human Morphology

Russia, Moscow

УДК 615.03

ГРНТИ 76.31.29

Брюшнина О.С., Яновская Е.А., Зюзькова Ю.Г., Удут В. В.

ФГБНУ НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ОРИГИНАЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ИНГИБИТОРА НЕЙРАМИНИДАЗЫ В ЦИРКУЛИРУЮЩЕМ ПУЛЕ

Разработана и валидирована биоаналитическая методика количественного определения осельтамивира этоксисукцината в плазме крови животных с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Изучена фармакокинетика лекарственного средства в плазме крови крыс и кроликов при внутрижелудочном и внутривенном введении.

Ключевые слова: *осельтамивира этоксисукцинат, фармакокинетика, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия*

Brushinina O.S., Yanovskaya E.A., Zyuz'kova Yu.G., Udut V.V.

E. D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine

PRECLINICAL STUDY OF PHARMACOKINETICS OF THE ORIGINAL DRUG BASED ON NEURAMINIDASE INHIBITOR IN A CIRCULATING POOL

Developed and validated bioanalytical method for the quantitative determination of oseltamivir of ethoxyacrylate in the blood plasma of animals using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection. Pharmacokinetics of the drug in the blood plasma of rats and rabbits with intragastric and intravenous administration was studied.

Keywords: *oseltamivir ethoxyacrylate, pharmacokinetics, high performance liquid chromatography, mass spectrometry.*

Введение. Ежегодно грипп вызывает эпидемии или даже пандемии, нередко приводя к смертельному исходу. В настоящее время существует два основных метода профилактики гриппа – это специфическая профилактика посредством вакцинации и неспецифическая, в том числе с использованием химиопрепаратов. Оба метода не могут гарантировать абсолютную защиту. Следовательно, поиск и внедрение в клиническую практику лекарственных средств для профилактики и лечения гриппа и других ОРВИ продолжают оставаться актуальной проблемой [4]. В настоящем исследовании рассматривается фармакокинетика нового противовирусного лекарственного средства этил (3S,4R,5S)-4-ацетамидо-5-амино-3-(1-этилпропокси)-циклогекс-1-ен-1-карбоксилата этоксисукцинат (осельтамивира этоксисукцинат) для лечения гриппа.

Цель работы. Изучить фармакокинетику лекарственного средства (ЛС) осельтамивира этоксисукцината (ОСТ) для лечения гриппа в плазме крови животных.

Материалы и методы. В исследовании использованы в качестве основных животных 80 крыс–самцов со средней массой тела 300 г. В качестве второго вида животных использовали 12 кроликов–самцов со средней массой тела 2750 г. [3]. Опытным животным (крысам и кроликам) вводили ЛС на основе ОСТ в виде 1% крахмального раствора внутрижелудочно. Для оценки биодоступности препарата этим же кроликам, после периода отмывки препарата из организма (через 2 недели), вводили ЛС растворенное в 0,9% натрия хлориде внутривенно. В качестве

основного биологического материала использовали плазму крови. Доза ЛС для крыс составила 17 мг/кг, доза для кроликов была 7 мг/кг.

Забор крови у крыс после внутрижелудочного введения осуществляли у наркотизированных животных с помощью пункции сердца в объеме 6 мл. После забора крови животное умерщвляли в CO₂ камере. Забор крови у кроликов после внутрижелудочного и внутривенного введения осуществляли из краевой ушной вены. При всех способах забора крови использовали антикоагулянт – трехзамещенный 5,5-водный цитрат натрия в концентрации 3,8% (0,11 моль). Для получения плазмы в пробирки добавляли антикоагулянт в соотношении 9:1 (по объему) и центрифугировали при 4000 g в течение 10 мин, хранили при -24°C до начала анализа.

Разработку метода количественного определения лекарственного вещества на основе ОСТ в биологических образцах животных проводили чувствительным, избирательным и точным хромато-масс-спектрометрическим методом. Исследование было проведено с использованием жидкостного хроматографа Eksigent ekspert ultra LC 100 и масс-спектрометрического детектора AB Sciex 3200 Q Trap (AB Sciex, США), оснащенного гибридной линейной ловушкой. Источник ионизации – электроспрей 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. При использовании метода внутреннего стандарта оценивали линейность аналитической методики по отношению площади внутреннего стандарта постоянной концентрации к площади калибровочного раствора ОСТ. MRM переход для ОСТ был 313,1→166,1 m/z, MRM переход для внутреннего стандарта венлафаксина был 278,10→58,0 m/z Масс спектр аналита ОСТ представлен на рисунке 1.

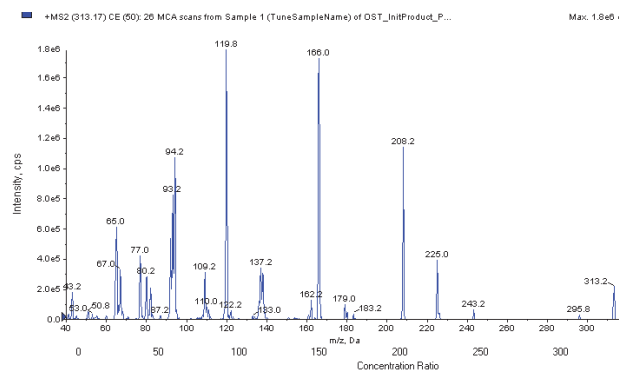


Рис. 1. Масс-спектр ОСТ

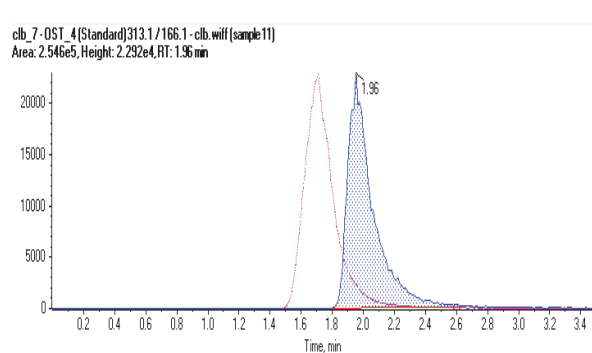


Рис. 2. Хроматограмма калибровочного образца ОСТ концентрацией 100 нг/мл и внутреннего стандарта венлафаксина

Хроматографическое разделение аналита проводили на колонке ProntoSIL 120-3-C18 (ЗАО «ЭкоНова», Россия). Скорость потока была установлена 0,25 мл/мин, температура колонки 40°C, в качестве элюента А использовали 5 mM формиат аммония (pH=2,8), элюента В – ацетонитрил. Перед хроматографическим анализом подвижную фазу дегазировали на ультразвуковой бане и фильтровали. Хроматографический анализ проводили в изократическом режиме 90 % В и 10% А, объем инъекции аналита – 4 мкл. Среднее время удерживания ОСТ составило 1,91±0,02 мин. Образец хроматограммы ОСТ и внутреннего стандарта представлены на рис. 2.

Для количественной оценки в плазме крови использовали следующие калибровочные образцы – 0,5; 1; 4; 10; 20; 40; 100; 200; 500; 1000; 2000; 3000 нг/мл. Приготовление калибровочных образцов проводили путем добавления 15 мкл калибровочных растворов разной концентрации к 285 мкл плазмы. Калибровочные и рабочие растворы (0,5, 10, 100 мкг/мл) готовили в H₂O/ACN смеси (50:50, v/v).

Методика количественного определения ЛС на основе ОСТ в плазме крови крыс и кроликов была впервые нами разработана и валидирована перед исследованием. Количественное определение проводили методом соотношения площадей пиков.

Образцы плазмы крыс/кроликов объемом 300 мкл помещали в пластиковые пробирки типа Эппендорф на 2 мл, добавляли 30 мкл аммиака (NH₃), 30 мкл внутреннего стандарта (C=100 нг/мл) и 700 мкл этилацетата. Затем пробирки тщательно перемешивали на вихревом встряхивателе при 3500 об/мин в течение 7 мин и центрифугировали при 13000 g в течение 7

минут, после чего верхнюю, этилацетатную фракцию (500 мкл) отбырали для хроматографического анализа.

Расчет фармакокинетических параметров ОСТ в плазме крови крыс и кроликов проводили модельным способом путем построения двухчастевых моделей.

Полученные результаты. В ходе работы был разработан и валидирован метод количественного определения ОСТ в плазме крови. Данный метод демонстрирует приемлемую производительность и является пригодным для определения ОСТ в плазме животных в диапазоне от 0,5 до 3000 нг/мл.

В исследовании провели оценку концентрации ОСТ в плазме крови крыс после однократного внутривенного введения в дозе 17 мг/кг (рис. 3). Для расчета фармакокинетических параметров ОСТ после внутривенного введения была построена математическая модель, адекватно описывающая фармакокинетические процессы. Исследование динамики концентраций показало, что зависимость в координатах $\ln(C)-t$ носит ярко выраженный двухфазный характер, вследствие чего, оценку параметров фармакокинетики проводили с помощью двухкамерной модели. Модель построена путем последовательного логарифмирования и описывается следующими уравнениями (C1-центральная камера, C2 - периферическая камера):

$$C_1 = 672,92 e^{-0,649t} + 31,17 e^{-0,120t} - 704,09 e^{-2,959t},$$

$$C_2 = -150,17 e^{-0,649t} + 122,20 e^{-0,120t} - 27,97 e^{-2,959t}.$$

Результаты исследования показали, что вещество достигает максимальной концентрации в течение 40 мин после введения (T_{max}). Затем наблюдается 2 фазы снижения концентрации вещества. В первой фазе (α -фазе) происходит резкое снижение концентрации вещества, по-видимому, за счет быстрого распределения его в ткани органов (фаза распределения), полупериод распределения составил 1,07 ч ($T_{1/2\alpha}$).

Вторая фаза характеризуется более медленным снижением концентрации ОСТ и описывает кинетику выведения вещества из организма (фаза элиминации), полупериод элиминации – 5,76 ч ($T_{1/2\beta}$). Величина кажущегося объема распределения центральной камеры значительно превосходило значение объема плазмы крови крыс. Величина кажущегося объема (V_1) распределения в периферической камере ОСТ составила 19,70 л/кг, что значительно превосходит общий объем жидкости в организме крыс и свидетельствует об его интенсивном проникновении в периферические ткани. Значение среднего времени удерживания MRT (3,78 ч) свидетельствует о быстром выведении его из организма [1].

Для оценки биодоступности нами была проведена оценка концентрации ОСТ в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения в дозе 7 мг/кг и однократного внутривенного введения в дозе 7 мг/кг.

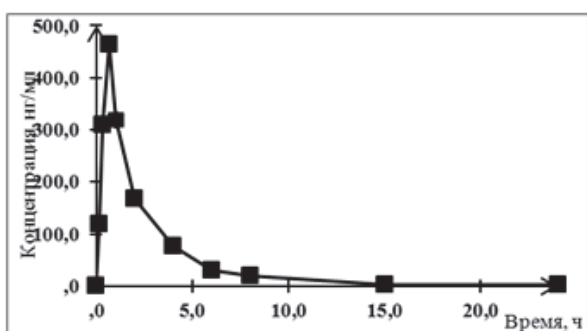


Рис. 3. Усредненный фармакокинетический профиль ОСТ в плазме крови крыс после однократного внутривенного введения в дозе 17 мг/кг.

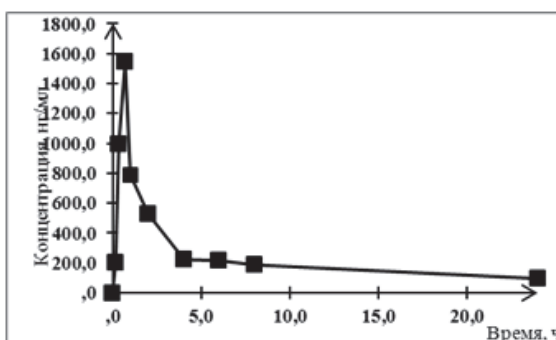


Рис. 4. Усредненный фармакокинетический профиль лекарственного средства в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения ОСТ в дозе 7 мг/кг

Оценку параметров фармакокинетики проводили с помощью двухкамерной модели.

$$C_1 = 5779,57 e^{-1,287t} + 258,21 e^{-0,046t} - 6037,77 e^{-2,023t},$$

$$C_2 = -4332,64 e^{-1,287t} + 1611,71 e^{-0,046t} - 2720,93 e^{-2,023t}$$

Результаты исследования (при внутривенном введении) показали, что вид лабораторного животного не влияет на скорость достижения максимальной концентрации и

составило 40 мин после введения (как у крыс). Процесс элиминации вещества после однократного внутривенного введения кроликам также имеет двухфазный характер, что позволяет проводить расчеты фармакокинетических параметров в рамках двухкамерной модели. Однако наблюдается увеличение параметров периода полувыведения и среднего времени удерживания вещества в организме кролика в 2,1 и 3,6 раза, соответственно, относительно однократного введения ОСТ крысам. Сравнительный анализ параметров характеризующих распределение вещества в периферические ткани и органы относительно однократного введения исследуемого вещества крысам показал более активный процесс обмена между камерами и распределения в периферическую камеру. Объем распределения периферической камеры в 4 раза выше, чем центральной камеры, что свидетельствует о высоком родстве к тканям и органам кролика.

При изучении фармакокинетического профиля ОСТ при внутривенном введении кроликам обнаружено 2 фазы снижения концентрации вещества. В первой фазе в течение 46 мин происходит быстрое снижение концентрации вещества, по-видимому, за счет активного распределения вещества в ткани и органы (фаза распределения).

Вторая фаза характеризуется более медленным снижением концентрации препарата и

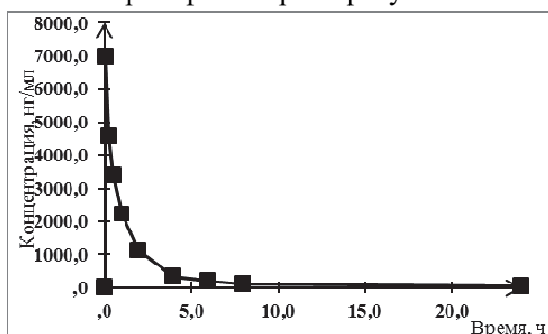


Рис. 5. Усредненный фармакокинетический профиль лекарственного средства в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения ОСТ в дозе 7 мг/кг.

описывает кинетику элиминации вещества из организма кролика (фаза выведения). Полупериод распределения составил 0,77 мин, полупериод выведения – 9,9 ч [2].

Концентрация ОСТ в плазме крови в нулевой момент времени C_0 ниже расчетной концентрации, полученной с учетом введенной дозы и объема циркулирующей крови у кролика. Центральный объем распределения V_1 в 1,7 раз превышает общий объем жидкости в организме кролика. Величина стационарного объема распределения ОСТ V_{ss} (3,33 л/кг) свидетельствует об его интенсивном проникновении в периферические ткани. Это подтверждается и соотношением констант K_{12}/K_{21} (0,23/0,21), указывающим на быстрое поступление соединения в периферическую камеру. Значение среднего времени удерживания MRT (5,22 ч) свидетельствует о медленной элиминации препарата из организма.

Оценку биодоступности проводили путем сравнения площади под фармакокинетической кривой (AUC, нг·ч/мл) после внутривенного введения ОСТ кроликам в дозе 7 мг/кг с площадью после внутривенного введения ОСТ кроликам в той же дозе (6691,52/9367,04). Биодоступность составила 71,4 %.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: разработан и валидирован доступный, чувствительный и селективный ВЭЖХ-МС/МС метод оценки концентрации ЛС осельтамивира этоксисукцината в плазме крови животных. Проведено доклиническое исследование фармакокинетики ЛС в плазме крови животных при внутривенном и внутривенном введении. Биодоступность ОСТ составила 71,4 %.

Литература

1. Каркищенко Н.Н., Хоронько В.В., Сергеева С.А., Каркищенко В.Н. Фармакокинетика. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. 384 с.
2. Сергиенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. – М.: Изд-во РАМН, 2003. 208 с.
3. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, М.: «Медицина», 2005. 832 с.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and Control of Influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP).MMWR, 2006.–55 (RR–10). P. 1–42.

Сведения об авторах

Брюшинина Ольга Сергеевна

канд. биол. наук

науч. сотр.

Эл. почта: olga.brushinina@pharmso.ru

Information about authors

Brushinina O.S.

Ph.D

Researcher

E-mail: olga.brushinina@pharmso.ru

Яновская Елена Анатольевна
канд. биол. наук
мл. науч. сотр.
Эл. почта: elena.yanovskaya@pharmso.ru

Зюзькова Юлия Геннадьевна
науч. сотр.
Эл. почта: yulya.zuzkova@pharmso.ru

Удут Владимир Васильевич
член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор
Эл. почта: udutv@mail.ru
ФГБНУ НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ
Россия, Томск

Yanovskaya E.A.
Ph.D.
Researcher
E-mail: elena.yanovskaya@pharmso.ru

Zyuz'kova Yu.G.
Researcher
E-mail: yulya.zuzkova@pharmso.ru

Udut V.V.
corresponding member of the RAS, M.D., professor
E-mail: udutv@mail.ru
E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology
and Regenerative Medicine
Russia, Tomsk

УДК 611.018:611.453
ГРНТИ 76.03.00

Обернихин С.С., Яглова Н.В., Назимова С.В., Яглов В.В.
Научно-исследовательский институт морфологии человека

РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ КЛУБОЧКОВОЙ ЗОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРОМ OCT4

Впервые показана способность кортикостероцитов клубочковой зоны надпочечников крыс экспрессировать транскрипционный фактор Oct4 в постнатальном развитии. Установлены связь между численностью Oct4-позитивных клеток и уровнем пролиферации и секреции гормонов в клубочковой зоне.

Ключевые слова: Oct4, клубочковая зона, надпочечник, пролиферация, альдостерон

Obernikhin S.S., Yaglova N.V., Nazimova S.V., Yaglov V.V.
Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology

REGULATION OF ADRENAL ZONA GLOMERULOSA DEVELOPMENT AND FUNCTION BY TRANSCRIPTIONAL FACTOR OCT4

It is a first report on expression of transcriptional factor Oct4 in glomerulosa cells of rat adrenals during postnatal development. Expression of Oct4 was associated with higher proliferation and lowered functional activity of zona glomerulosa.

Key words: Oct4, zona glomerulosa, adrenal gland, proliferation, aldosterone

Различные зоны коркового вещества надпочечников ответственны за выработку определённых гормонов, необходимых для поддержания гомеостаза, и имеют различные механизмы регуляции функциональной активности. Клубочковая зона осуществляет синтез минералокортикоидов под контролем ренин-ангиотензивной системы, а пучковая, регулируемая гипоталамус-гипофиз-адреналовой осью, продуцирует глюкокортикоиды, которые координируют обмен углеводов и стрессовые реакции млекопитающих. Так как корковое вещество надпочечников обладает высокой чувствительностью к действию различных внешних и внутренних факторов, она обладает высокой способностью к регенерации [1, 2, 3].

Основой для физиологической регенерации органов является самообновление различных клеточных популяций в постнатальном развитии. Это требует наличия и поддержания пула плюрипотентных клеток в эндокринных железах для структурных перестроек, необходимых для их нормального функционирования. Одним из ключевых регуляторов в поддержании плюрипотентности является октамер-связывающий транскрипционный фактор Oct4 [4], который связан с поддержанием плюрипотентности не только эмбриональных стволовых клеток, но и клеток взрослого организма [4, 5]. Однако, в большинстве публикаций, Oct4 представлен как маркер злокачественной трансформации, хотя его роль в физиологической регенерации неясна.

Целью исследования было изучить экспрессию транскрипционного фактора Oct4 в кортикостероцитах клубочковой зоны надпочечников крыс, а также показатели морфологического и функционального развития в различные периоды постнатального онтогенеза.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 20 самцах крыс Вистар. Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила в возрасте 6-ти (n=10), что соответствует пубертатному периоду, и в после достижения половой зрелости (n=10) в возрасте 10-ти недель, когда надпочечники крыс достигают своего максимального развития [6].

Надпочечники фиксировали в жидкости Буэна. Изготавливали препараты экваториальных срезов органа, которые окрашивали гематоксилином и эозином (Биовитрум, Россия). Гистологические препараты изучали методом световой микроскопии с использованием микроскопа «Leica DM2500» («Leica Microsystems», Германия). Морфометрическое исследование проводили с помощью программы «ImageScore» («Leica Microsystems», Германия). Определяли общую площадь клубочковой зоны.

Экспрессию транскрипционного фактора Oct4 в кортикостероцитах определяли иммуногистохимическим методом с помощью поликлональных кроличьих антител («Abcam» США). В качестве позитивного контроля использовали эмбриональные ткани крысы. Пролиферацию кортикостероцитов изучали методом иммуногистохимии с помощью антител к Ki-67 («Cell Marque», США). Реакцию визуализировали с помощью набора реактивов «UltraVision LP Detection System» («ThermoScientific», США). Результаты иммуногистохимических исследований выражали в виде количества иммунопозитивных клеток в мм² площади среза клубочковой зоны.

В сыворотке крови крыс определяли концентрацию альдостерона методом ИФА с помощью наборов («Cusabio», Китай).

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Statistica 7.0 («Statsoft Inc.», США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих приблизительно нормальное распределение, описывали средним значением и стандартной ошибкой среднего значения ($M \pm m$). Анализ связи числа Ki-67-позитивных и Oct4-позитивных кортикостероцитов в различных зонах коркового вещества, а также числа Oct4-позитивных кортикостероцитов в клубочковой зоне и концентрации альдостерона проводили с помощью критерия Пирсона. Сравнение независимых групп проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Полученные результаты

При гистологическом исследовании надпочечников крыс пубертатного возраста выделялись клубочковая, пучковая и сетчатая зоны. Промежуточная зона была представлена участками циркулярно расположенных клеток небольшого размера с овальными или неправильной формы гиперхромными ядрами. В клубочковой зоне выявлялись фокально расположенные Oct4-положительные клетки с ядерной локализацией. В промежуточной зоне Oct4 положительных клеток не наблюдалось. При изучении пролиферативной активности кортикостероцитов клубочковой зоны выявлялись Ki-67-позитивные клетки, хотя их численность не коррелировала с количеством Oct4-позитивных клеток. Однако было обнаружена сильная обратная зависимость между числом Oct4-позитивных клеток в клубочковой зоне и уровнем альдостерона в сыворотке крови ($R = -0,98$ $p = 0$).

После достижения половой зрелости, когда корковое вещество достигает своего максимального развития, отмечалось уменьшение клубочковой зоны надпочечников. Количество Oct4-позитивных кортикостероцитов в 1 мм² площади среза клубочковой зоны увеличилось почти вдвое. Они характеризовались диффузным распределением, в отличие от предыдущего срока исследования. Следует отметить, что цитоморфология Oct4-позитивных и окружающих Oct4-негативных клеток не отличалась ни в пубертатном, ни в постпубертатном периодах.

В клубочковой зоне наблюдалось снижение пролиферативной активности кортикостероцитов, при этом была прямая зависимость между числом Oct4 и Ki-67-позитивных клеток ($R = 0,94$ $p = 0,00013$), а также обратная зависимость количеством позитивных Oct4 клеток и уровнем альдостерона в сыворотке крови ($R = -0,83$ $p = 0,0058$).

Активно экспрессирующийся в эмбриональных клетках Oct4 входит в четвёрку так называемых факторов Яманаки (Oct3 / 4, Sox2, Klf4, c-Myc) [4], которые в совокупности регулируют сеть, состоящую из 16 сигнальных путей и контролируют пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клетки [6]. Было высказано предположение, что клетки промежуточной зоны, находящейся между клубочковой и пучковой у крыс, которые не продуцируют ни альдостерон, ни кортикостерон, являются стволовыми/ прогениторными клетками надпочечников, функциональное значение которых заключается в поддержании функциональной зональности корково-

го вещества у крыс, в отличие от человека, где эту роль выполняют субкапсулярно расположенные клетки. Однако мы не обнаружили экспрессию Oct4 в клетках промежуточной зоны. Более того, цитоморфология Oct4-позитивных клеток не имела отличий от окружающих их Oct4-негативных клеток. Полученные данные хорошо согласуются со сведениями о способности дифференцированных кортикостероцитов клубочковой зоны превращаться в клетки пучковой зоны в процессе регенерации [7]. Сопоставление индивидуальных показателей экспрессии Oct4 в клубочковой зоне и уровня альдостерона в сыворотке крови показало наличие сильной отрицательной связи между этими параметрами, указывающей на готовность клеток к самообновлению. То обстоятельство, что численность Ki-67-позитивных кортикостероцитов не коррелировала с числом Oct4-позитивных клеток в пубертатном периоде свидетельствует о том, что корковое вещество ещё окончательно не сформировалось в этом возрасте.

К 10-ти неделям, произошло изменение соотношения морфофункциональных зон надпочечника. Размеры клубочковой зоны уменьшились и, несмотря на это, количество Oct4-позитивных кортикостероцитов в единице ее площади увеличилось, а их расположение в органе стало диффузным, в отличие от пубертатного периода. Как и в предыдущем сроке исследования в цитоморфологии Oct4-позитивных и окружающих Oct4-негативных клеток различий не наблюдалось. Исходя из этого, можно сделать вывод о наличии плюрипотентного потенциала у дифференцированных клеток.

Выводы

Транскрипционный фактор Oct4 экспрессируется кортикостероцитами клубочковой зоны надпочечников крыс в постнатальном развитии.

Увеличение экспрессии Oct4 способствует формированию пула клеток готовых к переходу в плюрипотентное состояние, необходимых для физиологической регенерации органа, что подтверждает прямая зависимость с пролиферацией клеток и обратная – с их функциональной активностью.

Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показана способность дифференцированных клеток клубочковой зоны надпочечников экспрессировать транскрипционный фактор Oct4 в постнатальном онтогенезе. Установлена обратная связь экспрессией Oct4 с функциональной активностью клубочковой зоны. Выдвинута гипотеза о роли экспрессирующих Oct4 клеток в поддержании клеточного состава клубочковой зоны.

Цитируемая литература

1. Bruder E., Nagler A., Raff H. Oxygen-dependence of ACTH-stimulated aldosterone and corticosterone synthesis in the rat adrenal cortex: developmental aspects // *Journal of Endocrinology*. 2002. Vol. 172. No. 3. P. 595–604.
2. Mazroa S., Asker S. Ultrastructural changes in zona fasciculata cells of suprarenal cortex in adult male albino rats after short exposure to high ambient temperature and the effect of fish oil administration // *Egypt. J. Histol.* 2010. Vol. 33. No. 1. P. 23–31.
3. Цомартова Д.А., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Назимова С.В., Следнева Ю. П., Яглов В.В. Изменения кортикостероцитов клубочковой зоны надпочечников крыс при воздействии низких доз ДДТ в постнатальном развитии // *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018. № 2. С. 25–30.
4. Olariu V., Lövkvist C., Sneppen K. Nanog, Oct4 and Tet1 interplay in establishing pluripotency // *Sci. Rep.* 2016. No. 6. 25438.
5. Pignatelli D., Xiao F., Gouvtia A., Ferreira J., et al. Adrenarche in the rat // *Journal of Endocrinology*. 2006. Vol. 191. No. 1. P. 301–308.
6. Vierbuchen T., Ostermeier A., Pang Z. Kokubu Y., Südhof T., Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors // *Nature*. 2010. Vol. 463. No. 7284. P. 1035–1041.
7. Freedman B., Kempna P., Carlone D., Shah M., Guagliardo N., Barrett P., Gomez-Sanchez C., Majzoub J., Breault D. Adrenocortical zonation results from lineage conversion of differentiated zona glomerulosa cells // *Dev. Cell*. 2013. Vol. 26. No. 6. P. 666–673.

Сведения об авторах

Сергей Станиславович Обернихин

д-р мед. наук

ст. науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы

Эл. почта: ober@mail.ru

Наталья Валентиновна Яглова

д-р мед. наук

зав. лабораторией развития эндокринной системы

Эл. почта: yaglova@mail.ru

Светлана Владимировна Назимова

канд. мед. наук

ст. науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы

Эл. почта: pimka60@list.ru

Валентин Васильевич Яглов

докт. мед. наук,

гл. науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы

Эл. почта: vyaglov@mail.ru

ФГБНУ «НИИ морфологии человека»

Россия, Москва

Information about authors

Sergey Stanislavovich Obernikhin

D.Med.Sc.

Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: ober@mail.ru

Natalia Valentinovna Yaglova

D.Med.Sc.

Head of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: yaglova@mail.ru

Svetlana Vladimirovna Nazimova

PhD

Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: pimka60@list.ru

Valentin Vasilyevich Yaglov

D.Med.Sc., Professor

Principal Research Worker of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: vyaglov@mail.ru

Research Institute of Human Morphology

Russia, Moscow

УДК 571.27

ГРНТИ 34.43.23

Джимак С.С., Федулова Л.В., Василевская Е.Р., Басов А.А.

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ПОЛИПЕПТИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ SUS SCOFA НА ИММУНОЛОГИЧЕСКУЮ РЕАКТИВНОСТЬ КРЫС

Исследование влияния белково-пептидных соединений, экстрагированных в присутствии обедненной дейтерием воды, в качестве солюбилизирующего агента, из смеси экстрактов тимуса, селезенки и лимфатических узлов Sus scofa, было выполнено на крысах Вистар с моделью иммунодефицита.

Ключевые слова: легкая вода, иммунодефицит, интерлейкины, CD3, CD4, тимус, лимфоузлы, селезенка, белково-пептидные соединения.

Dzhimak S.S., Fedulova L.V., Vasilevsky E.R., Basov A.A.

V.M. Gorbатов of the Russian Academy of Sciences

INFLUENCE OF DIFFERENT POLYPEPTIDES FRACTIONS DERIVED FROM SUS SCOFA IMMUNE ORGANS ON THE RATS IMMUNOLOGICAL REACTIVITY

The influence of protein-peptide compounds, extracted with deuterium depleted water as solubilizer agent from mixture of Sus scofa thymus, spleen and lymph nodes extracts, was carried out on Wistar rats with cytostatic-induced immunodeficiency model.

Keywords: DDW, immunodeficiency, interleukin, CD3, CD4, thymus, lymph nodes, spleen, tissue-specific bioactive compounds.

Введение

В настоящее время, вследствие распространённости аллергических заболеваний среди населения, наблюдается бурное развитие новой области знаний (биофармакологии), что позволяет уменьшить побочное действие фармакотерапии и повысить эффективность лечебных мероприятий за счет использования природных лекарственных средств. Известны препараты на основе биологически активных соединений, полученных из эндокринных органов различных животных, что приобретает сегодня особую актуальность. На основе этих средств с помощью современных технологических приемов стало возможным создание более эффективных средств векторного действия для коррекции в том числе иммунодефицитных заболеваний.

Иммуномодулирующие препараты эндогенного происхождения представлены, преимущественно, монопрепаратами – иммунорегуляторными пептидами и цитокинами, выделенными из центральных (тимус и костный мозг) и периферических органов (селезенка) иммунитета преимущественно молодняка или эмбрионов свиней и крупного рогатого скота (КРС) молодых животных или эмбрионов. Содержание в селезенке огромного количества тимусзависимых, тимуснезависимых и макрофагальных иммунных факторов, таких как неспецифический сывороточный тетрапептид тафтсин, находящийся в составе Fd-фрагмента IgG, активизирующий функциональные свойства макрофагов и полиморфно-ядерных лейкоцитов, компоненты комплемента (C3- и C4-фрагменты, например, C3b), фактор Р – послужило созданию широкого спектра препаратов на основе биологически активных веществ селезенки эмбрионов и молодняка КРС [1]. Например, «Polyerga» (Merck, Великобритания), содержащий олигопептиды; «Диасплен» (Диалек, Беларусь) – депротеинизированный дериват; «Спленин» и «Спленид» (Фармак, Украина) и биологически активная добавка «Пептидный комплекс 1» (Epi-sala, Россия) – пептидные комплексы. Данные препараты повышают содержание Т-лимфоцитов в периферической циркуляции и их функциональную активность, стимулируют продукцию СТФ, оказывают нормализующее воздействие на свободно-радикальное перекисное окисление липидов, стимулируют репаративные и трофические процессы [2].

Таким образом, целевыми сырьевыми источниками для выделения биомолекул были выбраны ткани тимуса, селезенки и мезентеральных лимфатических узлов свиней возрастом 8-9 месяцев. По технологии производства лекарственные препараты животного происхождения классифицируют на препараты из целых органов и тканей, содержащие компоненты специализированных клеток и окружающих их структур (соединительной ткани, межтканевой жидкости, лимфы, основной субстанции и т.д.); препараты клеток органов и тканей, в состав которых входят все клеточные биомолекулы (цитоплазма, ядра, мембраны и др.); препараты на основе экстрактов содержимого цитоплазмы («ревитализирующая» составляющая клетки) дифференцированных клеток.

Сегодня с применением современного оборудования стало возможным выделение регуляторных компонентов цитоплазмы клетки, называемых цитоиндукторами, к которым относят факторы роста, дифференцировки, различные биорегуляторы, белки, кейлоны, цитамини, пептиды, предшественники синтеза гормонов, медиаторы и прочее.

При производстве лекарственных средств на основе биологически активных веществ животного и растительного происхождения для максимального сохранения отдают предпочтение лиофильной сушке, которая требует оптимальной пробоподготовки на стадиях экстракции и фильтрации биоматериала. Последнее может быть достигнуто за счет модификации физико-химических свойств растворителя, например, путем изменения соотношения легких и тяжелых изотопов в его составе. В соответствии с проанализированным материалом были выбраны методы и средства, направленные на выделение биомолекул из животного сырья, включающие экстракцию в водно-солевом агенте, фильтрацию с последующей ультрафильтрацией и лиофильную сушку, с предварительной обработкой экспериментальных образцов на всех перечисленных этапах растворами, приготовленными на основе воды с модифицированным изотопным D/H составом (ВМИС) [3]. Сравнительное исследование селективности и общей экстрактивности ВМИС проводилось в связи с наличием публикаций последних лет о влиянии изотопного состава воды на адаптационные свойства живых систем [4-6].

Цель работы

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования являлось изучение влияния воды с модифицированным изотопным D/H составом на иммунологическую активность белково-пептидных соединений, выделенных из органов иммунной системы *Sus scrofa*.

Материалы и методы

Для экстракции иммунокомпетентных полипептидов использовали воду с пониженным содержанием дейтерия с концентрацией –704,6‰, которую производили с помощью электролиза с последующим осушением полученных электролизных газов, преобразованием электролизных газов в воду, и конденсацию паров воды [7]. Контроль концентрации дейтерия в полученной воде осуществляли на импульсном ЯМР спектрометре JEOL JNM-ECA 400 MHz [8].

Исследование проведено на половозрелых клинически здоровых сексуально наивных крысах-самцах Wistar spf-категории (n=90) средней массой (400 ± 20 г; разброс по группе ±8 г), полученных из ЦГР ИЦиГ СО РАН (Новосибирск). Крысы содержались в системе индивидуально-вентилируемых клеток (в составе вентиляционного блока VENT II и стеллажа с клетками типа Bio.A.S. тип III (ENRET, Германия)) при оптимальном микроклимате в каждой отдельной клетке (температура ((22±3)°C), влажность ((50-60)%), освещение 12/12. После адаптации в течение 20 суток части животным (n=80) воспроизводили модель иммунодефицитного состояния (ИДС), оставшаяся часть животных (n=10) без воздействия (интактные; 6 группа). Воспроизведение ИДС осуществляли путем трехкратного (каждые 72 часа) внутрибрюшинного введения «Циклофосаида» (Sigma, США) в дозе 100 мг/кг веса.

Динамику развития иммуносупрессии оценивали по окончании моделирования (на 12 сутки) путем оценки параметров периферической крови, взятой из хвостовой вены.

Животных с моделью ИДС произвольно распределяли на группы:

- 1 группа - контроль, с некорректируемым иммунодефицитом;
- 2 группа - коррекция иммунодефицита путем введения комплексного нефракционированного экстракта на основе ВМИС);
- 3 группа - коррекция иммунодефицита путем введения фракций экстракта до 5 кДа комплексного экстракта на основе ВМИС);
- 4 группа - коррекция иммунодефицита путем введения фракций экстракта 5-30 кДа комплексного экстракта на основе ВМИС);
- 5 группа - коррекция иммунодефицита путем введения фракций экстракта свыше 30 кДа комплексного экстракта на основе ВМИС);
- 6 группа – интактные животные.

Введение исследуемых образцов (комплексного экстракта; фракций с различными Мм) осуществляли ежедневно внутрижелудочно из расчета (20 ± 0,2) г/л белка; животным 1-ой группы вводили в эквивалентном объеме. Для оценки состояния ежедневно регистрировали клинический статус и поведение животных.

На протяжении всего эксперимента рацион (*ad libitum*) крыс состоял из полнорационного комбикорма (Ассортимент-Агро, Россия) и воды для поения, полученной на установке водоподготовки EMD Millipore RiOs™ 50 (Merc Millipore, Германия), минерализованной путем добавления минеральных солей (314–382 мг/л: гидрокарбонаты – 144–180, сульфаты – <1, хлориды – 60–76, кальций – 6, магний – 3, натрий – 50–58, калий – 50–58), температура (10-12) °С. На 31-е сутки эксперимента крыс усыпляли в камере для эвтаназии (VETtech) в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

У оглушенных животных отбирали из правого желудочка сердца кровь: общее клиническое исследование цельной крови проводили на полностью автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе Abacus junior vet 2.7 (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия), используя наборы реактивов НТИ (США), иммунофенотипирование – на автоматическом проточном цитофлуориметре Guava easyCyte (MerchMillipore, Франция), используя видоспецифичные моноклональные антитела CD3+, CD4+, CD19+, CD20+, рассчитывали иммунорегуляторный индекс как соотношение CD3 к CD4; иммуноферментное исследование на анализаторе Immunochem 2100 (USA) при помощи «сэндвич»-метода, используя наборы видоспецифичных реактивов ELISA (rat), определяли Ig M и G, IL 2, 4, 6, компоненты комплемента C5, C3, C4, C1q, циркулирующий иммунный комплекс (ЦИК).

Эксперимент одобрен Биоэтической комиссией ФНЦ «Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (протокол № 2). Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения "STATISTICA 10,0", вариационного анализа ANOVA в сочетании с тестом Дункана. Уровень значимости принят равным 0,05. Результаты представлены как M ± SE.

Полученные результаты

На 12-е сутки при анализе крови животных 1-5 групп отмечено достоверное снижение содержания лимфоцитов и моноцитов (до 21% и 33%), за счет увеличения относительного содержания гранулоцитов (до 57%), эритроцитов и тромбоцитов (до 12% и 23%) по сравнению с гематологическими показателями интактных животных. Подобное нарушение лейкоцитарной составляющей свидетельствует об иммунологическом кризе, подтверждая адекватность

выбранной модели иммуносупрессии.

На 31-е сутки у крыс 1-ой группы (контроль) по сравнению с показателями интактных животных (6-я группа) отмечено: при анализе гематологических показателей (табл. 1) достоверное снижение относительного содержания лимфоцитов и моноцитов (до 40%), на фоне увеличения процентного содержания гранулоцитов (на 48,3%); при фенотипировании лимфоцитов установлено значительное снижение процентного содержания CD4 (практически в 2 раза), частично компенсированное увеличением содержания субпопуляции CD3 (на 15,9 % относительно интактных крыс), CD3/CD4 составил 2,69 (более чем в 2 раза превышает индекс интактных животных) (табл. 2).

Таблица 1.

Содержание лейкоцитов в крови лабораторных животных по завершении исследования

| Показатели | 1 группа | 2 группа | 3 группа | 4 группа | 5 группа | 6 группа |
|--|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л | 8,59±0,94* | 4,08±0,45* | 6,12±0,57** | 4,23±0,67** | 5,15±0,47** | 3,93±0,43 |
| * - достоверное отличие от интактной группы (P<0,05). **- достоверное отличие от контрольной группы (P<0,05). | | | | | | |

При анализе иммуноферментных показателей у крыс 1-ой группы выявлено выраженное снижение содержания IgG и IgM (до 13%, p<0,05), И-2 и И-6 (до 21 и 14 %), КК С1q (до 26 %), синергично с КК С4 (до 20%) недостоверно незначительно И-4 и ЦИК (на 4% и 3%); увеличение содержания КК С5 и С3 (до 9 % (p<0,05) и 2% (p>0,05) – табл. 3).

У животных опытных групп, в зависимости от исследуемых фракций экстракта, наблюдалась идентичная направленность изменения анализируемых показателей, различной степени выраженности, относительно контрольных животных 1-ой группы.

Со стороны гематологических показателей отмечено увеличение относительного содержания лимфоцитов и моноцитов (на 18 % и 27 %, p<0,05) для 2 группы (комплексный экстракт); до 13 % (p<0,05) для 3-ей группы (фракция Мм менее 5 кДа); на 22 % и 31 % (p<0,05) для 4-ой группы (фракция Мм 5-30 кДа) и до 5% для 5-ой группы (фракция более 5 кДа), на фоне уменьшения процентного содержания гранулоцитов (свыше 20 % - у крыс 2-ой и 4-ой групп; до 7 % - для 3-ей и 5-ой групп).

Таблица 2.

Результаты цитометрического анализа крови лабораторных животных по завершении исследования

| Относительное содержание | 1 группа | 2 группа | 3 группа | 4 группа | 5 группа | 6 группа |
|--|-----------------|------------------|------------------|------------------|----------------|----------------|
| лимфоцитов, % | 49,67 ±2,61* | 61,98 ±4,57** | 55,13 ±3,32** | 60,55 ±4,24** | 52,00 ±3,11 | 72,96 ±8,29 |
| гранулоцитов, % | 49,54 ±5,63* | 36,97 ±7,17** | 45,97 ±4,78 | 39,48 ±5,21** | 46,12 ±4,78 | 25,63 ±8,67 |
| моноцитов, % | 0,84 ±0,05* | 0,96 ±0,19** | 0,95 ±0,08** | 1,09 ±0,21** | 0,86 ±0,10 | 1,41 ±0,21 |
| CD3, % | 37,12 ±3,98 | 49,24 ±4,15** | 41,9 ±4,42 | 46,25 ±3,57** | 38,86 ±2,34 | 31,20 ±4,03 |
| CD4, % | 13,81 ±4,45* | 23,12 ±3,42** | 16,4 ±2,73 | 19,38 ±2,47** | 14,33 ±1,77 | 27,15 ±2,94 |
| Иммунорегулятор-ный индекс CD3/CD4 | 2,69 | 2,13 | 2,33 | 2,39 | 2,62 | 1,24 |
| * - достоверное отличие от интактных крыс 6 группы (P<0,05). **- достоверное отличие от контрольных крыс 1 группы (P<0,05). | | | | | | |

Анализ фенотипирования лимфоцитов показал значительное увеличение по сравнению с группой 1 содержания клеток CD3 и CD4: для 2-ой группы на 25% и 40%, для 3-ей группы на 13 % и 19 %, для 4-ой группы на 20% и 40,3 % и для 5-ой группы на 5 % и 4%. Иммунорегуляторный индекс CD3/CD4 составил для группы 2 - 2,13 ед; для группы 3 – 2,33 ед, для группы 4 – 2,39 ед; для группы 5 - 2,62 ед. Анализ иммуноферментных показателей сыворотки крови выявил, что у животных 2, 3 и 4 групп достоверно увеличивалось содержание IgG на 13 %, 7% и 12% соответственно, IgM не более чем на 10% во всех группах. Содержание И-4 и ЦИК достоверно не изменялось в группах 2,3,4,5 по сравнению с показателями крыс 1 и 6 групп.

Результаты иммуноферментного анализа крови лабораторных животных по завершении исследования.

| Показатели | 1 группа | 2 группа | 3 группа | 4 группа | 5 группа | 6 группа |
|---|--------------|---------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
| И-2, пг/мл | 281,14±9,39* | 309,25±7,42** | 307±5,86** | 309,25±4,63** | 278,33±5,6 | 355,87±11,89 |
| И-4, пг/мл | 25,33±1,18 | 26,09±1,14 | 26,06±1,1 | 26,09±1,05 | 25,08±1,27 | 26,33±1,23 |
| И-6, пг/мл | 29,94±1,75* | 32,96±1,5** | 32,42±1,29** | 32,96±1,11** | 29,64±1,34 | 34,89±2,04 |
| IgG, мкг/мл | 0,381±0,002* | 0,421±0,011** | 0,443±0,012** | 0,42±0,01** | 0,382±0,011 | 0,421±0,010 |
| IgM, нг/мл | 0,214±0,011* | 0,233±0,002** | 0,224±0,012 | 0,235±0,013** | 0,214±0,011 | 0,245±0,022 |
| С1q, нг/мл | 1,88±0,07* | 2,08±0,05** | 2,06±0,04** | 2,08±0,03** | 1,86±0,04 | 2,54±0,1 |
| С1С, мкг/мл | 0,84±0,1 | 0,86±0,1 | 0,87±0,09 | 0,86±0,09 | 0,85±0,11 | 0,86±0,1 |
| С3, нг/мл | 16,64±1,96 | 17,24±1,91 | 17,16±1,86 | 16,04±1,82 | 16,48±2,2 | 17,07±2,01 |
| С4, нг/мл | 149,81±8,34 | 169,88±6,67** | 162,99±5,34** | 169,88±4,27** | 151,3±5,17 | 187,26±10,42 |
| С5, нг/мл | 17,2±1,78* | 18,18±1,62 | 17,77±1,47 | 16,22±1,34 | 17,37±1,62 | 20,92±1,96 |
| * - достоверное отличие от интактных крыс 6 группы (P<0,05). | | | | | | |
| ** - достоверное отличие от контрольных крыс 1 группы (P<0,05). | | | | | | |

Среди компонентов комплимента у крыс 2 группы по сравнению с 1-ой группой наблюдалось увеличение КК С1q до 10% и КК С4 до 13%, уменьшение содержания КК С5 до 6 % (p<0,05) и С3 до 4%. У крыс 3-ей группы отмечено увеличение содержания КК С1q до 9% на фоне увеличения количества КК С4 до 9 %, также было выявлено уменьшение содержания КК С5 и С3 до 3 %. Содержание КК в сыворотке у крыс 4-ой группы показало увеличение содержания КК С1q до 10 % на фоне увеличения количества КК С4 до 13 %. Кроме того, было отмечено уменьшение содержания КК С5 до 6 % (p<0,05) и С3 до 4 %.

Анализируемые иммуноферментные показатели крыс 5-ой группы достоверно не отличались от значений контрольных крыс 1-ой группы: данные находились в пределах погрешности, отличия не превышали 1,5 %.

Таким образом, стоит отметить, что данные о состоянии иммунной системы животных с моделью ИДС, которым вводили фракции Мм до 30 кДа, отображают процессы дифференцировки и типирования субпопуляционных взаимодействий и формирования функциональной активности Т- клеток (CD3, CD4), происходящие при активной фазе приобретенного иммунодефицитного состояния: полипептидные соединения с Мм до 30 кДа, содержащиеся в смеси экстрактов иммунокомпетентных органов, воздействуют на тимические иммунные клетки, в частности на субпопуляцию Т-лимфоцитов, значительно увеличивая их количество, и на систему макрофагов путем стимуляции выработки Т-хелперов (CD4) за счет сокращения иных субпопуляций (супрессоров и киллеров).

Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: полученные результаты свидетельствуют об ответной реакции у крыс на моделирование иммунодефицита циклофосфаном, сопровождающейся после введения животным нефракционированного экстракта или отдельных его фракций активизацией клеток, способных нивелировать общее воздействие медикамента на организм, за счет увеличения выработки гликопротеинов, что означает готовность организма противостоять инфекционным заболеваниям. Нормализация уровня относительного содержания гранулоцитов на фоне повышенного содержания Т-лимфоцитов CD3 может свидетельствовать об одной из стадий восстановления иммунной системы. Смещение регуляторного индекса в большую сторону говорит о резкой иммуноактивации и максимальной реактивности клеточных и молекулярных компонентов в ответ на цитотоксическое действие циклофосфана. Положительная динамика, характеризующаяся значительным увеличением выработки цитокинов, в том числе интерлейкинов И-2 и И-4, ответственных за формирование адаптивного иммунного ответа, сопровождается возрастанием содержания Т-клеток в крови животных. Отличия результатов эксперимента по активации синтеза Т-хелперов CD4 у животных, которым вводили средне- и низкомолекулярные фракции, могут объясняться способностью биомолекул с Мм до 30 кДа (в

частности, выделенных из селезенки, которая в своей клеточной структуре содержит ключевые регуляторные факторы) изменять скорость клеточной дифференцировки.

Значительное увеличение количества компонентов комплемента: C1q и C4, синергично с уменьшением концентрации C5 и C3, свидетельствует об активации каскада комплементарного звена, кроме того уменьшение поздних комплементарных единиц, в частности, снижение количеств C5, как основной единицы дальнейшего запуска каскада, подтверждает функциональную активность неспецифической иммунной защиты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 15-16-00008.

Цитируемая литература

1. Morozov VG, Havinson VH, Malinin VV. Peptide thymomimetics. SPb: Nauka 2001; 158.
2. Haitov RM, Pinegin BV. Immunomodulators. Farmateka 2004. 85 (7). 21–27.
3. Fedulova L.V., Basov A.A., Vasilevskaya E.R., Dzhimak S.S. Gender difference response of male and female immunodeficiency rats treated with tissue-specific biomolecules // Current Pharmaceutical Biotechnology. 2019. Vol. 20. DOI:10.2174/1389201020666190222184814.
4. Basov A.A., Elkina A.A., Samkov A.A., Volchenko N.N., Moiseev A.V., Fedulova L.V., Baryshev M.G., Dzhimak S.S. Influence of deuterium depleted water on the isotope D/H composition of liver tissue and morphological development of rats at different periods of ontogenesis // Iranian Biomedical Journal. 2019. Vol. 23 (2). P. 129–141. DOI: 10.29252/23.2.129.
5. Джимак С.С., Свидлов А.А., Басов А.А., Барышев М.Г., Дроботенко М.И. Влияние единичных замен протия на дейтерий в молекуле ДНК на возникновение открытых состояний // Биофизика. 2018. Т. 63. № 4. С. 643–647.
6. Джимак С.С., Басов А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Федуллова Л.В., Барышев М.Г. Изменение функциональной активности митохондрий, выделенных из клеток печени крыс, прошедших преадаптацию к сверхнизким концентрациям дейтерия // Доклады Академии наук. 2017. Т. 476. № 5. С. 584–587.
7. Барышев М.Г., Болотин С.Н., Васильев Н.С., Джимак С.С., Долгов М.А., Фролов В.Ю. Электрохимический способ получения и биологические свойства воды с пониженным содержанием дейтерия // Наука Кубани. 2010. № 3. С. 18–20.
8. Джимак С.С., Копытов Г.Ф., Кашаев Д.В., Соколов М.Е., Арцыбашева О.М., Шарапов К.С., Барышев М.Г., Басов А.А. Применение ЯМР-спектроскопии для определения низких концентраций нерадиоактивных изотопов в жидких средах // Известия высших учебных заведений. Физика. 2015. Т. 58. № 7. С. 47–52.

Сведения об авторах

Степан Сергеевич Джимак

канд. биол. наук.

ст. науч. сотр.

Эл. почта: jimack@mail.ru

Лилия Вячеславовна Федуллова

канд. техн. наук

зав. лаб.

Эл. почта: fedulova@vniimp.ru

Екатерина Романовна Василевская

мл. науч. сотр.

Эл. почта: rina715@yandex.ru

Александр Александрович Басов

д-р мед. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: son_sunytch79@mail.ru

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН,
Россия, Москва

Information about authors

Stepan S. Dzhimak

PhD

E-mail: jimack@mail.ru

Lilia V. Fedulova

PhD

E-mail: fedulova@vniimp.ru

Ekaterina R. Vasilevsky

E-mail: rina715@yandex.ru

Alexandr A. Basov

MD

E-mail: son_sunytch79@mail.ru

Federal research center for food systems named after
V.M. Gorbatov of the Russian Academy of Sciences
Russia, Moscow

НЕРВНЫЙ МЕХАНИЗМ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖКТ. ПРОФИЛАКТИКА И РЕАБИЛИТАЦИЯ

В статье обсуждается связь спастических состояний межпозвоноковых мышц и развития хронических заболеваний ЖКТ. Показано, что эти заболевания бывают вызваны компрессией симпатических нервов. Предложены методы профилактики и реабилитации.

Ключевые слова: Хронические заболевания, мышцы, остеохондроз позвоночника, неврологические синдромы, спастические состояния мышц, реабилитация.

Cherkasov A.D.

The institute of general pathology and pathophysiology

NERVOUS MECHANISM OF GASTROINTESTINAL DISEASES. PREVENTION AND REHABILITATION

The article discusses the relationship of spastic states of intervertebral muscles and the development of chronic gastrointestinal diseases. It is shown that these diseases are caused by compression of sympathetic nerves. Proposed methods of prevention and rehabilitation.

Key words: Chronic diseases, muscles, osteochondrosis of the spine, neurological syndromes, spastic muscle states, rehabilitation.

Введение. Профессор С.П. Боткин, один из основателей теории нервизма (практически забытой в настоящее время) говорил, что в каждом хроническом заболевании необходимо искать нервный компонент. Именно с изучения язвообразования в желудке и началась эпоха нервизма в физиологии и медицине. Поводом послужили обнаруженные в желудке язвы и эффекты самопереваривания желудка у людей, приговорённых к смертной казни (по Ажипа Я.И., 1990) [1]. Гунтер (Hunter) в 1772 году установил взаимосвязь между повреждением нервной системы и язвообразованиями в желудке и в кишечнике у человека. И уже первые экспериментальные исследования привели к выводу, что такого рода расстройства обязаны своим происхождением нарушению трофической функции нервной системы. Трофическая функция нервной системы отвечает за метаболизм и регенеративные механизмы тканей внутренних органов. Нарушение трофической функции нервной системы приводит к развитию нейродистрофических изменений: дисфункции, дистрофии, язвообразования, некрозы и пр. Н.Н. Бурденко, Б.Н. Могильницкий (по Ажипа Я.И., 1990) [1] наблюдали трофические язвы в желудке и кишечнике при раздражении солнечного сплетения, блуждающего нерва, спинного мозга и гипоталамуса.

До середины прошлого века в этиологии хронических заболеваний главенствовала теория трофической функции нервной системы. Первоначально предполагалось, что существуют специальные трофические нервы, управляющие метаболизмом тканей и регенерацией тканей внутренних органов. Были проведены эксперименты, демонстрирующие, что перерезка симпатических нервов, иннервирующих внутренние органы, приводит к развитию нейродистрофических процессов. Раздражение этих нервов приводило к язвообразованию в желудке и двенадцатиперстной кишке. С другой стороны, восстановление перерезанных нервных путей приводило к регенерации уже подвергнувшихся дистрофии тканей. Впоследствии было показано, что специальных трофических нервов не существует, а трофическими функциями обладают любые симпатические нервы.

Остеохондроз позвоночника является ведущим ортопедическим недугом человека. Остеохондрозу, по теории проф. Я.Ю. Попелянского, приписывается множество неврологических синдромов (комплексов симптомов) в спине и во всём теле. 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) [5]. Теория предполагает, что костные выросты – остеофиты приводят к компрессии нервных корешков и вызывают болевые ощущения во всём теле.

Вопрос о связи спастических состояний мышц позвоночника и остеохондроза позвоночника с хроническими заболеваниями ЖКТ до сих пор недостаточно изучен и является весьма актуальным как в клинической практике (как основа эффективной немедикаментозной терапии), так и в спортивной практике (как основа здоровья и спортивного долголетия). Это застав-

ляет нас вернуться к принципам превентивной медицины и рассматривать проблему нездорового состояния позвоночника как одну из причин возникновения патологий ЖКТ, которыми страдает значительная часть населения. Поэтому необходима разработка эффективных методов устранения этих патологий и методов реабилитации лиц, имеющих проблемы с позвоночником и хронические заболевания ЖКТ.

Цель исследования. Показать роль спастических состояний межпозвонковых мышц в развитии хронических заболеваний ЖКТ и разработать систему предотвращения и немедикаментозного лечения хронических заболеваний внутренних органов.

Материалы и методы. Всего в обследовании участвовало 72 человека. В обследовании состояния мышечного корсета и состояния позвоночника принимало участие 40 практически здоровых лиц обоего пола в возрасте от 18 до 68 лет, занимающихся физической культурой либо спортом и в течение двух-трех лет выполняющих комплексы по восстановлению позвоночника (далее - спортивная группа), а также 32 человека из контрольной группы.

Методы мануальной диагностики мышечного корсета позвоночника по локализации спастических состояний межпозвонковых мышц. При мануальном обследовании паравертебральных зон отыскивали области, характеризующиеся постоянными болями, зоны, отвечающие болями при вибрационном воздействии на мышцы и области, 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.

Методы диагностики подвижности двигательных сегментов позвоночника. Было проведено измерение подвижности сегментов позвоночника при функциональных пробах. Для этого на поверхность кожи в точках, соответствующих проекции центра остистого отростка каждого позвонка ставились метки. Затем обследуемый выполнял функциональные пробы - изгибал позвоночник по всей длине в правую и в левую стороны. По фотографиям, сделанным при функциональных пробах, измерялись углы, образованные линиями, соединяющими последовательно каждые два смежных позвонка. По этим данным строились графики подвижности сегментов позвоночника по всему позвоночнику.

Методика анализа обследований позвоночника с помощью методов МРТ. Часть лиц, проходящих комплексное обследование позвоночника, описанное выше, проходила обследование позвоночника с помощью методов магнитно-резонансной томографии. Материалы обследования подробно изучались с привлечением специалистов по лучевой диагностике. Анализировались степень выраженности дистрофических изменений в межпозвонковых дисках и состояние межпозвонковых мышц (норма, воспаление, наличие жировых прослоек). Кроме того, в присутствии специалистов по лучевой диагностике были проанализированы более 100 обследований позвоночника с помощью МРТ лиц, проходивших амбулаторное обследование по поводу болей в спине и позвоночнике.

Методы реабилитации лиц, имеющих проблемы с позвоночником. В качестве профилактических и реабилитационных методов мы применяли специальную восстановительную гимнастику для позвоночника на основе упражнений китайской гимнастики цигун. Все гимнастические упражнения выполнялись синхронно с медленным дыханием, как этого требуют принципы китайской гимнастики цигун – напряжение на вдохе, расслабление на выдохе. 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 близки к европейским методам миофасциального релизинга.

Полученные результаты

1. Результаты мануальной диагностики мышечного корсета позвоночника с измерением подвижности сегментов позвоночника

Нами было проведено 72 обследований состояния мышечного корсета позвоночника: мануальная диагностика и измерение подвижности сегментов позвоночника при функциональных пробах (42 обследованных из спортивной группы и 30 из контрольной группы). Из 42 человека спортивной группы 26 имели хронические заболевания – неврологические синдромы в спине (12), хронический гастрит (8), язвенная болезнь желудка

(4), язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки (1), нефрит (2), энтероколит (1), язвенный колит (1).

При обследовании обнаружено, что у большинства обследованных лиц обеих групп в позвоночнике имеются области с пониженной или полной неподвижностью сегментов позвоночника.

У лиц, длительно занимающихся гимнастикой для позвоночника, картина подвижности позвоночника выглядит иначе. Мануальная диагностика, проведенная на обследуемых, имеющих области позвоночника с ограниченной подвижностью или с полной неподвижностью позвоночно-двигательных сегментов, показала наличие в этих областях участков жестких мышц, хронических болей, болевых синдромов, возникающих при вибропрессурном воздействии, гипертрофию отдельных участков длиннейшей мышцы спины и повышенную на 3-4⁰ С температуру кожного покрова в области болевого синдрома.

При сопоставлении результатов мануальной диагностики и функциональных проб на подвижность каждого из позвоночных двигательных сегментов (ПДС) было обнаружено полное совпадение зон, характеризующихся болевым синдромом, с областями пониженной подвижности ПДС или с полной неподвижностью ПДС. Это рассматривалось нами как спастические состояния межпозвонковых мышц. Однако области пониженной подвижности ПДС могли и не иметь болевых синдромов. До 50% обследованных не имеют хронических болей в спине, несмотря на наличие спастических состояний в мышцах позвоночника, однако боль в этих областях обязательно появляется при вибропрессурном мануальном обследовании или во время массажа мышц спины и позвоночника. В участках позвоночника, имеющих пониженную подвижность ПДС или их полную блокаду, также обнаружены области длиннейшей мышцы спины, характеризующиеся либо постоянными болями, либо отвечающие болями на вибропрессурное воздействие, имеющие гипертрофию, как симметрично, так и асимметрично, относительно позвоночника.

Области, имеющие пониженную подвижность ПДС или их полную блокаду, были в различных комбинациях обнаружены во всех трёх отделах позвоночника: в шейном, грудном и поясничном.

Анализ локализации заблокированных участков позвоночника у лиц, страдающих хроническими заболеваниями ЖКТ, включая язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, показал наличие у всех обследованных спастических состояний в межпозвонковых мышцах в области шестого – восьмого грудных позвонков – Th6-Th8. Именно в этой области из позвоночника выходят симпатические нервы, иннервирующие желудок.

2. Эффекты применения реабилитационных техник

Восстановительной гимнастикой для позвоночника занималось 40 человек из спортивной группы. Мануальную терапию прошло 10 обследованных из спортивной группы и 10 из контрольной группы. Курсы мануальной терапии включали в себя 10 сеансов массажа мышц позвоночника по типу миофасциального релизинга для устранения имевшихся у пациентов нарушений в мышечном корсете позвоночника.

Всего с помощью описанных восстановительных практик были исцелены 6 человек, страдавших хроническим гастритом и 3 - язвенной болезнью желудка, 1 - энтероколитом и 1 - язвенным колитом. На лечение гастрита уходило 2 месяца, на лечение язвенной болезни желудка 3 и более месяцев. Единственные случаи лечения многолетних энтероколита и язвенного колита потребовали 3 и 9 месяцев соответственно. Эти лица впоследствии наблюдались и посещали курсы гимнастики в течение 5 лет, рецидивов заболеваний не было.

Такие же положительные изменения наблюдались у всех обследуемых спортивной группы, проходивших курсы мануальной терапии и гимнастики цигун.

Обсуждение. Наш 15-летний опыт преподавания лечебного массажа и китайской гимнастики - цигун, позволил выявить важный факт, заключающийся в том, что у большинства людей, страдающих болями в спине и позвоночнике и тестируемых на подвижность сегментов позвоночника, обнаруживаются спастические состояния межпозвонковых мышц. Возрастной анализ развития дистрофических изменений в позвоночнике с помощью МРТ показал, что спастические состояния межпозвонковых мышц предшествуют развитию остеохондроза позвоночника и являются причиной его развития [6,7,8]. При этом многие из наших слушателей имели хронический гастрит или язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки. Занятия китайской гимнастикой цигун приводило к исчезновению этих заболеваний.

Наличие спастических состояний в межпозвоночных мышцах в области шестого – восьмого грудных позвонков – Th6-Th8 у всех обследованных нами лиц, страдающих хроническими заболеваниями ЖКТ, включая язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, указывает на превалирующую роль нейрогенных трофических расстройств как причин развития хронических заболеваний ЖКТ. Именно в этой области (Th6-Th8) из позвоночных отверстий выходят спинномозговые нервы, в составе которых находятся ветви симпатических нервов, иннервирующих органы ЖКТ -кардиальный клапан, желудок и клапан привратника. Симпатические нервы, не имеющие прочной миелиновой оболочки, могут быть легко подвергнуты компрессии при проходе между спазмированными межпозвоночными мышцами - так называемые «туннельные эффекты» [4]. Компрессия симпатических нервов обязательно приводит к трофическим расстройствам, а механическое раздражение этих нервов межпозвоночными мышцами способно вызывать язвенную болезнь. Подтверждением этого являются наблюдавшиеся нами исцеления от многолетних хронических гастритов и язвенной болезни желудка.

Предложенные нами немедикаментозные методы профилактики хронических заболеваний ЖКТ являются частью более сложной комплексной оздоровительной системы (КОС), предназначенной для предотвращения широкого ряда хронических заболеваний ЖКТ (подробное описание системы - www.healthsys.ru). Кроме того, некоторые хронические заболевания, такие как гастрит и язвенный колит, считаются предраковыми состояниями. Таким образом, КОС имеет и определённую противораковую эффективность.

Результаты наших исследований позволяют рекомендовать больным хроническими заболеваниями ЖКТ в качестве лечебно-профилактического средства методы коррекции состояния позвоночника, а именно, специальную гимнастику для позвоночника на основе китайской гимнастики цигун и массаж мышц позвоночника - миофасциальный релизинг для устранения спастических состояний в мышцах позвоночника.

Выводы

1. У лиц, страдающих хроническими заболеваниями ЖКТ, включая язвенную болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, имеются спастические состояния в межпозвоночных мышцах в области шестого – восьмого грудных позвонков – Th6-Th8 – области симпатической иннервации желудка и других органов ЖКТ.

2. Устранение спастических состояний в межпозвоночных мышцах в области симпатической иннервации желудка и других органов ЖКТ приводит к исцелению от многолетних хронических заболеваний ЖКТ, включая гастрит и язвенную болезнь желудка.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: Хронические заболевания ЖКТ в значительной степени имеют нервное происхождение и вызваны компрессией или раздражением симпатических нервов в составе спинномозговых нервов, выходящих из межпозвоночных отверстий. Устранение спастических состояний межпозвоночных мышц является основой немедикаментозного устранения этих заболеваний.

Цитированная литература

1. Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы. – М. «Наука», 1990. 672 с.
2. Жарков П. Л., Жарков А. П., Бубновский С. М. Поясничные боли. – М. : Издательство 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. – М., 2003. С. 97–98.
4. Жулев Н.М., Бардзгарадзе Ю.Н., Остеохондроз позвоночника. Руководство для врачей. / Н.М. Жулев, Ю.Н. Бардзгарадзе, С.Н. Жулев. – СПб.: Лань, 1999.
5. Попелянский Я. Ю. Болезни периферической нервной системы / Я. Ю. Попелянский // Болезни периферической нервной системы. – М.: Издательство Медицина, 1989.
6. Черкасов А.Д., Кузьмина М.М. Поиск методов объективного контроля вертеброгенных изменений при некоторых хронических заболеваниях // Новые информационные технологии в медицине и экологии: мат. X Юбилейной международной конференции и дискуссионного научного клуба. IT+ME`2002. Украина. Крым. Ялта-Гурзуф. 2002. С. 385–387.

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.

Сведения об авторе

Анатолий Данилович Черкасов

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: healthsys@mail.ru

ФГБНУ Научно-исследовательский институт

общей патологии и патофизиологии

Россия, Москва

Information about author

Anatoli Cherkasov

candidate of biology

senior researcher

E-mail: healthsys@mail.ru

The institute of general pathology and

pathophysiology

Moscow, Russia.

УДК 615.03:616-001.4

ГРНТИ 034.05.17

Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

Федулова Л.В.

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ НА МОДЕЛИ ИССЕЧЕННОЙ РАНЫ

Продемонстрированы регенеративные эффекты белково-пептидных комплексов иммунных органов свиньи, заключенных в системы трансдермальной доставки на основе лецитина – жидкие кристаллы и микроэмульсии. Наибольший потенциал отмечен у жидких кристаллов: за счет большей вязкости они способны создавать на поверхности поврежденного участка гомогенный защитный слой, препятствующий обезвоживанию кожи, гибели клеток и снижающий интенсивность процесса фибринизации. При использовании биоактивного комплекса в сочетании с жидкими кристаллами прочность рубца увеличивалась в 2,6 раза относительно контроля без лечения и в 2,1 раз относительно терапии метилурациловой мазью, что подтверждает высокую ранозаживляющую способность исследуемого комплекса.

Ключевые слова: белково-пептидные комплексы, жидкие кристаллы, микроэмульсии, ранозаживление.

Fedulova L.V.

V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS

FEATURE OF TISSUE SPECIFIC PROTEINS TRANSDERMAL DELIVERY IN INCLUSION WOUND MODEL

Enclosed in lecithin-based transdermal delivery systems — liquid crystals and microemulsions - protein-peptide complexes, extracted from pigs' immune organs, regenerative effects are demonstrated. The greatest potential is observed in liquid crystals: due to their higher viscosity, they are able to create a homogeneous protective layer on the damaged area, preventing skin dehydration, cell death and reducing fibrinization process intensity. While using bioactive complex in combination with liquid crystals, rumen strength increased by 2.6 times relative to control group without treatment and by 2.1 times relative to treatment with methyluracil ointment, which confirms the high wound-healing ability of investigated complex.

Key words: protein-peptide complexes, liquid crystals, microemulsions, wound-healing ability.

Сегодня кожа рассматривается как потенциальный путь введения лекарственных средств как для местных, так и для системных эффектов, при этом особое внимание уделяется разработке специальных носителей для доставки молекул лекарственного средства. Для изучения гомеостаза тканей применяются различные методы *in vivo*, среди которых наиболее интересной и разнообразной является модель заживления раны. Сегодня понимание процесса восстановления тканей включает гораздо больше, чем просто утверждение, что существует три фазы местного процесса: «воспаление, пролиферация и созревание» - заживление ран

представляет собой сложную серию реакций и взаимодействий между клетками и «медиаторами» [1, 2]. В этой связи достаточно интересным представляется использование белково-пептидных смесей, обладающих различными эффектами, проявляющимися как в общем на организм, так и на местном уровне. Полученные ранее результаты исследований комплекса ткане- и видоспецифичных биомолекул, выделенных из иммунокомпетентных органов свиньи с применением технологии модификации градиента изотопного D/H состава, свидетельствуют о его адаптогенных, антиоксидантных, противовоспалительных и анаболических свойствах [3], что может быть важным в процессах регенерации тканей кожи. В настоящий момент для выявления подобных эффектов разработано достаточное количество моделей ран с использованием лабораторных животных, разнообразие которых обусловлено множеством уникальных аспектов процессов ранозаживления у человека, связанных с физиологией, возрастом, здоровьем и наличием того или иного заболевания, приемом антибиотиков или химиотерапевтических препаратов, а также факторами окружающей среды. В данной работе была использована модель плоскостной, или иссеченной, раны, ввиду ее простого исполнения, повреждения всех клеточных слоев дермы при незначительной площади раневой поверхности.

Целью данной работы являлось изучение эффективности систем трансдермальной доставки биоактивных белково-пептидных комплексов на основе лецитина при повреждении кожного покрова мышей.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования являлись жидкие кристаллы и микроэмульсии с включенными в них белково-пептидными смесями, полученными при экстракции тканей тимуса, селезенки и мезентеральных лимфатических узлов *Sus scrofa* 0,9 % раствором натрия хлорида на основе воды с модифицированным изотопным составом (содержание дейтерия 40 ppm) [4]. Разработанная на кафедре наноматериалов и нанотехнологий РХТУ им. Менделеева жидкокристаллическая композиция и микроэмульсии для трансдермальной доставки биологически активных веществ. По разработанной методике были получены три вида жидких кристаллов и два вида микроэмульсий. В основу композиции входили фосфолипидный концентрат, вода и комбинация жирного растительного масла авокадо и эфирного растительного масла чайного дерева [5, 6]. В качестве референс-препарата была использована метилурациловая мазь.

Биологический эксперимент выполнен на мышах BALB/c массой (25±2) г с моделью иссеченной (плоскостной) раны [7]. Раны моделировали в условиях эфирного наркоза, после моделирования животных (n=70) случайным образом отбирали и распределяли на: группа 1 – негативный контроль (без терапии); группа 2 – положительный контроль (терапия метилурациловой мазью (Тульская фармацевтическая фабрика, Россия); группа 3 – терапия жидкими кристаллами «пустышка»; группа 4 – терапия жидкими кристаллами с 3% метилурацилом; группа 5 – терапия жидкими кристаллами с белково-пептидным комплексом (5 масс% белка); группа 6 – терапия микроэмульсией «пустышка»; группа 7 - терапия микроэмульсией с белково-пептидным комплексом (5 масс% белка). Животным 2-7 групп начиная со дня операции на протяжении 8-ми суток на поверхность раны наносили исследуемые образцы в количестве 0,5 см³. На 8-е сутки животных усыпляли в камере для эвтаназии (VetTech, Великобритания), вырезали кусок раневой поверхности кожи и проводили тензиометрические измерения. После чего выполняли гистологические исследования: образцы кожи фиксировали в 10%-ом забуференном растворе формалина (Leica Biosystems, США) в течение 72 часов при (22±2)°C, обезживали в спиртах и пропитывали парафином с использованием процессора Tissue-Tek VIP 5 JR (Sakura, Япония). Срезы толщиной 8 мкм изготавливали на микротоме Microm HM 325 (Microm International GmbH, Германия), окрашивали гематоксилин-эозином (БиоВитрум, Россия), обезживали, просветляли и заключали в монтирующую среду (БиоВитрум, Россия). Анализ гистологических препаратов проводили на микроскопе AxioImager A1 с использованием камеры AxioCam MRc 5 и программы AxioVision 4.7.1.0 (Carl Zeiss, Германия). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 11.0, достоверным считали различие при p<0,05.

Результаты исследований

Экспериментальные животные хорошо переносили раневое повреждение. На 2 сутки после моделирования у животных 1-7 групп наблюдалось частичное закрытие раны и

деградация тромбоцитарного сгустка, что характерно для воспалительной фазы процесса. Стоит отметить отсутствие выраженных воспалительных реакций у животных всех групп, характеризующееся покраснением, повышением местной температуры и отеком. Начиная с 4 суток у экспериментальных мышей выявлено заполнение раневого дефекта и начало эпителизации раны. Стоит отметить, что у мышей 5 группы отмечено более быстрое закрытие раны, чем в группах сравнения: на 6-е сутки после повреждения наблюдалось стягивание раны, преобразование грануляционной ткани в рубцовую. При наблюдении за процессом ранозаживления у мышей 1-7 групп было отмечено, что терапия жидкими кристаллами приводила к заметно меньшему образованию рубцов на 7 сутки, а также более интенсивному росту шерсти у мышей по сравнению с положительным и отрицательным контролем, а также микроэмульсией. Результаты тензиометрических измерений показали, что метилурациловая мазь способствовала увеличению прочности рубца относительно отрицательного контроля (раны без терапии) не более чем на 30%, при этом включение метилурацила в жидкие кристаллы способствовало увеличению плотности рубца более чем на 115% относительно отрицательного контроля и на 71,5% относительно образцов тканей животных, которых обрабатывали метилурациловой мазью. Стоит отметить, что «пустышки» как жидких кристаллов, так и микроэмульсий, обладали слабым ранозаживляющим действием – масса груза, необходимого для разрыва рубца поврежденного кожного покрова мышей групп 3 и 6 увеличивалась в среднем не более чем на 20%. По-видимому, данный эффект обусловлен активными компонентами входящих в состав жидкокристаллических композиций растительных масел. Выраженное терапевтическое действие отмечено у мышей групп 5 и 7. Нанесение жидких кристаллов и микроэмульсий с добавлением биологически активных веществ животного происхождения способствовало увеличению прочности рубцов на 230% и 134 % относительно образцов животных группы 1.

Интересными представляются данные, полученные в результате гистологических исследований образцов кожи мышей. Показано, что у животных группы 1 наблюдалось разрастание соединительнотканной основы дермы с накоплением макрофагов и фибробластов, эластические волокна, местами истонченные и фрагментированные, местами уплотненные, при этом края раны характеризовались истонченным эпидермисом, восстановление волосяных фолликулов не значительное. У животных группы 2 была выявлена схожая с группой 1 картина, при этом выявлено утолщение эпидермиса и накопление фибробластов в дерме. Анализ образцов тканей мышей группы 3, 4 и 6, 7 позволил активную фазу регенераторных процессов, соединительная ткань преимущественно грануляционная, преобладание слоя горизонтально ориентированных волокон и фибробластов; эпидермис на стадии формирования многослойного плоского ороговевающего эпителия. Стоит отметить, что наиболее выраженные процессы регенерации отмечены в образцах кожи мышей группы 5 – в местах выхода на поверхность кожи стержни волос оплетены кератиновыми пластинами, волосяные фолликулы образовывали комплексы с сальными железами; подсосочковая сеть капилляров хорошо выражена. Возможно, большая эффективность при использовании в качестве системы доставки жидких кристаллов обусловлено их большей вязкостью, за счет чего высвобождение активных элементов происходило медленно, а также тем, что при нанесении композиции на поверхности создавалась жидкая фаза, предотвращающая обезвоживание кожи и предупреждающая гибель клеток, что способствовало более быстрому заживлению без интенсивного процесса фибризации.

Выводы

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: установленная активная репарация поврежденных тканей может быть обусловлена стимуляцией дифференциации клеток-предшественников тканевого матрикса за счет использования самоорганизующихся жидких кристаллов повышающих способность высокомолекулярных ткане- и видоспецифичных белково-пептидных комплексов проникать в его внутреннюю среду, прежде всего трансгландулярным и трансфолликулярным способами, оказывая комплексное воздействие на системный иммунитет и способствуя ускорению регенерации поврежденных покровов. При этом низкомолекулярные пептиды, способные проникать за счет диффузии через клетки эпидермиса или по межклеточным контактам, оказывают аддитивное и синергетическое влияние на иммунные органы и клетки периферической крови наряду с высокомолекулярными протеинами, дополнительно стимулируя работу иммунокомпетентных клеток.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-16-00008).

Список использованной литературы

1. Shaw T.J. Wound repair at a glance/ T.J. Shaw, P. Martin // J Cell Sci. 2009. Vol. 122 (18). P. 3209–3213.
2. Mutschler W. Physiology and pathophysiology of wound healing of wound defects / W. Mutschler // Unfallchirurg. 2012. Vol. 115 (9). P. 767–773.
3. Fedulova L.V. Influence of different polypeptides fractions derived from sus scrofa immune organs on the rats immunological reactivity/ L.V. Fedulova, E.R. Vasilevskaya, E.A. Kotenkova, A.A. Elkina, M.G. Baryshev, A.B. Lisitsyn // J. of Pharmacy and Nutrition Sciences. 2017. Vol. 7 (2). P. 35–40.
4. Fedulova L. Identification of tissue-specific proteins of immunocompetent organs of Sus scrofa isolated in deuterium depleted medium / L. Fedulova, A. Elkina, E. Vasilevskaya, E. Barysheva // Medical Science. 2018. Vol. 22 (9). P. 509–513.
5. Трофимова Е.С. Микроэмульсии и жидкие кристаллы фосфолипидов для трансдермальной доставки лекарственных веществ / Е.С. Трофимова, Е.Д. Мезина, Д.Д. Ломакина, А.А. Новикова, Н.М. Мурашова // Успехи в химии и химической технологии. 2018. Т. 32. № 10 (206). С. 50–52.
6. Мурашова Н.М. Жидкокристаллическая композиция для трансдермальной доставки биологически активных веществ / Н.М. Мурашова, М.Ю. Костюченко, А.Н. Бизюкова, Е.В. Юртов // Патент RU № 2623210. 2017.
7. Бурякина А.В., Фролова Н.Ю., Мельникова Т.И., Вишневская Е.К., Авенирова Е.Л., Сивак К.В., Караваева А.В., Зебрев А.И., Моисеева М.Н. / в кн. «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» // под ред. Миронова А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. С. 738–744.

Сведения об авторе

Лилия Вячеславовна Федуллова

канд. техн. наук

зав. лаб.

Эл. почта: l.fedulova@fneps.ru

Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения

ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова»

Россия, Москва

Information about author

Fedulova Liliya Vyacheslavovna

candidate of Sciences (PhD)

head of laboratory

e-mail: l.fedulova@fneps.ru

Experimental clinical laboratory of biologically active substances

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences

Russia, Moscow

УДК 616.895:615.841:616.831

ГРНТИ 76.03.53

Ахеджак-Нагузе С.К.

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ТРАКТОВ ФРОНТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ДО И ПОСЛЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ПРИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

С целью определения влияния транскраниальной стимуляции (ТЭС) на стрессоустойчивость студентов медицинского вуза регистрировали МРТ головного мозга с последующей программной обработкой и трактографией. На трактограммах префронтальной коры головного мозга, у студентов испытывающих стресс, количество трактов было небольшим. После 5 сеансов транскраниальной электростимуляции на трактограммах префронтальной коры головного мозга увеличивалось количество трактов. Это указывало на восстановление нейрональных сетей префронтальной коры.

Ключевые слова: стрессоустойчивость, трактография, транскраниальная электростимуляция.

THE ESTIMATION OF DYNAMICS OF TRACTS OF THE FRONTAL CORTICAL AREA OF THE HUMAN BRAIN BEFORE AND AFTER TRANSCRANIAL ELECTROSTIMULATION WITH EMOTIONAL STRESS

In order to determine the impact of Transcranial stimulation (TES) on stress resistance of students of Medical University MRT of the brain with the subsequent software process and tractography was registered. Tractograms of the prefrontal cortex of brain of the students experiencing stress showed that the number of tracts was small. After 5 sessions of Transcranial electrical stimulation the number of tracts on tractograms of prefrontal cortex was increased. It shows the recovery of neuronal networks in the prefrontal cortex.

Key words: stress resistance, tractography, transcranial electrostimulation.

Большинство студентов вузов испытывают психоэмоциональный стресс, который может приводить к дисстрессу и развитию невроза [1-7]. В связи с этим повышение стрессоустойчивости студентов к учебному процессу является весьма актуальной. Одним из путей повышения стрессоустойчивости студентов является транскраниальная электростимуляция [1-6,10].

Одним из инструментов в исследовании механизмов повышения стрессоустойчивости является трактография мозга.

Известно, что структура (гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников) реагирует на стресс, выбросом в кровяное русло гормонов [12,13]. В реакции на стресс участвует и префронтальная область коры, которая выполняет функции центра управления высшими когнитивными способностями человека [14]. Однако, сильный и неконтролируемый стресс, приводит к запуску каскада биохимических реакций, которые ослабляют влияние префронтальной коры [11]. Учитывая выше изложенное, изучение механизмов повышения стрессоустойчивости студентов к учебному процессу после транскраниальной электростимуляции методом трактографии является актуальной.

Цель работы

Оценить динамику трактов фронтальной области коры головного мозга человека при психоэмоциональном стрессе до и после транскраниальной электростимуляции.

Материал и методы исследования

Наблюдения были выполнены на 22 практически здоровых юношах-добровольцах - студентах в МРТ-Центре города Краснодара в конце учебного года в период аттестации студентов.

У испытуемых получали письменное информированное согласие на проведение наблюдений. Уровень испытываемого стресса (УИС) у студентов определяли по методике Ю.Р. Шейх-Заде с соавторами [8,9]. По методу Н.Н. Киршевой и Н.В. Рябчиковой и по вариабельности ритма сердца оценивали стрессоустойчивость.

Сеансы транскраниальной электростимуляции (ТЭС) проходили 12 испытуемых (основная группа) в вечернее время с 18 до 22 часов через день. Курс состоял из 5 сеансов по 30 минут, сила тока - до 3,0 мА. Группе сравнения (10 человек) ТЭС не проводили.

После курса ТЭС у испытуемых основной группы и в это же время у испытуемых группы сравнения вновь определяли УИС, уровень стрессоустойчивости, вариабельность ритма сердца, регистрировали МРТ головного с последующей программной обработкой и трактографией.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи пакетов программ «STATISTIKA 6,0 for Windows» фирмы «Stat Soft, Inc.». После установления нормальности распределения вариант с использованием показателя Shapiro-Wilk, использовали t-критерий Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

У 15 испытуемых в конце учебного года УИС составлял 1,51–2,00 условных единиц и оценивался как средний уровень стресса, у 7 человек УИС был более 2,00 условных единиц и оценивался как выраженный стресс. По методу Н.Н. Киршевой и Н.В. Рябчиковой у 13 студентов количество баллов по шкале было 38-49, что позволяло оценить уровень стрессоустойчивости как средний и ниже среднего, а у 9 человек 50 - 53 – низкий. По методике

вариабельности ритма сердца у 16 человек стрессоустойчивость оценивалась как умеренная, у 6 - как низкая.

На трактограммах префронтальной коры головного мозга, у студентов испытующих стресс, обусловленный учебной нагрузкой в предэкзаменационный период количество трактов было небольшим. Это указывало на подавление нейрональных сетей префронтальной коры.

После 5 сеансов транскраниальной электростимуляции в основной группе у 9 человек уровень испытываемого стресса был в пределах 1,0–1,50 условных единиц, что соответствовало норме, а у 3 студентов в интервале 1,51–2,00 условных единиц - средний уровень стресса.

В группе сравнения у 4 студентов УИС определялся в диапазоне 1,51–2,00 условных единиц - средний уровень стресса, а у 6 студентов УИС был более 2,00 условных единиц и оценивался как выраженный стресс.

После 5 сеансов транскраниальной электростимуляции, в основной группе наблюдаемых у 8 человек количество баллов по шкале было 26-29, что позволяло оценить уровень стрессоустойчивости как высокий, а у 4 человек 30 - 33 – выше среднего.

У 6 лиц группы сравнения уровень стрессоустойчивости оценивался в 46 – 49 баллов как ниже среднего и у 4 человек как 50 – 53 - низкий.

По методике вариабельности ритма сердца в основной группе после 5 сеансов транскраниальной электростимуляции у 8 человек стрессоустойчивость оценивалась как высокая, у 6 - как умеренная.

В группе сравнения по вариабельности ритма сердца у 5 человек стрессоустойчивость оценивалась как умеренная, а у 5 – как низкая.

После 5 сеансов транскраниальной электростимуляции, в основной группе испытуемых на трактограммах префронтальной коры головного мозга увеличивалось количество трактов. Это указывало на восстановление нейрональных сетей префронтальной коры (таблица).

Таблица

Динамика трактов в префронтальной области коры студентов, испытывающих стресс к учебному процессу до и после транскраниальной электростимуляции

| Параметры | Основная группа | | Группа сравнения | |
|-----------|-----------------|-----------|------------------|---------------|
| | До ТЭС | После ТЭС | Исходное | Через 10 дней |
| n | 12 | 12 | 10 | 10 |
| M | 12,8 | 23,1 | 12,2 | 12,4 |
| DS | 1,4 | 2,2 | 1,5 | 1,1 |
| ±m | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 0,6 |
| P | | <0,001 | | >0,05 |

Полученные результаты дополняют представления о механизме восстановления стрессоустойчивости при транскраниальной электростимуляции.

Вывод: Таким образом, после 5 сеансов транскраниальной электростимуляции происходит увеличение трактов в префронтальной области коры головного мозга человека, что обуславливает восстановление стрессоустойчивости.

Литература

1. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости по методике «Прогноз» после транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. IT + M&Ec`2018. – Гурзуф, 2018. С.235–238.

2. Ахеджак-Нагузе С.К. Оценка стрессоустойчивости после применения транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. IT + M&Ec`2018. – Гурзуф, 2018. С. 238–241.

3. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости после транскраниальной электростимуляции тестом С. Коухена и Г. Виллиансона // Российская наука в современном мире: сб. ст. по матер. XIX междунар. науч.-практ. конф., ч. I. – Москва: Научно-издательский центр «Актуальность РФ», 2018. С. 40–43.

4. Ахеджак-Нагузе С.К. Влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов // Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке:

сб. ст. по матер. XXX междунар. науч.-практ. конф. № 21(29). – Новосибирск: СибАК, 2018. С. 6–14.

5. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Изменение стрессоустойчивости у студентов при применении транскраниальной электростимуляции // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. № 2. С.78–81.

6. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Терещенко О.А. Выявление влияния транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов тестом Т.Холмса и Р.Райха // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. № 6. С.100–104.

7. Киселева Е.В., Акутина С.П. Стресс у студентов в процессе учебно-профессиональной подготовки: причины и последствия // Молодой ученый. 2017. № 6. С. 417–419. – URL <https://moluch.ru/archive/140/39480/> (дата обращения: 28.12.2018).

8. Шейх-Заде Ю.Р., Шейх-Заде К.Ю. Способ определения уровня стресса. Патент № 2147831 РФ, приоритет от 23.01.97. – Опубл. 27.04. 2000 в БИ №12).

9. Шейх-Заде Ю.Р., Скибицкий В.В., Катханов А.М., Шейх-Заде К.Ю., Сухомлинов В.В., Кудряшов Е.А., Чередник И.Л., Жукова Е.В., Каблов Р.Н., Зузик Ю.А. Альтернативный подход к оценке variability сердечного ритма. Вестник Аритмологии. 2001 (22): С.49.

10. Achedzhak-Naguzе S.K. Stress students after applying transcranial electrostimulation //The collection includes 7th the International Scientific and Practical Conference «Education Transformation Issues» by SCIEEURO in London 27-29 December 2018. S/ 38-42. («Вопросы трансформации образования»: сб. ст. по матер. 7-й междунар. науч.-практ. конф. – Лондон, 2018. С.38–42.

11. Arnsten A.F.T. Stress signaling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. Nat. Rev. Neurosci. 2009;10:410–422. PMID: PMC2907136.

12. Selye H. Stress and the reduction of distress / H. Selye // The Journal of the South Carolina Medical Association. Nov. 1979. P. 562–566.

13. Selye G. Stress without distress / G. Selye. – М.: Progress, 1979. 124 p.

14. Blakemore S.J., Robbins T.W. Decision-making in the adolescent brain. Nat. Neurosci. 2012;15:1184–1191

Сведения об авторе

Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе

канд. мед. наук

рук. центра содействия трудоустройству выпускников

пом. проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам

доц. каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: naguzesk@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Россия, Краснодар

Information about author

Saida Kazbekovna Akhedzhak-Naguzе

Ph.d., Associate Professor

Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment

Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work

Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine

E-mail: naguzesk@mail.ru

FSBEI HE KubSMU

Russia, Krasnodar

УДК 61:615.841:159.94:616-075.8

ГРНТИ 76.03.53

Ахеджак-Нагузе С.К.

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

ВЛИЯНИЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ НА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ СТУДЕНТОВ

С целью определения влияния транскраниальной стимуляции (ТЭС) на стрессоустойчивость студентов медицинского вуза применяли тест С. Коухена и Г. Виллиансона. После проведения 5 сеансов ТЭС в неделю уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов обоего пола увеличивался, что соответствовал по шкале теста С. Коухена и Г. Виллиансона хорошему уровню.

Ключевые слова: стрессоустойчивость, транскраниальная электростимуляция.

Akhedzhak-Naguze S.K.
FSBEI HE KubSMU

THE EFFECT OF TRANSCRANIAL ELECTRICAL STIMULATION ON THE STRESS OF STUDENTS

In order to determine the impact of Transcranial stimulation (TES) on stress resistance of students of Medical University the test of S.Cohen and G. Willianson was applied. After 5 sessions a week the level of stress resistance of TES in practically healthy male and female students was growing that corresponded to a good standard according to the scale of S. Cohen and G. Willianson.

Key words: stress resistance, transcranial electrostimulation.

Возникновение психоэмоционального стресса у студентов, обусловленное большим потоком информации, неумением ее систематизировать, изменением образа жизни, неуверенностью, дефицитом времени и другими факторами может приводить к развитию различных заболеваний [1-6, 8-11]. Эндогенные опиоидные пептиды, обеспечивающие стресс-лимитирующий эффект играют значительную роль в защите организма от стресса. При хроническом стрессе развивается опиатная толерантность, которая может влиять на развитие стресс-индуцированной патологии. Поэтому, изучение методов повышения стрессоустойчивости является актуальной [7].

Применение транскраниальной электростимуляции (ТЭС) опиоидэргической системы повышает стрессоустойчивость [4-7].

Цель: определить влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов, оцениваемую по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 127 студентах медицинского вуза в возрасте 19 - 22 лет, из них 50 юношей и 77 девушек. Все испытуемые были практически здоровы.

Наблюдаемые студенты были разделены на основную группу (78 человек) и группу сравнения (49 человек). Студентам основной группы проводили транскраниальную электростимуляцию (ТЭС): 22 человек - 2 сеанса в неделю, 56 человек - 5 сеансов в неделю. До проведения ТЭС и после курса ТЭС в основной группе определяли уровень стрессоустойчивости. В группе сравнения уровень стрессоустойчивости определяли в то же время. 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 студентов отмечался удовлетворительный и хороший уровни стрессоустойчивости. Через неделю количество испытуемых 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 | Исходный | После 2 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|-------|
| Удовлетворительный | 18,7±0,3 (n=26) | 18,6±0,4 (n=26) | >0,05 |
| Хороший | 11,3±0,4 (n=23) | 10,9±0,4(n=23) | >0,05 |

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 студентов 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 | Исходный | После 2 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|-------|
| Удовлетворительный | 17,9±0,4 (n=36) | 17,5±0,6 (n=16) | >0,05 |
| Хороший | 0 (n=0) | 12,0±0,2 (n=20) | |

Испытуемые до 5 сеансов ТЭС были с удовлетворительным и хорошим уровнями стрессоустойчивости. Количество студентов с удовлетворительным уровнем стрессоустойчивости после 5 сеансов ТЭС терапии уменьшалось на 12 человек, а 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 наблюдалось.

Таблица 3.

Уровни стрессоустойчивости студентов
по тесту С. Коухена и Г. Виллиансона после 5 сеансов ТЭС

| Уровни стрессоустойчивости | Исходный | После 5 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|--------|
| Удовлетворительный | 18,0±0,5 (n=26) | 18,0±0,7 (n=14) | >0,05 |
| Хороший | 12,8±0,2 (n=16) | 11,0±0,3 (n=28) | <0,001 |

Таким образом, уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов медицинского вуза обоего пола повышался после 5 сеансов ТЭС в неделю и соответствовал по шкале теста С. Коухена и Г. Виллиансона хорошему уровню.

Литература

1. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости по методике «Прогноз» после транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. «IT + M&Eс`2018». – Гурзуф, 2018. С. 235–238.
2. Ахеджак-Нагузе С.К. Оценка стрессоустойчивости после применения транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. «IT + M&Eс`2018». – Гурзуф, 2018. С.238–241.
3. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Изменение стрессоустойчивости у студентов при применении транскраниальной электростимуляции // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. № 2. С.78–81.
4. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Терещенко О.А. Выявление влияния транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов тестом Т.Холмса и Р.Райха // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. №6. С.100–104.
5. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости после транскраниальной электростимуляции тестом С. Коухена и Г. Виллиансона // Российская наука в современном мире: сб. ст. по матер. XIX междунар. науч.-практ. конф., ч. I. – Москва: Научно-издательский центр «Актуальность РФ», 2018. С.40–43.
6. Ахеджак-Нагузе С.К. Влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов // Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке: сб. ст. по матер. XXX междунар. науч.-практ. конф. № 21(29). – Новосибирск: СибАК, 2018. С. 6–14.
7. 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. С. 73–82.
8. Меерманова И.Б., Койгельдинова Ш.С., Ибраев С.А. Состояние здоровья студентов, обучающихся в высших учебных заведениях // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 2-2. С. 193–197.

9. Новгородцева И.В., Мусихина С.Е., Пьянкова В.О. Учебный стресс у студентов-медиков: причины и проявления // Медицинские новости. 2015. № 8. С. 75–77.

10. Киселева Е.В., Акутина С.П. Стресс у студентов в процессе учебно-профессиональной подготовки: причины и последствия // Молодой ученый. 2017. № 6. С. 417–419. – URL <https://moluch.ru/archive/140/39480/> (дата обращения: 28.12.2018).

11. Achedzhak-Naguze S.K. Stress students after applying transcranial electrostimulation // The collection includes 7th the International Scientific and Practical Conference «Education Transformation Issues» by SCIEEURO in London 27-29 December 2018. S/ 38-42. («Вопросы трансформации образования»: сб. ст. по матер. 7-й междунар. науч.-практ. конф. – Лондон, 2018. С. 38–42.

Сведения об авторе

Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе

канд. мед. наук

рук. центра содействия трудоустройству выпускников

пом. проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам

доц. каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: naguzesk@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Россия, Краснодар

Information about author

Saida Kazbekovna Akhedzhak-Naguze

Ph.d., Associate Professor

Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment

Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work

Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine

E-mail: naguzesk@mail.ru

FSBEI HE KubSMU

Russia, Krasnodar

УДК 61:159.94:615.841:616-075.8

ГРНТИ 76.03.53

Ахеджак-Нагузе С.К.

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ У СТУДЕНТОВ

ПОСЛЕ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ МЕТОДОМ «ПРОГНОЗ»

Для определения стрессоустойчивости у студентов после транскраниальной стимуляции (ТЭС) использовали тест «Прогноз». После проведения 5 сеансов ТЭС в неделю уровень стрессоустойчивости у практически здоровых студентов обоего пола повышался.

Ключевые слова: стрессоустойчивость, транскраниальная электростимуляция.

Akhedzhak-Naguze S.K.

FSBEI HE KubSMU

DETERMINATION OF STRESS RESISTANCE IN STUDENTS AFTER TRANSCRANIAL ELECTROSTIMULATION BY THE METHOD OF "PROGNOSIS"

To determine stress resistance in students after transcranial stimulation (TES), the "Prognosis" test was used. After 5 sessions of TES per week, the level of stress tolerance among practically healthy students of both sexes increased.

Key words: stress resistance, transcranial electrostimulation.

Стресс во время обучения в вузе является частью студенческой жизни [1]. Причины развития психоэмоционального стресса у студентов многообразны: резкое увеличение количества информации, сложности ее усвоения, систематизации, использования, развивающийся дефицит времени, изменение образа жизни. Эти причины могут приводить к дисстрессу и развитию невроза (1-11). По данным литературы стрессовые нагрузки являются основной причиной, нарушающей механизмы саморегуляции сердечно-сосудистых функций. Повышение стрессоустойчивости студентов является актуальной (1-6).

Стрессоустойчивость оценивается совокупностью личностных качеств, способствующих человеку переносить значительные интеллектуальные, волевые и эмоциональные нагрузки, обусловленные особенностями профессиональной деятельности, без особых вредных последствий для деятельности, окружающих и своего здоровья.

Стрессоустойчивость определяли 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 [5-7].

Цель исследования. Определение стрессоустойчивости после транскраниальной электростимуляции методом «прогноз».

Материалы и методы. Стрессоустойчивость у 127 студентов медицинского вуза определяли по тесту «Прогноз» до курса ТЭС и после него. В группе сравнения уровень стрессоустойчивости определяли в то же время. Респонденты 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. В группе сравнения результаты исследования в исходном состоянии и через неделю имели нормальное распределение. В исходном состоянии у студентов отмечался низкий и средний уровни стрессоустойчивости. Через неделю у них отмечался только низкий уровень стрессоустойчивости (таблица 1).

Таблица 1.

Уровни стрессоустойчивости студентов группы сравнения по тесту «Прогноз»

| Уровни стрессоустойчивости | Исходный | После 2 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|-------|
| Низкий | 29,3±0,6 (n=39) | 28,4±0,7 (n=49) | >0,05 |
| Средний | 15,0±0,3 (n=10) | 0 | |

До 2 сеансов ТЭС терапии у 36 студентов наблюдался низкий уровень стрессоустойчивости. После 2 сеансов ТЭС терапии 10 человек оставались с низким уровнем стрессоустойчивости, а 26 имели средний уровень стрессоустойчивости (таблица 2). Данные до и после 2 сеансов ТЭС имели нормальное распределение. Количество баллов после 2 сеансов ТЭС уменьшалось, что свидетельствовало об увеличении стрессоустойчивости, но ее уровень оставался низким.

Таблица 2.

Уровни стрессоустойчивости студентов по тесту «Прогноз» после 2 сеансов ТЭС

| Уровни стрессоустойчивости | Исходный | После 2 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|--------|
| Низкий | 25,6±0,9 (n=36) | 21,6±0,7 (n=10) | <0,001 |
| Средний | 0 (n=0) | 15,1±0,1 (n=26) | |

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 | Исходный | После 2 сеансов ТЭС | P |
|----------------------------|-----------------|---------------------|--------|
| Низкий | 25,0±0,9 (n=24) | 18,9±0,3 (n=10) | <0,001 |
| Средний | 16,0±0,2 (n=12) | 14,0±0,3 (n=10) | <0,001 |
| Высокий | 11,8±0,2 (n=12) | 8,7±0,6 (n=22) | <0,001 |

Таким образом, уровень стрессоустойчивости после проведения 5 сеансов ТЭС повышается. Продемонстрированные в данной работе результаты исследований ТЭС-терапии, подтверждают эффективность применения данной методики для повышения уровня стрессоустойчивости.

Литература

1. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости по методике «Прогноз» после транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. «IT + M&Eс`2018», – Гурзуф, 2018. С. 235–238.
2. Ахеджак-Нагузе С.К. Оценка стрессоустойчивости после применения транскраниальной электростимуляции // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. «IT + M&Eс`2018». – Гурзуф, 2018. С.238–241.

3. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Изменение стрессоустойчивости у студентов при применении транскраниальной электростимуляции // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. № 2. С. 78–81.

4. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Терещенко О.А. Выявление влияния транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов тестом Т.Холмса и Р.Райха // Кубанский научный медицинский вестник. 2018. № 6. С. 100–104.

5. Ахеджак-Нагузе С.К. Определение динамики стрессоустойчивости после транскраниальной электростимуляции тестом С. Коухена и Г. Виллиансона // Российская наука в современном мире: сб. ст. по матер. XIX междунар. науч.-практ. конф., ч. I. – Москва: Научно-издательский центр «Актуальность РФ», 2018. С.40–43.

6. Ахеджак-Нагузе С.К. Влияние транскраниальной электростимуляции на стрессоустойчивость студентов // Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке: сб. ст. по матер. XXX междунар. науч.-практ. конф. № 21(29). – Новосибирск: СибАК, 2018. С. 6–14.

7. 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. С. 73–82.

8. Меерманова И.Б., Койгельдинова Ш.С., Ибраев С.А. Состояние здоровья студентов, обучающихся в высших учебных заведениях // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 2-2. С. 193–197.

9. Новгородцева И.В., Мусихина С.Е., Пьянкова В.О. Учебный стресс у студентов-медиков: причины и проявления. Медицинские новости. 2015. № 8. С. 75–77.

10. Киселева Е.В., Акутина С.П. Стресс у студентов в процессе учебно-профессиональной подготовки: причины и последствия // Молодой ученый. 2017. № 6. С. 417–419. – URL <https://moluch.ru/archive/140/39480/> (дата обращения: 28.12.2018).

11. Achedzhak-Naguzе S.K. Stress students after applying transcranial electrostimulation // The collection includes 7th the International Scientific and Practical Conference «Education Transformation Issues» by SCIEEURO in London 27-29 December 2018. S/ 38-42. («Вопросы трансформации образования»: сб. ст. по матер. 7-й междунар. науч.-практ. конф. – Лондон, 2018. С.38–42.

Сведения об авторе

Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе

канд. мед. наук

рук. центра содействия трудоустройству выпускников

пом. проректора по учебной и воспитательной работе по практическим навыкам

доц. каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: naguzesk@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Россия, Краснодар

Information about author

Saida Kazbekovna Achedzhak-Naguzе

Ph.d., Associate Professor

Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment

Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and Educative Work

Assistant professor of the Chair of Public Health, Health Care and the History of Medicine

E-mail: naguzesk@mail.ru

FSBEI HE KubSMU

Russia, Krasnodar

УДК 616-06

ГРНТИ 76.29.44

Васильков В.Г., Маринчев В.Н., Осинькин Д.В., Емелина Н.Г.

«Пензенский институт усовершенствования врачей»

- филиал ГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

БУВАНЕСТИН – НОВЫЙ АНЕСТЕТИК ДЛЯ СПИНАЛЬНОЙ, ЭПИДУРАЛЬНОЙ И РЕГИОНАЛЬНОЙ АНЕСТЕЗИИ

В статье обсуждается проблема эффективности отечественного местного анестетика «Буванестин» и других современных средств для региональной анестезии – маркаина, наропина в хирургии и травматологии.

Ключевые слова: региональная анестезия, хирургия, травматология, буванестин.

BUVANESTIN - A NEW ANESTHETIC FOR SPINAL, EPIDURAL AND REGIONAL ANESTHESIA

The article is discussed of the results our investigations about the effectiveness of the new local anesthetic "Buvanestin" and other modern drugs for regional anesthesia – marcaine, naropin, etc. in surgery, traumatology.

Key words: regional anesthesia, surgery, traumatology, buvanestin.

Спинальная и эпидуральная анестезия как разновидности региональных методов обезболивания являются одними из наиболее приемлемых способов анестезии у пациентов любого возраста при различных оперативных вмешательствах [2, с.55, 4, с.497, с.400]

В условиях импортозамещения у отечественной фармакологической промышленности появилась необходимость разработки местных анестетиков длительного действия, разрешенных для введения в субарахноидальное пространство.[1, с.216, 3, с.214, 7 с.73]

Актуальность появления отечественных аналогов медицинских препаратов связана с государственной политикой замещения импортных препаратов отечественными аналогами. Так ОАО «Биосинтез» (Пенза, Россия) начал выпуск препарата «Буванестин», который относится к препаратам для местной, регионарной и проводниковой анестезии, относится к группе амидоаминов, МНН Бупивакаин [6, с.382]. Физико-химические свойства буванестина исследованы и результаты опубликованы [6, с.383].

Цель исследования. Изучить эффективность отечественного местного анестетика «Буванестин» и других современных средств для регионарной анестезии при различных хирургических и травматологических операциях.

Материал и методы. Проведён ретроспективный анализ использования Буванестина у 574 пациентов, оперированных под эпидуральной, спинальной, сакральной (каудальной), проводниковой и инфильтрационной анестезией, а также с применением блокады плечевого и других сплетений (табл.1). Буванестин был использован и в послеоперационном периоде для пролонгированной эпидуральной анестезии с использованием катетера в течение 3-5 дней.

Буванестин применялся у пациентов при плановых и экстренных оперативных вмешательствах, в соотношении экстренных и плановых операций приблизительно 1:3. Основным методом регионарного обезболивания при операциях на верхних конечностях являлась блокада плечевого сплетения с использованием Буванестина. Более 50% пациентам выполняли блокаду плечевого сплетения межлестничным доступом по Соколовскому с использованием нейростимуляционной навигации («Stimuplex» B.Braun, Германия): сила тока 0,7-0,8 мА с частотой 2 гц. Правильность стояния иглы подтверждалось ритмичным сокращением мышц плеча или предплечья, затем сила тока снижалась до 0,3-0,4 мА. При нахождении сплетения вводился Буванестин медленно и дробно по 5 мл с аспирационной пробой. После 15-20 минутной экспозиции наступала анестезия и начиналась операция. С целью выяснения качества обезболивания использовалась визуально-аналоговая шкала. Установлено, что пациенты в 90% оценили качество обезболивания как отличное. Мониторинг АД, ЭКГ, частоты пульса, SpO-2 и клинических данных подтвердил уровень и качество анестезии.

Таблица 1.

Виды регионарной анестезии и дозы Буванестина у анализируемой группы больных

| | Вид анестезии | Концентрация Буванестина | Количество пациентов | Дозы, разовые максимальные |
|----|---|--------------------------|----------------------|----------------------------|
| 1. | Спинальная | 0,5% | 266 | 15-20 мг |
| 2. | Эпидуральная | 0,5% | 123 | 150 мг |
| 3. | Каудальная | 0,5% | 7 | 150 мг |
| 4. | Блокада плечевого сплетения | 0,5% | 112 | 2мг/кг |
| 5. | Проводниковые блокады периферических нервов | 0,25-0,5% | 27 | <2 мг/кг |
| 6. | Инфильтрационная анестезия | 0,125-0,25% | 39 | 1,5-2 мг/кг |
| | ВСЕГО | | 574 | |

Как видно из таблицы, Буванестин использовался в качестве местного анестетика при различных методах анестезии и в разных концентрациях, его категорически нельзя использовать для внутривенной регионарной анестезии (по Биру) в связи с его выраженной кардиотоксичностью. Следует обратить внимание на тот факт, что при разных методах анестезии меняется не только концентрация местного анестетика, но и максимальная разовая доза. (3, с.215, 5, с.411)

По данным литературы (2, с.56, 7 с. 464), в России при крупных, продолжительных и травматичных оперативных вмешательствах на нижних конечностях, таких как эндопротезирование суставов основными методами обезболивания являются эпидуральная и спинальная анестезия. Показано, что в послеоперационном периоде использование эпидуральной анальгезии наиболее целесообразно и эффективно по сравнению с другими методами послеоперационного обезболивания (3 с.214, 4 с.497).

Результаты исследования и обсуждение. На основании полученного опыта и ретроспективного анализа протоколов анестезии можно заключить, что препарат Буванестин при инфильтрации в периферические ткани не вызывает каких-либо изменений гемодинамики, главное, избежать ошибочного введения препарата в сосудистое русло. При ошибочном введении Буванестина внутривенно может развиваться синдром общей токсичности: коллапс, судороги, кома, остановка сердца, очень резистентная к реанимации. Кроме общеизвестных мер реанимации (АВС) европейское общество анестезиологов рекомендует использовать жировые эмульсии (например «Липофундин») внутривенно в дозе 10-15 мл/кг сразу при появлении первых симптомов и продолжать даже во время реанимации. Изменения гемодинамики при спинальной или эпидуральной анестезии связаны с развитием симпатической блокады как одного из обязательных компонентов механизма их формирования, и в меньшей степени связано со свойствами буванестина. (4 с.505, 6 с.383, 7 с.464)

Симпатическая блокада со снижением АД и брадикардией зависит от уровня блока, исходного волемического статуса пациента, количества и концентрации вводимого местного анестетика и др. (5, с.403, 7, с.464) При подозрении на гиповолемию у пациента следует провести прединфузию полиионными солевыми растворами, но более целесообразно для этих целей использовать препараты, обладающие ещё и антигипоксантами и антиоксидантными свойствами. Их использование формирует состояние фармакологического прекодиционирования, т.е. предварительной защиты от возможных критических состояний и их последствий во время операции (гипотония, гипоксемия, гиперкапния, остановка сердца и т.п.).

Нами использовались следующие дозы Буванестина для спинальной анестезии –20 мг максимальная разовая доза, в основном у пациентов со средней массой тела 60-80 кг доза колебалась в пределах 14-17 мг. Анализ рутинных клинических методов и мониторинга при использовании Буванестина при спинальной анестезии представлен в табл.2. Длительность операции была в пределах 1,5-2,5 часов, гемотрансфузии не проводились, коррекция кровопотери проводилась полиионными растворами, иногда подключались плазмозаместители. Как видно из табл. 3, параметры исследуемых показателей гемодинамики оставались довольно стабильными, не выходили за пределы 10-15% от исходных величин. Это свидетельствует о том, что буванестин в дозе 14-17 мг не вызывает существенных изменений гемодинамики при спинальной анестезии.

Таблица 2

Динамика некоторых показателей гомеостаза при спинальной анестезии с использованием буванестина (n=266).

| | Этап | До операции | Через 1 час после начала операции | После операции (10-15 минут) |
|---|----------------------|-------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 1 | АД сист., мм рт.ст. | 135,9±12,5 | 120,1±8,3* | 110,2±9,1* |
| 2 | АД диаст., мм рт.ст. | 74,3±7,2 | 70,5±5,5 | 80,7±8,1* |
| 3 | АД ср., мм рт.ст. | 91,1±6,7 | 85,7±7,1 | 83,5±5,5* |
| 4 | ЧСС, уд/в мин | 93,5±8,1 | 85,1±3,3 | 80,2±7,2* |
| 5 | Sp O ₂ | 99,5±0,5 | 98,1±1,8 | 97,3±2,0 |

* – p<0,05

Для эпидуральной и каудальной анестезии 150 мг - максимальная доза, (2мг/кг идеальной массы тела). Определённая опасность передозировки местного анестетика создаётся при длительном введении Буванестина в послеоперационном периоде с использованием

эпидурального катетера. Следует соблюдать дозировку Буванестина при использовании данной технологии – 20-30 мг/час при массе тела (идеальной) 70-80 кг. При использовании эпидурального катетера во время операции следует его оставить и для послеоперационного обезболивания. Работать с эпидуральным катетером должен специально обученный персонал, знающий правила работы и профилактики осложнений. Для послеоперационного обезболивания местный анестетик используется в сниженных дозировках – 1/4 от операционной.

Наш опыт показывает, что артериальная гипотония после выполнения эпидуральной анестезии 0,5% Буванестином развивается на 35-45 минуте от первого введения местного анестетика, т.е. при формировании полноценного блока. Следует отметить, что при использовании эпидуральной анальгезии как компонента (концентрация Буванестина 0,25% в объеме до 20мл, т.е. до 50 мг) гипотония была незначительной (до 15-20% от исходного уровня АД) и быстро поддавалась коррекции инфузионной терапией и не требовала введения вазопрессоров (мезатон). В случаях, когда эпидуральная анестезия применялась как основной вид обезболивания с седацией, то дозы и концентрация Буванестина были выше, что и объясняло более выраженную артериальную гипотонию для коррекции которой, кроме инфузионной терапии, использовали вазопрессор (мезатон, дробно, в небольших дозах). У пациентов пожилого и старческого возраста цефальное распространение местного анестетика происходит более быстро, что следует учитывать при выборе дозы.

По нашим данным Буванестин по продолжительности действия при различных способах введения (спинально, эпидурально, инфилтративно) не отличается от своих аналогов – Бупивакаина, Маркаина. Специфических осложнений использования Буванестина не отметили.

Заключение. Наш клинический опыт применения местного анестетика Буванестина в хирургии и травматологии во время операции и в послеоперационном периоде при разных методах анестезии (нейроаксилярные, проводниковые, блокады и др) показал эффективность и предсказуемость обезболивания. Специфических осложнений или особенностей использования буванестина мы отметить не смогли. Следует сказать, что в единичных случаях, при субарахноидальном введении анестезия наступала несколько позже, о чем было заявлено в характеристике препарата производителем. Отсроченное начало действия местного анестетика при различных путях введения, в том числе и при спинальной анестезии, порой связано не столько с его какими-то недостатками, химического или физического свойства, сколько с возможными проблемами в его правильном распределении в анатомическом пространстве пациента. Это могут быть анатомические аномалии развития тканей, сосудов, но может быть и результатом травмы, заболевания или выходом среза иглы из нужной позиции. На наш взгляд, следует продолжить поиски возможной причины, которая иногда приводит к отсроченному началу полноценной анестезии.

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

- Отечественный анестетик «Буванестин» эффективен и безопасен в качестве препарата для эпидуральной, спинальной, сакральной (каудальной), проводниковой и инфилтративной анестезии при различных операциях в хирургии и травматологии.
- Применение «Буванестина» в послеоперационном периоде для пролонгированной нейроаксиальной, проводниковой блокады целесообразно и эффективно.

Литература

1. Бунятян А.А., Рябов Г.А., Маневич А.З. Анестезиология и реаниматология. – М., 2004. С. 163–264.
2. Васильков В.Г.. Использование кардиоксипина и мафусола у пожилых пациентов с травмой бедра во время анестезии и операции / Васильков В.Г., Емелина Н.Г., Маринчев В.Н., Карпов А.Ф. // Вестник интенсивной терапии. – М. 2014. № 6. С. 55–56.
3. Васильков В.Г. Профилактика и коррекция периоперационных расстройств гемодинамики у пожилых пациентов с переломом бедренной кости с использованием фармакологического прекондиционирования / Васильков В.Г., Маринчев В.Н., Емелина Н.Г., Карпов А.Ф. // Сборник тезисов 15 съезда федерации анестезиологов и реаниматологов. – М. 2016. С. 214–215.
4. Евдокимов Е.А. Сочетанная анестезия. Анестезиология. Национальное Руководство. Глава 27. С. 495–505.

5. Козлов С.П., Светлов В.А. Местные анестетики. Анестезиология. Национальное Руководство. Глава 21. С. 399–412.

6. Корячкин В.А. Физико-химические свойства нового анестетика буванестина./ Корячкин В.А., Сафин Р.Р. // Сборник тезисов 15 съезда федерации анестезиологов и реаниматологов. – М. 2016. С. 382–383.

7. Critchley L. A. H., Stuart J. C., Short T. G., Gin T. Haemodynamic effects of subarachnoid block in elderly patients // Br. J. Anaesth. 2004. 73: 464.

Сведения об авторах

Валерий Григорьевич Васильков

д-р мед. наук, проф.

зав. каф. анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи

Эл. почта: giuv@sura.ru

Владимир Николаевич Маринчев

канд. мед. наук

доц. каф. анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи

Эл. почта: mvn108@rambler.ru

Дмитрий Владимирович Осинкин

ассистент каф. анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи

Эл. почта: giuv@sura.ru

Наталья Геннадиевна Емелина

стар. лаб. каф. анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи

Эл. почта: emelina.ng@mail.ru

«Пензенский институт усовершенствования врачей» - филиал ГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Россия, Пенза

Information about authors

Valery G. Vasilkov

M.D., Professor

Head of Department of Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Care

E-mail: giuv@sura.ru

Vladimir N. Marinchev

Associate Professor

Department of Anesthesiology Resuscitation and Emergency Care

E-mail: mvn108@rambler.ru

Dmitriy V. Osinkin

Assistant Professor, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Care

E-mail: giuv@sura.ru

Natalia G. Emelina

Laboratory Assistan, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Emergency Care

E-mail: emelina.ng@mail.ru

Penza Postgraduate Medical Institute- Branch of The Russian Medical Academy Postgraduate Continuous Education, Ministry of Health

Russia, Penza

УДК 591.3.591.443

ГРНТИ 76.03.35

¹Цомартова Э.С., ²Тимохина Е.П., ²Горлушкин В.М.

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

²ФГБНУ «НИИ морфологии человека»

СТРУКТУРА ТИМУСА КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, РАЗВИВАВШИХСЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ДОЗ ДДТ

Исследование посвящено изучению морфологических изменений тимуса крыс пубертатного возраста, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии. Выявленные изменения указывают на большую чувствительность ретикулярных эпителиоцитов к действию эндокринного дисраптора.

Ключевые слова: тимус, эндокринный дисраптор, ДДТ, онтогенетическое воздействие, половое созревание

¹Tsomartova E.S., ²Timokhina E.P., ²Gorlushkin V.M.

¹Federal State Funded Educational Institution of Higher Education I.M.

Sechenov First Moscow State Medical University

²Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology

THYMUS MORPHOLOGY IN PUBERTAL RATS AFTER DEVELOPMENTAL EXPOSURE TO LOW DOSES OF DDT

The study was focused on examination of thymus morphology in pubertal period after prenatal and postnatal exposure of rats to low doses of endocrine disrupter DDT. Our findings demonstrate high sensitivity of thymic epithelial cells to endocrine disruption.

Key words: thymus, endocrine disruptor, DDT, developmental exposure, puberty

Введение

Воздействие эндокринных дисрапторов на морфогенетические процессы и функционирование органов иммунной защиты, по мнению многих специалистов, является

одной из причин нарушений формирования защитных реакций и развития иммунитета [1–3]. Воздействие на эндокринную и иммунную систему матери и в ранние, и в поздние сроки беременности способно изменять программу развития органов иммунной защиты, что может быть причиной ряда заболеваний и дисфункций лимфоидной системы [4–8]. В наших предыдущих исследованиях мы выявили изменения в развитии тимуса у новорожденных крыс, подвергавшихся пренатальному воздействию низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ) [9].

Целью настоящего исследования было изучение структуры тимуса крыс пубертатного возраста, развивавшихся при воздействии низких доз ДДТ.

Материалы и методы

Исследование проведено на самцах крыс Вистар ($n=10$), рожденных самками, которые с первого дня ссаживания с самцами до достижения потомством 21-дневного возраста вместо воды получали раствор о,п-ДДТ («Sigma-Aldrich», США) с концентрацией 20 мкг/л. С 22-х суток потомство было переведено на самостоятельное потребление аналогичного раствора ДДТ. Среднесуточное потребление ДДТ составило $2,89 \pm 0,12$ мкг/кг, 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]. В качестве контрольной группы использовали потомство интактных самок ($n=10$). Животных выводили из эксперимента в возрасте 42-х суток, что соответствует пубертатному периоду. Определяли относительную массу тимуса, после чего тимус фиксировали в жидкости Буэна. После стандартной гистологической проводки и заливки 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 проводили с использованием 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

Тимус крыс пубертатного возраста, являющихся потомством интактных самок, представлял собой орган, имеющий дольчатое строение. Дольки были разделены широкими соединительнотканными перегородками, состоящими из отдельно лежащих коллагеновых волокон и немногочисленных фибробластов. В структуре долек четко выделялось корковое и мозговое вещество. В корковом веществе отсутствовало безэпителиальное пространство, наблюдались участки гибели единичных тимоцитов. В мозговом веществе встречались тимические тельца первой, второй и третьей стадий развития. Преобладали тельца первой стадии, состоящие из в среднем из четырех ретикулярных эпителиоцитов.

У крыс, развивавшихся в условиях воздействия эндокринного дисраптора, абсолютная и относительная масса тимуса незначительно превышали значения контрольной группы. Тимус был разделен на дольки. Междольковые соединительнотканые перегородки по структуре не отличались от таковых в контроле. В корковом веществе также отсутствовало безэпителиальное пространство. Содержание лимфоцитов в 1 мм^2 площади среза коркового вещества не отличалось от контрольных значений. Аналогично контролю в корковом веществе наблюдались участки очаговой гибели лимфоцитов. Граница между корковым и мозговым веществом была четкой. Содержание лимфоцитов в мозговом веществе было аналогично значениям контрольной группы. Количество тимических телец было в два раза меньше по сравнению с контролем аналогичного возраста. В отличие от контрольной группы тимические тельца третьей стадии развития не обнаруживались. Тельца первой стадии составляли две трети. Их доля в общем числе тимических телец превышала значения контрольной группы. Тимические тельца состояли, как правило, из четырех ретикулярных эпителиоцитов.

Пубертатный период является точкой наивысшего развития тимуса, за которой начинаются его инволютивные изменения. Исследование показало, что воздействие ДДТ не ускоряет инволюцию тимуса, но влияет на строение органа, участвующую в регуляции пролиферации и дифференцировки тимоцитов.

Выводы

Структура тимуса крыс, развивавшихся в условиях воздействия ДДТ, имеет отличия от возрастного контроля, которые заключаются в изменении циклов формирования тимических

телец в мозговом веществе.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показано, ретикулоэпителий тимуса крыс обладает чувствительностью к воздействию эндокринного дисраптора ДДТ, пренатальное и постнатальное воздействие которого изменяет темпы формирования тимических телец.

Литература

1. Ahmed S.A. The immune system as a potential target for environmental estrogens (endocrine disrupters): a new emerging field // *Toxicology* 2000. V. 150. 191e206.
2. Kuo C.-H., Yang S.-N., Kou P.-L., Hung C.-H. Immunomodulatory effects of environmental endocrine disrupting chemicals // *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 2012. V. 28. S37eS42
3. Chalubinski M., Kowalski M.L. Endocrine disrupters – potential modulators of the immune system and allergic response // *Allergy*. 2006. V. 61. 1326e35.
4. Яглова Н.В., Обернихин С.С. Развитие иммунной системы потомства после иммуностимулирующего воздействия в ранние сроки беременности. –М.: Изд. «Инфра-М», 2017. 220 с.
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. 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.
7. 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.
8. Bastos Sales L., van Esterik J., Hodemaekers H.M., Lamoree M.H., Namers T., van der Ven L., Legler J. Analysis of lipid metabolism, immune function, and neurobehavior in adult C57BL/6JxFVB mice after developmental exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate // *Front. Endocrinol*. 2018. No. 9. 684.
9. Яглова Н.В., Цомартова Э.С., Назимова С.В., Обернихин С.С., Мухамедова С.Г., Пашина Н.Р., Мусаева Д.О. Морфологические изменения тимуса новорожденных крыс, подвергавшихся воздействию эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана во внутриутробном периоде развития // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019. Т. 167. № 2. С. 261–264.
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.

Сведения об авторах

Элина Сослановна Цомартова

Асп. каф. гистологии, цитологии, эмбриологии
Эл. почта: tselso@yandex.ru
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)
Россия, Москва

Екатерина Петровна Тимохина

канд. биол. Наук
мл. науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы
Эл. почта: rodich_k@mail.ru
ФГБНУ «НИИ морфологии человека»
Россия, Москва

Владимир Михайлович Горлушкин

канд. мед. Наук
науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы
Эл. почта: rodich_k@mail.ru
ФГБНУ «НИИ морфологии человека»
Россия, Москва

Information about authors

Elina Soslanovna Tsomartova

postgraduate, Department of Histology, Cytology, and Embryology
E-mail: tselso@yandex.ru
Federal State Funded Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Ekaterina Petrovna Timokhina

PhD
Junior Research worker of Endocrine System Development Laboratory

Vladimir Mikhailovich Gorlushkin

PhD
Research worker of Endocrine System Development Laboratory
Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology
Russia, Moscow

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА NHEX И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК В КОРКОВОМ ВЕЩЕСТВЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ

Проведено изучение экспрессии транскрипционного фактора Nhex в клетках коркового вещества надпочечников в постнатальном развитии. Впервые показана экспрессия Nhex в кортикостероцитах и ее особенности в различных структурно-функциональных зонах коркового вещества. Установлено ингибирующее действие Nhex на процессы пролиферации кортикостероцитов в постнатальном развитии надпочечника.

Ключевые слова: Nhex, надпочечник, корковое вещество, пролиферация

Tsomartova D.A., Nazimova S.V., Yaglov V.V.

Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology

AGE-DEPENDENT CHANGES IN EXPRESSION OF NHEX AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF ADRENAL CORTICAL CELLS

Expression of transcriptional factor Nhex in rat adrenal cortex during postnatal development was investigated. Nhex expression was revealed in all functional layers of adrenal cortex. The results demonstrated association between Nhex expression and inhibition of proliferation in adrenal cortical cells.

Key words: Nhex, adrenals, cortex, proliferation

Транскрипционный фактор Nhex играет важную роль в регуляции пролиферативных процессов в постнатальном развитии [2, 5]. Nhex экспрессируется многими клетками мезодермального и энтодермального происхождения, особенно клетками миелоидного роста. Экспрессия Nhex в клетках коркового вещества надпочечников мало изучена. На сегодняшний день не известно, способен ли Nhex влиять на морфогенетические процессы в корковом веществе в постнатальном развитии, в частности оказывать антипролиферативное действие. В наших предыдущих работах мы выявили способность хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников экспрессировать Nhex и установили его антипролиферативное действие в постнатальном онтогенезе [1].

Целью нашего исследования было выявление экспрессии Nhex кортикостероцитами надпочечников крыс и связи экспрессии Nhex с пролиферативной активностью клеток в различные этапы постнатального развития органа.

Методика исследования

Объектом исследования являлись самцы крыс Вистар (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 [4]. 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). Пролиферативную активность кортикостероцитов определяли по экспрессии Ki-67 методом иммуногистохимии. Визуализацию реакций проводили с помощью набора реактивов «UltraVision LP Detection System» («ThermoScientific», США). Препараты докрашивали гематоксилином Майера. Определяли процент Nhex- и Ki-67-позитивных клеток.

Полученные данные подвергали статистическому анализу с помощью программы Statistica 7.0 («Statsoft Inc.», США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих приблизительно 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. Анализ связи численности Nhex -позитивных и Ki-67-позитивных кортикостероцитов проводили в двух сроках исследования суммарно с помощью критерия Пирсона. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Результаты исследования

У интактных крыс на 42-ые сутки постнатального развития в корковом веществе надпочечника Nhex-позитивные кортикостероциты выявлялись в небольших количествах. Nhex-позитивные клетки располагались диффузно. Наибольшая численность экспрессирующих Nhex клеток обнаруживалась в клубочковой зоне, в пучковой зоне их было существенно

меньше, в сетчатой зоне они не выявлялись (рис. 1). К моменту достижения надпочечником максимума развития (70-е сутки) доля PRH-позитивных кортикостероцитов в клубочковой и пучковой зонах коркового вещества значительно увеличилась по сравнению с предыдущим сроком исследования, и в сетчатой зоне появились PRH-позитивные клетки (рис. 1).

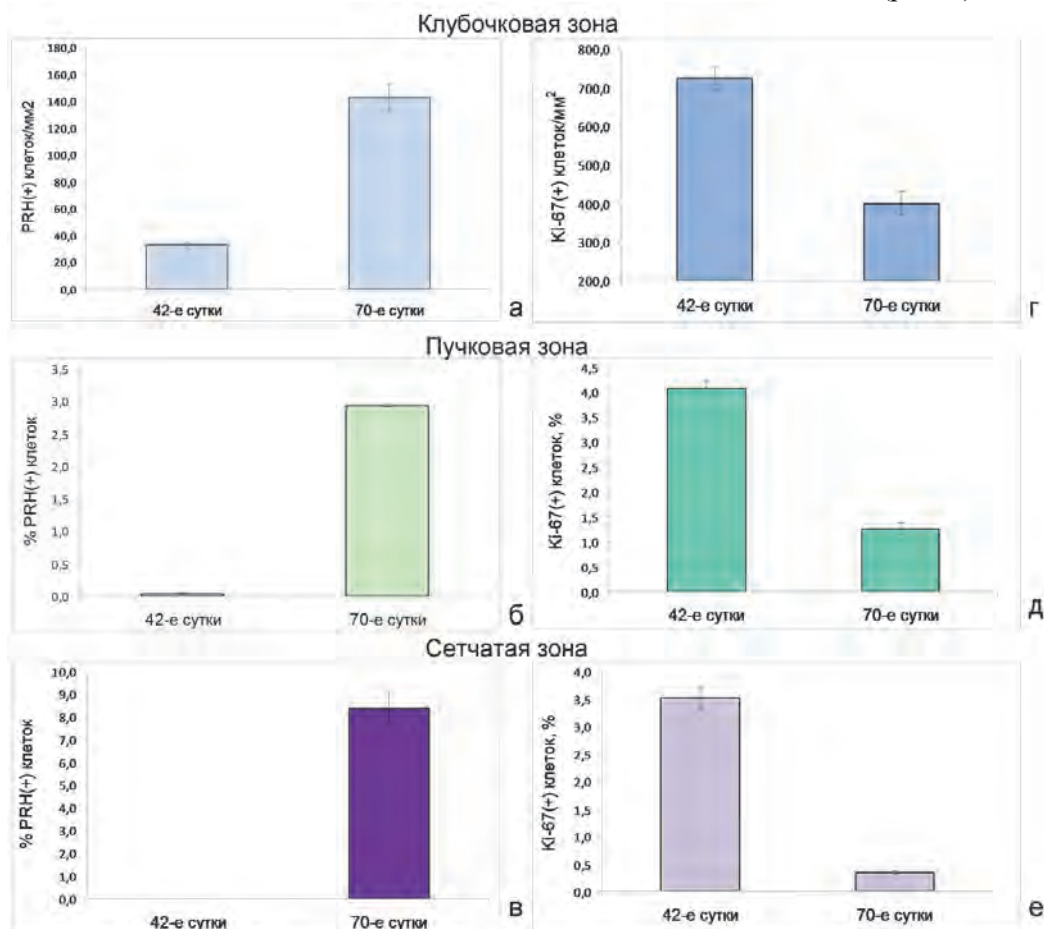


Рис. 1. Изменения экспрессии транскрипционного фактора Nhex (а,б,в,) и Ki-67 (г,д,е) в корковом веществе надпочечников крыс в пубертатном и постпубертатном периодах. (M±m).

Исследование пролиферативной активности кортикостероцитов показало, что Ki-67-позитивные клетки на 42-е сутки постнатального развития во всех структурно-функциональных зонах коркового вещества надпочечника крыс (рис. 2). Наиболее часто они встречались в клубочковой зоне и в наружной части пучковой зоны. К 70-ым суткам у крыс отмечалось снижение численности Ki-67-позитивных кортикостероцитов (рис. 2).

Корреляционный анализ выявил наличие высокой и средней обратной зависимости между численностью Ki-67-позитивных и Nhex-позитивных клеток в различных зонах коркового вещества у крыс. Наиболее отрицательная связь была выражена в клубочковой зоне ($R = -0,97$, $p = 0,000002$). В пучковой зоне взаимозависимость была выражена слабее ($R = -0,80$, $p = 0,0054$), а в сетчатой она была наименьшей ($R = -0,74$, $p = 0,009$). Таким образом, усиление экспрессии транскрипционного фактора Nhex в кортикостероцитах сопровождалось снижением пролиферативной активности клеток. Полученные данные подтверждают антипролиферативное действие Nhex, обнаруженное в некоторых клетках - мезодермального и эктодермального происхождения [3, 5], и свидетельствуют о важной роли этого фактора в регуляции морфогенетических процессов в надпочечниках.

Выводы

Исследование показало способность кортикостероцитов различных зон коркового вещества синтезировать транскрипционный фактор Nhex. Наибольшая экспрессия наблюдается в клубочковой зоне. Усиление экспрессии Nhex происходит в постпубертатном развитии и сопровождается снижением пролиферативной активности кортикостероцитов. Клетки сетчатой зоны начинают экспрессировать Nhex только в момент окончания процессов роста коркового вещества. Таким образом, Nhex оказывает ингибирующее действие на процессы пролиферации кортикостероцитов в постнатальном развитии надпочечника.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: впервые показана экспрессия транскрипционного фактора Hhex в постнатальном развитии коркового вещества надпочечников. Показаны особенности экспрессии Hhex в различных структурно-функциональных зонах коркового вещества. Установлено ингибирующее действие Hhex на процессы пролиферации кортикостероцитов в постнатальном развитии надпочечника.

Литература

1. Яглова Н.В., Обернихин С.С., Цомартова Д.А., Назимова С.В., Яглов В.В. Экспрессия транскрипционного фактора PRH / Hhex в хромаффинных клетках надпочечников в постнатальном развитии и его роль в регуляции пролиферативных процессов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 165. № 4. С. 505–508.
2. 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. Vol. 346. No. 2. P. 535–545.
3. Kershaw R., Roberts D., Wragg J., Humpreys E., Halsall J., Price I., Bicknell R., Gaston K., Jayaraman P.-S. Proline-Rich Homeodomain protein (PRH/HHEX) is a suppressor of breast tumour growth // Oncogenesis. 2017. No. 6. e346.
4. 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. DOI: 10.1677/joe.1.06972
5. Topisirovic I., Culjkovic B., Cohen N., Perez J., Skrabanek L., Borden K. The proline-rich homeodomain protein, PRH, is a tissue-specific inhibitor of eIF4E-dependent cyclin D1 mRNA transport and growth // EMBO J. 2003. Vol. 22. P. 689–703.

Сведения об авторах

Дибакхан Асланбековна Цомартова

канд. мед. наук

науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы

E-mail: dtsomartova@mail.ru

Светлана Владимировна Назимова

канд. мед. наук

ст. науч. сотр. лаб. развития эндокринной системы

E-mail: pimka60@list.ru

Валентин Васильевич Яглов

докт. мед. Наук

главный научный сотрудник лаборатории развития эндокринной системы

E-mail: vyaglov@mail.ru

Научно-исследовательский институт морфологии человека

Россия, Москва

Information about authors

Dibakhan Aslanbekovna Tsomartova

PhD, Junior Researcher of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: dtsomartova@mail.ru

Svetlana Vladimirovna Nazimova

PhD

Senior Researcher of Endocrine System Development Laboratory

E-mail: pimka60@list.ru

Valentin Vasilyevich Yaglov

D.Med.Sc., Professor

Principal Research Worker of Endocrine System Development Laboratory,

E-mail: vyaglov@mail.ru

Federal State Budgetary Institution Research Institute of Human Morphology

Russia, Moscow

УДК 616-018:612.683
ГРНТИ 76.03.35

Шаповалова Е.Ю., Барсуков Н.П., Бойко Т.А., Барановский Ю.Г.,
Барановский А.Г.

ФГАОУ ВО КФУ имени В.И. Вернадского

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЖИВАЮЩЕЙ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ КОЖНОЙ РАНЫ ПОСЛЕ ЕЕ ЗАКРЫТИЯ БИОДЕГРАДИРУЕМОЙ ПОЛИЛАКТИДНОЙ ПЛЕНКОЙ С КСЕНОФИБРОБЛАСТАМИ

Показано, что биodeградирующая полилактidная пленка с культивированными на ней ксеногенными дермальными фибробластами к 12-м суткам репарации существенно улучшает микроскопическую картину раневого процесса и макроскопические признаки заживления ишемизированной раны кожи, а также не вызывает реакцию отторжения.

Ключевые слова: рана кожи, полилактidная пленка, фибробласт, Т-лимфоциты, регенерация, ангиогенез.

Shapovalova Ye.Yu., Barsukov N.P., Boyko T.A., Baranovskiy Yu.G.,
Baranovskiy A.G.

Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE REGENERATING ISCHEMIC CUTANEOUS WOUND AFTER ITS DRESSING BY A BIODEGRADATE POLYLACTIC FILM WITH XENOFIBROBLASTS

It was shown that the biodegradable polylactide film with associated xenogenic dermal fibroblasts by the 12th day of repair significantly improves the microscopic picture of the wound process and the macroscopic signs of healing of the ischemic skin wound, and does not cause a rejection reaction.

Keywords: skin wound, polylactide film, fibroblast, T-lymphocytes, regeneration, angiogenesis.

Введение. Несмотря на значительные успехи в понимании морфологической картины раневого процесса кожных ран при гемодинамических нарушениях, длительно незаживающие дефекты остаются серьезной проблемой здравоохранения [1]. Тканевая инженерия считается альтернативным подходом для лечения таких кожных ран [2]. Тканеинженерная кожа с механическими и биологическими свойствами, которые соответствуют нативной ткани, становится ценным средством для лечения незаживающих хронических ран [3]. Фибробласты, выращенные на подходящем биоразлагаемом каркасе, являются возможной стратегией создания дермального заменителя, благодаря которому эпителизация может происходить естественным путем [1, 4]. В настоящее время предложены и проходят испытания широкая линейка различных биodeградируемых скаффолдов: Sacran Hydrogels [5], fibrin gel [6], fibrin-coated electrospun polylactide nanofibers [7], electrospun polycaprolactone collagen nanofibrous membrane [8]. Стало понятным, что поверхностные и механические свойства таких биоматериалов являются детерминантами пролиферативной, миграционной, секреторной и др. активности культивируемых на них клеток [9, 10]. Алифатические сложные полиэфиры, также известные как поли (-гидроксифиры), представляют собой одну из таких биологически рассасывающихся и биосовместимых групп полимеров, которые имеют большой потенциал для использования в регенерации тканей кожи [11]. Этот класс полимеров включает: поли (молочную кислоту) (PLA). Из них наиболее широко используемыми полилактидами являются поли (L-лактид) (PLLA) и поли (D-лактид) (PDLA) соответственно [12]. Вместе с тем в настоящее время основное внимание исследователей сосредоточено на изучении размножения и роста клеток на полимерных матрицах с разной пространственной организацией и после нанесения на них компонентов межклеточного матрикса для обеспечения и улучшения формирования структурной основы дифференцирующихся тканей [13, 14]. Работы о морфологических преобразованиях в тканях длительно незаживающих ран кожи при гемодинамических нарушениях после трансплантации полилактидной пленки с ксеногенными фибробластами редки и не раскрывают проблему в разные сроки раневого процесса.

Цель исследования. Изучить морфологическое строение, коллагенообразование, ангиогенез и содержание Т-лимфоцитов в биоптатах новообразованного эпидермиса и дермы на 12-е сутки после закрытия модельной ишемизированной кожной раны полилактидной пленкой ассоциированной с дермальными фибробластами.

Материал и методы. Исследование выполнено на 14 белых мышах линии C57/B1 в возрасте 5-7 месяцев, которые содержались в виварии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского. Животные были разделены на контрольную (КГ) и экспериментальную группы (ЭГ) по 7 особей в каждой. Для экспериментальной группы дермальные фибробласты были получены методом ферментации и культивированы в среде DMEM F₁₂ (Lonza) [15].

В качестве субстрата для нанесения раствора поли-L-L-лактида (Poly-(L-lactide) Aldrich, USA) были использованы покровные стекла размером 15x15 мм с гидрофильной (необработанной) поверхностью. Толщина пленки составила 100 мкм [16]. Приготовленные покровные стекла с полилактидом высушивали и стерилизовали 2 часа, облучая ультрафиолетовым светом. Ксеногенные фибробласты мышей 2-го пассажа сеяли на покровные стекла, покрытые полилактидом, в количестве 3×10^3 кл/см². После достижения конfluence полилактидную пленку отделяли от покровного стекла и трансплантировали интраоперационно в модельную кожную рану мышей экспериментальной группы. Поверхность пленки с прикрепленными ксеногенными фибробластами накладывали на поверхность раны.

На 12-й день после операции у мышей всех групп интраоперационно иссекали образовавшийся рубец, заливали в парафин и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по

Вейгерту-Ван-Гизону. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью светооптического микроскопа OLIMPUS CX-31 с цифровой камерой OLIMPUS 35050Z. Толщину эпидермиса, количество микрососудов в срезах, площадь коллагеновых волокон и микрососудов в дерме рубцов измеряли с помощью программы "ImageJ" при увеличении объектива 40 и окуляра 10 по 50 замеров в каждой группе. Полученные цифровые данные (выраженные в пикселях) были переведены в мкм при помощи деления пикселей на коэффициенты, специально для этого выведенные: объективы x10 – 6379251, x40 – 98911797.

Присутствие Т-лимфоцитов выявляли иммуногистохимическим методом после депарафинизации и регидратации парафиновых срезов. Первичными антителами были CD3 [SP7] фирмы Abcam (ab16669) в разведении 1:100. Индекс Т-лимфоцитов определяли путем подсчета количества CD3-позитивных клеток на 100 клеток с последующим вычислением показателя в процентах.

Статистическую обработку цифровых данных проводили с использованием аналитического пакета приложения STATISTICA Enterprise (StatSoft Inc., США). Рассчитывали средние арифметические и стандартную ошибку средней. Для сравнения двух выборок использовали критерий Манна-Уитни с уровнем значимости $p=0,05$. Сравнения индекса Т-лимфоцитов, средней толщины эпидермиса, площади, занимаемой коллагеновыми волокнами и сосудами грануляционной ткани, в биоптатах экспериментальных групп проводили по отношению к контрольной группе в процентах.

Результаты и обсуждение. У мышей контрольной группы самопроизвольное отпадение силиконового кольца было зафиксировано в среднем на $12,4 \pm 0,10$ сутки после операции по созданию модельной раны за счет ее эпителизации и прорезывания швов. Под толстыми остатками струпа обнаруживалась полная эпителизация раны. На срезах рубца эпидермис представлен не полностью сформированным многослойным эпителием толщиной $51,73 \pm 0,12$ мкм (таблица 1). Под базальной мембраной заметен отек и тонкий вал лейкоцитарной инфильтрации. Весь кожный дефект заполнен развивающейся грануляционной тканью. Между коллагеновыми присутствуют клетки, представленные, преимущественно, функционально активными фибробластами. Коллагеновые волокна занимают $29,70 \pm 0,16\%$ от площади дермы. Эластические волокна отсутствуют. Немногочисленные кровеносные капилляры и венулы расширены и их площадь составляет $0,69 \pm 0,02$ мкм. Вокруг них просматривается слабая лейкоцитарная инфильтрация. CD3-позитивные клетки, являющиеся Т-лимфоцитами, локализуются в основном вокруг кровеносных сосудов или в просвете сосудов, что подтверждает их гематогенное происхождение. Индекс этих клеток составляет $6,09 \pm 0,01\%$.

Таблица 1.

Количественные характеристики рубцов на коже мыши в контрольной и экспериментальной группах

| Рубцы кожи | Толщина эпидермиса в мкм | Площадь дермы на срезах в мкм | Площадь сосудов в дерме в % | Площадь коллагеновых волокон в дерме в % |
|-----------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--|
| Рубцы кожи в КГ | $51,73 \pm 0,12$ | $46259,83 \pm 1,20$ | $0,69 \pm 0,02$ | $29,70 \pm 0,16$ |
| Рубцы кожи в ЭГ | $50,37 \pm 0,14$ | $66030,80 \pm 1,05$ | $0,48 \pm 0,02$ | $35,44 \pm 0,15$ |

У мышей экспериментальной группы эпителизация раны и отпадение силиконового кольца зафиксировано на $8,5 \pm 0,1$ сутки после операции и закрытия ишемизированной кожной раны полилактидной пленкой ассоциированной с дермальными ксеногенными фибробластами. Это на 31,41% раньше, чем в контроле.

Поверхность раны была покрыта эпидермисом на всем протяжении. Струп полностью отсутствует. В центральных участках раны сохраняются остатки полилактидной пленки в виде тонкой бесструктурной полоски на поверхности эпидермиса. Толщина эпидермиса в среднем была на 2,63% меньше, чем в группе контроля. Однако эпидермис выглядел более дифференцированными по сравнению с контрольной группой, особенно по краям раны. Эпидермис образовывал выросты в подлежащую грануляционную ткань, являющимися закладкой шерстинок. Наметилось появление сосочкового слоя дермы в виде волнистой границы между базальной мембраной эпидермиса и подлежащей грануляционной тканью. Грануляционная ткань характеризуется появлением начальных признаков фиброизирования (рис.1А). Площадь, занятая коллагеновыми волокнами, увеличилась на 16,2% по сравнению с контрольной группой. Форма клеток фибробластического ряда изменилась на веретеновидную и они лежат между

параллельными пучками коллагеновых волокон. Площадь, занимаемая кровеносными сосудами уменьшилась на 30,43% по сравнению с контролем, что свидетельствует об уменьшении их количества и кровенаполнения и начавшихся процессах консолидации рубца.

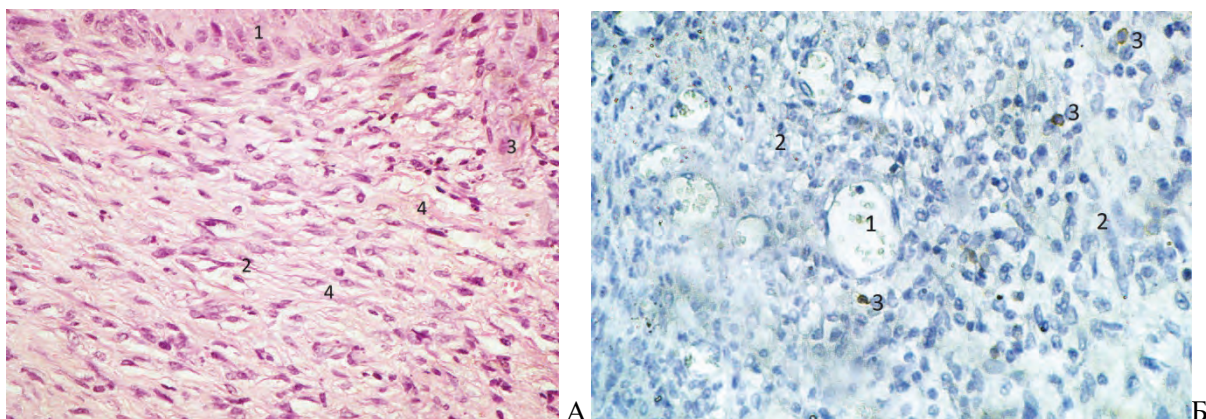


Рис. 1. Рубцы ишемизированной раны кожи мыши на 12 день после операции и накрытия пленкой из поли(L-L-лактида) с прикрепленными ксеногенными фибробластами. А – окраска гематоксилином и эозином; увеличение: $\times 200$: 1 – эпидермис; 2 – фибробласт; 3 – закладка шерстинки; 4 – фиброзирующая грануляционная ткань. Б – иммуногистохимическая окраска на CD3; увеличение: $\times 400$: 1 – сосуд; 2 – фиброзирующая грануляционная ткань; 3 – Т-лимфоциты (CD3+).

Все результаты морфометрических исследований представлены в таблице 1. Эластические волокна отсутствовали во всех участках дермы. Лейкоцитарная инфильтрация выражена слабо и это можно считать признаком преодоления воспалительной фазы раневого процесса. Индекс CD3+ клеток с контрастированием моноклональными антителами поверхностного дифференцировочного антигена составил $6,11 \pm 0,01\%$ (рис. 1Б).

В нашей предыдущей работе [17] и работах ряда авторов [18, 19] было показано, что введение ксенофибробластов и аутофибробластов в ишемизированную модельную рану уменьшает воспалительную реакцию и сроки заживления. Улучшается коллагенообразование фибробластами грануляционной ткани и ее васкуляризация. Однако закрытие раны полилактидной пленкой с культивируемыми ксенофибробластами значительно эффективнее. Возможно, при переносе культивируемых клеток на раны возникают проблемы нарушения их пространственной организации и функциональных свойств [16]. Также отсутствие статистически достоверного различия между контрольной и экспериментальной группами в содержании клеток с основным маркером Т-лимфоцитов CD3, принимающих участие в реакциях отторжения, свидетельствует о положительном регенеративном потенциале закрытия ишемизированной кожной раны полилактидной пленкой ассоциированной с дермальными ксеногенными фибробластами.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: биodeградирующая полилактидная пленка с культивируемыми на ней ксеногенными дермальными фибробластами существенно улучшает микроскопическую картину раневого процесса и макроскопические признаки заживления ишемизированной раны кожи, а также не вызывает реакцию отторжения.

Литература

1. Contribution of Fibroblasts to the Mechanical Stability of *In Vitro* Engineered Dermal-Like Tissue Through Extracellular Matrix Deposition / R.P. Nair [et al.] // *Biores Open Access*. 2014. N. 5. P. 217–225.
2. Volk S.W., Iqbal S.A., Bayat A. Interactions of the Extracellular Matrix and Progenitor Cells in Cutaneous Wound Healing // *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013. N. 6. P. 261–272.
3. Poly (Lactic Acid)-Based Biomaterials for Orthopaedic Regenerative Engineering / G. Narayanan [et al.] // *Adv Drug Deliv Rev*. 2016. N. 107. P. 247–276
4. Morphology of a fibrin nanocoating influences dermal fibroblast behavior / J. Pajorova [et al.] // *Int J Nanomedicine*. 2018. N. 13. P. 3367–3380.
5. Potential Use of Sacran Hydrogels as Wound Dressing Material / K. Motoyama [et al.] // *Yakugaku Zasshi*. 2018. N. 4. P. 517–520.

6. Experimental study on repairing skin defect by tissue-engineered skin substitute compositely constructed by adipose-derived stem cells and fibrin gel / R.X. Zeng [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017. N. 3. P. 1–5.
7. Bacakova M., Musilkova J., Riedel T. The potential applications of fibrin-coated electrospun polylactide nanofibers in skin tissue engineering // *Int J Nanomedicine*. 2016. N. 11. P. 771–789.
8. Venugopal J.R., Zhang Y., Ramakrishna S. In vitro culture of human dermal fibroblasts on electrospun polycaprolactone collagen nanofibrous membrane // *Artif Organs*. 2006. N. 6. P. 440–446.
9. Cell proliferation influenced by matrix compliance of gelatin grafted poly(d,l-Lactide) three dimensional scaffolds / C.K. Balavigneswaran [et al.] // *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018. N. 166. P. 170–178.
10. Elsayy M. M., de Mel A. Biofabrication and biomaterials for urinary tract reconstruction // *Res Rep Urol*. 2017. N. 9. P. 79–92.
11. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices – A review / A.J.R. Lasprilla [et al.] // *Biotechnology Advances*. 2012. N. 30. P. 321–328.
12. Взаимодействие культивируемых клеток кожи с разными структурными формами коллагена, нанесённого на полилактидную матрицу / Ю.А. Швед [и др.] // *Цитология*. 2007. № 1. С. 32–39.
13. Effect of structure, topography and chemistry on fibroblast adhesion and morphology / M.A. Mateos-Timoneda [et al.] // *J Mater Sci Mater Med*. 2014. N. 7. P. 1781–1781.
14. Jia J., Richards D.J., Pollard S. Engineering alginate as bioink for bioprinting // *Acta Biomater*. 2014. N. 10. P. 4323–4331.
15. Effects of fibroblast transplantation on the content of macrophages and the morphology of regenerating ischemic cutaneous wounds / Shapovalova Ye.Yu. [et al.] // *Int J Biomed Res*. 2017. N. 4. P. 302–306.
16. Культивирование фибробластов кожи человека на полимерной полилактидной подложке / Ю.А. Швед [и др.] // *Цитология*. 2006. № 2. С. 161–168.
17. Морфологическая характеристика заживления ишемизированной экспериментальной раны на 12 сутки после применения ауто- и гетерофибробластов и дермального эквивалента / Е.Ю. Шаповалова [и др.] // *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017. № 8. Ч. 3. С. 51–55.
18. Ahlfors J.E., Billiar K.L. Biomechanical and biochemical characteristics of a human fibroblast-produced and remodeled matrix // *Biomaterials*. 2007. N. 28. P. 2183–2191.
19. Clark R.A., Ghosh K., Tonnesen M.G. Tissue engineering for cutaneous wounds // *J. Invest. Dermatol*. 2007. N. 5. P. 1018–1029.

Сведения об авторах

Елена Юрьевна Шаповалова

Д-р. мед. наук

проф., зав. каф. гистологии и эмбриологии

Эл. почта: Shapovalova_l@mail.ru

Николай Петрович Барсуков

канд. мед. наук, проф.

проф. каф. гистологии и эмбриологии

Эл. почта: barzager@mail.ru

Татьяна Анатольевна Бойко

канд. мед. наук

доцент кафедры гистологии и эмбриологии

Эл. почта: tatyana_boyko_5@mail.ru

Юрий Геннадиевич Барановский

канд. мед. наук

доцент кафедры хирургии

Эл. почта: baranovskiy_yura@mail.ru,

Алексей Геннадиевич Барановский

аспирант кафедры стоматологии и ортодонтии

Эл. почта: alex_sharp123@mail.ru

Медицинской академии имени С.И. Георгиевского

ФГАОУ ВО КФУ имени В.И. Вернадского

Россия, Москва

Information about authors

Shapovalova Ye.Yu.

PhD, ScD., Prof., head of the Department of histology and embryology

E-mail: Shapovalova_l@mail.ru

Nikolai Petrovich Barsukov

candidate of medical Sciences, Professor

Prof. of the Department of histology and embryology

Эл. почта: barzager@mail.ru

T.A. Boyko

PhD, Associate Professor of the Department of Histology & Embryology

E-mail: tatyana_boyko_5@mail.ru

Yu.G. Baranovskiy

PhD

Associate Professor

E-mail: baranovskiy_yura@mail.ru

A.G. Baranovskiy

Postgraduate Student

E-mail: baranovskiy_alexey@mail.ru

Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU

Russia, Moscow

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЛАНОЦИТОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В МИКРОТКАНИ, ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ФУКОКСАНТИНА

В статье представлены данные по изменению функциональных характеристик меланоцитов кожи человека, культивированных in vitro в виде тканевого эквивалента Меланодерм, в питательной среде с добавлением фукоксантина и без него. Результаты исследований показали пригодность данной модели для фундаментального исследования процесса меланогенеза на клеточном и молекулярных уровнях. Показано, что фукоксантин изменяет функциональную активность меланоцитов, влияет на меланогенез, подавляет созревание меланосом и интенсивный синтез меланина, однако не блокирует основные пути меланогенеза.

Ключевые слова: меланоцит, культура клеток, меланогенез

¹Gusoeva E.V., ^{1,2}Kolokol'tsova T.D., ¹Ustinova E.E., ^{1,2}Saburina I.N.

¹Institute of General pathology and Pathophysiology RAS

²Russian medical Academy of continuous education

THE STUDY OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF MELANOCYTES GROWN IN MICROTISSUE, UNDER THE INFLUENCE OF FUCOXANTHIN

The article presents data on changes in the functional characteristics of human skin melanocytes cultured in vitro in Melanoderm tissue equivalent in a nutrient medium with and without fucoxanthin. The results showed the suitability of this model for the fundamental study of the process of melanogenesis at the cellular and molecular levels. It is shown that fucoxanthin changes the functional activity of melanocytes, affects melanogenesis, inhibits the maturation of melanosomes and intensive synthesis of melanin, but does not block the main pathways of melanogenesis.

Keywords: melanocyte, cell culture, melanogenesis

Введение

Одним из защитных механизмов кожи против повреждающего действия ультрафиолета (УФ) является изменение ее пигментации, где ведущую роль играют меланоциты, продуцирующие пигмент меланин.. Нарушение любого из этапов регуляции синтеза меланина может привести к изменению пигментации, формированию участков кожи измененного цвета, появлению пигментных пятен и опухолей. Серьезной проблемой изменения пигментации и состояния кожи являются возрастные изменения [1, 2]. Для подавления гиперпигментации и аномального меланогенеза постоянно ведется поиск новых препаратов, способных оказывать воздействие на разных этапах и уровнях регуляции синтеза меланина.

Фукоксантин является пигментом бурых водорослей, относится к семейству каротиноидов и рассматривается как один из наиболее перспективных препаратов, влияющих на процесс меланогенеза и оказывающих множественное защитное воздействие при различных патологиях пигментации кожи [3]. Для исследования эффективности подобных препаратов в условиях *in vitro* в настоящее время используют первичные культуры фибробластов, меланоцитов и кератиноцитов [4,5] или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC), культивированные в монослое [6]. Культура меланоцитов человека, культивированных в виде тканевого эквивалента, содержащего послойно фибробласты и меланоциты, представляет более адекватную модель для исследования и позволит получить новые данные о действии фукоксантина на функциональную активность клеток, что представляется актуальным, научно и практически значимым.

Целью работы являлось исследование функциональной активности меланоцитов, культивированных в микроткани "MelanoDerm", при воздействии фукоксантина.

Материалы и методы

В работе использовали меланоциты человека, культивированные в виде тканевого эквивалента Меланодерм (MEL-300, MatTek Corporation).

1. Культивирование тканевых эквивалентов Меланодерм

Набор тканевых эквивалентов, содержащий 24 образца, поступил в лабораторию при соблюдении температурного режима +4⁰С, после чего образцы, расположенные в специальных держателях, были перенесены в культуральные шестилуночные планшеты по одному на лунку.

Каждый образец был помещен на подставку (MEL-STND, MatTek Corporation) на раздел между водной и воздушной фазами. Тканевые эквиваленты культивировали в полной ростовой среде, предоставляемой компанией вместе с образцами (EPI-100-NMM-113, MatTek Corporation) в стандартных условиях (37⁰C, 5%CO₂), замену среды производили ежедневно. Для изучения биологического эффекта, к экспериментальным образцам добавляли стерильный раствор препарата фукоксантина (...). К контрольным образцам добавляли эквивалентное количество физиологического раствора. Фиксацию образцов для дальнейшего анализа осуществляли на 1 и 7 сутки.

2. Фиксация тканевых эквивалентов Меланодерм и сфероидов из меланоцитов человека

Перед фиксацией тканевые эквиваленты Меланодерм трехкратно отмывали от остатков культуральной среды с помощью раствора фосфатно-солевого буфера (5 мин, pH=7,4). Образцы фиксировали в 4% растворе параформальдегида (+4⁰C, 1сут).

3. Иммуноцитохимический анализ

Перед иммуноцитохимическим окрашиванием стекла со срезами, для удаления парафина, проводили через три смены ксилола (5мин) и затем по нисходящему ряду спиртов (1мин) до дистиллированной воды. После демаскировки антигенов в цитратном буфере (pH=6,0, 06-014, Бивитрум) в течение 3 мин при +20⁰C срезы инкубировали с первичными антителами к антигенам gr 100 (ab137078, Abcam), Sox10 (ab155279, Abcam) и MITF (ab122982, Abcam). Визуализацию проводили с помощью вторичных антител, конъюгированных с флуорохромами FITC (E=525нм) и DyLight594 (E=617нм). Ядра клеток докрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33258 (0,002 мг/мл, 10 минут, 25⁰C). Избыток красителя удаляли трехкратной сменой фосфатно-солевого буфера (pH=7,4). Препараты заключали в монтирующую среду витрогель (12-001, Бивитрум) и анализировали в видимом и ультрафиолетовом световых диапазонах с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Olympus Fluoview FV10 («Olympus», Япония).

Полученные результаты

Культивирование меланоцитов и фибробластов в виде микроткани Меланодерм показало сохранение жизнеспособности и функционирования меланоцитов в контрольной и экспериментальной группах, что свидетельствует об отсутствии токсичности препарата. В 1 сутки культивирования контрольные и экспериментальные образцы микроткани выглядели одинаково светлыми, к 3 суткам контрольные образцы приобретали более темную окраску по сравнению с 1 сутками. К 7 суткам культивирования, в отличие от контрольной группы, экспериментальные образцы различались и выглядели более светлыми, что свидетельствует о снижении пигментпродуцирующей активности меланоцитов под воздействием фукоксантина. (Рис 1).

Накопление меланина в контрольных образцах происходило за счет увеличения слоя меланоцитов и интенсивности синтеза пигмента. Добавление фукоксантина приводило к снижению пигментпродуцирующей активности меланоцитов (Рис.1 В).

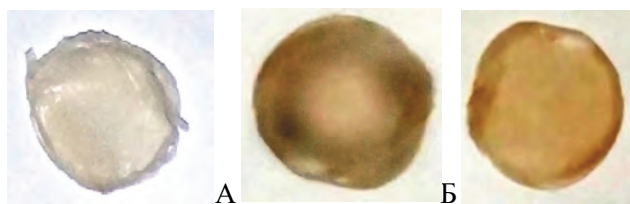


Рис 1. Накопление пигмента в тканевых эквивалентах Меланодерм: контроль (А- на 1 сутки, Б –на 7 сутки) и при добавлении фукоксантина на 7 сутки (В). Микрофото образцов, высушенных перед фотометрическим анализом содержания меланина.

Известно, что УФ действует на процесс меланогенеза, индуцируя экспрессию мастера транскрипционной регуляции пигментации – MITF [7], который активирует экспрессию гена TYR (фермент тирозинкиназа), PMEL 17 (или gr100 - белок премеланосом) и Bcl-2 (антиапоптотический фактор), что приводит к повышенному синтезу меланина в отдельных областях кожи[8]. Прямую регуляцию экспрессии MITF синергически осуществляют транскрипционные факторы Sox10 и PAX3 [9].

Для оценки влияния препарата на экспрессию ключевых факторов меланогенеза gr 100, MITF и Sox10, проведен иммуноцитохимический анализ срезов тканевых эквивалентов Меланодерм. Результаты показали, что на 7 сутки культивирования уровень экспрессии gr 100, отвечающего за созревание меланосом, был значительно выше в контрольной группе по

сравнению с экспериментальной (Рис 2). Добавление фукоксантина привело к снижению уровня экспрессии MITF, в отличие от контроля с высоким уровнем экспрессии данного транскрипционного фактора (Рис.3). Уровень экспрессии фактора Sox10 к 7 суткам культивирования снижился как в опытной, так и в контрольной группах (рис. 4).

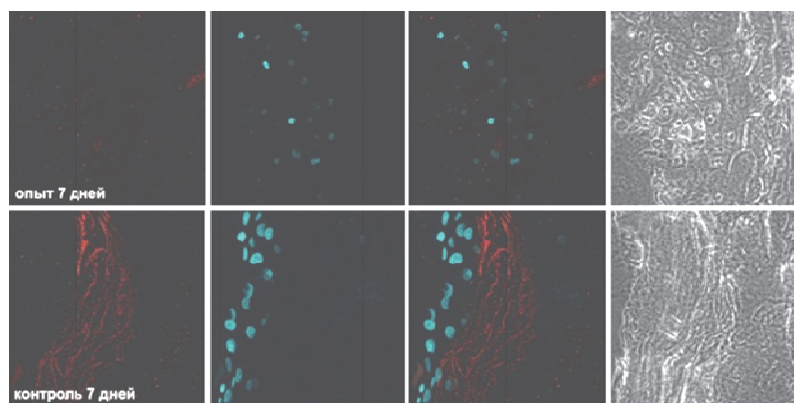


Рис 2. Иммуноцитохимический анализ экспрессии grp100 (красный) на срезах контрольной и экспериментальной групп тканевых эквивалентов, 7 сутки культивирования. Ядра окрашены Hoechst 33258 (синий). Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

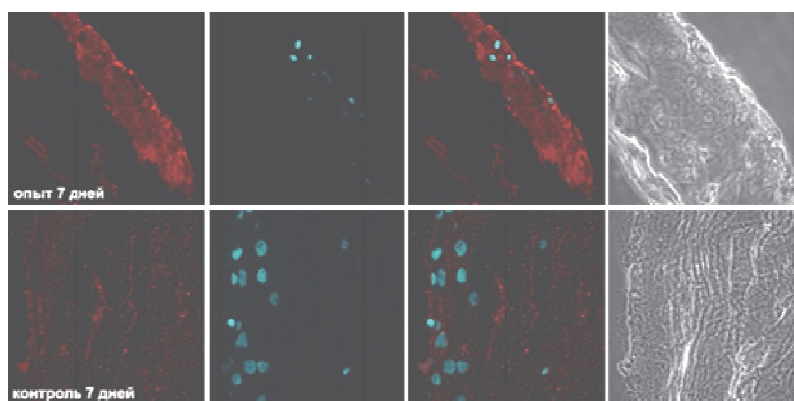


Рис.3. Иммуноцитохимический анализ экспрессии MITF (красный) на срезах контрольной и экспериментальной групп тканевых эквивалентов, 7 сутки культивирования. Ядра клеток окрашены Hoechst 33258 (синий). Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

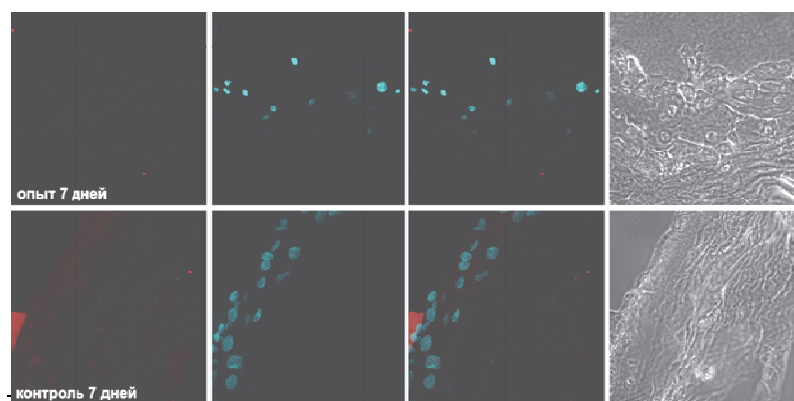


Рис. 4. Иммуноцитохимический анализ экспрессии Sox10 (красный) на срезах контрольной и экспериментальной групп тканевых эквивалентов, 7 сутки культивирования. Ядра окрашены Hoechst 33258 (синий). Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

Заключение

Исследования показали возможность использования тканевого эквивалента Меланодерм, содержащего культивированные меланоциты человека, для тестирования профилактических и лечебных препаратов, а также пригодность данной модели для фундаментального исследования процесса меланогенеза на клеточном и молекулярных уровнях. Результаты иммуноцитохимического анализа показали, что фукоксантин изменяет функциональную активность меланоцитов, влияя, в первую очередь, на экспрессию фактора созревания

меланосом gr100 и, в меньшей степени, действуя на экспрессию мастера транскрипции регуляции пигментации MITF и транскрипционного фактора Sox10. Это свидетельствует об избирательности действия исследуемого препарата, он подавляет созревание меланосом и интенсивный синтез меланина, однако не блокирует основные пути меланогенеза, следовательно, не способен вызвать тяжелые патофизиологические осложнения.

Цитируемая литература:

1. Orioli D., Dellambra E. Epigenetic Regulation of Skin Cells in Natural Aging and Premature Aging Diseases. *Cells*. 2018. Vol. 7. No. 12. P. 268.
2. Chang A. L. S. Expanding our understanding of human skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*. 2016. Vol.136. No. 5. P.897–899.
3. Peng J., Yuan J.P., Wu C.F., Wang J.H. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*. 2011. Vol. 9. No. 10. P. 1806–1828.
4. Lei T.C., Virador V.M., Vieira W.D., Hearing V.J. A melanocyte-keratinocyte coculture model to assess regulators of pigmentation in vitro. *Anal. Biochem*. 2002. Vol. 305. No. 2. P. 260–268.
5. Сабурова И.Н., Джусоева Е.В., Горкун А.А., Зурина И.М., Кошелева Н.В., Колокольцова Т.Д., Скуратовская Л.Н., Репин В.С. 3D культура меланоцитов как тест-система и клеточная модель для изучения патологии меланогенеза. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018. Т.62. No. 4. С. 236–239.
6. Gledhill K., Guo Z., Umegaki-Arao N., Higgins C.A., Itoh M., Christiano A.M. Melanin Transfer in Human 3D Skin Equivalents Generated Exclusively from Induced Pluripotent Stem Cells. *PLoS one*. 2015. Vol. 10. No.8. P. e0136713.
7. Yamaguchi Y., Brenner M., Hearing V.J. The regulation of skin pigmentation.. *J. Biol. Chem*. 2007. Vol. 282. No. 38. P. 27557–27561.
8. Lin J.Y., Fisher D.E. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*. 2007. Vol. 445. No. 7130. P. 843–850.
9. Hou L., Arnheiter H., Pavan W.J. Interspecies difference in the regulation of melanocyte development by SOX10 and MITF. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006. Vol. 103. No. 24. P. 9081–9085.

Сведения об авторах

Екатерина Витальевна Джусоева

аспирант

мл. научн. сотр.

Эл. почта: dr_djussoeva@mail.ru

Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАН

Тамара Дмитриевна Колокольцова

д-р биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: kolokoltd@mail.ru

НИИ общей патологии и патофизиологии РАН

Медицинская академия непрерывного профессионального образования

Екатерина Евгеньевна Устинова

Мл. науч. сотр.

Эл. почта: e.e.ustinova.O@gmail.com

Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАН

Ирина Николаевна Сабурова

д-р биол. наук

зав. лаб.

Эл. почта: saburina@mail.ru

НИИ общей патологии и патофизиологии РАН

Медицинская академия непрерывного профессионального образования

Россия, Москва

Information about authors

Ekaterina Vital'evna Gussoeva

Graduate student,

Junior researcher

E-mail: dr_djussoeva@mail.ru

Institute of General pathology and pathophysiology RAS

Tamara Dmitrievna Kolokol'tsova

PhD., D.B.Sc.

Leading researcher

E-mail: kolokoltd@mail.ru

Institute of General pathology and Pathophysiology RAS

Russian medical Academy of continuous education

Ekaterina Evgen'evna Ustinova

Junior researcher

E-mail: e.e.ustinova.O@gmail.com

Institute of General pathology and Pathophysiology

Irina Nikolaevna Saburina

PhD., D.B.Sc.

Head of laboratory

e.e.ustinova.O@gmail.com

Institute of General pathology

and Pathophysiology RAS

Russian medical Academy of continuous education

Russia, Moscow

СОВРЕМЕННЫЕ ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СОДЕЙСТВИЯ ТРУДОУСТРОЙСТВУ ВЫПУСКНИКОВ

Аннотация: Успешное управление трудоустройством выпускников в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России осуществляется посредством использования современных инновационных технологий, обеспечивающих наиболее полное трудоустройство выпускников, заключения договорных отношений с работодателями, создания модели выпускника конкурентоспособного на рынке труда.

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

Alekseenko S.N., Gaivoronskaya T.V., Akhedzhak-Naguzе S.K.
FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Health Care of the Russian Federation

MODERN INNOVATIVE TECHNOLOGIES FOR ASSISTANCE TO EMPLOYMENT OF GRADUATES

Successful management of graduates' employment at the FSBEI HE Kuban State Medical University of the Ministry of Health Care of the Russian Federation is carried out through the use of modern innovative technologies that provide the most complete employment of graduates, conclude contractual relations with employers, create a model of a graduate competitive in the labour market.

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

Работа ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по содействию трудоустройству выпускников является одной из важнейших задач, определяющих успешную деятельность вуза [1-5]. Современные образовательные технологии в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России направлены на включение в процесс содействия трудоустройству студентов, выпускников, представителей вуза и работодателей.

Цель нашего исследования: определить инновационные технологии содействия трудоустройству выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

С целью содействия занятости учащейся молодежи и трудоустройству выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России создан Центр содействия трудоустройству выпускников (Центр), являющийся инновационным структурным подразделением университета. Работа Центра направлена на объединение усилий всех подразделений ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, взаимодействие с местными органами власти, предприятиями и организациями для достижения эффективного содействия трудоустройству студентов и выпускников.

Центр в целях содействия трудоустройству выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России осуществляет:

методическое и информационное обеспечение формирования и функционирования системы содействия трудоустройству выпускников;

сопровождение программного обеспечения автоматизированной информационной системы содействия трудоустройству выпускников (АИСТ) в университете, обеспечивающей выпускников и студентов данными о рынке труда; анализ трудоустройства выпускников;

представление аналитической информации в части содействия трудоустройству выпускников органам государственной исполнительной власти, в том числе органам управления образованием;

организацию проведения выставок, конкурсов, школ, семинаров, конференций, ярмарок вакансий по направлениям деятельности Центра;

оказание консультационных и информационных услуг по вопросам трудоустройства и занятости молодых специалистов;

организацию встреч с потенциальными работодателями;

взаимодействие с территориальными органами государственной службы занятости населения;

иные виды деятельности, разрешенные действующим законодательством для федеральных государственных образовательных учреждений.

По направлениям деятельности Центра в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России проводится работа по организации и проведению выставок, конкурсов, школ, семинаров, конферен-

ций, ярмарок вакансий. Ярмарки вакансий и учебных рабочих мест реально содействуют снижению уровня безработицы, нацеливают работодателей на постоянное взаимодействие с центрами занятости населения, а потенциальных работников – на активный поиск рабочих мест через непосредственный контакт с работодателями.

В рамках сотрудничества с медицинскими организациями (МО) и предприятиями, выступающими в качестве работодателей для студентов и выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, университет привлекает работодателей к участию в учебном процессе и научно-исследовательской работе студентов. Работодатели принимают участие в научно-практических конференциях, проводимых в вузе. Организовываются встречи студентов университета с руководителями медицинских организаций, специалистами Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Краснодарскому краю, ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае». На этих встречах студенты получают информацию о перспективах развития служб и возможностях трудоустройства. Ежегодно проводятся совещания с выпускниками всех факультетов по консультированию студентов в выборе специальностей, порядка поступления в ординатуру, в т. ч. на целевую подготовку (октябрь, апрель, май). Разъясняется номенклатура специальностей с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения Российской Федерации. Деканаты обеспечиваются директивными и инструктивными материалами по вопросам послевузовского образования (номенклатура, квалификационные требования к специалистам с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения). Совместно с работодателями проводится собрание выпускников с участием деканов факультетов (октябрь, апрель). По результатам собрания формируется проект заявки в Министерство здравоохранения Российской Федерации на обучение в ординатуре по системе целевой подготовки.

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 [1-5]. 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.

Центр оказывает помощь учебным подразделениям в организации стажировок и практик, предусмотренных учебным планом при: подборе баз производственной практики для студентов университета из числа МО, наиболее оснащенных в техническом отношении и имеющих высококвалифицированные кадры; заключений договоров с базами практики в муниципальных образованиях Краснодарского края; подборе кадров для осуществления непосредственного руководства практикой из числа преподавателей соответствующих кафедр; организации издания методических рекомендаций по производственной практике и других вспомогательных материалов.

Студенты, поступившие в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России на целевые места, согласно договору о трудоустройстве направляются для прохождения практики в МО, выдавшие целевые направления. Студенты, обучающиеся по краевой целевой программе «Врачебные кадры для сельского здравоохранения» распределяются на практику Министерством здравоохранения Краснодарского края. Остальные студенты направляются на производственную практику в МО Краснодарского края, что содействует трудоустройству выпускников.

Одним из факторов успешного трудоустройства выпускников по специальности, несомненно, является высокий уровень качества подготовки выпускников учреждениями профессионального образования [1- 5]. Для анализа качества подготовки выпускников учреждениями профессионального образования ЦСТВ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России разработаны анкеты о качестве образовательной подготовки в ФГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России для медицинских организаций и для студентов. Проводится ежегодно анкетирование выпускников и представителей медицинских организаций о качестве образовательной подготовки выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Информационная деятельность Центра осуществляется через индивидуальные консультации со студентами разных курсов, в том числе выпускных, ординаторами, аспирантами, а также в студенческих группах. Используются различные информационные каналы и формы, в том числе и средства электронного информирования. Информация о трудоустройстве предоставляется также непосредственно в помещениях ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России на стендах, приглашаются руководители МО для беседы с выпускниками. В целях содействия трудоустройству выпускников

на сайте и информационных стендах, размещенных в помещениях университета, содержится информация: объявления о ярмарках вакансий, электронные адреса со статистикой вакансий и т.д. По направлениям деятельности Центра в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России проводится работа по организации и проведению выставок, конкурсов, школ, семинаров, конференций, ярмарок вакансий с применением инновационных технологий. Ярмарки вакансий и учебных рабочих мест реально содействуют снижению уровня безработицы, нацеливают работодателей на постоянное взаимодействие с центрами занятости населения, а потенциальных работников – на активный поиск рабочих мест через непосредственный контакт с работодателями.

Эффективность и результаты работы здравоохранения в значительной степени определяются кадровым потенциалом. Медицинские организации Краснодарского края испытывают высокую потребность в специалистах. Потребность в кадрах подтверждается на ежегодных ярмарках вакансий, организуемых в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. В целях информирования студентов и выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России о положении на рынке труда Краснодарского края, тенденциях его развития и предоставления информации о вакантных рабочих местах в медицинских организациях Краснодарского края очередная ярмарка вакансий рабочих мест врачей и провизоров проведена 04 апреля 2019 года (приказ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России от 06 марта 2019 г. №13 «О проведении ярмарки вакансий рабочих мест врачей и провизоров»).

Активное участие в работе ярмарки вакансий рабочих мест врачей и провизоров в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России приняли традиционно около 2000 человек, в том числе:

- ✓ Министерство здравоохранения Краснодарского края,
- ✓ Министерство образования науки и молодежной политики Краснодарского края,
- ✓ Министерство труда и социального развития Краснодарского края,
- ✓ Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Краснодарскому краю,
- ✓ Сотрудники центра занятости населения г. Краснодара,
- ✓ Мобильный центр занятости населения г. Краснодара,
- ✓ Сотрудники ГКУ КК «Молодежный кадровый центр» Министерства образования науки и молодежной политики Краснодарского края,
- ✓ Медицинские организации Краснодарского края,
- ✓ Студенты выпускных курсов и ординаторы ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Всего вакантных ставок было представлено МО на ярмарке – 1770,5 из муниципальных образований Краснодарского края. Наибольшее количество вакантных ставок представлено муниципальными образованиями: г.Краснодар - 161,75 (9,1%), Ейский район- 128,5 (7,3%), Тихорецкий район – 125 (7,1%), г.Сочи – 119 (6,7%), г.Армавир – 116 (6,6%), и т.д.

По информации МО, наиболее востребованные специальности по краю: врач терапевт участковый - 210 (11,9%), врач скорой медицинской помощи – 182 (10,3%), врач педиатр – 130 (7,3%), врач-педиатр участковый – 118 (6,6%), врач-терапевт 118 (6,6%), врач анестезиолог-реаниматолог -99,75 (5,6%), врач акушер-гинеколог - 86 (4,9%), врач невролог - 59 (3,3%), врач рентгенолог -55 (3,1) ставок и др.

Обширна и интересна программа проведения ярмарки вакансий для выпускников и ординаторов, куда входят традиционно:

- ❖ предоставление вакансий рабочих мест врачей и провизоров,
- ❖ посещение мобильного центра занятости населения г. Краснодара,
- ❖ консультирование участников ярмарки по трудовым вопросам,
- ❖ проведение тренингов: «Успешное резюме», «Правила собеседования с работодателем», «Техника ведения переговоров с работодателем» сотрудниками центра занятости населения г. Краснодара и ГКУ КК «Молодежный кадровый центр» Министерства образования науки и молодежной политики Краснодарского края,
- ❖ совещание участников ярмарки.

Во время проведения ярмарки студенты всех факультетов встретились с представителями МО – главными врачами, заместителями главных врачей, начальниками отдела кадров, которые рассказали о вакантных должностях МО, о заработной плате, о мерах социальной поддержки молодых специалистов (выплата единовременной компенсации по программе «Земский доктор», компенсационные выплаты по оплате жилья, выплата подъемных пособий и пр.).

По итогам работы ярмарки выпускники, определились с выбором места работы и после получения диплома и первичной аккредитации основная часть из них пополняют врачебные и провизорские кадры МО и аптечных организаций, другие продолжают обучение в ординатуре после прохождения конкурса. Студенты выпускных курсов, ординаторы, обучающиеся по целевому направлению в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России согласно договору о трудоустройстве будут направлены для работы в МО, выдавшие целевые направления. Студенты, обучающиеся по краевой целевой программе «Врачебные кадры для сельского здравоохранения» будут распределены на работу Министерством здравоохранения Краснодарского края. Выпускники и ординаторы, которые еще не выбрали место работы, во время ярмарки также определились с местом работы.

Сотрудники службы занятости населения Министерства труда и социального развития Краснодарского края, медицинских организаций Краснодарского края отметили высокую заинтересованность студентов и ординаторов университета в получении информации о вакансиях и прохождении различных тренингов, высокую организацию и проведение ярмарки.

Студенты, выпускники и ординаторы ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, медицинские организации Краснодарского края проявили большой интерес к программе ярмарки и отметили высокую информативность ярмарки для выбора специальности и места работы.

Приказом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России ежегодно создается комиссия ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по допуску лиц, не завершивших освоение основных образовательных программ высшего медицинского или высшего фармацевтического образования, а также лиц с высшим медицинским или высшим фармацевтическим образованием к осуществлению медицинской деятельности или фармацевтической деятельности на должностях среднего медицинского или среднего фармацевтического персонала (в соответствии с приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 19 марта 2012 г. №239Н).

За 2018 год в ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России прошли аттестацию по теоретическим знаниям и практическим навыкам 596 студентов и ординаторов (табл.). Сдавшие аттестационный экзамен на хорошо и отлично, получили выписку из протокола сдачи экзамена, с которой они трудоустраиваются в МО Краснодарского края, в качестве среднего медицинского персонала на определенных должностях. Согласно анкетированию выпускников ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (63%) опыт работы в медицинских организациях (МО) имеют 48% из опрошенных выпускников, из которых 89,6% трудоустроены согласно выписке из протокола сдачи экзамена. Опыт работы в немедицинских организациях (НМО) имеют 22 % из опрошенных выпускников.

Таблица

Трудоустройство студентов выпускных курсов ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России 2019 года в медицинских и немедицинских организациях

| Факультеты | Выпуск 2019 г. * | Анкетно | Опыт работы в МО | | Опыт работы в НМО | | Допуск к мед. деят-ти ** | | Труд-но, согласно допуску | |
|-------------------------|------------------|---------|------------------|----|-------------------|-----|--------------------------|----|---------------------------|------|
| | | | Чел. | % | Чел. | % | Чел. | % | Чел. | % |
| Лечебный | 407 | 276 | 138 | 50 | 58 | 21 | 197 | 71 | 115 | 42 |
| Педиатрический | 178 | 114 | 65 | 57 | 28 | 25 | 90 | 79 | 61 | 54 |
| Стоматологический | 247 | 109 | 52 | 48 | 26 | 24 | 16 | 15 | 15 | 13 |
| Медико-профилактический | 29 | 29 | 10 | 45 | 8 | 28 | 12 | 41 | 5 | 17 |
| | | | 3*** ЦГиЭ | | | | | | | |
| Фармацевтический (ОДО) | 40 | 40 | 2 | 5 | 3 | 7,5 | 2 | 5 | 1 | 2,5% |
| Итого | 901 | 568 | 270 | 48 | 123 | 22 | 317 | 56 | 242 | 43 |

* Российские студенты

** комиссией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России по допуску лиц, не завершивших освоение основных образовательных программ высшего медицинского или высшего фармацевтического образования, а также лиц с высшим медицинским или высшим фармацевтическим образованием к осуществлению медицинской деятельности или фармацевтической деятельности на должностях среднего медицинского или среднего фармацевтического персонала.

*** ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае».

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 2016 – 2018гг.: по данным мониторинга деятельности образовательных организаций высшего профессионального образования трудоустройство выпускников 2016г.- 75 % (порог 70%), 2017г. - 65% (порог – 65%), по данным выборочного анкетирования 694 чел. (84%) из выпускников 2018г. (830 чел.) – 98%, из которых продолжили обучение в ординатуре 372 чел. (45,0%), трудоустроены в медицинские организации 445 чел. (54,0 %).

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, от 07.11.2017 г. № 204-24916/17-18.5-17, от 28.03.2019 г. №204-7333/19-4-18 в органах труда и занятости населения Краснодарского края выпускники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России 2008-2014 годов, 2014 -2017 годов, 2016-2018 годов в качестве безработных не зарегистрированы.

В службу занятости Краснодарского края с целью поиска более подходящей работы обратилось 10 человек – выпускников ординатуры 2016-2018гг., которые были успешно трудоустроены.

Данные анализа рынка труда подтверждают трудоустройство выпускников университета в медицинских организациях Краснодарского края и их востребованность на рынке труда.

Таким образом, инновационные технологии, используемые в работе университета по оказанию помощи молодым специалистам в трудоустройстве, их профессиональной адаптации к условиям постоянно меняющегося рынка труда, позволяют включить в процесс содействия трудоустройству всех заинтересованных сторон: студентов, выпускников, представителей вуза и работодателей, а также обеспечить наиболее полное трудоустройство, добиться заключения договорных отношений с работодателями, создать модель выпускника с устойчивыми социально-психологическими, адаптивными навыками, конкурентоспособного на рынке труда.

Литература

1. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К. О деятельности центра содействия трудоустройству выпускников ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016. № 4. С. 20–25.
2. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К. Оптимизация учебного процесса для повышения качества образования и содействия трудоустройству выпускников ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России // *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. 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.
3. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К. Пути достижения эффективного содействия трудоустройству выпускников ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России // *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology IT + ME`2016 Крым, Ялта-Гурзуф, с 02 по 12 июня 2016 года*. 2016. С 8–15.
4. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К. Инновационные технологии эффективного продвижения выпускников на рынке труда // *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. 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.
5. Алексеенко С.Н., Гайворонская Т.В., Ахеджак-Нагузе С.К. Современные образовательные технологии для повышения качества образования и содействия трудоустройству выпускников // *Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы междунар. конф. New Information Technology in Medicine, Pharmacology, Biology and Ecology IT + ME` , 2018. – Крым, Ялта-Гурзуф, с 01 по 11 июня 2018 года*. 2018. С. 25–34.

Сведения об авторах

Сергей Николаевич Алексеенко
д-р мед. наук
ректор
E-mail: Corpus@ksma.ru

Information about authors

Sergei Nikolaevich Alekseenko
M.D.
Rector
E-mail: Corpus@ksma.ru

Татьяна Владимировна Гайворонская
д-р мед. наук
проректор по учебной и воспитательной работе
E-mail: T.Gaivoronskaya@rambler.ru
Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе
канд. мед. наук
рук. центра содействия трудоустройству выпускников,
пом. проректора по учебной и воспитательной работе по
практическим навыкам, доц. каф. общественного здоровья,
здравоохранения и истории медицины
Эл. почта: naguzesk@mail.ru
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
Россия, Краснодар

Tatiana Vladimirovna Gaivoronskaya
M.D
Vice-chancellor
E-mail: T.Gaivoronskaya@rambler.ru,
Saida Kazbekovna Akhedzhak-Naguzе
Ph.d., Associate Professor
Head of the Centre for Assistance in Graduates' Employment,
Assistant of Vice Chancellor for Teaching Process and
Educative Wor, Assistant professor of the Chair of Public Health,
Health Care and the History of Medicine
E-mail: naguzesk@mail.ru
FSBEI HE KubSMU
Russia, Krasnodar

УДК 004.81
ГРНТИ 28.23.25

Аверьянов Г.П., Дмитриева В.В.
Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

ВЕБ-ИНТЕГРИРОВАННАЯ НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ПРОТОТИПИРОВАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ УСКОРИТЕЛЕЙ

В статье представлена структура веб-интегрированной информационной научно-образовательной среды на основе адаптивной модели процесса обучения и комплекса виртуальных электрофизических лабораторий для подготовки специалистов по медицинским ускорителям.

Ключевые слова: информационные среды, веб-интегрированные системы, разработка прототипов сложных технических систем, медицинские ускорители.

Averyanov G.P., Dmitrieva V.V.
National Research Nuclear University MEPHI

SCIENTIFIC AND EDUCATIONAL WEB-INTEGRATED ENVIRONMENT FOR SPECIALISTS IN MEDICAL ACCELERATORS

Described the structure of the web-integrated research and educational info environment designed based on the adaptive learning process model and the virtual electrophysical laboratories complex for education of specialists in medical accelerators.

Keywords: information environments, web-integrated systems, design of complex technical systems prototypes, medical accelerators.

Введение

Многие задачи в геоинформатике сводятся к задачам поиска оптимальных решений. Особенности таких задач являются нелинейность, многоэкстремальность, недифференцируемость, отсутствие аналитического выражения, высокая размерность пространства поиска и т.д. Для эффективного решения указанных задач интенсивно разрабатываются биоинспирированные алгоритмы поиска оптимальных решений.

Цель работы. Данная работа посвящена разработке и внедрению новых принципов и методов построения распределенных информационных научно-образовательных сред на примере создания веб-интегрированной среды для специалистов по электрофизическим установкам, специализирующихся, в том числе, на проектировании и эксплуатации медицинских ускорителей [1, с. 3-5].

Материалы и методы. Основу единой веб-интегрированной среды (рис.1), ориентированной на предпроектные исследования и разработку прототипов физических и технических подсистем медицинских ускорителей заряженных частиц составляют виртуальные компьютерные симуляторы каналов транспортировки пучков частиц высоких энергий, вакуумной и мощной импульсной техники в рамках комплекса виртуальных электрофизических лабораторий. При этом концепция виртуальной лаборатории (ВЛ) в значительной мере отличается от концепции САПР (несмотря на то, что используемые математические модели, изначально разрабатывались как программное обеспечение САПР)

Используемые симуляторы очень быстро визуализируют изучаемые процессы в виде графиков, такая скорость достигается за счёт того, что моделируются физические процессы в устройствах с фиксированной конфигурацией. Этого вполне достаточно для отработки базовых концепций и прототипов устройств, но при этом виртуальная лаборатория не может в данном случае являться инструментом прямого проектирования (т.е. САПР в полном смысле).

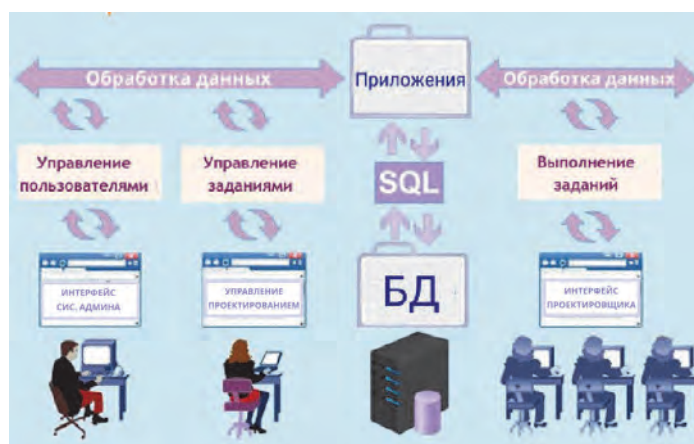


Рис.1. Системная архитектура научно-образовательной среды

Полученные результаты. В настоящее время виртуальные лаборатории научно-образовательной среды реализованы в виде кроссплатформенных веб-приложений в стандартной конфигурации (HTML5, CSS, JavaScript) с применением технологий AJAX и CGI (Fast CGI) для симуляторов, разработанных с использованием языков GCC (GNU Compiler Collection – Си/C++, Фортран и т.д.). Планируется реализация Cloud Computing с динамическим распределением вычислительных ресурсов для приложений виртуальных лабораторий.

Виртуальные лаборатории (ВЛ) электрофизики

Предпроектные исследования в ВЛ "Каналы транспортировки" релятивистских пучков заряженных частиц основаны на адаптивно-модульном методе расчёта магнитооптических систем [2, с. 138-142]. Графические средства позволяют отобразить траектории отдельных частиц, огибающие и фазовые портреты пучка в горизонтальной и вертикальной плоскости. Этой информации вполне достаточно для оперативной настройки канала на нужный режим работы (рис. 2).

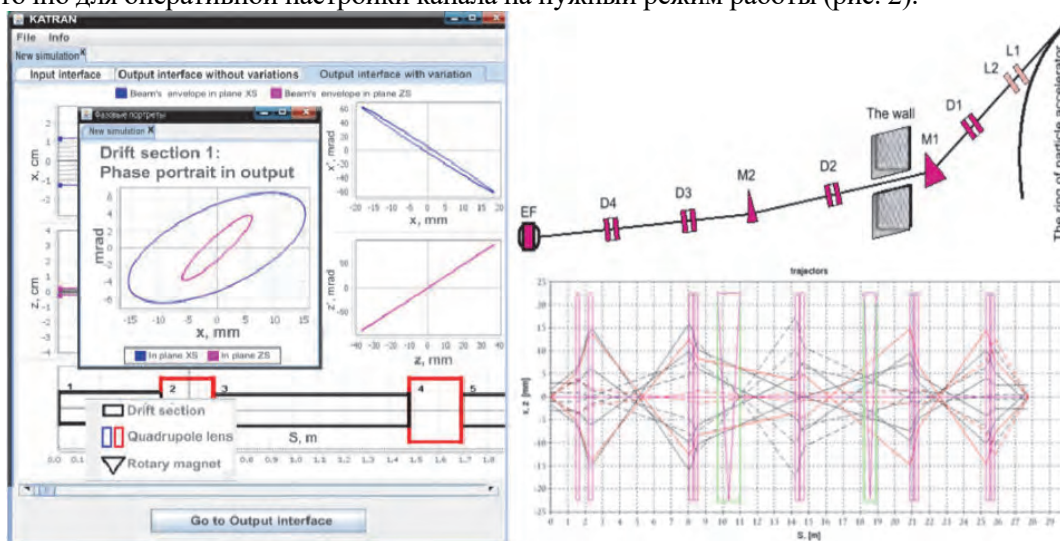


Рис. 2. ВЛ «Каналы транспортировки», структура канала и огибающие пучка.

Структура канала определяется требованиями формирования необходимых геометрических параметров пучка частиц (поперечные размеры и расходимость пучка) на экспериментальной установке (или на мишени) и по длине всего канала. Вторым фактором являются конструктивные требования к размещению фокусирующих элементов в заданных границах помещения, а также допустимый набор фокусирующих устройств. При достаточно жестких требованиях к геометрическим параметрам пучка, как правило, происходят потери в интенсивности пучка, суммарный эффект которых зависит от многих факторов.

ВЛ «Мощная импульсная техника» (МИТ) предназначена для исследования переходных процессов в устройствах формирования наносекундных высоковольтных импульсов как правило представляет собой достаточно сложную и разветвленную электрическую схему, включающую различные функциональные компоненты. Анализ и синтез подобных систем показывает

эффективность применения традиционных методов схемотехники, определяемых как моделирование на макроуровне [3, с. 148-151].



Рис. 3. ВЛ МИТ. Исследование переходных процессов в линиях передач



Рис. 4. Процесс откачки вакуумной системы в ВЛ «Вакуумная техника»

Математическая модель устройства формирования может быть получена объединением компонентных и топологических уравнений, при этом необходимо учитывать существенную особенность мощных импульсных устройств, являющихся элементами схемы, которые наряду со стандартными элементами с сосредоточенными параметрами, включают так же и элементы с распределенными параметрами.

Моделирование переходных процессов в схемах формирователей (рис. 3) может оказаться полезным при разработке специализированного программного обеспечения для оценки факторов влияющих на искажение импульсов в действующих установках.

Виртуальная вакуумная лаборатория – это приложение, разработанное для предпроектного моделирования вакуумных систем с учетом различных особенностей процесса откачки при различных параметрах, материалах и составляющих системы [4, с. 110].

Приложение предоставляет пользователю большую гибкость в задании характеристик системы, обладая при этом достаточно понятным и интуитивным интерфейсом (рис.4).

Интерфейс программы состоит из двух окон: главного окна, в котором пользователь задает все параметры вакуумной системы, начиная от выбора насосов и заканчивая заданием парциального состава газов камеры, и окна с графиком, откачки вакуумной системы [5, с. 2].

Выводы. Стремительное развитие информационных технологий, необходимость наличия доступа к сети Интернет в качестве фактического стандарта для рабочего места современного

специалиста практически любого профиля требует создания принципиально новых веб-интегрированных научно-образовательных информационных систем. На текущем этапе реализованы следующие базовые параметры информационной среды:

- реализована гибкая настраиваемая среда предпроектного проектирования установок с простыми и удобными интерфейсами;
- обеспечение удаленный доступа к виртуальным лабораториям, учебно-методическому и научному контенту;
- система хранения информации на базе веб-стандартов обеспечивает возможность дальнейшего расширения и масштабирования научно-образовательной среды.

В дальнейшем необходимо и планируется:

- расширение интерактивности среды за счет включения дополнительных модулей виртуальных лабораторий;
- автоматизация администрирования пользователей интерактивной среды и обеспечение взаимодействия между участниками образовательного процесса;
- интеграция алгоритмов, функций и модулей контроля учебного процесса в единую систему с виртуальными лабораториями;
- разработка системы контроля статистики пользования интерактивной среды и формированием соответствующей отчетности.

Заключение

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

- разработана информационная научно-образовательная среда прототипирования медицинских ускорителей, спроектированная на основе веб-интеграции математических моделей и интерфейсов, поддерживающих проведение полноценных научных исследований и разработки реальных прототипов действующих установок.

Цитируемая литература

1. Delerue N et al. 2018 A Massive Open Online Course on Particle Accelerators // Journal of Physics: Conference Series, 2018 Vol. 1067, No. 9, P. 3–5.
2. German P. Averyanov, Valentina V. Dmitriyeva, Valery A. Budkin. Transportation channels calculation method in MATLAB // Problems of Atomic Science and Technology, 2014. Т. 91. No. 3. P. 138–142.
3. German P. Averyanov, Valentina V. Dmitriyeva, Grigory G. Novikov. Simulation and optimization in the object-oriented environment of electrophysical laboratories // International Conference on Stability and Control Processes in Memory of V.I. Zubov, SCP 2015. – Proceedings, 2015. P. 148–151.
4. Averyanov G. P. et al. Virtual Laboratory of vacuum technique // 24th Russian Particle Accelerator Conference, RuPAC 2014, 2014. P. 110–112.
5. V. V. Dmitrieva et al. Simulation modelling in vacuum engineering // Journal of Physics: Conference Series, 2017. Vol. 798. No. 1.

Сведения об авторах

Герман Петрович Аверьянов

канд. техн. наук

ст. науч. сотр., доцент

Эл. почта: GPAveryanov@mephi.ru

Валентина Викторовна Дмитриева

канд. техн. наук

доцент

Эл. почта: VVDmitriyeva@mephi.ru

Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Россия, Москва

Information about authors

German Petrovich Averyanov

candidate of technical Sciences

senior researcher, associate Professor

E-mail: GPAveryanov@mephi.ru

Valentina Viktorovna Dmitrieva

candidate of technical Sciences

associate Professor

E-mail: VVDmitriyeva@mephi.ru

National Research Nuclear University MEPHI (Moscow Engineering Physics Institute)

Russia, Moscow

ВОВЛЕЧЕНИЕ СТУДЕНТОВ В ОПТИМИЗАЦИЮ ПРОЦЕССА ПРЕПОДАВАНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ «ИСТОРИЯ ФАРМАЦИИ» С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНСТРУМЕНТОВ БЕРЕЖЛИВОГО ПРОИЗВОДСТВА

В статье представлен опыт использования студенческого потенциала посредством подачи кайдзен-предложений с целью повышения эффективности освоения студентами фармацевтического факультета Кубанского государственного медицинского университета дисциплины «История фармации». Благодаря системе подачи кайдзен-предложений повышается вовлеченность учащейся молодежи в процесс изучения предмета. Методология исследования базируется на концепции открытия проектов по улучшениям, реализуемой в рамках внедрения бережливого производства в организациях подведомственных Министерству здравоохранения.

Ключевые слова: история фармации, бережливое производство, кайдзен-предложения, учебный процесс.

Veselova D.V., Vermennikova L.V., Gubarev S.V., Vasilyev Yu.A.
FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Health Care of the Russian Federation

INVOLVING STUDENTS IN THE OPTIMIZATION OF THE PROCESS OF TEACHING DISCIPLINE "HISTORY OF PHARMACY" WITH THE APPLICATION OF TOOLS OF PROTECTIVE PRODUCTION

The article presents the experience of using student potential by submitting kaizen-offers in order to increase the efficiency of students in the pharmaceutical faculty of the Kuban State Medical University, mastering the history of pharmacy discipline. Thanks to the kaizen-proposal submission system, the involvement of students in the subject-study process is increased. The research methodology is based on the concept of opening improvement projects implemented as part of the implementation of lean manufacturing in organizations under the Ministry of Health.

Keywords: history of pharmacy, lean manufacturing, kaizen offers, educational process.

В рамках реализации федерального проекта «Создание новой модели медицинской организации, оказывающей первичную медико-санитарную помощь», все лечебно-профилактические медицинские организации внедряют бережливое производство с целью повышения эффективности внутренних процессов и удовлетворенности населения качеством оказания медицинской помощи. С 2018 года в Кубанском государственном медицинском университете успешно реализуется проект «Бережливый вуз».

Бережливый вуз – это инновационная система организации работы высшего образовательного учреждения, основанная на применении философии, принципов и инструментов бережливого производства, направленная на подготовку пациентоориентированных медицинских специалистов, готовых к реализации непрерывных улучшений, ведущих к повышению удовлетворенности пациентов доступностью и качеством медицинской помощи [2].

Модель «Бережливый вуз» предполагает вовлечение учащихся в улучшение внутренних процессов университета, что обусловило создание системы централизованного сбора проблем и предложений от студентов. Данный способ позволяет администрации университета оперативно решать возникающие проблемы, повышая роль студентов в процессах оптимизации работы вуза. Полученный позитивный опыт каскадируется и на структурные подразделения университета.

Цель работы. Представление опыта повышения эффективности освоения дисциплины «История фармации» посредством использования системы подачи кайдзен-предложений от студентов.











В ходе реализации непрерывных улучшений учебного процесса на кафедре общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины был осуществлен сбор проблем и предложений от студентов 1 курса фармацевтического факультета, изучающих дисциплину «История фармации» [4,6].

Для опроса использована форма листов проблем и предложений, применяемая медицинскими организациями в рамках внедрения бережливых технологий и рекомендованная Министерством здравоохранения Российской Федерации. Каждому студенту была предоставлена возможность зафиксировать анонимно в свободной форме свои мысли. Всего изучавших дисциплину «История фармации» в текущем семестре было 62 студента, из которых только 26 че-

ловек, завершающих изучение данной дисциплины в текущем семестре, смогли четко сформулировать проблемы и предложения.

Таблица 1.

Лист поиска коренных причин выявленных проблем
в процессе изучения дисциплины «История фармации»

| № п/п | Название выявленных проблем | Причины выявленных проблем | Коренная причина | Меры по решению | Статус |
|---|--|---|---|--|---|
| 1 | Сложности в подготовке к семинарским занятиям | Большой объём информации, который необходимо выучить наизусть для подготовки к семинарскому занятию | Необходимость запоминания большого количества дат и имен за короткое время | Разрешить использовать для ответа на семинарском занятии конспект, выполненный в форме глоссария |  |
| | | Студенты испытывают сложности с поиском необходимой информации для подготовки к занятию | Недостаток информации в основной используемой литературе о фармацевтической деятельности в ретроспективе | Приобрести учебное пособие, содержащее материалы по истории становления и развития фармацевтической отрасли |  |
| 2 | Потребность в более глубоком изучении предмета | Недостаток материала, отражающего историю фармации новейшего времени | В связи с тем, что новейшая история постоянно пополняется фактами. Лекционный материал требовал доработки | Лекционный материал был полностью переработан и впервые введены интерактивные методы подачи лекционного материала |  |
| 3 | Сложность восприятия лекционного материала иностранными студентами | Сложности аудального восприятия материала на русском языке для иностранных студентов | Отсутствие материалов на английском языке, представляемых студенту | Для иностранных студентов был подготовлен раздаточный материал с кратким содержанием лекционного материала на английском языке |  |
| 4 | Низкая значимость предмета с точки зрения студентов | Дисциплина относится к блоку гуманитарных дисциплин | Студенты не всегда понимают практическую значимость дисциплины | С помощью применения интерактивных методов обучения увеличить вовлеченность студентов в процесс изучения дисциплины и продемонстрировать ее значимость |  |
|  | |  |  |  |  |
| работа не начата | | работа запланирована | работа выполняется | работа выполнена качественно | работа стандартизирована |

В значительной степени мотивационной компонентой для учащихся выступил тезис о том, что их предложения лягут в основу плана оптимизации процесса преподавания дисциплины в дальнейшем [1].

Этап обработки данных, полученных в ходе исследования, представлял собой группировку, которая осуществлялась в двух ступеней. Изначально все близкие по смыслу проблемы, обозначенные студентами, были объединены в группы. Таким образом, было составлено 15 групп утверждений. Далее была проведено укрупнение созданных групп на основе выделения одного общего признака для некоторых из них. В итоге 15 исходных обобщенных утверждений были трансформированы в 4 группы.

Каждая из конечных групп была проанализирована с использованием листа коренных причин выявленных проблем (Таблица 1). Цель применения данного инструмента – поиск коренной причины каждой из проблем и разработка мер по ее решению.

Исходя из таблицы видно, что приоритетными являются 4 группы проблем: сложности в подготовке к семинарским занятиям, потребность студентов к более глубоком изучении предмета, сложность восприятия лекционного материала иностранными студентами, низкая значимость предмета с точки зрения студентов.

Решениями первой проблемы стали использование для ответа на семинарском занятии конспекта, выполненного студентом в форме глоссария, а также подача заявки в библиотеку на

приобретение учебного пособия, содержащего материалы по истории становления и развития фармацевтической отрасли (Склярова Е.К. «История фармации»). Данное учебное пособие отражает основные закономерности развития лекарствоведения и фармации, вклад и достижения выдающихся деятелей фармации [3,9].

Для удовлетворения потребности студентов в более глубоком изучении новейшей истории фармации лекционный материал был полностью переработан и дополнен интерактивными методами подачи лекционного материала, также лекционный материал был обогащен видео роликами по изучаемой теме.

С целью повышения эффективности освоения дисциплины «История фармации» иностранными студентами был подготовлен раздаточный материал с кратким содержанием лекционного материала на английском языке. При входе на лекцию иностранные студенты получали раздаточный материал на английском языке, в виде буклета, в котором представлены слайды презентации, демонстрируемой преподавателем. Это позволяло студенту, для которого русский не является родным языком, одновременно слышать речь преподавателя и видеть ключевые аспекты лекции на понятном ему языке.

Применение интерактивных методов обучения позволило увеличить вовлеченность студентов в процесс изучения дисциплины и продемонстрировать ее значимость [5,7,8]. Преподаватель привлекает студентов к разработке мини-игр по предстоящей теме занятия. Студенты составляют на формате А3 игровое поле с вопросами по изучаемой теме. Каждый вопрос имеет свою нумерацию. На семинарском занятии опрос проводится в форме игры, где студент отвечает на вопрос, выпавший по принципу случайных чисел.

Вывод. Таким образом, нами представлен опыт оптимизации процесса преподавания дисциплины «История фармации» на кафедре общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины Кубанского государственного медицинского университета путем применения инструментов бережливого производства. Важно отметить, что вовлечение обучающихся в процессы улучшений формирует у современной молодежи «бережливое мышление», ответственность и инициативность.

В данном случае применение системы подачи кайдзен-предложений как одного из элементов реализации проекта «Бережливый вуз» позволило повысить уровень успеваемости студентов, интереса к изучению истории фармации как одного из важных предметов, формирующих общекультурные компетенции будущего провизора.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: применение инструментов бережливого производства по средствам вовлечения студентов в оптимизацию образовательного процесса.

Литература

1. Гурбич, Г.И. Опыт работы по вовлечению в НИРС и УИРС на кафедре общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины студентов младших курсов / Г.И. Гурбич, Д.В. Веселова, Ю.А. Васильев, А.В. Зобенко // Естественное образование: стратегия, проблемы, достижения: Материалы региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием (27 марта 2019 года). – Краснодар, 2019. С. 105–107.
2. Лайкер Д. К Дао Тоуота. 14 принципов менеджмента ведущей компании мира / Д.К. Лайкер, Д. Майер // Издательская группа Точка, 2019. 400 с.
3. Пильщикова В.В. Роль истории медицины в формировании культуры личности студентов медицинского вуза / В.В. Пильщикова, Д.В. Веселова, Ю.А. Васильев // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 4-1. С. 211–212.
4. Редько А.Н. Изучение восприятия и анализ удовлетворённости студентов преподаванием дисциплины «История медицины» в Кубанском государственном медицинском университете / А. Н. Редько, С.В. Губарев, Д.В. Веселова, Ю.А. Васильев // Инновации в образовании: Материалы IX региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием. 2018. С. 238–241.
5. Редько А.Н. Оценка познавательной способности студентов при использовании интерактивных образовательных технологий / А.Н. Редько, В.В. Пильщикова, Ю.А. Васильев // Международный журнал экспериментального образования. 2014. № 10. С. 255–258.
6. Редько А.Н. Опыт применения системы кайдзен-предложений для повышения эффективности учебного процесса / А.Н. Редько, С.В. Губарев, Л.В. Верменникова, Д.В. Веселова // Естественное образование: стратегия, проблемы, достижения: Материалы региональной

межвузовской учебно-методической конференции с международным участием (27 марта 2019 года). – Краснодар, 2019. С. 255–257.

7.Редько А.Н. Роль имитационных технологий в повышении качества преподавания истории фармации в Кубанском государственном медицинском университете / А.Н. Редько, С.В. Губарев, Д.В. Веселова А.С. Бочкарева // Филологические и социокультурные вопросы науки и образования: Сборник материалов III Международной научно-практической конференции, 25 октября 2018 г. – Краснодар: Изд. КубГТУ, 2018. С. 710–716.

8.Редько А.Н. Оценка познавательной способности студентов при использовании интерактивных образовательных технологий / А.Н. Редько, В.В. Пильщикова, Ю.А. Васильев // Международный журнал экспериментального образования. 2014. № 10. С. 255–258.

9.Склярова Е.К. История фармации: учебник / Е. К. Склярова, Л. В. Жаров, Т.Г. Дергоусова. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2015. 317с.

Сведения об авторах

Дарья Валерьевна Веселова

ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины
E-mail: d_yeselova@mail.ru

Людмила Викторовна Верменникова

доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения ФПК
E-mail: vermennikova-liudmila@yandex.ru

Станислав Валерьевич Губарев

старший преподаватель кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины
E-mail: gs023@ya.ru

Юрий Анатольевич Васильев

ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины
E-mail: yurii-59@mail.ru
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
Россия, Краснодар

Information about authors

Darya Valeryevna Veselova

Assistant of the Department of Public Health, Health Care and History of Medicine
E-mail: d_yeselova@mail.ru

Lyudmila Viktorovna Vermennikova

Associate Professor at the Department of Public Health
E-mail: vermennikova-liudmila@yandex.ru

Stanislav Valerievich Gubarev

Senior Lecturer, Department of Public Health, Health and Medical History
E-mail: gs023@ya.ru

Yury Anatolyevich Vasilyev

Assistant of the Department of Public Health, Health Care and History of Medicine
E-mail: yurii-59@mail.ru
FSBEI HE KubSMU
Russia, Krasnodar

УДК 616.716.1/716/4-
053.2:575
ГРНТИ 76.33.37

¹Карипиди Р.К., ²Васильев Ю.Ю., ²Плотникова Е.Ю.,
³Шиянов Г.П., ¹Васильев Ю.А.
¹ФГБОУ ВО КубГМУ
²Краснодарский роддом №4
³ФГБОУ ВО «РГУП»

ОЦЕНКА РИСКОВ ПОЛУЧЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ТРАВМ И УТРАТЫ ЗДОРОВЬЯ ВРАЧА В ПРОЦЕССЕ ТРУДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Статья предназначена для предупреждения врачей-стоматологов, на приеме детского контингента, а также лиц с неуравновешенной психикой [3]. Представлен клинический случай, где в результате утери профессиональной предосторожности врач получил травму руки [1]. Это обстоятельство послужило подать заявку в ФИПС и получить патент для защиты врача от нежелательного смыкания челюстей.

Ключевые слова: защита от травмы врача, дети, изобретение, патент.

RISK ASSESSMENT OF WORK-RELATED INJURIES AND LOSS OF HEALTH OF THE PHYSICIAN IN THE COURSE OF EMPLOYMENT

The article is intended to warn dentists at the reception of the children's contingent, as well as persons with an unbalanced psyche. The clinical case where as a result of loss of professional precaution the doctor got a hand injury is presented. This circumstance served to apply to the FIPS and obtain a patent to protect the doctor from unwanted closing of the jaws.

Keywords: *protection from injury to the doctor, the children, the invention of the patent.*

Приведён клинический случай неожиданной производственной травмы врача на плановом (санация по графику) стоматологическом приёме детей в поликлинике муниципального образования город Краснодар [2]. В литературе крайне ограничены публикации о причинах врачебного травматизма в стоматологии. В этой приведённый в статье случай травматизма и механизму его предотвращения вызывает определённый интерес.

Проблемы, входящие в понятие «условия труда», обширны: от правовых норм, определяющих производительность труда, до психофизиологии трудовой деятельности человека, устройства помещения и оборудования, создающих среду, которая благоприятствует на физической, интеллектуальной и психической трудоспособности человека. Следовательно условия труда – это сложное объективно существующее общественное явление [7,8], формирующееся в процессе труда под воздействием взаимосвязанных факторов социально-экономического, технико-организационного и естественно-природного характера оказывающих влияние на здоровье и работоспособность человека, его отношение к труду и степень удовлетворенности трудом, на эффективность труда и экономические результаты производства [10,11], на качество жизни и всестороннее развитие человека как главной производительной силы общества [1,9]. Данное определение даёт целостную характеристику условий труда: их сущности как объективного явления, механизма формирования и основных направлений воздействия на работающего человека, эффективности производства, влияния на социальное развитие, тем самым конкретизирует термины «производственная среда» и «условия труда», как единство двух сторон [8,10]. С одной стороны, это факторы, формирующие условия труда, а с другой его элементы. К элементам условий труда относятся, например, температура, загазованность и др. т.е. все то, что непосредственно влияет на работающего человека, его здоровье, работоспособность и социальное развитие. Основные характеристики качества трудовой жизни – безопасность и экология – проблемы, которые связаны с созданием общественно-нормативных условий труда и занимают одно из ведущих мест в концепции качества трудовой жизни. Исследования в этом направлении показывают, что человеческий потенциал не может быть реализован в полной мере, если физические и санитарно-гигиенические условия труда неблагоприятны и человек вынужден беспокоиться за свое здоровье и безопасность. В последние годы в России прослеживается тенденция к снижению производственного травматизма, особенно со смертельным исходом, однако его уровень продолжает оставаться довольно высоким.

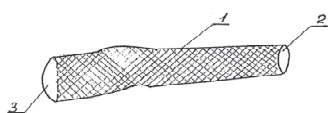
По данным литературы ежегодно на производстве получают травмы более 200 тыс. человек, а погибают от воздействия опасных производственных факторов около 180 тыс. человек. При этом более 30 % (около 650 тыс.) умерших в 2018 году находились в трудоспособном возрасте [3,5,6]. В настоящее время совершенствование, и корректировка системы управления охраной труда (СУОТ) является актуальной проблемой.

Основной задачей по модернизации системы охраны труда является переход от фактологического учёта всех случаев травматизма к управлению рисками и разработке профилактических мероприятий по снижению влияния вредных условий производства на здоровье работника. [1] Охрана труда как система обеспечения жизни и здоровья работников в процессе трудовой деятельности не может рассматриваться в отрыве от социально-экономического положения организации, в которой они работают, потому, что тесно связана с состоянием экономики, и окружающей средой, а также уровнем лечебно-профилактического обслуживания, обеспечения средствами индивидуальной и коллективной защиты работающих, с качеством образования и обучения, научным и информационным потенциалом работающего.

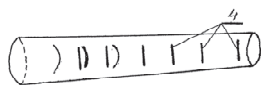
Цель исследования. Проанализировать клинический случай получения травмы врача на стоматологическом приёме и показать конструктивное решение, исключающее такого рода травм.

При плановом осмотре учеников 4 класса в детской стоматологической поликлинике г. Краснодара № один из них был направлен в хирургический кабинет для удаления разрушенных и подвижных зубов. Приём вёл детский хирург-стоматолог высшей категории с 20 летним стажем работы. Ребёнок осмотрен в стоматологическом кресле. Был выяснен аллергологический статус необходимый для подготовки и выбора анестетика и способа анестезии. При осмотре зубных рядов и пальпации переходной складки у ребёнка резко сомкнулись челюсти и в зону смыкания попал 2-й палец правой руки врача. Сняв перчатку, врач вместе с медицинской сестрой провели обработку укушенной раны вымыв руки мылом и обработав место укуса 3% раствором перекиси водорода. На рану наложена асептическая повязка с левомеколем. На второй день у пострадавшего врача поднялась температура до 38° и появились болевые ощущения в области травмы. На приёме у общего хирурга установлен диагноз: укушенная рана 2-пальца правой руки. Проведена первичная хирургическая обработка раны, наложена асептическая мазевая повязка, назначена вакцинация, оформлена временная нетрудоспособность. Проводимые ежедневные перевязки не снимали болевые ощущения. Была назначена антимикробная терапия в связи с присоединившейся инфекции.

Нами предложено приспособление [4] для предупреждения нежелательного смыкания челюстей которое может быть использовано в челюстно-лицевой хирургии, детской стоматологии на амбулаторном приёме, анестезиологии. Защита от травм пальцев врача при выполнении манипуляций в полости рта пациента вызвана необходимостью, так как фактов непроизвольного смыкания пациентом челюсти во время работы врача, непроизвольной травматизмами мягких тканей руки врача не мало. Травмы часто сопряжены с присоединением различного вида инфекции из полости рта пациента. В арсенале врача – стоматолога имеется достаточный набор



Фиг. 3



Фиг. 4

различных устройств и приспособлений, препятствующих спонтанному смыканию челюстей во время действий врача в полости рта пациента. Однако многие из них либо довольно таки сложны при использовании, либо мало эффективны. Это обстоятельство послужило целесообразностью усовершенствовать их конструктивно, до состояния обеспечивающего более надёжную защиту от травм пальцев врача-стоматолога, и исключаящее чувства страха у пациента от «угрожающего» вида известных устройств, а также освободило бы необходимость дополнительного участия медсестры. Сущность предлагаемого нами устройства заключается

в том, что один из пальцев (преимущественно средний) нерабочей руки врача во время манипуляций в ротовой полости пациента снабжен конгруэнтно прилегающим к пальцу врача, изготовленным в тех лаборатории, защитным чехлом из самотвердеющей биоинертной пластмассы толщиной 0,5-0,7 мм и канавками по внешней поверхности приспособления. Заявители условно назвали приспособление «Фальшпалец». Технический результат заключается в том, что приспособление гарантированно защищает от нежелательного самопроизвольного смыкания зубных рядов пациентом и врача от травм т.к. благодаря жесткости материала, из которого изготовлено приспособление и наличия канавок, приспособление после введения стабильно устойчиво, не перемещается, не скользит, не разрушается и не снимается. Угол открытости рта остаётся постоянным, что позволяет спокойно работать и придерживать рукой голову пациента, при этом рот остаётся открытым. При необходимости врач имеет возможность не удаляя приспособления, освободить руку для других манипуляций. Имеющиеся канавки на поверхности приспособления препятствует ненужному случайному смещению. Имея индивидуальную форму устройства, пациент и врач остаются уверенными в том, что соблюдается режим «анти СПИД». В качестве утешительного приза на детском приёме устройство можно подарить пациенту.

Приспособление схематично изображено на фиг.3 где: - вид спереди и фиг.4 - сверху, 1- общий вид приспособления, 2 – дистальный конец, 3 – проксимальный конец, 4 – канавки. Устройство используют следующим образом: для врача изготавливают партию предлагаемых приспособлений к предстоящим манипуляциям. Приспособление 1 с канавками 4 на внешней стороне, сверху и нижней – противоположной поверхности, врач одевает на привычный в работе палец в положении от проксимального к дистальному концу 2-3. Вводит в угол рта пациента, со стороны свободной от вмешательства. Пациент при этом не испытывает дискомфорта, напряжённости, а врач имеет возможность спокойно проводить все планируемые действия лечебно-диагностического характера. Благодаря канавкам приспособление не скользит, т.к. зубы паци-

ента фиксированы в канавках. После завершения манипуляции врач приспособление вынимает. Приспособление было практически использовано на свыше 50 пациентах.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: применение необходимых и доступных средств защиты врача предупредят нежелательный травматизм.

Литература

1. Библиотека по охране труда и технике безопасности [Электронный ресурс] // Охрана труда в России. – Режим доступа: https://ohranatruda.ru/ot_biblio/ (дата обращения: 15.01.2019)
2. Васильев Ю.А., Гуленко О.В., Брещенко Л.В., Трофимова Е.Ю. Социально-экономическое положение семей, имеющих детей-инвалидов // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Материалы V Всероссийской научно-практической конференции. Главный редактор - Топольницкий О.З. 2016. С. 34–36.
3. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Пильщикова В.В. Врожденные аномалии как фактор риска сопутствующей патологии Евразийское // Научное Объединение. 2017. Т. 1. № 8 (30). С. 54–57.
4. Васильев Ю.А., Шиянов Г.П., Пономаренко Т.В., Верещетина А.А., Пономаренко Н.Ю. Приспособление для предупреждения нежелательного смыкания челюстей: патент на полезную модель RUS 183686 15.08.2017
5. Гуленко О.В., Волобуев В.В., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Удина И.Г. Расстройства сравнительный анализ стоматологической заболеваемости и антиоксидантной защиты ротовой жидкости у детей с врождёнными расщелинами губы и/или нёба и психоневрологическими // Российский стоматологический журнал. 2018. Т. 22. № 4. С. 188–192.
6. Гуленко О.В., Волобуев В.В., Верепатвелян А.Ф., Грачева А.С., Гуменюк А.С., Васильев Ю.А. Сравнительный анализ заболеваемости кариесом зубов у детей с психоневрологическими расстройствами и врожденным несращением губы и неба, проживающих в Краснодаре // Кубанский научный медицинский вестник. 2017. № 2 (163). С. 56–60.
7. Гурбич Г.И., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю.А. Организационные аспекты блока родовспоможения // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции. Весенняя сессия / Под редакцией проф. Е.Л. Глориозова. 2018. С. 261–265.
8. Ковелина Т.А., Гурбич Г.И., Васильев Ю.А., Плотникова Е.Ю. Анализ медико-социальных аспектов детей с аномалией развития головы и шеи // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции. Весенняя сессия / Под редакцией проф. Е.Л. Глориозова. 2018. С. 241–244.
9. Стасеева Е.В., Филатова С.В. Определение профессионального риска на основе специальной оценки условий труда // Молодой исследователь Дона. 2018. № 2 (11).
10. Redko A.N., Vasilev Yu.A., Udina I.G. Prenatal ultrasound detection of cleft lip and palate in krasnodarskii krai // 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation. CLEFT 2015: Book of abstracts. 2015. С. 58–59.
11. Redko A.N., Pilshchikova V.V., Vasilev Yu.A. The problem of registration of children in a clinic with malformations of the maxillo-facial region // 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation. CLEFT 2015: Book of abstracts. 2015. С. 67–68.

Сведения об авторах

Рудольф Константинович Карипиди

Канд. Мед. наук

Доц. Каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: gs023@ya.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Юрий Юрьевич Васильев

врач анестезиолог-реаниматолог

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

Роддом №4 Краснодара

Information about authors

Rudolf Konstantinovich Karipidi

candidate of medical Sciences

associate Professor, Department of public health, health and history of medicine

E-mail: gs023@ya.ru

KUBSMU, Ministry of health of Russia

Yuri Yurievich Vasiliev

a physician anesthesiologist-resuscitator

E-mail: yurii-59@mail.ru

maternity hospital №4 Krasnodar

Екатерина Юрьевна Плотникова

врач неонатолог

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

роддом №4 Краснодара

Геннадий Павлович Шиянов

Канд. пед. наук

доц., каф. социально-гуманитарных и естествен-
нонаучных дисциплин

Эл. почта: rapkrassnodar@mail.ru

ФГБОУ ВО «РГУП»

Юрий Анатольевич Васильев

ассистент кафедры общественного здоровья,
здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Россия, Краснодар

УДК 616.716.1/716/4-

053.2:575(470.62)

ГРНТИ 76.29.47

Ekaterina Plotnikova

doctor neonatologist

E-mail: yurii-59@mail.ru

maternity hospital №4 Krasnodar

Gennady Pavlovich Shiyanov

Ph. D.

associate Professor, Department of social and humani-
tarian and natural Sciences

E-mail: rapkrassnodar@mail.ru

FSUE VO "RGUPS"

Yury Anatolyevich Vasilyev

Assistant of the Department of Public Health, Health
Care and History of Medicine

E-mail: yurii-59@mail.ru

FSBEI HE KubSMU

Russia, Krasnodar

¹Васильев Ю.А., ²Учаева В.С., ²Грачева А.С.,

³Плотникова Е.Ю., ¹Удина И.Г.

¹ФГБОУ ВО КубГМУ

²Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН

³Родильный дом №4

ИЗУЧЕНИЕ ВРОЖДЁННОЙ ПАТОЛОГИИ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ У ДЕТЕЙ КРУПНОГО РЕГИОНА РФ С УЧЕТОМ ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ ДИНАМИКИ И ФАКТОРОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В результате взаимно обоснованного долговременного сотрудничества КубГМУ и Института общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской академии наук создана компьютерная база (КБ) данных о детях с ВПР ЧЛО - врожденными изолированными расщелинами губы и/или неба (ВРГ, ВРН и ВРГН), изучена пространственно-временная динамика, рассмотрена роль экологических факторов в возникновении ВПР ЧЛО, накоплен большой клинический опыт по коррекции расщелин губы и неба.

Ключевые слова: дети, врождённые пороки развития челюстно-лицевой области, Краснодарский край

¹Vasiliev Yu.A., ²Uchaeva V.S., ³Gracheva A.S., ³Plotnikova E.Yu., ¹Udina I.G.

¹Kuban state medical University of Minzdrav of Russia

²Vavilov Institute of General Genetics RAS

³Maternity hospital №4

STUDY OF CONGENITAL PATHOLOGY OF MAXILLOFACIAL REGION OF CHILDREN IN A LARGE REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION CONSIDERING TEMPORAL AND SPACE DYNAMICS AND CONTAMINATION OF ENVIRONMENT

Mutually justified long-term collaboration of the Kubanskii State Medical University and Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, created a computer base (KB) of data on children with malformations of FACE - congenital isolated cleft lip and/or palate (CL, CP and CLP), temporal and space dynamics and the impact of ecological factors in the generation of the maxillofacial clefts were considered, the staff has a great clinical experience for the correction of cleft lip and palate.

Keywords: children, congenital malformations of maxillofacial area, Krasnodar region

В основу исследования положены сформированная компьютерная база и собранные данные анкетирования, а также данные проведенного молекулярно-генетического исследования. Нами выявлен и изучен ряд демографических (возраст матери при рождении ребенка, уровень семейной экзогамии), антропометрических (вес и рост при рождении) признаков, классических генетических маркеров (группы крови системы АВО) и молекулярно-генетических маркеров гена MTHFR - основного гена фолатного обмена MTHFR, ассоциированных с ВРГ, ВРН и ВРГН [5, 8, 9, 10, 13]. Нами проведено многолетнее исследование распространенности врожденных изолированных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае на базе КубГМУ [1,3,12,18]. В исследовании рассматривалась также УЗИ-диагностика врожденных изолированных расщелин, их пространственно-временная динамика и влияние экологических факторов на

формирование рассматриваемых ВПР ЧЛО [2, 4, 6, 19, 20]. Подробнее остановимся на результатах перечисленной последней группе исследований.

В Краснодарском крае нами изучена динамика частоты рождения детей с врожденными изолированными расщелинами губы и/или неба на основе данных диспансерной базы КубГМУ за период с 1985 по 2009 гг. (N=1745), и установлена частота этих пороков для отдельных районов [19]. Средняя частота в крае составляет 1,15:1000 и остается относительно стабильной в течение всего периода наблюдений. Наши расчеты находятся в соответствии с оценками службы медицинской статистики по Краснодарскому краю [7].

В таблице 1 представлены данные по распределению спектра диагнозов у мальчиков и девочек и в группе «мальчики + девочки» за период 25 лет по пятилетиям. По пятилетиям наблюдали некоторые колебания соотношения диагнозов как отдельно для мальчиков и девочек, так и в группе «мальчики + девочки». Установлены статистически значимые различия по спектру диагнозов между полами, которые соответствуют ранее установленным для данных ВПР ЧЛО – более частый диагноз ВРН у девочек и ВРГ – у мальчиков (Табл. 1).

По данным диспансерной базы у мальчиков врожденные расщелины губы и/или неба отмечаются в среднем в 1,2 раза чаще, чем у девочек. Интересно, что соотношение диагнозов ВРГ плюс ВРГН (обобщенный диагноз врожденная расщелина губы, как это принято в зарубежной литературе) к ВРН относительно постоянно за наблюдаемый период. (Табл. 1).

Таблица 1.

Динамика соотношений диагнозов ВРГ, ВРН и ВРГН по пятилетиям

| Группы | «Мальчики + девочки» | | | Мальчики | | | Девочки | | |
|------------|----------------------|-------|-------|----------|-------|-------|---------|-------|-------|
| | ВРН | ВРГ | ВРГН | ВРН | ВРГ | ВРГН | ВРН | ВРГ | ВРГН |
| 1985-1989 | 33.30 | 25.90 | 40.80 | 34.40 | 25.80 | 39.90 | 32.10 | 26.00 | 42.00 |
| 1990-1994 | 32.40 | 23.70 | 44.00 | 31.00 | 24.80 | 44.20 | 34.00 | 22.30 | 43.60 |
| 1995-1999 | 32.00 | 23.70 | 44.30 | 33.10 | 23.80 | 43.10 | 30.90 | 23.60 | 45.50 |
| 2000-2004 | 33.90 | 20.30 | 45.80 | 31.30 | 22.00 | 46.70 | 37.20 | 18.20 | 44.60 |
| 2005-2009 | 34.00 | 27.20 | 38.80 | 24.80 | 31.00 | 44.20 | 43.80 | 23.10 | 33.10 |
| 2015-2017* | 33.6 | 24.6 | 40.8 | 26.00 | 28.00 | 44.5 | 41.2 | 21.0 | 37.0 |
| Среднее | 33.12 | 24.16 | 42.74 | 30.92 | 25.48 | 43.62 | 35.60 | 22.64 | 41.76 |

*- предварительные расчёты

Выявлена существенная дифференциация районов Краснодарского края по частоте ВПР ЧЛО: минимальная и максимальная оценки частот различаются в 4 раза. Частота рождения детей с расщелинами губы и/или неба по административно-территориальным единицам края варьировала от 1:2000 до 1:500 (Табл. 2).

Таблица 2.

Распределение районов Краснодарского края по частоте встречаемости ВРГ, ВРН и ВРГН

| Частота ВПР ЧЛО (на 10 000 родившихся) | Количество районов | Доля от всех районов |
|---|--------------------|----------------------|
| 5.9 и менее | 2 | 4.55 |
| от 6 до 8.9 | 5 | 11.36 |
| от 9 до 11.9 | 20 | 45.45 |
| от 12 до 14.9 | 11 | 25.00 |
| от 15 и более | 6 | 13.64 |

Нами выявлена высокая степень дифференциации районов Краснодарского края по частоте ВПР ЧЛО: от минимальной частоты 1 на 2000 родившихся до максимальной 1 на 500, - и высказано предположение о том, что эта дифференциация может быть обусловлена влиянием факторов загрязнения окружающей среды [11].

В дальнейшем проведен анализ территориального распределения частот встречаемости ВПР ЧЛО в районах Краснодарского края в связи с обобщенными показателями экологическо-

го неблагоприятия территории с целью установления роли загрязнения окружающей среды в этиологии рассматриваемых ВПР ЧЛО.

Из КБ данных КубГМУ о детях с диагнозами ВПР ЧЛО, выбраны записи, содержащие сведения о детях, проживающих в Краснодарском крае (с указанием места проживания и года рождения). Всего найдено 1727 таких записей о детях, родившихся за период с 1985 по 2009 гг. Для расчета частот ВПР ЧЛО в каждой административно-территориальной единице Краснодарского края число детей с ВПР, родившихся за конкретный период, было отнесено к числу родившихся за данный период по данным Краснодарстата и рассчитана частота рождения ВПР ЧЛО за год[6].

В качестве комплексной оценки экологического состояния территорий использован интегральный индекс экологического загрязнения (ИИЭЗ), предложенный В.А. Шашель с соавторами [14], который складывается из трех составляющих: объем техногенных выбросов в атмосферу от стационарных источников, количество внесенных в почву пестицидов и уровень загрязнения сточных вод. Каждая составляющая оценивается в баллах от 1 до 3 по каждому из 5-ти годов наблюдений (1993 – 1997), затем все оценки складываются и делятся на 15 (число составляющих, умноженное на число лет наблюдения). Таким образом, значение ИИЭЗ может варьировать от 1 до 3.

Для выявления возможной связи между частотой ВПР и показателями загрязнения окружающей среды административно-территориальные единицы Краснодарского края были сгруппированы по величине ИИЭЗ, и в каждой из 4-х групп были вычислены: среднее значение частоты ВПР ЧЛО с ошибкой и стандартное отклонение (Табл. 3).

Таблица 3.

Статистический анализ связи между частотой ВПР ЧЛО и величиной ИИЭЗ

| | Значение ИИЭЗ | Кол-во адм.-терр. ед. | Среднее значение частоты ВПР ЧЛО на 10 000 живорожденных | Стандартное отклонение |
|--------------------------------|---------------|-----------------------|--|------------------------|
| 1 | 1 | 4 | 10.41±0.17 | 0.333 |
| 2 | 1.1 – 1.49 | 23 | 11.32±0.72 | 3.443 |
| 3 | 1.5 – 1.99 | 13 | 11.82±0.84 | 3.046 |
| 4 | ≥ 2 | 7 | 12.53±0.94 | 2.493 |
| Y=1.54x+9.10; R=0.973; P=0.027 | | | | |

Обнаружена статистически значимая связь между средними групповыми значениями частоты ВПР ЧЛО и величиной ИИЭЗ: $r = 0,9726$, $p = 0,027$ (N=4).

Таким образом, выявлена статистически достоверная связь между частотой врожденных расщелин и интегральным показателем загрязнения окружающей среды в административно-территориальных единицах Краснодарского края.

Результаты проведенного на популяционном уровне исследования показывают, что индекс ИИЭЗ может служить индикатором риска рождения детей с ВПР ЧЛО в Краснодарском крае. Этот вывод говорит о необходимости проведения дальнейших исследований, направленных на выявление конкретных факторов загрязнения окружающей среды, обладающих генотоксическими эффектами, что позволит наметить меры профилактики ВПР ЧЛО на территории Краснодарского края.

В заключении, следует отметить, что в мире проведено много исследований по изучению вклада неблагоприятных факторов окружающей среды в развитие ВПР изолированных ВРГ, ВРН и ВРГН, включая отдельные аналогичные исследования [15-17].

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: изучение данной темы актуально, частота пороков ВПР ЧЛО относительно постоянна в крае за период наблюдений. врожденные пороки развития можно рассматривать как своеобразный индикатор экологического благополучия населения.

Благодарности: Работа частично поддержана Госзадание по теме №0112-2019-0001 «Геномные исследования и генетический полиморфизм клетки, организма и популяции»

Литература

1. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Удина И.Г. Оценка сопутствующей патологии у детей с врожденными расщелинами губы и неба и анализ эффективности выявления этих врожденных пороков развития в результате пренатального УЗИ исследования в Краснодарском крае. Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы ком-

- плексного лечения: Материалы V Всероссийской научно-практической конференции / Гл. ред. Топольницкий О.З. Москва. 2016. 30–33.
2. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Удина И.Г. Организация изучения и оценка эффективности пренатальной УЗИ-диагностики врожденных пороков лица в условиях крупного региона РФ // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции IT + M&Eс`2016 (Гурзуф, 02 по 12 июня 2016 г.). 2016. 3–7.
 3. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Пильщикова В.В. Врожденные аномалии как фактор риска сопутствующей патологии // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т. 1. № 8 (30). С. 54–57.
 4. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Гуленко О.В., Удина И.Г. Выявление врожденных расщелин губы и неба в ходе пренатального УЗИ-исследования в Краснодарском крае // Российский стоматологический журнал. 2017. № 21 (4). С. 190–193.
 5. Курбатова О.Л., Васильев Ю.А., Прудникова А.С., Победоносцева Е.Ю., Учаева В.С., Верапатвелян А.Ф., Удина И.Г. Изменчивость морфофизиологических и генетико-демографических признаков в группе детей с врожденными расщелинами губы и неба // Генетика. 2011. № 11. С. 1514–1522.
 6. Курбатова О.Л., Васильев Ю.А., Победоносцева Е.Ю., Грачева А.С., Гуленко О.В., Удина И.Г. Территориальное распределение частот врожденных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае в связи с загрязнением окружающей среды // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. № 6. С. 111–113.
 7. Панкова Е.Е., Матулевич С.А., Голубцов В.И. Мониторинг врожденных пороков развития в Краснодарском крае // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. № 1. С. 79–82.
 8. Удина И.Г., Учаева В.С., Васильев Ю.А., Бутовская П.Р., Верапатвелян А.Ф., Плотникова Е.Ю., Курбатова О.Л., Гуленко О.В. Молекулярно-генетическое изучение ВПР челюстно-лицевой области в Краснодарском крае // Наука Кубани. 2011. № 4. С. 20–27.
 9. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Учаева В.С., Победоносцева Е.Ю., Прудникова А.С., Гуленко О.В., Курбатова О.Л. Популяционно-генетическое исследование изменчивости антропометрических и демографических признаков у детей с врожденными расщелинами губы и неба в Краснодарском крае // Проблемы популяционной и общей генетики: Материалы Международной конференции, посвященной памятной дате — 75-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (Москва, 14–18 ноября 2011 г.) под ред. Д.В. Политова, Е.А. Мудрик, М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконя. – М.; СПб.: Нестор-История, 2012. С. 250–259. ISBN 978-5-4469-0062-6.
 10. Удина И. Г., Васильев Ю. А., Учаева В. С., Грачева А. С., Победоносцева Е. Ю., Головин А. В., Гуленко О. В., Курбатова О. Л. Комплексный популяционно-генетический подход для оценки относительного риска расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае. Антропометрические, генетико-демографические и молекулярно-генетические характеристики // Врожденная и наследственная патология головы, лица и шеи у детей: актуальные вопросы комплексного лечения: Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. 24-26 октября 2012 г. г. Москва. Министерство здравоохранения Российской Федерации. ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова», 2012. С. 9–16.
 11. Учаева В.С., Васильев Ю.А., Гуленко О.В., Курбатова О.Л., Удина И.Г. Особенности распространения двух SNP C677T и A1298C гена MTHFR среди детей с врожденными расщелинами губы и неба и их матерей в Краснодарском крае // Проблемы популяционной и общей генетики: Материалы Международной конференции, посвященной памятной дате – 75-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (Москва, 14–18 ноября 2011 г.) под ред. Д.В. Политова, Е.А. Мудрик, М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконя – М.; СПб.: Нестор-История, 2012. С. 271–280. ISBN 978-5-4469-0062-6.
 12. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Учаева В.С., Победоносцева Е.Ю., Прудникова А.С., Быкова Н.И., Брещенко Е.Е., Верапатвелян А.Ф., Курбатова О.Л. Применение генетико-демографических подходов к оценке риска рождения детей с расщелинами губы и неба в Краснодарском крае // Наука Кубани. 2011. № 3. С. 35–43.
 13. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Победоносцева Е.Ю., Прудникова А.С., Верапатвелян А.Ф., Гуленко О.В., Курбатова О.Л. Пространственно-временная динамика частот врожденных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. № 1 (136). С. 171–175.
 14. Удина И.Г., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Победоносцева Е.Ю., Гуленко О.В., Курбатова О.Л. Распространенность врожденных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии. Материалы: Междуна-

родной конференции. Весенняя сессия / Под редакцией Е.Л. Глориозова. 2015. С. 388–396.

15. Учаева В.С., Васильев Ю.А., Гуленко О.В., Курбатова О.Л., Удина И.Г. Особенности распространения двух *SNP C677T* и *A1298C* гена *MTHFR* среди детей с врожденными расщелинами губы и неба и их матерей в Краснодарском крае. Проблемы популяционной и общей генетики: Материалы Международной конференции, посвященной памятной дате – 75-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (Москва, 14–18 ноября 2011 г.) под ред. Д.В. Политова, Е.А. Мудрик, М.М. Белоконь, Ю.С. Белоконя – М. ; СПб.: Нестор-История, 2012. С. 271–280. ISBN 978-5-4469-0062-6.

16. Шашель В.А., Нефедова Л.В., Тарасова Л.В., Нефедов П.В., Перов Ю.М., Настенко В.П. Медико-экологический атлас Краснодарского края / Ред. П.В. Нефедов. – Краснодар: Кубанская государственная медицинская академия, Кубанский мединститут, ГУП «Печатный двор Кубани», 2002. 120 с.

17. Шульженко В.И., Васильев Ю.А., Курбатова О.Л., Холод О.Н., Победоносцева Е.Ю., Учаева В.С., Верапатвелян А.Ф., Удина И.Г. Разработка подходов к оценке генетических факторов риска рождения детей с врожденными пороками развития челюстно-лицевой области в Краснодарском крае // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. № 2 (116). С. 107–111.

18. Nieuwenhuijsen M.J., Dadvand P., Grellier J., Martinez D, Vrijheid M. Environmental risk factors of pregnancy outcomes: a summary of recent meta-analyses of epidemiological studies // Environmental Health. 2013; 15; 12:6. DOI:10.1186/1476-069X-12-6.

19. Wieckowska B., Kiryluk A.H., Wisnewske K., Kossowski T. Latos-Bieleńska A. The detection of areas in Poland with an increased prevalence of isolated cleft lip with or without cleft palate // Annals Agricultural and Environmental Medicine. 2015. No. 22 (1). P. 110–117. DOI: 10.5604/12321966.1141379.

20. Xu L.F., Zhou X.L., Wang Q., Zhou J.L., Liu Y.P., Ju Q., Wang H., Zhang J.P., Wu Q.R., Li Y.Q., Xia Y.J., Peng X., Zhang M.R., Yu H. M., and Xu L. Ch. A Case-control Study of Environmental Risk Factors for Nonsyndromic Cleft of the Lip and/or Palate in Xuzhou, China // Biomed. Environ. Sci. 2015. N. 28 (7). P. 535–538. DOI: 10.3967/bes2015.076.

Сведения об авторах

Юрий Анатольевич Васильев

ассистент кафедры общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
Россия, Краснодар

Виктория Сергеевна Учаева

научный сотрудник

Эл. почта: uchaevavika@mail.ru

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова
Россия, Москва

Алеся Сергеевна Грачева

Эл. почта: palesa@yandex.ru

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова
Россия, Москва

Екатерина Юрьевна Плотникова

врач неонатолог

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

Родильный дом №4

Россия, Краснодар

Ирина Геннадьевна Удина

д-р биол. наук

рук. гр. популяционной иммуногенетики, гл. науч. сотр., доц.

Эл. почта: irina_udina@mail.ru

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН
Россия, Москва

Information about authors

Yury Anatolyevich Vasilyev

Assistant of the Department of Public Health, Health Care and History of Medicine

E-mail: yurii-59@mail.ru

FSBEI HE KubSMU
Russia, Krasnodar

Victoria S. Uchaeva

Scientistst

E-mail: uchaevavika@mail.ru

Vavilov Institute of General Genetics RAS
Russia, Moscow

Alesya Sergeevna Gracheva

E-mail: palesa@yandex.ru

Vavilov Institute of General Genetics RAS
Russia, Moscow

Ekaterina Yurievna Plotnikova

doctor neonatologist

E-mail: yurii-59@mail.ru

Maternity hospital №4

Russia, Krasnodar

Irina Gennadyevna Udina

doctor of sciences

head of population immunogenetics chief researcher

E-mail: irina_udina@mail.ru

Vavilov Institute of General Genetics RAS
Russia, Moscow

УДК[616.716.8:617.52]:616-053.2:616-089:470.620
ГРНТИ 76.75.02

Волобуев В.В., Шильцова Т.А., Пономаренко Т.А.,
Васильев Ю.А., Ахеджак-Нагузе С.К.
ФГБОУ ВО КубГМУ

АНАЛИЗ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ ДЕТЕЙ В ОТДЕЛЕНИЕ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ ДЕТСКОЙ КРАЕВОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

В исследовании рассмотрены факторы, влияющие на развитие патологии челюстно-лицевой области у детей. Особое внимание уделено анализу госпитализации пациентов с воспалительными заболеваниями, травмой, врожденными и приобретенными дефектами и деформациями, доброкачественными опухолями и мальформациями челюстно-лицевой области в детской краевой клинической больнице города Краснодара.

Ключевые слова: патологии развития челюстно-лицевой области, социальное обеспечение граждан-инвалидов, плановая, экстренная госпитализация, хирургическая помощь.

Volobuev V.V., Shiltsova T.A., Ponomarenko T.A.,
Vasilyev Yu.A., Akhedzhak-Neguse S.K.
KUBSMU of the Ministry of health of Russia

ANALYSIS OF HOSPITALIZATION CHILDREN DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL SURGERY OF PEDIATRIC HOSPITAL KRASNODAR KRAI

The study examined factors affecting development of Maxillofacial Pathology in children. Particular attention is paid to the analysis of hospitalization of patients with inflammatory diseases, trauma, congenital and acquired defects and deformities, benign and malformations in maxillofacial area child an edge Krasnodar city Clinical Hospital.

Keywords: abnormalities of the maxillofacial area, social security of citizens with disabilities, planning, emergency hospitalization, surgical assistance.

Расщелина губы и неба – патологии развития челюстно-лицевой области, формирующиеся во время внутриутробного развития до 10 недель гестации. Статистические данные констатируют, что в России подобный диагноз регистрируется у одного из 500-1000 детей. Рождение ребенка с такими пороками – тяжелое испытание, как для самого новорожденного, так и для родителей. В 25% случаев расщелине губы или неба сопутствуют другие патологии, в 75% случаев протекают изолированно. При современном уровне медицины, при соответствующем квалифицированном лечении, дефект возможно полностью устранить.

Расщелина губы и неба может формироваться по многочисленным причинам, и в конкретном случае, установить причинный фактор порой тяжело, а в некоторых случаях, вообще невозможно. Существует группа наиболее часто встречающихся причин, которые провоцируют патологию: стрессы и сильные эмоциональные потрясения матери в первом триместре беременности; инфекционные заболевания; вредные привычки: курение и злоупотребление алкоголем, наркотики в первом триместре беременности; стать причиной может прием и некоторых медицинских препаратов, несовместимых с беременностью. В первые недели беременности происходит закладка всех систем и органов, и негативное воздействие может стать причиной серьезных пороков развития; в 5% случаев виновником станет именно наследственный фактор [1, с.1].

Социальное обеспечение граждан-инвалидов согласно закону от 24 ноября 1995 года № 181 – ФЗ «О социальной защите инвалидов в Российской Федерации» обеспечивает правовые гарантии решения проблем инвалидов и создания доступной среды жизнедеятельности, наравне с другими гражданами права и возможности. Таким образом, растущие затраты государства на сегодняшний день являются основой современной социально-экономической, инвестиционной политики в сфере здравоохранения, повышения и сохранения уровня здоровья населения России, совершенствования научных исследований в медицинских организациях, содействующих расширению прав и возможностей достойного существования людей с ограниченными возможностями [2, с. 252].

В Краснодаре находится единственное отделение челюстно-лицевой хирургии на 30 коек, где оказывается высокотехнологичная, плановая и экстренная помощь детям от рождения до семнадцати лет с врожденной патологией, воспалительными заболеваниями, травмами, опухолями челюстно-лицевой области. Обращения поступают из различных районов Краснодарского края, а так же и самого города Краснодара. Это одно из немногих отделений в регионе, где оказывают хирургическую помощь детям с врожденными патологиями челюстно-лицевой области.

В отделении работает кафедра детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии, осуществляющая уникальные пластические операции, устраняющие такие дефекты как врожденные несращения твердого и мягкого неба, несращения губы. Так же проводится лечение и удаление сосудистых новообразований (гемангиомы, лимфангиомы). Отделение оказывает круглосуточную помощь экстренно обратившимся пациентам с фурункулами, карбункулами, флегмонами, абсцессами лица, переломами верхней и нижней челюсти, периоститами, остеомиелитами, укушенными и ушибленными ранами, травмами полости рта.

Оказание квалифицированной стоматологической помощи для большинства патологий должно проводиться в условиях амбулаторного приема. Повышение объема и качества лечебно-диагностических услуг путем оптимизации работы всех этапов первичной медико-профилактической и специализированной помощи является основным направлением совершенствования организации медицинской помощи детям [3, с. 129].

Амбулаторный хирургический прием в условиях стоматологической поликлиники или стоматологического кабинета в большинстве случаев является первым звеном в диагностике и лечении стоматологической патологии. Большая часть хирургов - стоматологов работают именно на амбулаторном приеме. Хирург лечит травмы и заболевания различной этиологии методом оперативного вмешательства, осуществляет послеоперационную реабилитацию пациентов и профилактику рецидивов, наблюдает за пациентом, корректирует возникшие осложнения, где требуется оказание высококвалифицированной (в том числе неотложной) помощи.

В отделении челюстно - лицевой хирургии детской краевой клинической больницы города Краснодара оказывают медицинскую помощь детям с воспалительными заболеваниями, травмой, врожденными и приобретенными дефектами и деформациями, доброкачественными опухолями и мальформациями челюстно-лицевой области. Последующее диспансерное наблюдение осуществляется врачом стоматологом – хирургом детских стоматологических поликлиник, стоматологических отделений (кабинетов) детских поликлиник (отделений), а при тяжелом течении заболевания врачом челюстно - лицевым хирургом детских отделений челюстно-лицевой хирургии. Однако в отделении челюстно - лицевой хирургии выполняется лечение, в том числе и амбулаторных пациентов.

Для рассмотрения вопроса госпитализации заболеваемости нозологическими формами патологии челюстно-лицевой области детей проанализированы медицинские карты стационарных больных (форма № 003/у№ 1030), проходивших лечение в 2017 году в отделении челюстно-лицевой хирургии. Данные представлены в таблице 1 (приложение 1).

В таблице 1 представлены показатели госпитализированной заболеваемости различных групп заболеваний челюстно-лицевой области (ЧЛЮ), а также ее структура в зависимости от пола. За 2017 год было пролечено 370 пациентов с патологией челюстно-лицевой области, среди которых 145 девочек (39,2%) и 225 (60,8%) мальчиков. В процессе анализа данных, следует отметить, что наибольший удельный вес плановых госпитализаций – 60,3% пришелся на больных с одонтогенными заболеваниями челюстно-лицевой области. Наименьший удельный вес в структуре плановой госпитализации показали заболевания неodontогенного характера, что в относительном выражении составило 39,7%.

В экстренном порядке госпитализирован 141 пациент. Травмы костей лица были диагностированы у 34% детей. С повреждениями мягких тканей экстренно госпитализировано 93 человека. Наибольший удельный вес приходится на эту категорию больных – 66,0%. Гендерный признак разделения заболеваний при плановой госпитализации показал превышение заболеваний у мальчиков на 80 случаев по отношению к девочкам. Аналогично экстренная госпитализация у мальчиков превышает госпитализацию девочек на 20 случаев. Анализируя госпитализацию по месту жительства, отметим превышение плановой госпитализации городских детей над сельскими в абсолютных показателях на 50 детей.

Пациенту до 18 лет согласно приказа Минздравсоцразвития №1013-м от 23.12.2009г. «Об утверждении классификаций и критериев, используемых при осуществлении медико-социальной экспертизы граждан федеральными государственными учреждениями медико-социальной экспертизы» присваивают категорию ребенок-инвалид [4, с. 62]. Плановая и экстренная госпитализации нозологических форм челюстно-лицевой области по наличию инвалидности распределились следующим образом: 13,2% и 91,5% соответственно.

Таким образом, анализ плановой госпитализации по одонтогенным и неodontогенным патологиям выявил превышение одонтогенных причин госпитализации над неodontогенными. В данной ситуации финансовая нагрузка ложится на территориальный фонд обязательного медицинско-

го страхования. Для эффективного использования бюджетных средств на лечение, для снижения уровня заболеваемости, амбулаторно-поликлиническое звено должно увеличить профилактические мероприятия, информирующие о травмах и их возможных последствиях. Для этого необходимо проводить санпросветработу среди населения, в образовательных учреждениях.

Показатели экстренной госпитализации детей с травмами лица нельзя запланировать. Это состояние, которое несет угрозу жизни и здоровью ребенка. Данный вид лечения достаточно затратен, поэтому условием снижения госпитализации возлагается на снижение рисков заболеваемости первоначально на уровне семьи. Как вариант могут быть использованы соцсети, где население, молодые родители могут ознакомиться с данной проблемой и оценить уровень своей осведомленности, пройдя целевое тестирование. Учитывая современное экономическое состояние системы здравоохранения, на наш взгляд, значимость приобретают коммуникативные методики предупреждения заболеваемости.

Литература

1. Челюстно-лицевые патологии у детей: причины, лечение, реабилитация // <https://woman.rambler.ru/health/37644936-chelyustno-litsevye-patologii-u-detey-prichiny-lechenie-reabilitatsiya/>.
2. Хайрулина В.А., Шильцова Т.А., Мармулева Ю.В. Социальная поддержка инвалидов в контексте государственных выплат // Вестник Академии Знаний. 2018. № 26 (3). С. 249–253.
3. Дмитриев В.А. Современное состояние и оценка эффективности стационарзамещающих технологий в педиатрической практике / В.А. Дмитриев // Саратовский научно-медицинский журнал. 2010. Т. 6. № 1. С.128–130.
4. Васильев Ю.А., Шильцова Т.А., Ахеджак-Нагузе С.К. Экономическая оценка востребованности реабилитационных мероприятий детей-инвалидов с врожденной патологией челюстно-лицевой области // Расщелины губы и неба: Материалы IX Всемирного конгресса Международного фонда. 31 августа– 04 сентября. – М.: Первый Московский государственный медицинский университет, 2015. Т. 1. № 1. С.62–63.

Приложение

Таблица №1

Анализ госпитализации детей с заболеваниями зубо-челюстной системы в отделение ЧЛХ ДККБ МЗ КК за 2017 год.

| Признаки | | Место жительства | | Гендерность | | Инвалидность | | Всего госпитализированных |
|---------------------------|----------------|------------------|------|-------------|-----|--------------|-----|---------------------------|
| | | город | село | муж | жен | + | - | |
| Плановая госпитализация | одонтогенные | 120 | 103 | 145 | 78 | 42 | 181 | 370 |
| | неодонтогенные | 90 | 57 | 80 | 67 | 7 | 140 | |
| Экстренная госпитализация | костей лица | 21 | 27 | 34 | 14 | 41 | 7 | 141 |
| | мягких тканей | 65 | 28 | 46 | 47 | 88 | 5 | |

Сведения об авторах

Владимир Викторович Волобуев
 ассист. каф. детской стоматологии, ортодонтии
 и челюстно-лицевой хирургии
 Эл. почта: vladimir.volobueff@yandex.ru
Татьяна Александровна Шильцова
 канд. экон. наук
 доц. каф. общественного здоровья, здравоохранения
 и истории медицины
 Эл. почта: Tshiltsova@yandex.ru

Information about authors

Vladimir Viktorovich Volobuev
 assistant of the Department of pediatric dentistry, or-
 thodontics and maxillofacial surgery
 E-mail: vladimir.volobueff@yandex.ru
Tatiana Alexandrovna Shiltsova
 Ph. D. doctor
 assistant Professor of public health and history of
 medicine
 E-mail: Tshiltsova@yandex.ru

Тарас Алексеевич Пономаренко

ассист. каф. детской стоматологии, ортодонтии и челюстно-лицевой хирургии

Эл. почта: vladimir.volobueff@yandex.ru

Юрий Анатольевич Васильев

ассист. каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: yurii-59@mail.ru

Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе

канд. мед. наук, доц. каф. общественного здоровья, здравоохранения и истории медицины

Эл. почта: naguzesk@mail.ru

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Россия, Краснодар

Taras Alekseevich Ponomarenko

assistant Professor of pediatric dentistry, orthodontics and oral and maxillofacial surgery

E-mail: vladimir.volobueff@yandex.ru

Yuri Anatolyevich Vasilyev

assistant of the Department of public health, health and history of medicine

E-mail: yurii-59@mail.ru

Said Kazbekovna Akhedzhak-Naguse

medicine PhD doctor

associate Professor of public health and history of

E-mail: naguzesk@mail.ru

KUBSMU of the Ministry of health of Russia

Russia, Krasnodar

УДК 616.716.1/716/4-053.2

¹Васильев Ю.А., ¹Терещенко Л.Ф., ²Плотникова Е.Ю.,

²Васильев Ю.Ю., ³Шиянов Г.П., ¹Ахеджак-Нагузе С.К.

¹ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

²Роддом №4

³ФГБОУ ВО «РГУП»

**ОПЫТ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РАЗВИТИЯ АНОМАЛИЙ
ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ**

Из рекомендации ВОЗ известно, что одним из самым важным элементом в системе стоматологической помощи, должна быть первичная профилактика. Многие мероприятия могут быть уже реализованы с успехом на этапе первичной медико-санитарной помощи. Используя простейшие технологические действия по отношению к пациенту, можно исключить и предупредить грубые последствия.

Ключевые слова: дети, аномалия развития, профилактика, качество жизни.

¹Vasilyev Yu.A., ¹Tereshchenko L.F., ²Plotnikova E.,

²Vasilyev Yu.Yu., ³Shiyanov G.P., ¹Akhedzhak-Naguse S.K.

¹FSBEI HE KubSMU of the Ministry of Health Care of the

Russian Federation

²Maternity hospital №4

³FSUE VO "RGUPS"

**EXPERIENCE PREVENT THE DEVELOPMENT OF ANOMALIES
OF THE MAXILLOFACIAL REGION**

From the who recommendation it is known that one of the most important element in the system of dental care should be primary prevention. Many activities can already be successfully implemented in the primary health care phase. Using the simplest technological actions in relation to the patient, it is possible to exclude and prevent rough consequences.

Keywords: children, developmental abnormalities, prevention, quality of life.

На формирование и развитии лица ребёнка влияют различные многообразие факторов. Мы сделали акцент на изучение функций языка, т.к. точной последовательности событий, которые происходят в периоде при приложении некоторых сил, до сих пор неизвестна [16,17,20]. Одним из органов полости рта, влияющий на развитие лицевого отдела черепа является язык. Роль языка в полости рта можно разделить на пищевую и речевую функции. Функциональные особенности языка изучаются многими исследователями. Мы проявили интерес в вопросе внедрения профилактики первичной медицинской помощи детям с челюстно-лицевой аномалией. Известно, что мощное давление мышечного сенсорно-моторного органа (язык) в полости рта особо влияет на окружающие ткани и органы может изменять эстетику лица в отдельно и в целом. Отклонения приводят к нарушению качества жизни пациента, особенно у детей с врождённой аномалией челюстно-лицевой области.

Цель: обсудить и выстроить научно обоснованную систему диагностики объективной работы языка.

Язык определяет качество и характер пищи. Это жесткость или мягкая пища, горячая или холодная, жидкая или твёрдая. От этих различий и подаётся сигнал для реагирования организма

в целом на имеющиеся продукты в полости рта. С рождения язык создаёт оптимальные условия для отрицательного давления в полости рта. При наличии аномалий развития в полости рта, меняются и соответствующие условия для существования и деятельности языка. Далее язык помогает формированию пищевого комка. При пережевывании жёсткой пищи в процесс включаются слюнные железы, тем самым размягчая пищевой комок. При разжёвывании пищи язык перемещает еду в нужную сторону, т.к. наличие или отсутствие зубов снижает эффективность жевания. Сформировавшийся пищевой комок язык перемещает в глотку, пища продвигается по глотке в желудок.

Язык принимает участие в артикуляции. Произношение меняется от мобильности и моторики языка. Язык у некоторых пациентов может быть ограничен в движении с рождения. Этот факт влияет на грудничковое вскармливание. Амплитуда движения не позволяет достаточно для создания отрицательного давления в полости рта, сдавливания груди или соски [13,15,18]. При этом ребёнок становится капризным, голодным, беспокойным. У взрослых при таких клинических обстоятельствах нарушается развитие нижней челюсти фронтального отдела и нарушение произношения некоторых звуков «р», «ч», «ш» и другие [8,19,23]. При рождении ребёнка с несращением нёба, язык при отсутствии упора, стремится в пустое пространство, тем самым усугубляя анатомическое положение верхней челюсти, т.к. раздвигаются фрагменты нёба. При широкой расщелине хирургу проблематично устранять дефект на хирургическом этапе. В целом реабилитация во времени увеличивается [20,21,24]. Для особой диагностика ротовой жидкости у детей с рождения мы в своих исследованиях используем устройства [9,10,11]. Если у ребёнка отмечается затруднение в приёме пищи, и выставляется диагноз «короткая уздечка языка, анкилоглоссия» нами используется доступный способ лечения анкилоглоссии у детей в пренатальном возрасте [4,17,22]. При необходимости в специальной диагностики и лечению, грудному ребёнку введение таблетированных препаратов рег ос хорошо показал себя полезная модель [1,5,6,7], позволяющая без потерь лекарства и капризного настроения ребёнка ввести требуемую лекарственную дозу. Ребёнок растёт и растёт лицевой отдел головы. У детей могут формироваться вредные привычки, одна из которых сосание своих пальцев. Для предупреждения сосания пальцев, в случае такой появившейся тенденции, до полутора лет мы устраняем формирование вредной привычки, используя полезную модель [Васильев Ю.А., Удина И.Г., Васильев Ю.Ю., Плотникова Е.Ю., Головин А.В., Литвиненко А.Н., Напах С.Е., Васильева М.И., Победоносцева Е.Ю. 2013]. Когда ребёнок подрастает и требуется консультация специалиста – стоматолога, для более удобной и безтравмотичной работы при взаимодействии врача и пациента хорошо помогает приспособление для предупреждения нежелательного смыкания челюстей [10,12,14]. Эти и другие методы профилактической направленности помогают избежать анатомических и функциональных изменений у детей и в первую очередь с аномалиями челюстно-лицевой области.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: можно утверждать, что биомеханическое моделирование такой системы как язык, является важным элементом всей биомеханической системы в полости рта. Профилактика и предупреждение нежелательных анатомических и функциональных изменений лица ребёнка, это важная задача для родителей, неонатологов, педиатров, детских врачей-стоматологов и организаторов здравоохранения.

Литература

1. Васильев Ю.А., Головин А.В., Напах С.Е., Литвиненко А.Н., Удина И.Г. Оригинальный метод приема таблетированной лекарственной формы детьми раннего и младшего возраста при лечении сосудистых мальформаций // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. № 5 (140). С. 61–63.
2. Васильев Ю.А., Гуленко О.В., Учаева В.С., Васильева М.И., Верапатвелян А.Ф., Прудникова А.С., Курбатова О.Л., Редько А.Н., Удина И.Г. Оценка генетического риска врожденных расщелин губы и неба по данным медицинской документации и молекулярно генетического анализа в краснодарском крае // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы конференции. 2012. С. 38–40.
3. Васильев Ю.А., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю.Ю., Пономаренко Т.В., Пономаренко Н.Ю. Приспособление для предупреждения развития сосания ребёнком своей руки: патент на полезную модель RUS 178651 18.09.2017
4. Васильев Ю.А., Плотникова Е.Ю., Тодоренко А.П., Удина И.Г., Васильев Ю.Ю. Способ лечения анкилоглоссии у детей в перинатальном возрасте: патент на изобретение RUS 2558979 09.01.2014

5. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Гуленко О.В., Удина И.Г. Выявление врожденных расщелин губы и неба в ходе пренатального УЗИ-исследования в Краснодарском крае // Российский стоматологический журнал. 2017. Т. 21. № 4. С. 190–193.
6. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Пильщикова В.В. Врожденные аномалии как фактор риска сопутствующей патологии // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т. 1. № 8 (30). С. 54–57.
7. Васильев Ю.А., Редько А.Н., Удина И.Г. Организация изучения и оценка эффективности пренатальной УЗИ диагностики врожденных пороков лица в условиях крупного региона РФ // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы Международной конференции / под редакцией Е.Л. Глориозова. 2016. С. 3–8.
8. Васильев Ю.А., Текуцкая Е.Е., Шульженко В.И. Упреждение экзогенных и эндогенных воздействий на организм-залог повышения качества жизни // Вестник новых медицинских технологий. 2009. Т. 16. № S1. С. 57–60.
9. Васильев Ю.А., Удина И.Г., Васильев Ю.Ю., Плотникова Е.Ю., Головин А.В., Литвиненко А.Н., Напах С.Е., Васильева М.И., Победоносцева Е.Ю. Приспособление для введения таблетированных лекарственных средств детям раннего возраста: патент на полезную модель RUS 138718 27.08.2013
10. Васильев Ю.А., Шиянов Г.П., Пономаренко Т.В., Верещетина А.А., Пономаренко Н.Ю. Приспособление для предупреждения нежелательного смыкания челюстей: патент на полезную модель RUS 183686 15.08.2017
11. Гуленко О.В., Волобуев В.В., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Удина И.Г. Сравнительный анализ стоматологической заболеваемости и антиоксидантной защиты ротовой жидкости у детей с врожденными расщелинами губы и/или неба и психоневрологическими расстройствами // Российский стоматологический журнал. 2018. Т. 22. № 4. С. 188–192.
12. Гуленко О.В., Волобуев В.В., Верапатвелян А.Ф., Грачева А.С., Гуменюк А.С., Васильев Ю.А. Сравнительный анализ заболеваемости кариесом зубов у детей с психоневрологическими расстройствами и врожденным несращением губы и неба, проживающих в Краснодаре // Кубанский научный медицинский вестник. 2017. № 2 (163). С. 56–60.
13. Гурбич Г.И., Плотникова Е.Ю., Васильев Ю.А. Организационные аспекты блока родовспоможения // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции. Весенняя сессия / Под редакцией проф. Е.Л. Глориозова. 2018. С. 261–265.
14. Карипиди Р.К., Васильев Ю.А., Верапатвелян А.Ф., Васильев Ю.Ю. Опыт нейтрализации вредной привычки у детей до полутора лет // Информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: Материалы Международной конференции. Весенняя сессия / Под редакцией проф. Е.Л. Глориозова. 2018. С. 249–252.
15. Матвеев Р.С., Ильина И.В., Ямашев И.Г. Причины развития макроглоссии и её влияние на зубочелюстную систему // Здоровоохранение Чувашии. 2012. 1. 64–73.
16. Редько А.Н., Пильщикова В.В., Васильев Ю.А. Сравнительный эпидемиологический анализ спектра сопутствующих заболеваний у детей с врожденными пороками развития челюстнолицевой области крупного региона РФ // Вестник новых медицинских технологий: Электронное издание. 2018. № 6. С. 9–15.
17. Симановская Е.Ю., Няшин Ю.И. Итоги и перспективы использования методов биомеханики в детской стоматологии // Российский журнал Биомеханики. 2003. Т.7. №3. С.13.
18. Учаева В.С., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Гуленко О.В., Удина И.Г. Молекулярно-генетическое изучение роли snp a1298c гена mthfr в развитии врожденных расщелин губы и неба // Генетика. 2018. Т. 54. № 13. С. 108–112.
19. Удина И.Г., Курбатова О.Л., Васильев Ю.А., Прудникова А.С., Верапатвелян Ф., Гуленко О.В. Ошибки природы: "волчья пасть" и "заячья губа" побеждены? // Сборник научно-популярных статей победителей конкурса РФФИ 2013 года ФГБУ РФФИ. – М., 2014. С. 200–211.
20. Учаева В.С., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Курбатова О.Л., Удина И.Г., Редько А.Н. Эпидемиология врожденных изолированных расщелин губы и/или неба в Краснодарском крае: пространственно-временная динамика, экологические аспекты и пренатальная диагностика // Актуальные вопросы профилактической медицины и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Краснодарского края: Материалы научно-практической конференции, посвященной 20-летию медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. 2018. С. 183–188.

21. Vasilev Yu.A., Šil'cova T.A., Akhedzhak-Naguze S.K. Economic evaluation of demand for rehabilitation of disabled children with congenital pathology of the maxillofacial area В книге: 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation. CLEFT 2015 Book of abstracts. 2015. С. 62–63.

22. Redko A.N., Vasilev Yu.A., Udina I.G. Prenatal ultrasound detection of cleft lip and palate in krasnodarskii krai // 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation. CLEFT 2015 Book of abstracts. 2015. С. 58–59.

23. Redko A.N., Pilshchikova V.V., Vasilev Yu.A. The problem of registration of children in a clinic with malformations of the maxillo-facial region // 9th World Congress of the International Cleft Lip and Palate Foundation. CLEFT 2015 Book of abstracts. 2015. С. 67–68.

24. Shulzhenko V.I., Gushchina S.S., Verapatveljan A.F., Vasiljev J.A., Nikitina J.I. Upper ridge defect autoosteoplasty in children with congenital cleft lip and palate // European Journal of Natural History. 2007. № 5. С. 64–66.

Сведения об авторах

Юрий Анатольевич Васильев

ассистент кафедры общественного здоровья,
здравоохранения и истории медицины
Эл. почта: yurii-59@mail.ru
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
Россия, Краснодар

Людмила Фёдоровна Терещенко

ассистент
E-mail: <http://www.ksma.ru/>
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

Екатерина Юрьевна Плотникова

врач неонатолог
Эл. почта: yurii-59@mail.ru
Роддом №4 Краснодара

Юрий Юрьевич Васильев

врач анестезиолог-реаниматолог
Эл. почта: yurii-59@mail.ru
Роддом №4 Краснодара

Геннадий Павлович Шиянов

канд. пед. наук
доц., каф. социально-гуманитарных и естествен-
нонаучных дисциплин
Эл. почта: rapkrassnodar@mail.ru
ФГБОУ ВО «РГУП»

Саида Казбековна Ахеджак-Нагузе

канд. мед. наук, доц. каф. общественного здоровья,
здравоохранения и истории медицины
Эл. почта: naguzesk@mail.ru
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
Россия, Краснодар

Information about authors

Yury Anatolyevich Vasilyev

Assistant of the Department of Public Health, Health
Care and History of Medicine
E-mail: yurii-59@mail.ru
FSBEI HE KubSMU
Russia, Krasnodar

Ludmila Fedorovna Tereshchenko

assistant
E-mail: <http://www.ksma.ru/>
FSBEI HE KubSMU

Ekaterina Plotnikova

doctor neonatologist
E-mail: yurii-59@mail.ru
Maternity hospital №4 Krasnodar

Yuri Yurievich Vasiliev

a physician anesthesiologist-resuscitator
E-mail: yurii-59@mail.ru
maternity hospital №4 Krasnodar

Gennady Pavlovich Shiyarov

Ph. D.
associate Professor, Department of social and humani-
tarian and natural Sciences
E-mail: rapkrassnodar@mail.ru
FSUE VO "RGUPS"

Saida Kazbekovna Akhedzhak-Naguze

Ph.d., Associate Professor, candidate of medical Sci-
ences, Department of public health, public health and
history of medicine E-mail: naguzesk@mail.ru
FSBEI HE KubSMU
Russia, Krasnodar

ДВИГАТЕЛЬНЫЕ фМРТ ОТВЕТЫ МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ЛЕГКИМ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИМ ГЕМИПАРЕЗОМ

На основании анализа двигательных фМРТ-ответов у пациентов с посттравматическим гемипарезом легкой степени (10 человек), проведенном в сопоставлении с нормативными данными (15 человек), выявлены особенности нарушения структурной церебральной детерминированности в обеспечении движений паретичной и «здоровой» рукой, наиболее резко проявляющегося в фМРТ ответах мозжечка.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, гемипарез, фМРТ, двигательные нагрузки.

¹Boldyreva G., ¹Yarets M., ¹Zhavoronkova L., ¹Sharova E.,

²Kuptsova S., ³Troshina E.M., ³Macherov E., ³Smirnov A.

¹HNNA & NPh RAS

²Center for Speech Pathology and Neurorehabilitation

³N.N. Burdenko NSPCN

MOTOR FMRI RESPONSES OF THE BRAIN IN PATIENTS WITH MILD POST-TRAUMATIC HEMIPARESIS

The study was based on the analysis of motor fMRI responses in patients with mild posttraumatic hemiparesis (10 people) in comparison with control group (15 people). It revealed the features of structural cerebral determinism disorders in providing movements of the paretic and "healthy" hand, most pronounced in fMRI cerebellar responses.

Keywords: craniocerebral trauma, hemiparesis, fMRI, motor tasks.

Введение. Перспективным подходом к изучению механизмов работы поврежденного мозга является анализ церебральных перестроек в ответ на функциональные нагрузки у больных с разными нозологическими формами церебральной патологии. Одной из наиболее распространенных форм церебрального поражения является черепно-мозговая травма (ЧМТ), связанная с множественным повреждением корковых, подкорковых и проводящих путей мозга [1,2]. Последствия ЧМТ часто проявляются в двигательных расстройствах в форме гемипареза. Привлечение данных магнитно-резонансной томографии (фМРТ), отражающей изменения уровня оксигенации крови в активируемых при нагрузке участках мозга, к анализу особенностей формирования движений у травматических больных позволяет исследовать особенности структурного обеспечения двигательных реакций в условиях церебральной патологии.

В поисках фМРТ маркеров нарушения моторных функций и оценке компенсаторных церебральных перестроек важным является анализ гемодинамических двигательных ответов у больных с легкой степенью гемипареза. Сохранная способность в этих случаях самостоятельно выполнять двигательные задания обеими руками представляла возможность сопоставления особенностей структурного церебрального обеспечения движений, осуществляемых «больной» и «здоровой» рукой.

Цель работы. У пациентов с травматическим поражением мозга, сопровождающимся лёгким гемипарезом, проанализировать особенности двигательных фМРТ ответов при движении «больной» и «здоровой» рукой (в сопоставлении с нормативными данными).

Материал и методы исследования. Группу пациентов составили 10 человек (9 мужчин и 1 женщина), средний возраст 33 ± 5.6 года, проходивших лечение в НИИ Нейрохирургии имени академика Н.Н.Бурденко. Анализировались фМРТ-ответы при двигательных нагрузках в виде сжатия-разжимания пальцев в кулак раздельно правой и левой руки. У исследуемых пациентов отмечалось легкое снижение силы мышц, оцениваемое по шкале выраженности двигательного дефекта в 4 балла; в 4 наблюдениях был правосторонний гемипарез, в 6 – левосторонний. Результаты исследования больных рассматривались в сопоставлении с данными анализа фМРТ ответов при движениях правой и левой рукой у 15 здоровых людей (11 мужчин и 4 женщины, средний возраст 24.3 ± 5.6 года).

фМРТ-исследование осуществлялось на магнитно-резонансном 3Т томографе GE Healthcare (США). Регистрация сигнала проводилась согласно блоковой парадигме. Полученные данные обрабатывались в программе SPM8 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) на базе Matlab R2012b (MathWorks Inc., Natick, MA) на индивидуальном и групповом уровнях. Для построения карт активации по группам использовался односторонний одновыборочный t-критерий. Для анализа групповых карт активации для каждой группы отдельно использовались статистические пороги на уровне вокселей $p(\text{unc.}) < 0,001$, с скорректированным порогом уровня значимости кластеров $p(\text{FWE-corr}) < 0,05$. Для получения данных о пространственном нахождении активированных зон, их объеме использовалось приложение SPM anatomy toolbox, версия 1.8.

Результаты и их обсуждение. Анализ фМРТ ответов при двигательных нагрузках на правую и левую руку у здоровых испытуемых показал, что реализация двигательной деятельности в норме осуществляется посредством активации, в основном, трёх структур мозга: контралатеральной (относительно работающей руки) сенсомоторной коры, дополнительной моторной области и ипсилатеральной гемисферы мозжечка. Участие в реактивном процессе других структур, включая подкорковые образования, выражено крайне слабо и отмечается преимущественно в контралатеральном полушарии. Эти данные свидетельствуют о выраженной структурной церебральной детерминированности в обеспечении движений у здоровых людей.

Анализ двигательных фМРТ ответов у исследуемых пациентов при работе как «больной», так и «здоровой» рукой выявил их большой межиндивидуальный разброс, касающийся как характера, так и степени отличий от нормативных данных. Наблюдаемая вариабельность двигательных фМРТ ответов в значительной степени определялась характером структурных изменений мозга. Согласно данным, полученным при контрастных методах исследования (КТ, МРТ), во всех случаях отмечалось множественное поражение головного мозга: различные варианты ушибов с отеком, интракраниальные гематомы, признаки диффузного аксонального повреждения (ДАП). Эти особенности структурных нарушений проявлялись в разных сочетаниях, обуславливая разный уровень поражения двигательного анализатора и определяя характер реорганизации двигательных фМРТ ответов.

Наиболее резко изменения гемодинамических перестроек мозга были выражены при движениях рукой с гемипарезом. При этом наиболее выраженные признаки реорганизации фМРТ ответов касались мозжечка; они могли проявляться в ослаблении или отсутствии зоны активации в мозжечке, в её перемещении из ипси- в контралатеральное полушарие, в билатеральном проявлении в пределах мозжечка. Можно полагать, что эти результаты в определенной степени коррелируют с данными морфологических исследований, выявившими выраженные атрофические изменения в мозжечке, даже в случаях негрубого травматического поражения мозга [3].

Обнаруженные наибольшие изменения реакций мозжечка на патологический процесс при формировании двигательного фМРТ ответа согласуются с результатами ранее проведенного нами анализа гемодинамических перестроек при выполнении двигательных задач разной сложности у здоровых людей [4]. Проведенное в этих исследованиях сопоставление постструктурных объемов зон активации показало, что ослабление фМРТ ответа при пассивных и воображаемых движениях, по сравнению с активными движениями, также наиболее резко выражено в мозжечке.

Наряду с мозжечком, при работе паретичной рукой у исследованных больных отмечалось ослабление включения в реактивный процесс другой ключевой структуры, участвующей в формировании движения, – контралатеральной сенсомоторной области. Это ослабление ответа отчетливо проявлялось как при сравнении с нормативными данными, так и при сопоставлении с гемодинамическими перестройками, наблюдаемыми при работе «здоровой» рукой. Важно подчеркнуть, что сенсомоторный ответ мог иметь билатеральный характер, проявляясь не только в контралатеральном, но в симметричных отделах ипсилатерального полушария.

Характерным для исследованных пациентов было то, что движение паретичной рукой часто сопровождалось включением в гемодинамические перестройки структур, не относящихся к функциональной сети обеспечения движения. Это касалось, прежде всего, ассоциативных корковых зон, таких как верхняя теменная, нижняя лобная извилина и др., а также подкорковых структур. Последние при этом, активировались, в отличие от нормы, в обоих полушариях. Эти результаты, отражающие переход от локальной к диффузной форме фМРТ ответа, под-

тверждают наши данные, полученные у травматических больных с разной степенью двигательных расстройств как при активно-, так и пассивно выполняемых движениях [5-7].

Проведенный в настоящей работе отдельный анализ объемов активации моторного и соматосенсорного компонентов сенсомоторного фМРТ ответа показал, что при работе «больной» рукой может отмечаться изменение соотношений включения в реактивный процесс этих компонентов ответа. В этих случаях, в отличие от нормы, большая активация была не в моторной, а в соматосенсорной зоне. Это может быть обусловлено преимущественным снижением, по сравнению с нормой, интенсивности моторного компонента двигательного ответа.

Среди отличительных черт гемодинамических перестроек при двигательных нагрузках у исследованных больных было также часто наблюдаемое изменение конфигурации фМРТ ответов, проявляющиеся в их дискретном, дробном характере. Отмеченная особенность гемодинамических перестроек не была приурочена к определенным структурам мозга и могла наблюдаться при движении как паретичной, так и «здоровой» рукой. Можно полагать, что отмеченные изменения конфигурации фМРТ ответов являются следствием диффузного нарушения проводящих путей, страдающих при травматическом повреждении мозга [1,8]. Дальнейшее привлечение данных трактографии к анализу двигательных фМРТ ответов у больных с последствиями ЧМТ может уточнить это предположение.

Обращали на себя внимание случаи, когда ослабление зон активации при движении «больной» рукой сопровождалось их усилением при двигательной нагрузке на сохранную, «здоровую» руку. Можно полагать, что подобный характер соотношений двигательных фМРТ ответов в патологии отражает тенденцию к сбалансированности происходящих в мозге гемодинамических перестроек и подключению к обеспечению движения паретичной рукой «здорового» полушария. Для выяснения вопроса о том, в какой степени отмеченные черты реципрокности в реорганизации двигательных фМРТ ответов связаны с реализацией адаптационно-компенсаторных механизмов мозга необходимы дальнейшие исследования с акцентом на анализ динамики их проявления по мере регресса моторных нарушений. Это можно отнести и к трактовке разнонаправленных изменений фМРТ ответов в специфических и неспецифических, по отношению к обеспечению движения, структурах мозга.

При обсуждении полученных данных необходимо подчеркнуть, что ЧМТ, в отличие от опухолевой и сосудистой форм церебральной патологии, приводит к включению в патологический процесс целого комплекса структур как корковой, так и подкорковой локализации. В связи с этим, наличие гемипареза у исследованных пациентов мы рассматривали лишь как свидетельство преимущественного вовлечения в патологический процесс контралатерального, по отношению к стороне гемипареза, полушария. Подтверждением этого явились полученные нами данные, касающиеся наличия изменений двигательных фМРТ ответов при работе не только паретичной, но и «здоровой» рукой. Это согласуется с данными анализа двигательных ответов у больных с травматическим поражением мозга, не сопровождающимся двигательными расстройствами [7].

Следует добавить, что при изучении особенностей функциональной реорганизации структур мозга у больных с посттравматическими моторными нарушениями специального внимания заслуживает уточнение специфики изменений двигательных фМРТ ответов при разной сторонности гемипареза, определяющей участие доминантного и субдоминантного полушарий в механизмах нарушения движений. Проведение дальнейших исследований с расширением базы данных и специальным анализом подгрупп с право- и левосторонним гемипарезом является перспективным в разработке индивидуальных подходов к реабилитации больных с последствиями ЧМТ.

Заключение. Проведенный анализ двигательных фМРТ ответов у пациентов с посттравматическим гемипарезом позволил выявить принципиально иной, менее упорядоченный, по сравнению со здоровыми людьми, тип формирования реактивных церебральных перестроек. фМРТ ответы у исследуемых пациентов характеризуются высокой вариабельностью отклонений от нормы при движении как «больной», так и «здоровой» рукой. Особенности реорганизации фМРТ ответов, наиболее резко выраженной при работе паретичной рукой, отражают нарушение полушарной специфичности функционирования мозга с включением в реактивный процесс нехарактерных для нормы корковых и субкортикальных структур. Особенно грубо признаки нарушения структурно-функциональной детерминированности в обеспечении движений рукой с гемипарезом проявляются в изменениях фМРТ ответов мозжечка.

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

Литература

1. Bigler E.D. and Wilde E.A. Quantitative neuroimaging and the prediction outcome following traumatic brain injury // *Frontiers in human neuroscience*. 2010. No. 4 (3): 228–234.
2. Потапов А.А., Захарова Н.Е., Корниенко В.Н., Пронин И.Н., Александрова Е.В., Зайцев О.С., Лихтерман Л.Б., Гаврилов А.Г., Данилов Г.В., Ошоров А.В., Сычев А.А., Полупан А.А. Нейроанатомические основы травматической комы: клинические и магнитно-резонансные корреляты // *Вопросы нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко*. 2014. № 78 (1). С. 4–13.
3. Wang Z., Wu W, Liu Y., Wang T., Chen X., Zhang J, Zhou G, Chen R. Altered cerebellar white matter integrity in patients with mild traumatic brain injury in the acute stage // *PLOS ONE*. 2016.
4. Болдырева Г.Н., Шарова Е.В., Жаворонкова Л.А., Челяпина М.В., Дубровская Л.П., Смирнов А.С., Трошина Е.М., Пронин И.Н., Корниенко В.Н. Сопоставление фМРТ-реакций мозга здоровых людей при активных, пассивных и воображаемых движениях рукой // *Медицинская визуализация*. 2015. № 5. С. 2–14.
5. Шарова Е.В., Лысачев Д.А., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Куликов М.А., 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», 2017г., – Спб., С. 41–42.*
6. Мухина Т.С., Шарова Е.В., Болдырева Г.Н., Жаворонкова Л.А., Смирнов А.С., Куликов М.А., Александрова Е.В., Челяпина М.В., Машеров Е.Л., Пронин И.Н. Особенности нейроанатомии активных движений руки у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой (анализ данных функциональной магнитно-резонансной томографии) // *Журнал Неврологии, нейропсихиатрии, психосоматики*. 2017. № 9 (1). С. 27–33.
7. 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*. 2018. № 44 (5). С. 5–13.
8. Zakharova N., Kornienko V., Potapov A., Pronin I. *Neuroimaging of traumatic brain injury*. London: Springer; 2014. 159 p.

Сведения об авторах

Галина Николаевна Болдырева

д-р биол. наук, проф.

Эл. почта: GBoldyreva@nsi.ru

Мария Юрьевна Ярец

мл. науч. сотр.

Эл. почта: marya.yarets@yandex.ru

Людмила Алексеевна Жаворонкова

д-р биол. наук, вед. науч. сотр.

Эл. почта: lzavoronkova@hotmail.com

Елена Васильевна Шарова

Д-р биол. наук

зав. лаб.

Эл. почта: esharova@nsi.ru

ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН»

Светлана Вячеславовна Купцова

канд. биол. наук, мл. науч. сотр.

Эл. почта: svoky@rambler.ru

ГБУЗ Центр патологии речи и нейрореабилитации ДЗМ

Елена Михайловна Трошина

канд. биол. Наук

зав. лаб.

Эл. почта: ETroshina@nsi.ru

Евгений Леонидович Машеров

канд. тех. наук, ст. науч. сотр.

Эл. почта: EMasherow@nsi.ru

Information about authors

Galina Boldyreva

Professor

E-mail: GBoldyreva@nsi.ru

Maria Yarets

junior researcher

E-mail: marya.yarets@yandex.ru

Ludmila Zhavoronkova

leading science researcher

E-mail: lzavoronkova@hotmail.com

Elena Sharova

head of the laborator

E-mail: esharova@nsi.ru

INNA& NPh RAS. Moscow

Svetlana Kuptsova

junior researcher

E-mail: svoky@rambler.ru

Center for Speech Pathology and Neurorehabilitation.

Elena Troshina

kand. Biol. Sciences'

head of the laborator

E-mail: ETroshina@nsi.ru

Eugene Macherov

Engineer

E-mail: EMasherow@nsi.ru

Александр Сергеевич Смирнов

аспирант

Эл. почта: alex.s.smirnof@gmail.com

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии

им. акад. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ

Россия, Москва

Aleksandr Smirnov

postgraduate.

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

N.N. Burdenko NSPCN

Russia, Moscow

УДК 612.821

ГРНТИ 34.39.15

¹Жаворонкова Л.А., ²Максакова О.А., ²Скорятина И.Г.

¹ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

²ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ

ЭЭГ-МАРКЕРЫ КОГНИТИВНОГО ДЕФИЦИТА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

У пациентов в ранние сроки после черепно-мозговой травмы средней тяжести использование двойных (моторных и когнитивных) задач может быть информативным диагностическим инструментом и свидетельствовать о доминировании когнитивного дефицита, чему по данным ЭЭГ соответствует нарушение реактивных перестроек медленных ритмов лобно-височных отделах левого полушария.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, двойные задачи, ЭЭГ, стабิโลграфия, клинические шкалы

¹Zhavoronkova L.A., ²Maksakova O.A., ²Skorjatina I.G.

¹Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS

²National Medical N.N. Burdenko Neurosurgery Center of Neurosurgery

EEG-MARKERS OF COGNITIVE DEFICITS INPATIENTS AFTER CRANIO-CEREBRAL TRAUMA

At the present study was investigated the brain activity impairment in patients after traumatic brain injury (TBI) when performing dual-tasks in comparison with the norm. Electroencephalographic (EEG), stabilographic and clinical research was performed in 9 patients (25 ± 1.2) up to 3 months after a mild traumatic brain injury (TBI) in comparison with 18 healthy subjects ($26.6 \pm 0, 07$). All participants of study performed two motor tasks as well as two cognitive tasks that were carried out in isolation, and simultaneously - dual- tasks. Clinical examination revealed a cognitive deficit in TBI patients with safety of postural control. The EEG data demonstrated a pronounced decrease of coherence for slow rhythms in the cortical-temporal and frontal areas of the left hemisphere when cognitive tasks were carried out. In healthy subjects an increase of EEG coherence for slow spectral bands was observed at these brain areas. So, dual- tasks were used as informative method for estimation of predominant cognitive deficit after mild TBI and use of this approach for rehabilitation contributed to positive clinical dynamics.

Kewwords: traumatic brain injury, dual-tasks, EEG, stabilography, clinical scales

После черепно-мозговой травмы (ЧМТ), пациенты, как правило, теряют возможность вернуться к своей профессии, особенно в том случае, когда она связана с интеллектуальной деятельностью [1]. Поэтому возникает необходимость создания диагностических подходов для оценки особенностей нарушения работы мозга пациентов с последствиями ЧМТ, а в перспективе - реабилитационных подходов, способствующих возвращению пациентов к их профессиональной деятельности и социальной адаптации. Ранее было показано, что двойные задачи, представляющие собой парадигму с одновременным выполнением моторных и когнитивных нагрузок, представляют собой информативный подход, позволяющий выявить особенности нарушения деятельности мозга пациентов в моторной и когнитивной сфере и оценить их компенсаторные ресурсы по сравнению со здоровыми людьми [2, 3]. В настоящем исследовании изучались диагностические возможности двойных задач и перспективе - использование данного подхода и для реабилитации пациентов последствиями ЧМТ. Целью настоящего исследования явилось изучение мозговых механизмов, отражающих особенности нарушения выполнения когнитивного и моторного компонента двойных задач у пациентов в ранние сроки после ЧМТ средней тяжести в сопоставлении с нормой.

В исследовании приняли участие 9 пациентов ($25 \pm 1,2$; 6 мужчин и 3 женщины) с последст-

виями ЧМТ средней тяжести и 18 здоровых испытуемых ($26,6 \pm 0,07$; 14 мужчин и 6 женщин). Исследования проводились в ранние сроки после ЧМТ (до 3-х месяцев). К моменту исследования пациенты не имели гемипарезов и очагового поражения мозга в сомато - сенсорной и других областях мозга. Они самостоятельно поддерживали вертикальную позу и выполняли инструкции врача. Все обследованные - правши. У всех обследованных было получено письменное согласие на участие в исследованиях в соответствии с положениями Хельсинского соглашения. Комплексное исследование включало ЭЭГ и стабилотографию, а у пациентов дополнительно использовались количественные клинические шкалы (MMPI, 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. Анализировалось выполнение компонентов - моторных и когнитивных, двойных задач. Моторные задачи предусматривали поддержание или изменение позы на стабилотографической платформе. При выполнении 1-й когнитивной задачи испытуемому предлагали прослушать ряд высоких и низких звуков и подсчитать в уме количество низких звуков. При выполнении 2-й когнитивной задачи 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. Все задачи выполнялись в течение 60с.

Результаты комплексного исследования, включающего количественные клинические шкалы MMSE, FIM, MPAI и Берга, показали, что значения шкалы Берга, оценивающей позный контроль у обследованных пациентов отличалось от нормативных данных незначительно - $54,6 \pm 1,4$ балла, (норма - 56 баллов), что свидетельствует об относительной сохранности позного контроля. В отличие от этого значения шкалы MMSE, оценивающей когнитивные функции, у пациентов были существенно ниже нормативных - $24,3 \pm 3,6$ баллов (норма - 30 баллов), что свидетельствует о значительном снижении когнитивных возможностей пациентов после ЧМТ.

Анализ реактивных перестроек ЭЭГ у здоровых испытуемых при выполнении двух когнитивных задач выявил значимое увеличение когерентности медленных ритмов ЭЭГ (дельта- и тета-) в лобно-височных отделах левого полушария.

У пациентов выполнение когнитивного компонента, в изолированном варианте, и в составе двойных задач по сравнению с состоянием покоя, по сравнению со здоровыми людьми сопровождалось снижением когерентности медленных ритмов ЭЭГ.

Более высокая чувствительность именно когнитивных функций к травматическому повреждению мозга описана ранее различными авторами, причем как в случаях с травмой средней и легкой степени тяжести, так и при сотрясении мозга. Следует отметить, что наиболее отчетливое снижение когерентности ЭЭГ для когнитивных нагрузок проявлялось в левом полушарии, а также между ассоциативными областями коры (лобными и теменными).

В отличие от этого моторные функции более устойчивы к воздействию травмы. Их выполнение в составе двойных задач сопровождалось гиперреактивными перестройками ЭЭГ за счет включения большего, чем у здоровых людей, числа ритмов, особенно для высокочастотной составляющей (альфа-бета-диапазонов), а также для большего числа областей коры, преимущественно для коротких связей. Выявленные гиперреактивные перестройки ЭЭГ, вероятно, отражают включение компенсаторных ресурсов мозга за счет усиления активации локальных нервных сетей в ранние сроки после ЧМТ, в то время как эффективность связей между дистантными отделами мозга была нарушена, что отмечалось и другими авторами.

Результаты стабилотографического исследования продемонстрировали более высокие, чем у здоровых людей, значения скорости колебаний общего центра давления у пациентов после ЧМТ. Этот факт, так же как и данные ЭЭГ, могут отражать большие усилия, необходимые для поддержания вертикальной позы пациентами после ЧМТ в сравнении со здоровыми людьми. При проведении пилотных исследований с включением в реабилитационный курс двойных задач, было выявлено, что после такого курса реабилитации наблюдалось увеличение когнитивных возможностей пациентов, чему соответствовало увеличение эффективности связей преимущественно медленных ритмов ЭЭГ в лобно-височных отделах левого полушария, т.е. ЭЭГ-маркеров когнитивных функций.

Авторы считают, что в данной работе получены новые данные, свидетельствующие о нейрофизиологических механизмах когнитивного дефицита у пациентов в ранние сроки

после ЧМТ, выявленных с помощью количественных клинических шкал и данных ЭЭГ. По данным ЭЭГ когнитивному дефициту соответствовало снижение реактивных перестроек ЭЭГ для медленных ритмов в лобно-височных отделах левого полушария. Предложенный подход с использованием двойных задач может быть информативным инструментом для диагностики нарушений у пациентов после ЧМТ, а также для выбора индивидуальных реабилитационных программ, способствующих эффективному восстановлению нарушенных функций.

Поддержано грантом РФФИ № 17-06-01012

Литература

1. Vos PE, Bigler ED. White matter in traumatic brain injury Dis-or dysconnection?. *Neurology*. 2011 Aug 30;77(9):810-1. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e31822b015b>
2. 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.
3. Radüntz T. Dual frequency head maps: A new method for indexing mental workload continuously during execution of cognitive tasks. *Frontiers in physiology*. 2017 Dec 8;8:1019. doi.org/10.3389/fphys.2017.01019

Сведения об авторах

Людмила Алексеевна Жаворонкова

д-р биол. наук

ведущий научный сотрудник

Эл. почта: lzhavoronkova@hotmail.com

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Ольга Арсеньевна Максакова

канд. мед. наук

старший научный сотрудник

Эл. почта: : omaksakova@nsi.ru

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

Скорятина Ирина Геннадьевна

вед. инженер

Эл. почта: skoriatina@nsi.ru

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

Россия, Москва

Information about authors

Ludmila Alexeevna Zhavoronkova

Doctor of biological sciences

leading science researcher

E-mail: lzhavoronkova@hotmail.com

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS

Olga Arsenjevna Maksakova

PhD in medicine

senior science researcher

E-mail: omaksakova@nsi.ru

National Medical N.N. Burdenko Center of Neurosurgery

Irina Gennadievna Skorjatina

lead engineer

E-mail: skoriatina@nsi.ru

National Medical N.N. Burdenko

Neurosurgery Center of Neurosurgery

Russia, Moscow

УДК 612.824.4

ГРНТИ 34.39.15

Сазонова О.Б., Шевченко Е.В., Трошина Е.М.

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

ЭЭГ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОЙ ГЕМОДИНАМИКИ

В работе приведены результаты исследования биоэлектрической активности мозга у 31 пациента в возрасте от 2-х до 18-ти лет с хронической церебральной ишемией, обусловленной патологией магистральных артерий головного мозга, наблюдавшихся и оперированных в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко с 2012 по 2017 г.г. Исследование показало роль ЭЭГ в оценке функционального состояния мозга у детей с хронической недостаточностью мозгового кровообращения различного этиопатогенеза в зависимости от возраста ребенка. Проведено сопоставление данных ЭЭГ при экстра- и интракраниальной патологии мозговых сосудов. Выявлены более выраженные изменения при стено-окклюдированных нарушениях в интракраниальных артериях. На ЭЭГ при этом доминируют медленные формы активности или их сочетание с острыми потенциалами. Экстракраниальная патология приводила к преобладанию в биоэлектрической картине мозга признаков раздражения: учащенный, заостренный альфа-ритм, острые потенциалы, частые колебания. Детальное клинико-

нейрофизиологическое обследование с использованием ЭЭГ служило обоснованием для постановки диагноза, определения тактики лечения, показаний и противопоказаний к оперативному вмешательству.

Ключевые слова: электроэнцефалография, нарушение мозгового кровообращения, функциональное состояние мозга.

Sazonova O.B., Shevchenko E.V., Troshina E.M.

N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation

EEG IN CHILDREN WITH CHRONIC DISORDERS OF BRAIN HEMODYNAMICS

The paper presents the results of a study of the bioelectrical activity of the brain in 31 patients aged 2 to 18 years old with chronic cerebral ischemia, due to pathology of the main arteries of the brain, observed and operated in the National Medical Research Center of Neurosurgery of N.N. Burdenko from 2012 to 2017. The study showed the role of EEG in assessing the functional state of the brain in children with chronic cerebrovascular insufficiency of various etiopathogenesis in children, depending on the age of the child. Comparison of EEG data in extra- and intracranial cerebral vascular pathology was performed. Revealed more pronounced changes with steno-occlusive disorders in the intracranial arteries. EEG is dominated by slow forms of activity or their combination with acute potentials. Extracranial pathology led to the predominance of signs of irritation in the bioelectric picture of the brain: accelerated, pointed alpha rhythm, acute potentials, frequent fluctuations. Detailed clinical and neurophysiological examination using EEG served as a rationale for diagnosis, determination of treatment tactics and indications and contraindications for surgical intervention.

Keywords: electroencephalography, cerebrovascular accident, functional state of the brain.

Введение. Нарушение мозгового кровообращения (НМК) в детском возрасте - редкая и мало изученная проблема. Инсульт – одна из десяти ведущих причин детской смертности. Летальность от инсульта у детей варьирует, по данным литературы, от 7 до 28%. В структуре детской инвалидности 35 - 40% приходится на ишемические поражения центральной нервной системы. По данным международной статистики, заболеваемость инсультом у детей от 1 месяца до 18 лет составляет 7,8 случаев на 100 тыс. населения в год. Детский инсульт (геморрагический или ишемический) встречается во всех периодах детского возраста и является гетерогенным по этиопатогенезу и клиническому течению. Наиболее частыми причинами нарушения кровоснабжения головного мозга у детей являются пороки развития сердечно-сосудистой системы, нарушения свертывающей системы крови (посттромботические окклюзии ВСА/СМА), болезнь «Мойя-мойя», патологические деформации ВСА, воспалительные изменения сосудов (васкулиты), фиброзно-мышечная дисплазия и, как следствие, диссекция артерии.

Цель исследования. оценить функциональное состояния головного мозга по данным ЭЭГ у детей с хронической церебральной ишемией, обусловленной интра- и экстракраниальной патологией магистральных артерий головы с НМК в анамнезе и показать, как гемодинамический дефицит мозгового кровообращения у детей влияет на биоэлектрическую активность головного мозга (БЭАМ).

Материалы и методы. Исследование ЭЭГ проведено 31 ребенку в возрасте от 2 до 18 лет (13 больных с экстракраниальной патологией - извитостью экстракраниального отдела ВСА, 18 - с интракраниальной патологией сосудов - окклюзии СМА, ВСА, болезнь «Мойя-мойя»). Все пациенты обследованы до и после хирургического вмешательства, направленного на улучшение мозгового кровообращения (реконструктивные и реваскуляризирующие операции). Регистрация ЭЭГ осуществлялась на чернильно-пишущем 19-ти канальном электроэнцефалографе Nihon Kohden (Япония). Схема наложения электродов – международная (10-20%).

Результаты. Наиболее распространенной аномалией сосудов мозга в детском возрасте является патологическая извитость внутренних сонных артерий (ВСА). Она встречается у 26,9% детей. Поражение брахиоцефальных сосудов может быть изолированным (одно- и двухсторонним) и генерализованным. Важной характеристикой извитости ВСА является ее гемодинамическая значимость, что может служить причиной, как острых нарушений мозгового кровообращения, так и хронической цереброваскулярной недостаточности (93,6%), переходящих нарушений мозгового кровообращения (НМК) (4,3%), ишемического инсульта (2,1%). Они

могут проявляться в виде мигреноподобных головных болей, головокружения системного и несистемного характера, астенических состояний, когнитивных нарушений, симптомов очагового поражения головного мозга при транзиторных ишемических атаках и инсультах. У 19,3% детей с патологической извитостью ВСА отмечаются эпилептические припадки. Данная патология подтверждается результатами ангиографического исследования, изменениями на ЭЭГ, и наличием неврологического дефицита в анамнезе или в клинической картине заболевания.

При оценке БЭАМ учитывали возраст ребенка. До операции у всех детей с патологической извитостью ВСА на ЭЭГ выявлялись диффузные изменения в виде умеренно выраженной дезорганизации корковых потенциалов с доминированием признаков ирритации коры, подкорковых и медиальных структур. У 10 пациентов в возрасте от 2 до 5 лет (32%) в ЭЭГ регистрировался хорошо сформированный заостренный или экзальтированный альфа-ритм в задних отделах полушарий, не характерный для пациентов данного возраста, что расценивалось нами, как признак раздражения. У 12 детей в возрасте 6 - 10 лет (39%) на ЭЭГ выявлялась картина не вполне сформированной БЭАМ в виде замедления альфа-ритма, наличия диффузной полиморфной медленной активности, преимущественно тета-диапазона. У 7 пациентов с двухсторонней извитостью ВСА (23%) выявлялись признаки раздражения коры, в виде учащения альфа-ритма, острых импульсов и эпилептиформных потенциалов, больше в задних отделах полушарий, особенно на стороне преобладающей патологии. Медленная активность проявлялась диффузно в виде полиморфных колебаний низкой амплитуды. У всех больных наблюдались также признаки ирритации срединных образований мозга и диэнцефальных структур в виде всплеск синхронно-билатеральных колебаний тета-альфа-диапазонов в центрально-лобных областях. Четких очаговых изменений не отмечено в ЭЭГ ни у одного больного. Патологические признаки проявлялись, как правило, билатерально в виде преобладания частых колебаний и острых потенциалов или их сочетания с негрубой медленной активностью (3 пациента), на стороне более выраженной патологии, преимущественно в затылочно-теменно-височной области.

На рисунке 1 представлена ЭЭГ ребенка 4 лет с двухсторонней гемодинамически значимой S-образной извитостью ВСА, больше справа. На ЭЭГ выявляется альфа-ритм, учащенный до 11 Гц, неравномерный по амплитуде, заостренный по форме, представленный в задних отделах полушарий, более дезорганизованный справа. Негрубые эпилептиформные потенциалы регистрируются билатерально, в основном в затылочно-теменно-задневисочных областях с акцентом справа. Полиморфные медленные волны отмечаются диффузно, преобладают справа, больше в височной и теменной областях. В задних отделах полушарий периодически отмечаются группы колебаний дельта-диапазона (4 Гц) ритмического характера (OIRDA), акцентированные справа. В центрально-лобных областях наблюдаются колебания тета-диапазона, временами синхронно-билатерально, в виде всплеск.

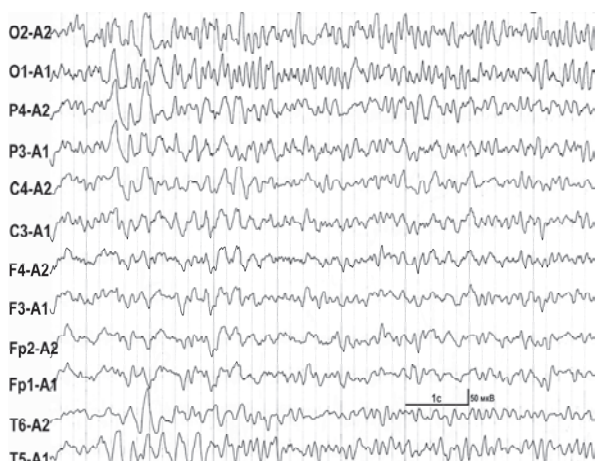


Рис. 1. ЭЭГ пациента 4 лет с двухсторонней гемодинамически значимой S-образной извитостью ВСА, больше справа (описание в тексте).

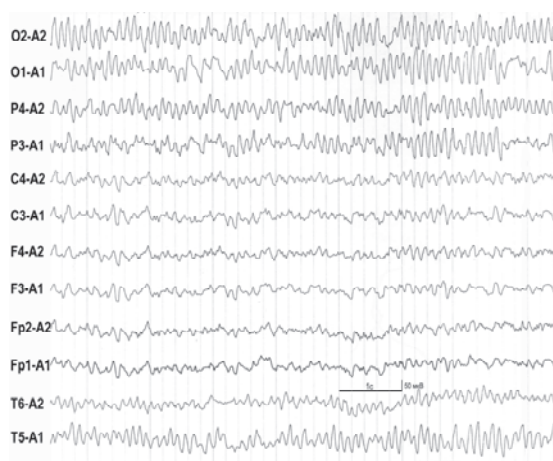


Рис. 2. ЭЭГ пациента 13 лет с двухсторонним петлеобразованием ВСА на шее (описание в тексте).

Рисунок 2 демонстрирует ЭЭГ пациента 13 лет с двухсторонним петлеобразованием ВСА на шее. В задних отделах полушарий представлен хорошо сформированный альфа-ритм, учащенный

до 10-11 Гц, заостренный по форме, сочетающийся с негрубыми острыми потенциалами. Низкоамплитудные полиморфные медленные волны представлены диффузно с преобладанием в затылочной, теменной и височной областях преимущественно слева.

Основной причиной *стено-окклюзирующих поражений* сосудов мозга у детей являются диссекция артерий, кровоснабжающих головной мозг. Более редкие причины - антифосфолипидный синдром, кардиогенная эмболия, артериальная гипертония, атеросклероз, артерииты, полицитемия, митохондриальные болезни, болезнь «Моя-Моя».

Диссекция артерий представляет собой расслоение артериальной стенки, обусловленное проникновением в нее крови из артериального русла через разрыв интимы экстра- или интракраниальных артерий. Формирующееся расслоение, пролабирующее в просвет артерии, приводит к ее стенозу, а иногда и окклюзии, следствием чего является ухудшение кровоснабжения головного мозга.

Болезнь «Моя-Моя» - редкое заболевание, характеризующиеся двусторонней окклюзией или прогрессирующим стенозом ВСА в интракраниальном отделе, расценивается как первичная ангиопатия с выраженной ответной реакцией на хроническую ишемию мозга. Она включает в себя ишемические симптомы в 80% случаев (из них инсульты составляют 40%, транзиторные ишемические атаки 41%), эпилепсию в 5% случаев, внутричерепные кровоизлияния в 2,5%, другие симптомы в 12,5% (головная боль, двигательные расстройства, или комплекс симптомов).

Изменения БЭАМ при интракраниальном поражении сосудов определяются хроническим дефицитом кровоснабжения мозга и зависят от возраста ребенка и количества вовлеченных в патологический процесс сосудов.

При хронической стадии НМК обращало на себя внимание диффузное снижение амплитуды биоэлектрических потенциалов мозга, более выраженное на стороне окклюзии, доминирование медленных форм активности полиморфного характера, проявляющихся билатерально с преобладанием на стороне перенесенного ишемического инсульта, наличие признаков дисфункции стволовых структур. Типичных форм эпилептической активности не выявлялось. Отмечались негрубые диффузные острые потенциалы. Локальные изменения проявлялись в виде более значительного снижения амплитуды и выраженной дезорганизации биоэлектрических потенциалов, преобладания медленной активности и острых потенциалов либо в задних отделах полушарий, либо в лобных областях билатерально, с акцентом на стороне более пострадавшего сосуда, в бассейне которого произошло НМК. У пациентов с синдромом Моя-Моя в 58% случаев после гипервентиляции отмечалось замедление корковой активности и удлинение периода восстановления корковой ритмики до уровня фона, что расценивалось нами как реакция на гипоксию мозга, находящегося в условиях дефицита кровообращения.

Рисунок 3 демонстрирует изменения на ЭЭГ у пациента 5 лет с ангиопатией сосудов мозга (синдром Моя-Моя) со стенозом внутренних сонных артерий, передних и средних мозговых артерий с двух сторон, а также задней мозговой артерии слева. Выражены диффузные нарушения в виде дезорганизации и замедления БЭАМ. Выявляются признаки дисфункции подкорковых и стволовых образований мозга. Отмечается преобладание патологических изменений в затылочных, теменных и задневисочных областях, больше слева.

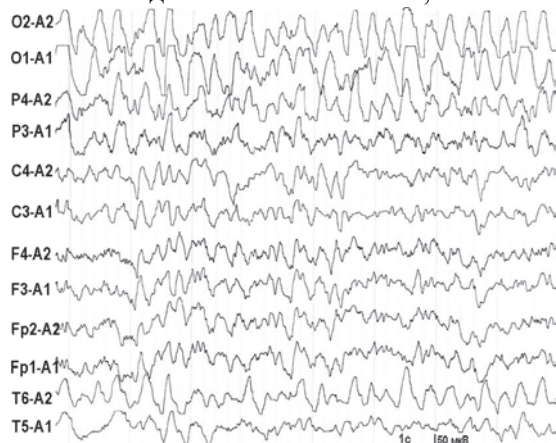


Рис.3. ЭЭГ пациента 5 лет со стенозом ВСА. ПМА и САА с 2-х сторон и ЗМА слева (пояснение в тексте).

Все обследованные нами пациенты с хронической ишемией мозга были прооперированы. После операции у больных с экстракраниальной патологией характер изменений на ЭЭГ сохранялся, как и до хирургического вмешательства. Однако наблюдалось нарастание признаков раздражения срединных структур и появление локальных изменений в виде акцента негрубой медленной активности на стороне операции. Вместе с тем, признаки раздражения (острые импульсы и эпилептиформные потенциалы) были более выражены на стороне контралатеральной операции. У всех пациентов с интракраниальной патологией в ЭЭГ доминировали полиморфные

билатеральные медленные волны, преобладающие на стороне перенесенного инсульта. Отмечались диффузные негрубые острые потенциалы и признаки дисфункции стволовых структур. Локальные изменения проявлялись в виде снижения амплитуды, более выраженной дезорганизации и преобладания медленной активности и острых потенциалов в задних отделах полушарий, либо в лобных областях билатерально, с акцентом на стороне более пострадавшего сосуда.

Выводы. Проведенное исследование показало важное значение ЭЭГ в оценке функционального состояния мозга у детей с хронической цереброваскулярной недостаточностью различного этиопатогенеза в зависимости от возраста ребенка. Сопоставление данных ЭЭГ при экстра- и интракраниальной патологии выявило более выраженные изменения при стено-окклюзирующих нарушениях в интракраниальных сосудах. На ЭЭГ при этом доминируют медленные формы активности или их сочетание с острыми потенциалами. Экстракраниальная патология приводила к преобладанию в биоэлектрической картине мозга признаков раздражения: учащенный, заостренный альфа-ритм, острые потенциалы, частые колебания. Детальное клинико-нейрофизиологическое обследование с использованием ЭЭГ служило обоснованием для постановки диагноза, определения тактики лечения, показаний и противопоказаний к оперативному вмешательству.

Литература

1. Делягин В.М., Зотова Н.С., Мельникова М.Б., Коновалов Б.Ю., Уразбагамбетов А.У. Нарушения мозгового кровообращения у детей и подростков // Педиатрия, 2011. Т.2. С. 12–15.
2. Казанчян П.О., Валиков Е.А., Лобов М.А. Врожденные деформации сонных артерий у детей // Российский педиатрический журнал. 2008. № 6. С. 17–21.
3. Хачярян В.А. Цереброваскулярная патология у детей. – СПб: Изд-во «Десятка», 2006. 278 с.
4. Чельшева И.А. Характеристика церебральной гемодинамики при дисциркуляторной энцефалопатии // Неврологический журнал. 2004 № 3. С. 22–24.
5. Шевченко Е.В., Усачев Д.Ю., Белоусова О.Б., Лукшин В.А., Львова О.А. Детский инсульт. Реваскуляризирующие и реконструктивные операции у детей с цереброваскулярной патологией. – М.: Изд. ИП «Т.А.Алексеева», 2017. 167 с.
6. Шевченко У.В., Нагорская И.А., Сазонова О.Б., Усачев Д.Ю., Лукшин В.А. Нейрофункциональное состояние головного мозга у детей с хронической церебральной ишемией // Сибирское медицинское обозрение. 2018 № 5. С. 31–40.
7. Bowers K.J. de Veber G.A., Ferriero D.M. Cerebrovascular Disease in Children: Recent Advances in Diagnosis and Management // Journal of Child Neurology. 2011. No. 26 (9). P. 1074–1100.
8. Morais N.M., Ranzan J, Riesgo R.S. Predictors of Epilepsy in Children with Cerebrovascular Diseases // Journal of Child Neurology. 2013. No. 28 (11). P. 1387–1391.

Сведения об авторах

Ольга Борисовна Сазонова

к.м.н

вед.н.с., доцент

Эл. почта: OSazonova@nsi.ru

Елена Викторовна Шевченко

к.м.н.

м.н.с.

Эл. почта: EShevchenko@nsi.ru

Елена Михайловна Трошина

к.б.н.

заведующий лабораторией

Эл. почта: ETroshina@nsi.ru

ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии

им. акад. Н.Н. Бурденко» МЗ РФ

Россия, Москва

Information about authors

Olga B. Sazonova

PhD

Leading Researcher, Associate Professor

E-mail: OSazonova@nsi.ru

Elena V. Shevchenko

PhD

Junior Researcher

E-mail: EShevchenko@nsi.ru

Elena M. Troshina

Ph.D.

Head Dep. Clinical Neurophysiology

E-mail: ETroshina@nsi.ru

N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery

Russia, Moscow

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРИЗНАКОВ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И ЗАДЕРЖЕК РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ

В статье обсуждаются вопросы коморбидности задержек речевого развития у детей и дисплазии соединительной ткани. Представлены результаты собственного исследования на большом фактическом материале и оригинальные выводы

Ключевые слова: дети, задержка развития, дисплазия соединительной ткани

¹Balakireva E., ²Protsenko R.V., ¹Matsura M.M.
¹BelSU

²Children clinical hospital, Belgorod

THE RELATIONSHIP OF THE SIGNS OF CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA AND DEVELOPMENT DELAY OF SPEECH IN CHILDREN

The article discusses the comorbidity of speech development delay in children and connective tissue dysplasia. The results of own research on a large factual material and original conclusions are presented

Keywords: children, developmental delay, connective tissue dysplasia

Введение. Под дисплазией соединительной ткани подразумевается гетерогенная группа заболеваний полигенно-мультифакторной природы, объединенных в фенотипы на основе общности внешних и/или висцеральных признаков. Национальные рекомендации «Наследственные нарушения соединительной ткани» впервые были утверждены и изданы в 2009 г., пересмотрены в 2012 и 2014 г. [1]. Четко очерченная клиническая картина, установленный генный дефект, лабораторное (биохимическое) подтверждение позволяют отнести дисплазию соединительной ткани к дифференцированным вариантам (синдром Марфана, синдром Элерса-Данлоса, несовершенный остеогенез, эластическая псевдоксантома и др.). Если же набор фенотипических признаков не соответствует ни одному из дифференцированных синдромов, возможна постановка диагноза недифференцированной дисплазии соединительной ткани. И в том и в другом случае соединительнотканная дисплазия, затрагивая все органы и системы, проявляется комплексом фенотипических признаков [2].

Полиорганные нарушения возникают в результате сочетанного действия двух ведущих факторов: генетической предрасположенности, обусловленной суммирующим влиянием функциональных полиморфных аллелей большого числа генов, и провоцирующим действием различных внешних факторов [32].

Одним из самых характерных для ДСТ маркеров является генерализованная гипермобильность суставов (ГМС), которая выделена в МКБ 10 в отдельную нозологию (шифр М 35.7) и может быть ведущим признаком как недифференцированной ДСТ, так и части дифференцированных синдромов. ГМС требует тщательного клинического анализа и разностороннего диагностического подхода. Например, в сочетании с гиперрастяжимостью и повышенной ранимостью кожи, атрофичными рубцами, в первую очередь, следует думать о классическом варианте синдрома Элерса-Данло (СЭД) (I/II подтип). Наличие же врожденного вывиха суставов свидетельствует в пользу артрохалазического типа (VII подтип). Обширные кровоподтеки на коже и/или семейный анамнез сосудистых или кишечных разрывов или внезапной смерти являются признаками сосудистого подтипа СЭД (IV). А в сочетании с характерным внешним обликом, подвывихом хрусталика и/или дилатацией аорты или аневризмой, можно предположить синдром Марфана [4].

Одним из методов объективизации диагноза ДСТ по литературным данным важную роль играют биохимические методы исследования. Они позволяют оценить состояние обмена соединительной ткани, уточнить диагноз, прогнозировать течение заболевания. Наиболее информативным является определение уровня оксипролина и гликозаминогликанов в суточной моче, а также лизина, пролина, оксипролина в сыворотке крови [5]. К сожалению, недостаточная информированность о биохимических критериях ДСТ приводит недооснащенности лабораторий, которые могут осуществлять подобную диагностику.

Распространенность в организме человека соединительной ткани обуславливает вовлечение в патологический процесс различных систем органов, часто с неблагоприятными и даже фаталь-

ными последствиями. Данные литературы касаются научных изысканий в области пульмонологии [6,7], кардиологии [8,9], урологии [10,11,12], ортопедии [13,14]. Ключевое значение имеет нервная система, а поскольку нервно-психическое развитие ребенка обеспечивает качество жизни индивидуума, то проблема этапных задержек является одним из самых значимых факторов, определяющих будущее здоровье детей [15].

Цель. Сравнительный анализ частоты встречаемости признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей с органическими поражениями нервной системы.

Объект и методы исследования: под нашим наблюдением находилась группа детей с задержкой речевого развития - п = 273.

Возраст детей от 7 мес. до 15 лет. Все пациенты обратились к врачу-неврологу с жалобами на различные проявления неврологического дефицита.

Критерии включения: задержка речевого развития.

Критерии исключения: возраст детей менее одного года, так как в связи с возрастными особенностями кожи и опорно-двигательной системы детей первого года жизни, достоверно судить о стойкости признаков ДСТ у детей данной возрастной группы невозможно [16].

На основании критериев включения/исключения в исследуемую группу вошли 266 детей. Все дети исследуемой группы прошли клиническое обследование в соответствии со стандартами педиатрического и неврологического осмотров. Помимо этого, пациентам проводилось нейропсихологическое обследование с оценкой уровня речевого и психического развития, определение уровня тревожности, депрессивности, органической и истерической составляющей психологического профиля по стандартным методикам для разных возрастных периодов.

Использовались батареи методик, включающие как стандартизированные тесты и опросники, так и проективные тесты.

Для детей до 5-ти лет: запоминание слов по картинкам, кубики, пирамидки, графические пробы, пробы на внимание (выполнение цепочки действий и др.), наблюдение за игровой деятельностью, с ребенком и/или матерью, наблюдение.

Для детей старше 5 лет: методика исследования интеллекта Векслера (полный вариант и отдельные субтесты: "Повторение цифр в прямом и обратном порядке", "Кодирование" и др.), субтест «Наблюдательность» методики Д.Гриллз, корректурная проба, методики «10 слов», повторение пар слов, «Исключения», пиктограмма, патохарактерологический диагностический опросник Личко (ПДО), цветовой тест отношений (ЦТО), тест Люшера, рисуночные тесты («Дерево», «Несуществующее животное», «Моя семья»), проективное интервью «Волшебная палочка», беседа с ребенком и/или матерью, наблюдение.

В обследование соматической сферы обязательно включалась балльная оценка клинических признаков дисплазии соединительной ткани с использованием количественной оценки суммы признаков.

Лабораторно-функциональное обследование проводилось всем детям и включало ультразвуковые и рентгеновские методы визуализации, в том числе с проведением функциональных проб, рэоэнцефалографию, электрокардиографию (ЭКГ), электроэнцефалографию (ЭЭГ), по показаниям ЭКГ и ЭЭГ мониторинг, магнитно-резонансную томографию, офтальмологическое и психиатрическое обследование.

Ранжирование проводилось по следующим подгруппам:

I подгруппа - дети с изолированной задержкой речевого развития - 124 человека (46,6 %).

II подгруппа – дети с задержкой речевого развития в структуре общей психической и психомоторной задержки развития, в т.ч. аутистикоподобным синдромом - 142 человека (53,4 %).

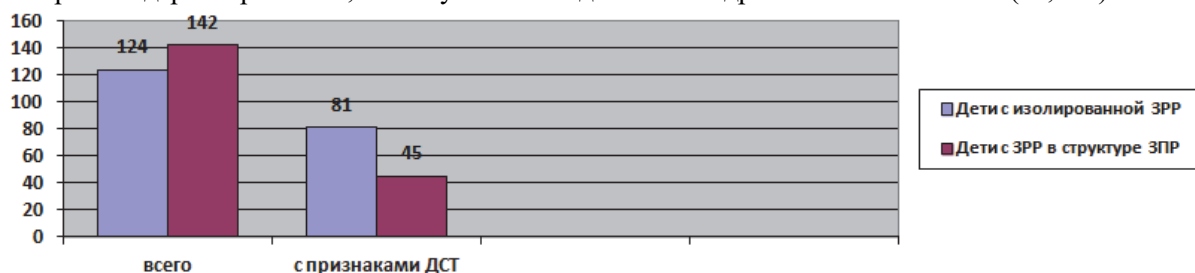


Рис. 1. Число пациентов в двух подгруппах: 1 - с изолированной ЗРР и 2 - в структуре ЗПМР.

Результаты и обсуждение:

В результате исследования наличие признаков НДСТ в каждой подгруппе составило значительный процент: 126 пациентов (47% - $p=266$). Распределение по подгруппам: I – 81 ребенок (65, 3% - $p=124$), II – 45 детей (31, 7% - $p=142$) (рис.1).

При сравнении по критерию Стьюдента выявлена достоверная разница ($p \leq 0,01$) между подгруппами.

Выводы

1. Дети с признаками дисплазии соединительной ткани встречаются с высокой частотой среди детей с задержкой речевого развития – 47% ($p=266$).

2. При сравнительном анализе по критерию Стьюдента двух подгрупп детей с изолированной (темповой задержкой речевого развития) и задержкой речевого развития в структуре общей психомоторной задержки выявлена разница высокой степени достоверности.

3. Необходимо проведение широкого популяционного исследования частоты встречаемости признаков ДСТ у детей с различными отклонениями в нервно-психическом развитии.

Список литературы:

1. Крыганова Т.А. Особенности заболеваний мочевой системы у детей с дисплазиями соединительной ткани / Крыганова Т.А. // Рос. Вестник перинатологии и педиатрии. 2015. № 6. С. 33–37.

2. Правдюк Н.Г., Шостак Н.А. Гипермобильный синдром: клинические проявления, дифференциальный диагноз, подходы к терапии / Правдюк Н.Г., Шостак Н.А. // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2008. № 3. С. 70–75.

3. Неретина А.Ф. Роль соединительнотканной дисплазии в патологии детей и подростков: Учебное пособие. / Неретина А.Ф., Зуйкова А.А., Балакирева Е.А., Анохина В.В., Жерноклеева В.В. – Воронеж, 2014. 142 с.

4. Шостак Н.А. Гипермобильный синдром: взгляд интерниста / Шостак Н.А., Правдюк Н.Г., Котлярова Л.А. // Современная ревматология. 2012. № 1. С. 24–28.

5. Кадурина Т.И., Горбунова В.Н. Дисплазия соединительной ткани: рук-во для врачей. – СПб., 2009. С. 185.

6. Файзиев А.Н. Иммунологический статус детей раннего возраста с бронхиальной астмой при недифференцированной дисплазии соединительной ткани // Молодой ученый. 2017. № 16 (150). С. 92.

7. Иванова И.И. Особенности течения болезней мочевыделительной системы у детей с дисплазией соединительной ткани / И.И.Иванова, С.Ф.Гнусаев, Н.Ю.Коваль // Российский педиатрический журнал. 2014. № 4. С. 32.

8. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани: путь к диагнозу / Т. И. Кадурина, Л.Н. Аббакумова // Вестник Ивановской Медицинской Академии. 2014. № 19 (3). С. 5–11.

9. Кильдиярова Р.Р., Углова Д.Ф. Дисплазия соединительной ткани как конституциональная основа врожденных пороков сердца у женщин и их новорожденных детей. // Архив внутренней медицины. 2015. № 4 (24). С. 38.

10. Калмыкова А.С. Дисплазия соединительной ткани как фоновое состояние у детей с заболеваниями органов мочевой системы. / Калмыкова А.С., Федько Н.А., Бондаренко В.А., Зарытовская Н.В., Галимова О.И., Медведева А.Н. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2017. Т. 12. № 2. С.160.

11. Крупнова М.Ю. Факторы риска развития и прогрессирования ХБП. / М.Ю.Крупнова, М.В. Бондаренко, В.В.Марасаев // Клиническая нефрология. 2012. № 5. С. 53.

12. Смольнова Т.Ю. Клинико-патогенетические аспекты опущения и выпадения внутренних половых органов пр недифференцированных формах дисплазии соединительной ткани / Смольнова Т.Ю., Адамян Л.В. // Кубанский медицинский научный вестник. 2009. № 6 (111). С. 69–73.

13. Тюрин А.В., Давлетшин Р.А., Фархутдинов Р.Р., Зарипова Р.М. Уровни аутоантител к коллагенам I, II типа у женщин с синдромом гипермобильности суставов и остеоартритом // Вестник Челябинского государственного университета. 2013. № 7 (298). Биология. Вып. 2. С. 36–37.

14. Зулкарнеева Э.Р., Мусин З.Х., Малиевский В.А., Сакаева А.Г., Хазиева Н.Е. Гипермобильность суставов детей и подростков© / Спецвыпуск конгресса «Здоровые дети – будущее страны» // Педиатр. 2017. Т. 8. С.132–133.

15. Балакирева Е.А., Михайлов Г.А., Синецкая Д.В., Строкатова А.А. Особенности нервно-психического развития детей с недифференцированной дисплазией соединительной

ткани // Молодежный инновационный вестник. 2016. С.104–106.

16. Балакирева Е.А. Дифференцированный подход к пароксизмальным состояниям у детей раннего возраста / Дис... доктора медицинских наук. – Воронеж, 2011. 287 с.

Сведения об авторах

Елена Александровна Балакирева

д-р мед. наук

проф. каф. педиатрии с курсом детских хирургических болезней

Эл. почта: balakireva26@mail.ru

НИУ БелГУ

Роман Викторович Проценко

гл. врач

Эл. почта: klinik-2010@yandex.ru

ОГБУЗ ДОКБ

Милана Мусаевна Мацура

ординатор кафедры педиатрии с курсом ДХБ

Эл. почта: rursdz@mail.ru

НИУ БелГУ

Россия, Белгород

Information about authors

Elena Balakireva

MD

Professor of Pediatrics Department with a course of pediatric surgical diseases

E-mail: balakireva26@mail.ru

BelSU

Roman V. Protsenko

the chief physician

E-mail: klinik-2010@yandex.ru

Children clinical hospital, Belgorod

Milana M. Matsura

resident physician

E-mail: rursdz@mail.ru

BelSU

Russia, Belgorod

УДК 616.895.8;616-073-7
ГРНТИ 34.55.21

¹Кичук И.В., ²Митрофанов А.А., ³Соловьева Н.В., ¹Чаусова С.В.

¹ГБОУ ВПО РНИМУ им Н.И. Пирогова

²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»

³АО «Научный центр персонализированной медицины»

ДИСКРИМИНАНТНЫЙ И КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭЭГ ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ ЛИЦ БЕЗ ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

В данной работе осуществлялся поиск объективных ЭЭГ-критериев шизофрении и показателей ЭЭГ с использованием линейного дискриминантного анализа (линейной дискриминантной функции) наиболее значимых для различения двух классов: «нормы» и «шизофрении». Получены результаты, демонстрирующие высокую информативность компьютерной ЭЭГ с когерентным и спектральным анализом для диагностики пациентов с шизофренией и дифференциальной диагностики подгрупп пациентов с преобладанием негативных и позитивных симптомов. Изменение показателя значения функции линейной дискриминантной функции может служить индикатором успешности применения данной терапии. Различные изменения количественных показателей ЭЭГ могут указывать на особенности метаболизма дофамина в подгруппах пациентов с шизофренией.

Ключевые слова: ЭЭГ, шизофрения, когерентность, ЛДФ (линейная дискриминантная функция), предикторы.

¹Kichuk I.V., ²Mitrofanov A.A., ³Solov'eva N.V., ³Chausova S.V.

¹Pirogov Russian National Research

²Mental Health Research Center

³Scientific Center of Personalized Medicine

DISCRIMINANT ANALYSIS EEG DATA IN SCHIZOPHRENIA DISORDERS AND HEALTHY HUMAN STATES

In this paper we searched for objective EEG-criteria of schizophrenia and EEG indicators using linear discriminant analysis (linear discriminant function) of the most significant for distinguishing between two classes: "norm" and "schizophrenia". The results demonstrate high informativeness of computer EEG with coherent and spectral analysis for the diagnosis of patients with schizophrenia and differential diagnosis of subgroups of patients with predominance of negative and positive symptoms. The change in the value of the linear discriminant function can serve as an indicator of the success of this therapy. Different changes in the quantitative parameters of EEG may indicate features of dopamine metabolism in subgroups of patients with schizophrenia.

Keywords: electroencephalography, schizophrenia, LDF (linear discriminant function); predictors.

Введение. Ряд спектральных и когерентных характеристик ЭЭГ покоя можно рассматривать в качестве маркеров при различных психических заболеваниях.

В современных работах по данной проблеме проводились оценки уровня риска восприимчивости к шизофрении у детей и подростков, анализировались процессы нейронной синхронности и связывания, лежащие в основе когнитивных расстройств при шизофрении, рассматривались вопросы дифференциальной диагностики при различных типах шизофрении. Вместе с тем, не приводятся критерии в количественном выражении, по которым возможно дифференцирование шизофренических расстройств от нормы (1-6).

Цель исследования. поиск объективных ЭЭГ-критериев шизофрении, поиск показателей ЭЭГ с использованием линейного дискриминантного анализа наиболее значимых для различения двух классов, «нормы» и «шизофрении», получение линейной дискриминантной функции (ЛДФ) для классификации в два класса.

Пациенты и методы. Обследовано 220 пациентов с шизофренией и 1400 человек без психиатрической патологии, сопоставимых по возрасту и полу.

ЭЭГ регистрировали с использованием 16 отведений по системе «10–20» и ушных референтных электродов с последующим спектральным и когерентным анализом.

Исходные данные были случайным образом разделены на обучающие, подтверждающие (validation samples) и тестовые выборки (test samples).

Диагноз «Шизофрения» ставился в соответствии с диагностическими критериями МКБ-10. Условиями включения в группу пациентов также являлись отсутствие антипсихотической терапии в течение 2-х и более месяцев, а давность заболевания составляла больше 1 года. Группе пациентов дополнительно проводилась оценка позитивных и негативных синдромов с помощью шкалы PANSS. Средний общий балл составил $85,5 \pm 24,4$, что свидетельствует о выраженности психотической симптоматики у обследуемых с различными формами шизофрении. 98% пациентов с шизофренией имело параноидную форму заболевания (включая непрерывное и приступообразно-прогредиентное течение). При этом средний балл по шкале позитивных синдромов составил $20,4 \pm 5,9$ баллов, по шкале негативных синдромов — $23,8 \pm 8,8$ баллов.

Результаты

Использовалась программа дискриминантного анализа разработанная Митрофановым А.А., при поддержке ООО Научно-медицинской фирмы «Статокин», Москва.

В программе реализована процедура пошагового включения и исключения предикторов, а также возможность перебора всех комбинаций предикторов из заданного множества параметров ЭЭГ — кандидатов в предикторы.

Максимальное число исходных параметров ЭЭГ 10000, приведенных к нормальному распределению, из которых можно сформировать набор переменных — кандидатов в предикторы. Использован метод пошагового включения предикторов для сокращения их числа до 50–150 наиболее информативных переменных, чтобы вычисления не были слишком длительными. При применении метода пошагового включения предикторов возможно загрузить в обработку до 10000 спектральных параметров ЭЭГ, включая показатели мощности, относительной мощности, асимметрии, когерентности как для стандартных частотных полос дельта, тэта, альфа, бета1, бета2, так и для частотных полос с шагом 1, 1,5 и 2 Гц для 16 стандартных каналов.

Перед проведением поиска предикторов ЛДФ методом перебора всех комбинаций-задаются пороги чувствительности и специфичности ЛДФ обоих классов обучающих и подтверждающих выборок, при этом результаты ниже этих порогов не рассматриваются. Сначала задается один предиктор, и результаты различения по всем однопредикторным ЛДФ выводятся в таблицу Excel. При этом возможно исключить те независимые переменные, которые обеспечивают разделение классов с низкой чувствительностью (меньше 50%) или имеют слишком большую корреляцию с другими переменными. Затем перебираются все варианты сочетания предикторов для 2-х предикторных, 3-х предикторных и т.д. ЛДФ. Число предикторов в ЛДФ увеличивается до тех пор, пока чувствительность и специфичность ЛДФ не перестают улучшаться или пока позволяют вычислительные мощности компьютера. Полученные дискриминантные функции могут тестироваться на экзаменационной выборке и на обучающей выборке, методом «скользящего экзамена» и, при возможности, на других контрольных и тестирующих выборках.

В результате проведенного дискриминантного анализа методом перебора комбинаций с порогами 85% для обучающих и подтверждающих выборок нами были получены ЛДФ, из которых отобрана наилучшая формула, включающая 5 предикторов, с наилучшими результатами для обеих контрольных групп, подтверждающими оценку не менее 80% чувствительности и специфичности дискриминантного правила.

В формулу вошли показатели спектральной мощности в диапазоне частот 4-8 Гц и в диапазоне частот 0,5-30 Гц в отведении F3, показатель спектральной мощности в диапазоне 20-21,5 Гц в отведении F4; коэффициенты внутрислоушарной когерентности в частотном диапазоне 12-13 Гц между отведениями T3-O1, в частотном диапазоне 29-30,5 Гц между отведениями F3-C3 и в частотном диапазоне 5-6 Гц между отведениями T4-C4.

Полученная линейная дискриминантная формула для классификации ЭЭГ в группу шизофрении или нормы имеет вид:

$$Y = -0,82-A - 0,13 B - 0,39 C - 0,14 D - 0,73 E;$$

где:

A = $\ln(S/(100 - S))$, где S - отношение мощности в диапазоне 4-8 Гц к суммарной мощности в диапазоне 0,5-30 Гц, в процентах, на отведении F3;

B = $\ln(K/(1 - K))$, где K – квадрат модуля когерентности (КМК) между парой электродов T3-O1 в частотном диапазоне 12-13 Гц;

C = $\ln(K/(1 - K))$, где K – КМК между парой электродов F3-C3 в частотном диапазоне 29-30,5 Гц;

D = $\ln(K/(1 - K))$, где K – КМК между парой электродов T4-C4 в частотном диапазоне 5-6 Гц;

E - натуральный логарифм спектральной мощности в диапазоне 20-21,5 Гц в отведении F4.

При значении показателя Y меньше нуля у испытуемого диагностируют шизофрению.

Все предикторы входят в данную формулу со знаком минус, то есть увеличивают вероятность отнесения ЭЭГ к классу «шизофрении».

Помимо самой формулы ЛДФ для различения нормы и шизофрении и входящие в неё предикторы представляет интерес также предикторы, наиболее часто встречающиеся в отобранных дискриминантных функциях при разделении нормы и шизофрении при заданных порогах чувствительности и специфичности поиска, так как следует ожидать, что именно эти параметры ЭЭГ вносят наибольший вклад в различии класса нормы и шизофрении.

В Таблице представлены предикторы с частотой появления более 10% для ЛДФ с 5 предикторами. Возрастание значения предикторов со знаком минус увеличивают вероятность отнесения пациента в группу шизофрении, а со знаком плюс – в группу нормы.

Таблица

Частота появления предикторов в найденных ЛДФ для дискриминации класса нормы и шизофрении.

| № | Предиктор | Найдено | % | Со знаком + | Со знаком - |
|---|---------------------|---------|-------|-------------|-------------|
| 1 | $\ln(P)(F4)20-21,5$ | 478 | 95,6% | 0 | 478 |
| 2 | LRP(F3)4-8 | 477 | 95,4% | 0 | 477 |
| 3 | LCoh(F3-C3)20-21 | 268 | 53,6% | 0 | 268 |
| 4 | LCoh(T5-O1)29-30,5 | 219 | 43,8% | 0 | 219 |
| 5 | LCoh(T3-C3)27,5-29 | 140 | 28,0% | 0 | 140 |
| 6 | LRP(F8)10-11 | 66 | 13,2% | 66 | 0 |

При нейрофизиологической интерпретации результатов дискриминантного анализа, можно сделать вывод, что наибольшая информативность при различении двух классов пациентов наблюдается для такого параметра, как мощность тета ритма в левой передне-центральной области и бета1 ритма в правой передне-центральной области, а также внутрислоушарная когерентность в бета диапазоне в левом полушарии, отражающая степень интеграции биоэлектрических процессов в парах электродов на коротких внутрислоушарных расстояниях. Данные предикторы имеют отрицательный знак, то есть увеличивают вероятность ЭЭГ к классу шизофрении. Из положительных предикторов, увеличивающих вероятность отнесения ЭЭГ к классу норма, наиболее информативными предикторами являются показатели мощности альфа активности в правой передне-височной области.

Заметим, что попытка дискриминации только по мощности или канонограммам (отношение мощностей различных частотных полос) удовлетворительных результатов не дала, хотя при сравнении с помощью критерия Стьюдента по данным параметрам были получены наиболее значимые различия.

При сравнении групп пациентов по выраженности позитивных или негативных симптомов в группе пациентов с преобладанием негативных симптомов отмечалось снижение показателей внутрислоушарной когерентности в дельта диапазоне с двух сторон в задних отделах (P3-T3, O2-T4) и в бета1 диапазоне в левых задних отделах (T3-T5). Также снижение межполушарной когерентности в дельта диапазоне в передних отделах на длинных и коротких межэлектродных расстояниях (Fp1-F8, Fp1-T6). Повышение внутрислоушарной когерентности наблюдалось в тета диапазоне в левых передних отделах (Fp1-C3) и в бета2 диапазоне справа (T4-T6).

При проведении корреляционного анализа спектральных показателей ЭЭГ (процентная мощность ритмов от 1 до 30 Гц с шагом 1 Гц) и концентрации дофамина в плазме крови у пациентов с преобладанием негативной или позитивной симптоматики получены следующие значимые корреляционные соотношения:

В группе пациентов с преобладанием негативной симптоматики отмечена положительная корреляция концентрации дофамина и процентной мощности ритма 11-12 Гц в левых височных отведениях, 12-14 Гц в левом полушарии и правых центрально-теменных отведениях, 14-16 Гц правых и левых центрально-теменных отведениях, 19-22 Гц в левых центрально-теменных отведениях, при этом отмечалась отрицательная корреляция с процентной мощностью 6-7 Гц в левых височных и передне-центральных отделах, таким образом, у пациентов с негативной симптоматикой с увеличением концентрации дофамина был более выражен паттерн десинхронизации (увеличение индекса в быстрых ритмах и снижение индекса в тета диапазоне), более выражено в левом полушарии.

У пациентов в позитивной симптоматикой при увеличении концентрации дофамина, напротив, был более выражен паттерн синхронизации с уменьшением индекса ритмов в бета2 диапазоне 22-30 Гц преимущественно в теменных отведениях, без латерализации.

Значимые коэффициенты корреляции спектральной мощности и концентрации дофамина приведены на рисунке 1.

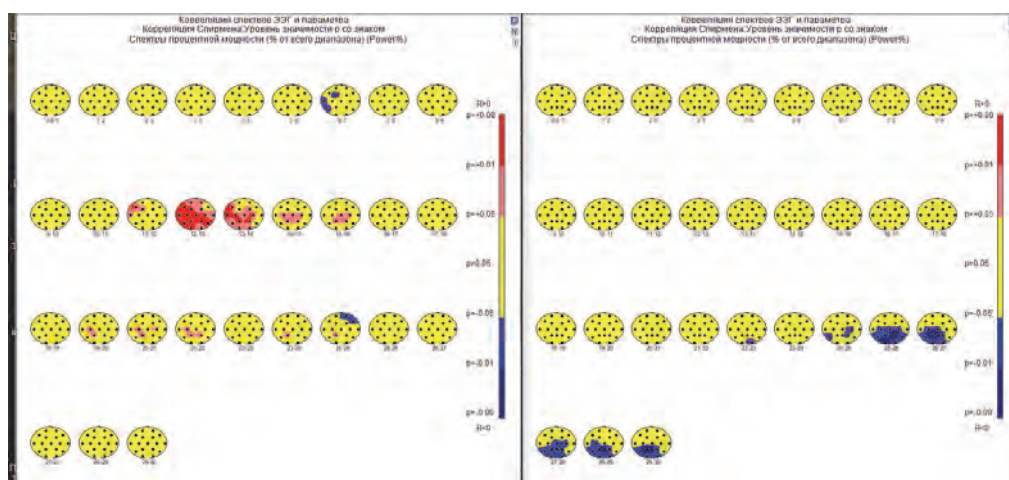


Рис. 1. Слева – коэффициенты корреляции процентной мощности и концентрации дофамина в группе пациентов с негативной симптоматикой, справа – с позитивной (красный цвет – положительная корреляция, синий – отрицательная, желтый- не значимые коэффициенты).

Такой различный характер влияния концентрации дофамина на показатели ЭЭГ в разных подгруппах свидетельствует о разных патогенетических механизмах нарушения обмена дофамина при негативной и позитивной шизофрении.

Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются результаты, демонстрирующие высокую информативность компьютерной ЭЭГ с когерентным и спектральным анализом для диагностики пациентов с шизофренией и дифференциальной диагностики подгрупп пациентов с преобладанием негативных и позитивных симптомов. Изменение показателя значения

функции ЛДФ может служить индикатором успешности применения данной терапии. Различные изменения количественных показателей ЭЭГ могут указывать на особенности метаболизма дофамина в подгруппах пациентов с шизофренией.

Литература

1. Мельникова Т.С., Сторожакова Я.А., Саркисян В.В. Использование когнитивного анализа ЭЭГ при проведении диагностики больных параноидной шизофренией. // Функциональная диагностика. 2011. № 1. С. 48–49.
2. Стрелец В.Б., Новотоцкий-Власов В.Ю., Голикова Ж.В. Корковые связи у больных шизофренией с позитивными и негативными симптомами // Журнал высшей нервной деятельности. 2001. Т. 51. № 4. С. 452–460.
3. Bob P et al. EEG phase synchronization in patients with paranoid schizophrenia // Neurosci. Lett. 2008. Vol. 447. P. 73–77.
4. Lorenzo G. Di, Daverio A., Ferrentino F., Santarnecchi E., Ciabattini F., Monaco L., Lisi G., Barone Y., Lorenzo C. Di, Niolu C., Seri S., Siracusano A. Altered resting-state EEG source functional connectivity in schizophrenia: the effect of illness duration, Front. Hum. Neurosci. 9 (2015). doi:10.3389/fnhum.2015.00234
5. Spironelli C., Angrilli A., Calogero A., Stegagno L. Delta EEG band as a marker of left hypofrontality for language in schizophrenia patients, Schizophr. Bull. 37 (2011) 757–767. doi:10.1093/schbul/sbp145.
6. S.F. Timashev, O. Yu. Panishev, Yu. S. Polyakov, S. A. Demin, A. Ya. Kaplan Analysis of cross-correlations in EEG signals as an approach to proactive diagnosis of schizophrenia Physica A: Statistical Mechanics and its Applications. 2012. T. 391. N. 4. C. 1179–1194.

Сведения об авторах

Ирина Викторовна Кичук

доцент кафедры неврологии нейрохирургии и медицинской генетики лечебного факультета

Эл. почта: mail2irina@mail.ru

ГБОУ ВПО РНИМУ им Н.И. Пирогова

Андрей Алексеевич Митрофанов

научный сотрудник

Эл. почта: brainsys@yandex.ru

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»

Надежда Валентиновна Соловьева

врач психиатр, директор

Эл. почта: drsnv@yandex.ru

Научный центр персонализированной медицины

Светлана Витальевна Чаусова

профессор

зав. кафедрой общей патологии

Эл. почта: svetlana_chau@mail.ru

МБФ ГБОУ ВПО РНИМУ им Н.И. Пирогова

Россия, Москва

Information about authors

Irina Viktorovna Kichuk

associate Professor of neurology, neurosurgery and medical genetics, faculty of medicine

E-mail: mail2irina@mail.ru

Pirogov Russian National Research

Andrey Alekseevich Mitrofanov

research fellow

E-mail: brainsys@yandex.ru

Mental Health Research Center

Nadezhda Valentinovna. Solovyova

psychiatrist, Director

E-mail: drsnv@yandex.ru

Scientific Center of Personalized Medicine

Svetlana V. Chausova

professor

head. Department of General pathology

E-mail: svetlana_chau@mail.ru

Pirogov Russian National Research

Russia, Moscow

УДК 616.831

¹Гнездицкий В.В., ²Айвазян С.О., ³Кузнецова Е.И.

¹ФГБНУ «Научный центр неврологии»

²Клиника Невро-Мед

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Минздрава России

ИСТОРИЯ КЛАССИФИКАЦИИ ЭЭГ И АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ КОМПЬЮТЕРНЫХ ЗАКЛЮЧЕНИЙ

В работе обсуждаются основные проблемы, связанные с написанием заключений по ЭЭГ и их востребованностью для неврологов и других специалистов. Представлен исторический аспект классификации ЭЭГ и его использования для написания заключений основанный на анализе паттернов ЭЭГ. Отражение на ЭЭГ органических и функциональных нарушений. Приведены современные международные рекомендации по написанию заключений ЭЭГ.

Ключевые слова: ЭЭГ, метод, диагностика, обзор.

¹Gnezditsky V.V., ²Ayvazyan S.O., ³Kuznetsova E.I.

¹FSBE "Scientific Center of Neurology"

²Clinic Nevro-Med

³FSBI "National Medical Research Center of Oncology named after NN Blokhin" of the Ministry of Health of Russia

HISTORY OF EEG CLASSIFICATION AND AUTOMATED COMPUTER REPORTS

The paper discusses the major issues. involved in writing reports on EEG and their demand for neurologists and other specialists. Submitted to the historical aspect of EEG classification and use it for writing conclusions based on the analysis of EEG patterns. Reflection on the EEG of organic and functional disorders. Given current international guidelines for writing EEG reports. History of EEG classification and automated computer reports

Keywords: EEG, method, diagnosis, overview.

Введение. Метод ЭЭГ появился с конца 20-30 годов и связаны с именем Ганса Бергера. Большие диагностические возможности ЭЭГ, при регистрации электрических процессов мозга (мозговых волн), привели к их интенсивному клиническому применения в особенности в диагностике и контроле за лечением эпилепсии как золотой стандарт в диагностике этого заболевания. Развитие компьютерной техники и появление персональных компьютеров в начале 90-х годах позволило внедрить компьютерную электроэнцефалографию и отказаться от громоздких перьевых, бумажных приборов. Компьютерная ЭЭГ имеет большие преимущества, как при записи ЭЭГ, так и при ее расшифровке и при хранении информации. Основная польза компьютерной ЭЭГ заключается в том, что исключается запись на бумажном носителе, запись ЭЭГ проводится непосредственно в компьютер и расшифровка ЭЭГ производится путем просмотра записи ЭЭГ непосредственно на экране компьютера. Появилась возможность также более легкой записи многоканальных ЭЭГ (20-30) в течении длительного времени от суток и до недели и привлечения достаточно сложных методов обработки для написания заключений. Возможность появления компактных носимых ЭЭГ систем позволили производить регистрацию ЭЭГ на дому, в палатах интенсивной терапии, операционной. В настоящее время имеется ряд отечественных компьютерных ЭЭГ систем сопоставимых с их зарубежными аналогами. Разработаны также и компактные шлемы разных размеров для ЭЭГ, представляющих большие удобства при постановки большего числа электродов. Такие шлемы позволяют быстро снарядить больного для ЭЭГ обследования. Получили распространение и различные компьютерные системы обработки записанной ЭЭГ информации – спектральный и когерентный анализ, методы картирования и трехмерной локализации источников электрической активности мозга и др. После появления в 90 годах компьютерной ЭЭГ стало легко записывать, расшифровывать и хранить ЭЭГ-информацию, получать автоматизированные заключения и, тем не менее, проблема противоречивости, непонятности, неоднозначности информации, даваемой разными специалистами по ЭЭГ, только возросла. И этот факт явился, чуть ли не основной составной частью проблем, приводящих к потере интереса среди неврологов к ЭЭГ (ВП), плохое понимание ими возможности методов вообще. Этой проблемой озабочена и Международная ассоциация клинических нейрофизиологов и ЭЭГ-сообществ. Еще в 1985 г в литературе стал осуждаться вопрос о вариабельности написания заключений ЭЭГ разными специалистами и последующее обсуждение этой проблемы[1]. Основной вывод из этого обсуждения

состоял в том, что при такой вариабельности разбросов заключений по ЭЭГ у неврологов может совсем потеряться интерес к методу. В связи с этим в Американских, а затем и Международных руководствах – guidelines - появились рекомендации «по написанию заключений ЭЭГ в клинической практике» (1994-1999-2004-2006гг).

В этом обзоре мы рассмотрим основные вехи связанные с классификацией ЭЭГ и написания их заключений в следующих разделах.

1. Экскурс в историю классификаций ЭЭГ. Связь компонент ЭЭГ с физиологическими процессами.

2. Первые классификации ЭЭГ : Дэвис ,1942; Бериташвили ,1943 , Гасто 1954 ; Попытки связать ЭЭГ с конституцией человека и его и психологическими особенностями : Манди Касл,1957; Вире ,1957 и др.

3. Классификация ЭЭГ и припадков. Нозологическая специфичность и неспецифичность паттернов ЭЭГ. Классификация типов ЭЭГ при эпилепсии: Джибс , Ленкос,1937; Джаспер , 1942, Пенфильд, Джаспер, 1954 ; Зенков, 1997,2013.

4. Паттерны ЭЭГ в норме и при патологии. Отражение в ЭЭГ органических и функциональных нарушений .Зенков, 1997,2013.

5. Заключения ЭЭГ на основе анализа паттернов ЭЭГ.

- Жирмунская Е.А. 1964, 1987. Классификация ЭЭГ и формирование заключения.

- Зенков Л.Р., 1997.Тезареус ЭЭГ и принципы формирования клинико – ЭЭГ заключения .

- Людерс и Ноахтар, 1995. Атлас и классификация ЭЭГ .

- Нидермаер . Атлас и основы классификации ЭЭГ в норме и при патологии 1999.Вопросы написания заключения по ЭЭГ.

-Guideline 7: Guidelines for Writing EEG Reports .AmericanClinicalNeurophysiologySociety (2009).

- Гнездицкий В.В. , Дубинская О.И О написании клинических заключений по ЭЭГ с учетом международных рекомендаций (Функциональная диагностика. № 4 2010. С. 59–78.)

6. Грей Уолтер и его вклад в классификации и описания ЭЭГ . «Живой мозг , 1966».

- паттерн ЭЭГ и его значение.

- откровения мелькающего света,

- признаки личности (« различия в способах мышления»)

- что происходит в мозге при выработке условного рефлекса.

ГрейУолтер за гранью бодрствования:

- генез и функциональная значимость К-комплексов сна.

7.Guideline 7: Guidelines for Writing EEG Reports .AmericanClinicalNeurophysiologySociety (2009). Международные рекомендации по написанию заключений по ЭЭГ.

8. Компьютерная ЭЭГ и принципы классификации; ее описания отношение к написанию заключений .

9. Европейский стандарт написания заключения по ЭЭГ : Стандартизированная компьютерная система для написания заключения по ЭЭГ (SCORE :Standardized Computer-based Organized Reporting of EEG . Beniiczky, Auriolien,Brogeretal. Epilepsia, 20013, 54 (6) 1112-1124).

Заключение. В историческом обзоре показано большое значение анализа мозговых волн и мозговых картинок для интерпретации ЭЭГ и написания клинических заключений.

Литература

1. Гнездицкий В.В. Кошурникова Е.Е.,КорепинаО.С.,Скоморохов А.А. Анализ реакций ЭЭГ на гипервентиляцию (тренды и дипольная локализация): проблемы интерпретации // Функциональная диагностика. 2010. № 1. С. 13–25.

2. Гнездицкий В.В. Обратная задача ЭЭГ и клиническая электроэнцефалография. –М.: МЕДпресс-информ, 2004.

3. Гнездицкий В.В. Электроэнцефалография. Использование ЭЭГ и ВП в практике врачебно-летней экспертизы. Приложение III.2 // Методы медицинского освидетельствования авиационного персонала гражданской авиации: методическое пособие для врачебно-летних экспертных комиссий гражданской авиации. – М.: Воздушный транспорт, 2004. С. 153–165.

4. Гнездицкий В.В., Захаров С.М., Корепина О.С., Кошурникова Е.Е. Современные технологии длительного мониторинга ЭЭГ и полиграфических показателей в неврологической практике (ЭЭГ-холтер в неврологической практике) // Анналы экспериментальной и клинической неврологии. 2009. № 3. С. 25–34.

5. Гнездицкий В.В., Корепина О.С., Пирлик Г.П. Станет ли ЭЭГ и ВП методом нейровизуализации? Биоуправление – 4. Теория и практика, –Новосибирск, 2002. С. 313-328 с.
6. Жирмунская Е.А. В поисках объяснения феномена ЭЭГ. НПП Биола. М,1995. С. 117.
7. Зенков Л.Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии) –М.: Медпресс-информ, 2004. Принципы формирования клинико-ЭЭГ заключения, «ЭЭГ –тезаурус» С. 108–110.
8. Майорчик, В.Е. Клиническая электроэнцефалография. – М.: Медицина, 1973. С. 73–106
9. Перкин Г.Д. Диагностические тесты в неврологии. –М.: Медицина, 1994. С. 18–23.
10. Cooper R., Binnie C.D., Billing R. Techniques in Clinical Neurophysiology. A Practical manual., Elsevier, London.,2005., 498ps Clinical EEG reports, 241–247.
11. Daly D.D., Pedley T.A. (eds.) Current practice of clinical electroencephalography, 2nd ed. N.-Y., Raven Press, 1999. The clinical EEG report 141-143
12. Deuschl G., Eisen A. (Eds) Recommendation for the practice of Clinical Neurophysiology: guidelines of the Intern. Federation of Clinical Neurophysiology / EEG and Clin. Neurophysiol. 1999. Suppl. 52. 304 pp.
13. Engel J. et al Syllabus for Clinical Electroencephalographers // J. Clin. Neurophysiol. 1994. Vol. 11 N. 1. P. 1331994–143.
14. Fisch B. Spehlmann's EEG primer, 2nd ed. / Amsterdam, Elsevier, 1991. The EEG report /509-517; A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers. 519-535.
15. Gerloff Ch., Buchara K., Sailer A., et al. Multimodal imaging of brain reorganization in motor areas after stroke. Brain, 2006, 129. 791–809.
16. Gilmore RL (Ed) American EEG society . Guidelines in EEG ,EP.and polysomnography // J. Clin. Neurophysiol. 1994. Vol. 11 N. 1. 145 ps.
17. Goldensohn ES, Legatt AA, Wolf SM. EEG interpretation: problems of over reading and underreading. Second revised and updating edition. – N.-Y. Futura Publish. Co., 1999.
18. Goldensohn F.S. (Ed.) EEG Interpretation / Raven., –N.-Y., 1998.
19. Kostopoulos G., Gotman J. Computer assisted analysis of relation between single-unit activity and spontaneous EEG. EEG and Clin. Neurophysiol., 1984. 57. 69–82.
20. Luders H.O, Noachtar S. Atlas and classification of electroencephalography. EEG report., 2000. 3–8.
21. Mauguiere F. In XXVIII Inter.Congress.Clin.Neurophys. Edinburg, Sep. 2006 Clin Neurophys, v117, Suppl1., 2006
22. Mulert C, Lemieux L/(Eds) EEG and fMRI . Physiological Basis, Technique and application. Springer., 2010. 539 ps
23. Niedermeyer E., Lopes da Silva FH (eds). EEG: basic principles, clinical application, and related fields ., 5th edn., Lippincot, Williams & Wilkins, 2005, NY.
24. Quigg M. EEG Pearls. Mosby, Philadelphia, 2006. 285 ps.
25. Torres F, Ellingson RJ, Klass DW, Mattson RH. Guideline Eight: Guidelines for writing EEG Reports // J. Clin. Neurophysiol. 1994. Vol. 11. N. 1. 37–40.
26. Williams G. W, Luders H.D., et al Interobserver variability in EEG interpretation // Neurology. 1985, 35. 1714–19.

Сведения об авторах

Виктор Васильевич Гнездицкий

д-р. биол. наук

профессор

E-mail: gnezdvv@mail.ru

ФГБНУ «Научный центр неврологии»

Сергей Оганесович Айвазян

канд. мед. наук

E-mail: gnezdvv@mail.ru

Клиника Невро-Мед

Елена Ивановна Кузнецова,

д-р. биол. наук

Старший научный сотрудник,

E-mail: kuznetsovaeeg@mail.ru

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии

имени Н.Н.Блохина» Минздрава России

Россия, Москва

Information about authors

Victor Vasilievich Gnezditsky

dr. biol. of science

Professor

E-mail: gnezdvv@mail.ru

FSBE "Scientific Center of Neurology"

Sergey Oganosovich Ayvazyan

Cand. honey. of science

E-mail: gnezdvv@mail.ru

Clinic Nevro-Med

Elena Ivanovna Kuznetsova

dr. biol. of science

Senior Researcher,

E-mail: kuznetsovaeeg@mail.ru

FSBI "National Medical Research Center of Oncology

behalf of NN Blokhin Ministry of Health of Russia

Russia, Moscow

УДК 616.12.-009.72-
085.849.11(045)-
611.018.8
ГРНТИ 34.19.19

¹Реутов В.П., ²Самосудова Н.В., ³Сорокина Е.Г.,
³Сурин А.М., ⁴Шарипов Р.Р., ³Пинелис В.Г.
¹ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
²ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН
³ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей МЗ РФ
⁴ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии

НЕЙРОНЫ МОЗЖЕЧКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГЛУТАМАТА (GLU) И NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ (NO).

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

В работе исследовали ультраструктурные и цитохимические изменения в нейронах и в химических синапсах, образованных аксонами зернистых клеток и шипиками дендритов клеток Пуркинье при воздействии глутамата (Glu) и NO-генерирующего соединения в широком диапазоне их концентраций (10 мкМ – 1 мМ).

Ключевые слова: мозжечок лягушки, зернистые клетки лягушки и крысы, клетки Пуркинье, глиальные клетки, глутамат, NO-генерирующие соединения, цикл NO.

¹Reutov V.P., ²Samosudova N.V., ³Sorokina E.G.,
³Surin A.M., ⁴Sharipov R.R., ³Pinelis V.G.
¹Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS
²A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems of RAS
³National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the
RF
⁴Institute of general pathology and pathophysiology

CEREBELLAR NEURONS AFTER EXPOSED TO THE ACTION OF GLUTAMATE (GLU) AND NO-GENERATING COMPOUNDS (NO).

ULTRASTRUCTURAL AND CYTOCHEMICAL CHANGES

The study investigated ultrastructural and cytochemical changes in neurons and chemical synapses formed by axons of granular cells and spines of Purkinje cell dendrites when exposed to glutamate (Glu) and NO-generating compounds in a wide range of their concentrations (10 μm – 1 mm).

Keywords: frog cerebellum, frog and rat granule cells, Purkinje cells, glial cells, glutamate, NO-generating compounds, NO cycle.

Основными нейронами мозжечка являются зернистые клетки и клетки Пуркинье [1–4]. Аксоны зернистых клеток образуют с шипиками дендритов клеток Пуркинье синапсы [2–11]. В последние десятилетия исследователи обратили внимание на то, что протяженность активных зон (АЗ) синапсов, объем и форма пре- и постсинаптических нейронов, а также размеры шипиков дендритов клеток Пуркинье, способны увеличиваться при ишемии/гипоксии и функциональной нагрузке [12]. Эти структурные изменения коррелируют с улучшением процессов запоминания и обучения [13–15]. Анализ данных литературы (главным образом, результатов функциональной магнито-резонансной томографии мозга) и результаты собственных исследований позволили высказать предположение о том, что активация NO-синтазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота обеспечивают расширение сосудов и увеличивают приток крови к тем зонам/участкам головного мозга, которые активно работают и нуждаются в снабжении мозга нейронов и глиальных клеток кислородом и питательными веществами (глюкозой) [16]. В дальнейшем это предположение стало новой рабочей гипотезой о том, что цикл оксида азота вместе с его NO-синтазной и нитритредуктазной компонентами, обеспечивает непрерывную поставку и регенерацию объемного нейротрансмиттера NO для осуществления глутаматергической и NO-ергической передачи и играет важную роль интегрирующего элемента в функциональной системе мозга, включающей нейроны, глию и капилляры в норме и при гипоксии/ишемии [16, 17].

В норме активные зоны синапсов, как правило, имеют форму слегка выпуклую или близкую к прямолинейной. Изменения, происходящие в области синапса при эксайтоксическом воздействии Glu (1 мМ) характеризуются значительными увеличениями объема шипиков дендритов, а в присутствии избытка NO-генерирующего соединения (1 мМ NaNO₂) – значительными изменениями объема ботона (варикозного расширения терминального конца аксона пресинаптического нейрона), инкапсулирующих шипики [17]. Интересно отметить, что во всех случаях при воздействии токсических доз Glu или NO-генерирующего соединения увеличивается протяженность активных зон синапса [17, 18].

Ранее было установлено, что NO является индуктором пространственного перераспределения белков из растворимого в мембранно-связанное состояние [19–21]. Поэтому мы полагаем, что изменения протяженности и ширины *активной зоны синапса* обусловлено, прежде всего, воздействием NO. Что же касается изменений объема пресинаптического или постсинаптического нейронов при воздействии Glu или NO, то наиболее чувствительной является та часть нейрона, которая наименее адаптирована к данному соединению [22–34]. Так, например, варикозные расширения терминального конца аксона пресинаптического нейрона – бутоны, содержащие синаптические пузырьки с нейромедиатором Glu, практически не меняют свой объем при токсическом воздействии Glu. Однако они очень чувствительны к воздействию NO-генерирующего соединения. Оксид азота, как указывалось выше, участвует в механизмах обратной связи. Это соединение не образуется в бутоне аксона пресинаптического нейрона. NO поступает в пресинаптический нейрон, как сигнал из постсинаптического нейрона, когда в последнем повышается внутриклеточная концентрация ионов Ca^{2+} и активируются конститутивные NO-синтазы. Обратная картина наблюдается в шипиках дендритов [17].

Шипики дендритов, содержащие Glu-рецепторы (NMDA-, AMPA-типа и метаботропные Glu-рецепторы) и по своей природе, являющиеся мишенью воздействия Glu, при токсическом воздействии этого нейромедиатора отвечают значительным увеличением его объема [12]. При воздействии NO-генерирующего соединения в значительной степени увеличивается объем бутонов, инкапсулирующих шипики [17, 18]. При этом бутоны могут «окутывать» шипики дендритов. Предполагается, что увеличение объема шипиков и бутонов происходит вследствие дезэнергизации митохондрий (в некоторых случаях вследствие их отека и разрушения) и нарушения ионного гомеостаза, за счет снижения активности Ca^{2+} -АТФ-азы и Na^+/K^+ -АТФ-аз в условиях энергетического дефицита, вызванного разобщением окислительного фосфорилирования в присутствии Glu или ингибирования электронно-транспортной цепи митохондрий NO-генерирующим соединением [35–41]. Эти предположения основаны на исследованиях на культуре зернистых клеток мозжечка при токсическом воздействии Glu и анализе энергетических функций митохондрий (в том числе и синтеза АТФ) нейронов в норме и при токсическом воздействии Glu (100 мкМ) [43].

Экспрессия в нейронах АТФ-чувствительного флуоресцентного белкового сенсора позволила обнаружить с помощью эпифлуоресцентной микроскопии изменения формы и, соответственно, объема сомы и набухание отдельных участков аксонов и дендритов при действии Glu. Аналогичные изменения сомы нейронов были зафиксированы при измерениях $[Ca^{2+}]_i$, когда синхронно с измерением $[Ca^{2+}]_i$ флуоресцентные сигналы Ca^{2+} индикатора Fura-FF использовали для измерения объема тела клеток. Хотя традиционная эпифлуоресцентная микроскопия не обладает достаточным разрешением для надежной идентификации как индивидуальных шипиков, так и включенных в синаптические бутоны, можно с высокой вероятностью полагать, что шипики тоже набухали при токсическом действии Glu. При синхронных измерениях $[Ca^{2+}]_i$ и $[Na^+]_i$, или $[Ca^{2+}]_i$ и [АТФ] в одних и тех клетках мы обнаружили, что при добавлении Glu набухание сомы клеток происходит быстрее роста $[Ca^{2+}]_i$. При отмывании Glu восстановление объема сомы происходит медленнее, чем снижение $[Ca^{2+}]_i$. Сопоставление сигналов флуоресцентных индикаторов Ca^{2+} , Na^+ и АТФ-сенсора позволили предположить, что изменения осмолярности цитозоля и объема тел нейронов зависит от $[Na^+]_i$ и, по-видимому, модулируется $[Ca^{2+}]_i$ через структуру цитоскелета и Ca^{2+} -зависимую активность митохондрий по производству АТФ [36 – 41].

Анализируемые нами данные хорошо согласуются с другими данными литературы, опубликованными в сотрудничестве с российскими и зарубежными коллегами [49–99, 105]. Они также хорошо дополняют и согласуются с обобщающими медико-биологическими концепциями [98–111], опубликованными во второй половине XX – начале XXI в. [100–104].

Работа выполнена при поддержке РАН и частично грантами РФФИ 17-15-01487 и РФФИ 17-00-00106

Литература

1. *Sotelo C.* Ultrastructural aspects of the cerebellar cortex of the frog. // Proceedings of the First International Symposium. Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development. 1969. P.327–372. Ed. by R. Llinas.
2. *Eccles J.C., Faber D.S.* Investigation on integration of mossy fiber inputs in Purkinje cells in the anterior lobe // Exp. Brain Res. 1971. V. 13. № 1. P. 54–77.

3. Eccles J. C., Llinas R., Sasaki K. The mossy fiber granule cells relay in the cerebellum and its inhibition by Goldgi cells // *Exp. Brain res.* 1966. V. 8. P. 82–101.
4. Eccles J.C. Llinas R., Sasaki K. The excitatory synaptic action of climbing fibers on the Purkinje cells of the cerebellum // *J. Physiol.* 1966. V. 182. № 2. P. 268–296.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Ларионова Н.П., Реутов В.П., Самосудова Н.В., Чайлахян Л.М. Структурно-функциональные различия астроцитов мозжечка // *Бюл. Сибирской медицины.* 2005. Т. 4. № 1. С. 115.
12. 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.
13. Балабан П.М., Коришнова Т.А. Сетевые, клеточные и молекулярные механизмы пластичности в простых нервных системах // *Успехи физиологических наук.* 2011. Т. 42. № 4. С. 3–19.
14. Балабан П.М., Роцин М.В., Коришнова Т.А. Двуликый оксид азота необходим и для стирания памяти и для формирования памяти // *Журнал высшей нервной деятельности и нейрофизиологии им. И.П. Павлова.* 2011. Т.61. №6. С.750.
15. Балабан П.М., Захаров И.С. Обучение и развитие общая основа двух явлений. – М. 1992.
16. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В., Захарчук Н.В. Гемодинамика мозга: глутаматергическая система и цикл оксида азота в регуляции мозгового кровообращения. Новая концепция // *Тихоокеанский Медицинский Журнал.* 2017. № 3. С. 38–46.
17. Реутов В.П., Самосудова Н.В., Сорокина Е.Г. Модель глутаматной нейротоксичности и механизмы развития типового патологического процесса // *Биофизика.* 2019. Т. 64. № 2. 316–336.
18. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Ультроструктурные изменения мозга лягушки в присутствии высоких концентраций глутамата и NO-генерирующего соединения // *Биофизика.* 2018. Т. 63. № 3. С. 528–543.
19. Реутов В.П., Е.Г. Сорокина, В.Е. Охотин и Н.С. Косицын. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – Москва: «Наука», 1998. 156 с.
20. Реутов В.П., Косицын Н.С., Свинов М.М. и др. Активация цикла окиси азота при гипоксии индуцирует перераспределение белков в клетках тканей млекопитающих из растворимого в мембранносвязанное состояние // *Мол. биол.* 1998. Т.32. №2. С.378–379.
21. 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 letters: febs special meeting biological membranes. Abstract book.* 1994. P. 300.
22. 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.

23. 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: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2013. Т.14.2013. Т. 148. № 5. С.32–37.
24. Самосудова Н.В., Реутов В.П. Пластические перестройки ультраструктуры синапсов в мозжечке при токсическом воздействии глутамата и NO-генерирующего соединения // Морфология. 2015. Т. 148. № 5. С. 32–37.
25. 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.
26. 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.
27. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Локализация кальция в микротрубочках, выявляемая электрической стимуляцией мозжечка в присутствии NO-генерирующего соединения // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. 2003. Т.20.№1. С.27–32.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П. Изменение ультраструктуры синаптических пузырьков глутаматергических синапсов под воздействием NO-генерирующего соединения NaNO_2 // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2008. Т. 146. № 7. С. 13–17.
32. Самосудова Н.В., Реутов В.П., Ларионова Н.П., Чайлахян Л.М. Образование нейроглиальных контактов при электрической стимуляции и воздействии NO-генерирующего соединения // Актуальные проблемы транспортной медицины. 2007. № 3 (9). С. 127–134.
33. 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.
34. 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.
35. Kiedrowski L., Costa E. Glutamate-induced destabilization of intracellular calcium concentration homeostasis in cultured cerebellar granule cells: role of mitochondria in calcium buffering. // Mol. Pharmacol. 1995. V.47. P. 140–147.
36. Khodorov B. Glutamate-induced deregulation of calcium homeostasis and mitochondrial dysfunction in mammalian central neurons // Progress in Biophysics & Molecular Biology. 2004. V. 86. N. 2. P. 279–351.
37. Khodorov B., Pinelis V., Storozhevyykh T. et al. Blockade of mitochondrial Ca^{2+} uptake by mitochondrial inhibitors amplifies the glutamate-induced calcium response in cultured cerebellar granule cells // FEBS Letters. 1999. V. 458. № 2. P. 162–166.
38. Khodorov B., Vergun O., Vinskaya N. et al. Dominant role of mitochondria in protection against a delayed neuronal Ca^{2+} overload induced by endogenous excitatory amino acids following a glutamate pulse // FEBS Letters. 1996. V. 393. N. 1. P. 135–138.
39. Khodorov B., Vergun O., Pinelis V. et al. Mitochondrial deenergization underlies neuronal calcium overload following a prolonged glutamate challenge // FEBS Letters. 1996. V. 397. N. 2–3. P. 230–234.
40. Ходоров Б.И., Сторожевых Т.П., Сурин А.М. и др. Митохондриальная деполяризация играет доминирующую роль в механизме нарушения нейронального кальциевого гомеостаза, вызванного глутамата // Биологические мембраны. Журнал мембранной и клеточной биологии. 2001. Т. 18. С. 421.
41. Сурин А.М., Горбачева Л.Р., Савинкова И.Г., Шарипов Р.Р., Ходоров Б.И., Пинелис В.Г. Исследование изменений [АТФ] в цитозоле индивидуальных нейронов при развитии

- глутаматиндуцированной дизрегуляции кальциевого гомеостаза // Биохимия. 2014. Т. 79. № 2. С. 196–208.
42. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Винская Н.П. и др.* Частичное ингибирование цитохромоксидазы митохондрий в нейронах мозжечка защищает их от повреждений при действии токсических доз глутамата и нитрита // Вести национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2003. № 2. С. 59–63.
43. *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 // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. 2007. № 4. С. 419–422.
44. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К. и др.* Возможная роль оксида азота в повреждении глутаматных рецепторов при эпилепсии // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2002. № 1. С. 18–22.
45. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Гранстрем О.К. и др.* Изучение механизмов образования аутоантител при эпилепсии и гипоксии // Нейроиммунология. 2003. Т. 1. № 2. С. 137–138.
46. *Сорокина Е.Г., Реутов В.П., Пинелис В.Г. и др.* Роль оксида азота в образовании аутоантител к рецепторам глутамата // Нейроиммунология. 2002. Т. 1. № 1. С. 267–269.
47. *Реутов В.П., Орлов С.Н.* Физиологическое значение гуанилатциклазы и роль окиси азота и нитросоединений в регуляции активности этого фермента. Физиология человека. 1993. Т. 19. № 1. С. 124–137.
48. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г.* NO-синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота // Биохимия. 1998. Т. 63. № 7. С. 1029–1040.
49. *Реутов В.П.* К общей теории физиологических и патологических процессов. Новая концепция // Информационные технологии в медицине, биологии и экологии: Труды междунар. конф. IT+M&Ec 2016» (Гурзуф 02.06.-12.06.2016) под ред. проф. Е.Л. Глориозова. 2016. С. 113–126.
50. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г.* Проблема оксида азота в биологических системах: от NO-синтазных и нитритредуктазных систем в организме млекопитающих к циклу оксида азота, принципу цикличности и механизмам, лежащих в основе многочисленных заболеваний // Евразийское Научное Объединение. 2016. Т.1. № 1 (13). С. 49–55.
51. *Реутов В.П.* Эволюция, рекапитуляция, диссолюция. Новая концепция: Обратимый переход от кислородного дыхания к дыханию нитратно-нитритному как возврат к более древним формам функциональных отношений при старении и развитии патологических состояний // Евразийское научное объединение. 2017. Т. 1. № 7 (29). С. 33–41.
52. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Самосудова Н.В. и др.* Высокая чувствительность тканей мозга к ишемии/гипоксии: причины и следствия // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т. 1. № 3 (25). С. 46–53.
53. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалев В.Н., Охотин В.Е.* Обобщающая концепция развития атеросклероза: патологические механизмы формирования сосудистой недостаточности // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова: Материалы Конгресса. 2014. Т. 114. № 8. С.55–56.
54. *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 К–М // Новости медико-биол. наук. 2004. № 1. С. 41–43.
55. *Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П. и др.* Влияние L-аргинина на развитие стрессорных повреждений у крыс линии К–М // Новости медико-биол. наук. 2004. № 1. С. 61–64.
56. *Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Дьяконова В.Е., Реутов В.П.* Влияние ингибиторов индуцибельной и нейрональной NO-синтаз на развитие аудиогенных стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2010. Т. 150. № 7. С. 38–41.
57. *Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Кошелев В.Б., Реутов В.П.* Ингибиторы нейрональной и индуцибельной NO-синтаз усиливают протекторный эффект кратковременной адаптации к гипоксии у крыс линии КМ в условиях акустической экспозиции // Патогенез. 2008. № 3. С. 68–69.

58. Крушинский А.Л., Реутов В.П., Кузенков В.С. и др. 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.
59. Крушинский А.Л., Реутов В.П., Кузенков В.С. и др. Влияние NO-генерирующего соединения и ингибитора NO-синтазы на реализацию механизмов кратковременной адаптации к гипоксии у крыс линии Крушинского-Молодкиной // Актуальные проблемы транспортной медицины. 2007. Т. 10. № 4. С. 117–123.
60. Реутов В.П., Кузенков В.С., Крушинский А.Л. и др. Развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к судорожным припадкам, при действии NO-генерирующего соединения и блокатора NO-синтазы // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2002. № 1. С. 5–10.
61. 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.
62. Кузенков В.С., Реутов В.П., Крушинский А.Л. и др. Оксид азота вносит положительный вклад в протекторное действие кратковременной адаптации к гипоксии на развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной // Вестник Московского университета. Биология. 2010. Т. 16. № 1. С. 3–7.
63. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние нитрата натрия на развитие неврологического дефицита у крыс при неполной глобальной ишемии мозга // Вестн. Моск. Ун-та. Биология. 2011. Т. 16. № 1. С. 3–6.
64. Кузенков В.С., Крушинский А.Л., Реутов В.П. Влияние нитрата калия на неврологические нарушения при экспериментальной ишемии мозга // Вестн. Моск. Ун-та. Биология. 2012. Т. 16. № 4. С. 3–6.
65. 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.
66. Черток В.М., Реутов В.П., Охотин В.Е. Павел Александрович Мотавкин – человек, педагог, ученый // Тихоокеанский Медицинский Журнал. 2012. № 2. С. 7–8.
67. Дьяконова Т.Л., Реутов В.П. Нитриты блокируют Ca^{2+} -зависимое привыкание нейронов на уровне электровозбудимой мембраны: возможная роль окиси азота // Вопр. мед. химии. 1994. Т. 40. № 6. С. 20–25.
68. 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.
69. Гусакова С.В., Смазлий 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_2S 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.
70. 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.
71. 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.
72. Реутов В.П. Физиологический и клинический нервизм: от классиков науки до наших дней // Евразийское Научное Объединение. 2017. № 9 (31). С. 34–47.
73. Реутов В.П. Средняя продолжительность жизни в России и перспективная программа «сохранения населения и сбережения народа» // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т.1. № 1 (23). С.56–70.
74. Реутов В.П. Проблема «сохранения населения и сбережения народа»: социальные аспекты // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т. 2. № 8 (30). С. 126–134.
75. 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.

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

77. Швалев В.Н., Реутов В.П., Рогоза А.Н. и др. Морфофункциональные исследования нейрогенной природы заболеваний сердечно-сосудистой системы // Морфологические ведомости. 2014. № 1. С. 6–20.

78. Швалев В.Н., Реутов В.П., Рогоза А.Н. и др. Развитие современных представлений о нейрогенной природе кардиологических заболеваний // Тихоокеанский медицинский журнал. 2014. № 1. С. 10–14.

79. Швалев В.Н., Рогоза А.Н., Реутов В.П. и др. Развитие традиций Казанской медицинской школы – изучение морфологических основ нервной трофики // Казанский медицинский журнал. 2014. Т. 95. № 2. С. 175–180.

80. Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П. Исследование парамагнитных центров, возникающих при взаимодействии двуокиси азота с олеиновой кислотой и тирозином // Докл. АН СССР. 1978. Т. 241. № 6. С. 1375–1377.

81. 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.

82. Реутов В.П., Ажипа Я.И., Каюшин Л.П. Изучение методом электронного парамагнитного резонанса продуктов взаимодействия окислов азота с некоторыми органическими соединениями // Бюл. эксперим. биол. и медицины. 1978. № 9. С. 299–301.

83. Реутов В.П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих // Успехи биол. химии. 1995. Т. 35. С. 189–228.

84. Реутов В.П. Биохимическое предопределение NO-синтазной и нитритредуктазной компонент цикла оксида азота // Биохимия. 1999. Т. 64. № 5. С. 634–651.

85. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестн. РАМН. 2000. № 4. С. 35–41.

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

87. Реутов В.П., Гоженко Е.А., Охотин В.Е. и др. Роль оксида азота в регуляции работы миокарда: цикл оксида азота и NO-синтазные системы в миокарде // Актуальные проблемы транспортной медицины. 2007. Т. 10. № 4. С. 89–112.

88. Реутов В.П., Каюшин Л.П., Сорокина Е.Г. Физиологическая роль цикла окиси азота в организме человека и животных // Физиология человека. 1994. Т. 20. № 3. С. 165–174.

89. Реутов В.П., Каюшин Л.П., Сорокина Е.Г. Цикл окиси азота как адаптационный механизм при гипоксии организма // Успехи физиологических наук. 1994. Т. 25. № 4. С. 36.

90. Реутов В.П., Кузенков В.С., Крушинский А.Л. и др. Развитие стрессорных повреждений у крыс линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к судорожным припадкам, при действии NO-генерирующего соединения и блокатора NO-синтазы // Известия национальной академии наук Беларуси. Серия медико-биологических наук. 2002. № 1. С. 5–10.

91. Реутов В.П., Орлов С.Н. Физиологическое значение гуанилатциклазы и роль окиси азота и нитросоединений в регуляции активности этого фермента // Физиол. человека. 1993. Т. 19. № 1. С. 124–137.

92. 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. 39–58.

93. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. Цикл окиси азота – новый метаболический цикл, участвующий в регуляции внутриклеточной сигнализации // Мол. биол. 1998. Т. 32. № 2. С. 377–378.

94. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. NO-Синтазная и нитритредуктазная компоненты цикла оксида азота // Биохимия. 1998. Т. 63. № 7. С. 1029–1040.

95. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Гоженко А.И., Косицын Н.С., Гурин В.Н. Цикл оксида азота как механизм стабилизации содержания NO и продуктов его превращения в организме млекопитающих // Актуальные проблемы транспортной медицины. 2008. Т. 11. № 1. С. 22–28.

96. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.П. Цикл окиси азота и нитритредуктазная активность гемсодержащих белков в организме млекопитающих // Вопр. мед. химии. 1994. Т. 40. № 6. С. 31–35.

97. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.П., Родионов А.А. Оксид азота как индуктор пространственного перераспределения белков в клетках млекопитающих при гипоксии // Успехи физиологических наук. 1994. Т. 25. № 4. С. 36–37.
98. 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. 94 с.
99. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М.: Наука. 1997. 156 с.
100. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалева В.Н. и др. 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. 73–93.
101. Гурин А.В. Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе // Успехи физиологических наук. 1997. Т. 28. № 1. С. 53–60.
102. Лисицын Ю.П. Теории медицины XX в. М.: Медицина. 1999. 176 с.
103. Лисицын Ю.П. История медицины. М.: Геотар-Мед. 2004. 400 с.
104. Сперанский А.Д. Элементы построения теории медицины. М.: ВИЭМ. 1937. 343 с. (Доп. тираж).
105. Lundberg J.O., Gladwin M.T., Ahluwalia A. et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics // Nat Chem Biol. 2009. V. 5. № 12. P. 865–869.
106. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. 2000. Т. 65. № 4. С. 485–503.
107. 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.
108. Царегородский Г.И. Методологические проблемы этиологии // Вестник РАМН. 2003. № 3. С. 36–39.
109. Чазов Е.И. Дизрегуляция и гиперактивность организма как факторы формирования болезни // Кардиологический вестник. 2006. Т.1. № 1. С. 5–9.
110. Парахонский А.П. Теория современной патологии в аспекте учения В.И. Вернадского о ноосфере // Успехи современного естествознания. 2006. № 9: С.85–87.
111. Крыжановский Г.Н. Фундаментальные механизмы и общие закономерности дизрегуляционной патологии нервной системы // Дизрегуляционная патология нервной системы / под ред. Гусева Е.И., Крыжановского Г.Н. М.: ООО Мед. информ. Агентство, 2009. С. 100–106.

Сведения об авторах

Валентин Палладиевич Реутов

д-р. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: valentinreutov@mail.ru

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Нина Васильевна Самосудова

канд. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: nsamos@iitp.ru

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

Елена Геннадьевна Сорокина

канд. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: sorokelena@mail.ru

ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей МЗ РФ

Александр Михайлович Сурин

д-р. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: surin_am@mail.ru

ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей МЗ РФ

Information about authors

Valentin Palladievich Reutov

PhD, Doct. Biol. Sci.,

Leading Researcher

E-mail: valentinreutov@mail.ru

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of RAS

Nina Vasil'evna Samosudova

PhD

Leading Researcher

E-mail: nsamos@iitp.ru

A.A. Kharkevich Institute for Information Transmission Problems of RAS

Elena Gennad'evna Sorokina

PhD.

Leading Researcher

E-mail: sorokelena@mail.ru

National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the RF

Aleksandr Mikhailovich Surin

PhD., Doct. Biol. Sci.

Leading Researcher

E-mail: surin_am@mail.ru

National scientific-practical center of children's health of the Ministry of health of the RF

Шарипов Ринат Рашидович

канд. биол. наук

мл. науч. сотр

Эл. почта: sharipov051290@mail.ru

ФГБНУ НИИ общей патологии и патофизиологии

Всеволод Григорьевич Пинелис

д-р. мед. наук

профессор

Эл. почта: valentinreutov@mail.ru

ФГАУ Национальный медицинский

исследовательский центр здоровья детей МЗ РФ

Россия, Москва

Sharipov Rinat Rashidovich

Ph.D.

Junior Researcher

E-mail: sharipov051290@mail.ru

Institute of general pathology and pathophysiology

Vsevolod Grigoryevich Pinelis

PhD, Doct. Med. Sci.

Professor

E-mail: valentinreutov@mail.ru

National scientific-practical center of children's

health of the Ministry of health of the RF

Russia, Moscow

УДК 616.062

ГРНТИ 76.03.53

¹Сорокина Е.Г., ²Семенова Ж.Б., ³Аверьянова Н.С., ²Лукьянов В.И.,
²Карасева О.В., ¹Арсенева Е.Н., ⁴Реутов В.П., ²Рошаль Л.М., ¹Пинелис В.Г.

¹ФГАУ Научный Медицинский исследовательский центр здоровья детей

²НИИ неотложной детской хирургии и травмы

³Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана

⁴ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

МАРКЕРЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА И ГЕН АПОЛИПРОТЕИНА E В ИСХОДАХ ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У ДЕТЕЙ

У детей с тяжелой черепно-мозговой травмой (ЧМТ) в отдаленный период после травмы мозга исследовали уровень нейромаркеров в крови. Данные сопоставляли с 3мя аллельными вариантами (E3/3, E3/4 и E3/2) гена аполипопротеина E (APOE) и исходами ЧМТ. Достоверная связь с генотипами обнаружена для BDNF: для APOE 3/3 отмечен его нормальный уровень, для APOE 3/2 – пониженный. Корреляционная взаимосвязь нейромаркеров со шкалой исходов Глазго (ШИГ) показана для BDNF и aAT к S100b. Взаимосвязи полиморфизма APOE 3/4 с исходами по ШИГ не выявлено. У всех детей с тяжелой ЧМТ отмечены признаки повреждения ГЭБ и гипоксии головного мозга.

Ключевые слова: полиморфизм гена аполипопротеина E, исходы черепно-мозговой травмы (ЧМТ), маркеры повреждения мозга

¹Sorokina E.G., ²Semenova Zh.B., ³Averyanova N.S., ²Lukianov V.I.,
²Karaseva O.V., ¹Arseneva E.N., ⁴Reutov V.P., ²Roshal L.M., ¹Pinelis V.G.

¹Scientific Medical Research Center of Children's Health

²Research Institute of emergency pediatric surgery and trauma

³Federal Scientific Center for Hygiene. F.F. Erisman

⁴Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS

MARKERS OF BRAIN DAMAGE AND THE APOLIPOPROTEIN E GENE IN THE OUTCOMES OF SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY IN CHILDREN

In children with severe traumatic brain injury (TBI) in the long term after a brain injury, the level of neuromarkers in the blood was examined. The data were compared with the 3 allelic variants (E3 / 3, E3 / 4 and E3 / 2) of the apolipoprotein E gene (APOE) and the outcomes of TBI. A reliable connection with the genotypes was found for BDNF: its normal level was noted for APOE 3/3, and a reduced one for APOE 3/2. The correlation of neuromarkers with the Glasgow Outcome Scale (GOS) was shown for BDNF and aAB to S100b. Interrelations of polymorphism of APOE 3/4 with GOS were not detected. All children with severe TBI showed signs of damage of the BBB and hypoxia of the brain.

Keywords: apolipoprotein E gene polymorphism, traumatic brain injury (TBI) outcomes, brain damage markers

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) остается одной из основных причин возникновения тяжелых неврологических и психических расстройств, требующих длительного лечения и реабилитации. Исход пациентов – полное или частичное выздоровление, инвалидизация разной степени тяжести и летальность зависят от совокупности медико-социальных факторов, включающих своевременную госпитализацию, адекватную ургентную терапию, патофизиологические особенности протекания раннего посттравматического периода, развитие вторичных повреждений мозга. Несмотря на достижения в области патофизиологии и лечения ЧМТ, различия в исходах ЧМТ не всегда поддаются логическим объяснениям, а тяжесть

перенесенной ЧМТ не является единственным критерием последующего состояния пациента. Существует множество исследований, авторы которых пытались проследить взаимосвязь исходов и отдаленных последствий ЧМТ с полиморфизмом гена аполипопротеина Е (АРОЕ), однако подобных работ, выполненных на детях, крайне мало [1, 2]. Анализ данных литературы свидетельствует, что из 3-х аллелей гена АРОЕ ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$) лишь присутствие $\epsilon 4$ аллеля (АРОЕ-epsilon4, АРОЕ4) связывают с повышенным риском таких неврологических заболеваний, как семейная спорадическая болезнь Альцгеймера [3], ишемический инсульт [4], амилоидная ангиопатия. Вопрос о неблагоприятном течении посттравматического периода у пациентов с аллельным вариантом АРОЕ4 постоянно обсуждается в литературе и до сих пор остается открытым. Единства мнений по вопросу взаимосвязи аллеля АРОЕ4 с исходами ЧМТ не существует. В последнее время течение и исход ЧМТ в значительной степени связывают с нарушением функции астроцитов, с развитием астроглиоза [5]. Дисфункция астроцитов, связанная с потерей контроля астроцитов над процессом воспаления, также может обуславливаться генетическим полиморфизмом. Астроциты являются основным источником белка АРОЕ, который в свою очередь играет важную роль в функционировании гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [6]. При достаточно большом количестве работ, посвященных изучению взаимосвязи исходов ЧМТ с наличием $\epsilon 4$ аллеля гена АРОЕ, нам не удалось найти исследований, в которых проводилось бы сопоставление наличия различных аллелей гена АРОЕ с маркерами повреждения мозга. В то же время для разных исходов тяжелой ЧМТ в раннем посттравматическом периоде нами была выявлена определенная динамика и прогностическая значимость содержания в крови таких нейромаркеров как белок S100b, NSE, аутоантитела (аАТ) к рецепторам глутамата, аАТ к белку S100b и мозговой нейротрофический фактор (BDNF) [6-9]. Сопоставление данных о содержании в крови биохимических маркеров, способных отражать степень повреждения мозга в отдаленном посттравматическом периоде, с данными генотипирования АРОЕ может значительно расширить наши представления о патогенезе ЧМТ. Цель работы состояла в сопоставлении генотипов АРОЕ с исходами и уровнем нейромаркеров у детей с тяжелой ЧМТ.

Материал и методы

Все обследованные дети (69, 49 мальчиков и 20 девочек, в возрасте от 6 до 15 лет) с ЧМТ были госпитализированы в НИИ неотложной детской травматологии и хирургии Департамента Здравоохранения г. Москвы в 2011-2014гг. Все дети получили тяжелую ЧМТ (ТЧМТ). Оценка состояния по шкале комы Глазго (ШКГ) составила меньше 9 баллов. У всех детей было проведено генотипирование АРОЕ и определено содержание таких маркеров повреждения/репарации мозга как нейронспецифическая энолаза (NSE), глиальный белок S100b, содержание аутоантител (аАТ) к рецепторам глутамата (к NR2-субъединице NMDA рецепторов), аАТ к S100b, а также мозговой нейротрофический фактор (BDNF).

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов венозной крови проводилась с помощью коммерческого набора AxyPrep Blood Genomic DNA Miniprep Kit, USA. Определение полиморфизма гена АРОЕ проводилась методом стандартной полимеразной цепной реакции (PCR) с последующей идентификацией генотипа методом учета полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Визуализация результатов рестрикции осуществлялась методом электрофореза в полиакриламидном геле. В работе использованы праймеры и система рестрикции, разработанные Kamboh et al., 1995; Aslanidis and Schmitz, 1999.

Все биохимические показатели определялись в сыворотке крови в отдаленном периоде после ЧМТ с использованием иммуноферментного анализа. Данные были обработаны с помощью программ Statistica v.6 StatSoft Inc. и программы Excel Microsoft. Проверка на соответствие нормальному закону распределения количественных данных проведена с помощью тестов Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса. В работе определены коэффициенты корреляции (коэффициент Гамма непараметрической статистики), проведен дисперсионный непараметрический анализ Kruskal-Wallis Anova Ranks и анализ сочетанных признаков по критериям Хи-квадрат (χ^2) и точному критерию Фишера. Статистически достоверными различиями величин считали результаты при $p < 0,05$. Значения статистически значимых коэффициентов соотносили со шкалой Чеддока.

Результаты

Процентное распределение по найденным генотипам АРОЕ в обследованной нами выборке детей с тяжелой ЧМТ было следующим: 72,5% имели генотип АРОЕ 3/3, 11,6% - генотип АРОЕ

3/4, 14,5% - APOE 3/2 и 1,4% -2/4. Все дети имели гетерозиготный тип наследования гена APOE. При всех генотипах распределение между благоприятными и неблагоприятными исходами было практически одинаковым. Однако в группе детей с APOE 3/3 благоприятных исходов было на 20% больше, чем неблагоприятных. В малочисленных группах с генотипами APOE 3/4 и APOE 3/2 распределение исходов было одинаковым – 50% на 50%. Применение методов корреляционной статистики показывает, что в исследованной нами выборке пациентов с тяжелой ЧМТ корреляции между генотипами и исходами не выявлено ($p > 0,7$).

Результаты сопоставления данных генотипирования и содержания нейромаркеров в крови всех обследованных детей представлены в обобщающей таблице 1.

Таблица 1.

Содержание нейромаркеров в сыворотке крови детей, перенесших тяжелую черепно-мозговую травму в зависимости от генотипов APOE (данные представлены в $M \pm m$; жирным шрифтом выделены значения превышающие границы нормы)

| Генотип APOE (кол-во пациентов) | S100b (норма) (<90,0 нг/л) | NSE (норма) (<13,0мкг/л) | BDNF (норма) (6,186-42,580) нг/мл | aAT к S100b (норма) (<150%) | aAT к NR ₂ (GluRe) (норма) (<2,0 нг/мл) |
|---------------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|--|
| E3/E3 (50) | 87,42 ± 7,56 | 15,34 ± 1, 34 | 14,20±1,70 | 745 ± 147 | 5,94 ±0,61 |
| E3/E4 (8) | 126,60 ± 30,7 | 17,38 ± 4,31 | 11,99±2,68 | 408±130 | 5,52±1,20 |
| E3/E2 (10) | 81,22±17,41 | 13,75±3,31 | 9,16±4,17 | 994±524 | 5,81±0,71 |
| E2/E4 (1) | 65,0 | 8,75 | 11,79 | 435 | 4,85 |

Достоверной разницы в содержании S100b, NSE и BDNF у обследованных нами детей всех 3х генотипов APOE обнаружено не было. Можно лишь отметить тенденцию к повышению содержания белка S100b и NSE у детей с APOE 3/4 и снижению уровня BDNF у пациентов с APOE 3/2. Однако, уровни aAT к белку S100b и aAT к NR₂-субъединице NMDA рецепторов глутамата существенно превышали верхние границы нормы у пациентов всех 3х генотипов.

Сопоставление содержания нейромаркеров с благоприятным и неблагоприятным исходом показало, что при неблагоприятных исходах содержание aAT к S100b достоверно в 2,4 раза выше, чем при благоприятных исходах (таблица 2).

Таблица 2

Содержание нейромаркеров в сыворотке крови детей с тяжелой ЧМТ, в зависимости от исходов (данные представлены в $M \pm m$ (среднее значение ± ошибка среднего значения; * статистически значимое различие, $p < 0.05$ выделено жирным шрифтом)

| ШИГ | S100 нг/л | NSE мкг/л | BDNF нг/мл | aAT S100 % | aAT NR ₂ нг/мл |
|-------------------------|-------------|------------|------------|------------------------|---------------------------|
| 1 неблагоприятный исход | 83.06±7.96 | 15.12±1.63 | 11.20±2.73 | 1128.35±261.94* | 5.25±0.45 |
| 2 благоприятный исход | 96.75±10.76 | 15.51±1.69 | 14.53±1.48 | 472.12±117.86 | 6.31±0.74 |

Анализируя индивидуальные данные детей с APOE 3/4, следует отметить, что, в этой группе отмечен наибольший % детей с повышенным содержанием S100b и NSE.

Анализ представленных в таблице 3 данных показывает, что достоверная корреляция с генотипами характерна только для BDNF, при этом абсолютные значения для достоверных Гамма-коэффициентов расцениваются по шкале Чеддока как умеренные и слабые.

Таблица 3

Корреляция содержания нейромаркеров с генотипами и исходами тяжелой ЧМТ (данные представлены в Гамма-коэффициентах; *- достоверная корреляция при $p < 0,05$ выделена жирным шрифтом)

| | Gamma Correlations (APOE.sta) MD pairwise deleted Marked correlations are significant at $p < .05$ | | | | |
|---------------------|--|--------|------------------|------------------|---------------------|
| | S100 | NSE | BDNF | aAB S100 | aAB NR ₂ |
| S100b | 1.0000 | 0.0756 | 0.1091 | 0.0225 | 0.1291 |
| NSE | 0.0756 | 1.0000 | 0.0044 | 0.0084 | 0.0973 |
| BDNF | 0.1091 | 0.0044 | 1.0000 | -0.2512 * | -0.0181 |
| aAT S100b | 0.0225 | 0.0084 | -0.2512 * | 1.0000 | 0.3201 * |
| aAT NR ₂ | 0.1291 | 0.0973 | -0.0181 | 0.3201 * | 1.0000 |

| | | | | | |
|-----------|---------|---------|------------------|------------------|---------|
| ШИГ новая | 0.0349 | 0.0196 | 0.3834 * | -0.3131 * | 0.0573 |
| АРОЕ 3/3 | -0.0622 | 0.0600 | 0.2592 * | 0.0256 | -0.0723 |
| АРОЕ 3/4 | 0.2792 | 0.0875 | 0.0667 | -0.0021 | -0.0292 |
| АРОЕ 3/2 | -0.1345 | -0.1655 | -0.4577 * | -0.0379 | 0.1364 |

Положительная корреляция между уровнем BDNF и ШИГ означает, что для благоприятных исходов ЧМТ характерен его нормальный уровень, а для неблагоприятных – преимущественно низкий уровень. Именно низкий уровень BDNF характерен для детей с генотипом АРОЕ 3/2, при этом пациенты с распространенным генотипом 3/3 имеют более высокий, нормальный уровень BDNF. Низкий уровень BDNF коррелирует с высоким уровнем аАТ к S100b, при этом уровень аАТ к S100b положительно коррелирует с содержанием аАТ к NR2 рецепторам глутамата.

Проведенная работа позволяет сделать вывод о том, что в обследованной нами выборке детей с тяжелой ЧМТ взаимосвязь особенностей генотипов гена АРОЕ с исходами по ШИГ отсутствовала. Наибольшее число благоприятных исходов отмечалось при генотипе АРОЕ 3/3 (60%). У детей 2х других генотипов АРОЕ 3/4 и АРОЕ 3/2 благоприятные и неблагоприятные исходы распределялись 50% : 50%. Эти данные позволяют сделать выводы о том, что генотип АРОЕ 3/4 не предопределяет неблагоприятные исходы, а генотип АРОЕ 3/2 не обладает «защитными» свойствами и не предопределяет лишь благоприятные исходы.

Исследование возможных отклонений содержания связанных с метаболизмом мозга нейромаркеров в отдаленном периоде после перенесенной ЧМТ выявило, что достоверную связь с генотипами из всех нейромаркеров имеет только BDNF. При наиболее распространенном генотипе АРОЕ 3/3 уровень BDNF находится в пределах нормальных величин, а при более редком генотипе АРОЕ 3/2 уровень BDNF - ниже нормы. У детей с генотипом АРОЕ 3/2 отмечено наибольшее число детей с минимальным содержанием BDNF, что не позволяет говорить о предполагаемом «защитном» характере наличия аллеля ε 2.

Помимо связи низкого уровня BDNF с генотипом АРОЕ 3/2 можно предполагать тенденцию к увеличению содержания S100b и NSE у пациентов с АРОЕ 3/4.

Корреляционная взаимосвязь между уровнем нейромаркеров и объединенной шкалой ШИГ показана для BDNF и аАТ к S100b. При благоприятных исходах ЧМТ наблюдается нормальный уровень BDNF и более низкий уровень аАТ к S100b. Корреляция уровня аАТ к S100b с неблагоприятными исходами в более позднем периоде подтверждается нашей работой, в которой мы выявили, что именно уровень аАТ к S100b, а не концентрация S100b является более значимым показателем в более позднем периоде [10]. Объединяющим для всех генотипов АРОЕ является факт, что практически у всех детей с тяжелой ЧМТ (95%) в отдаленном периоде отмечается достоверное повышение аАТ к рецепторам глутамата и у большинства детей - повышение аАТ к S100b в крови. На основании полученных нами ранее данных о динамике содержания аАТ к NMDA рецепторам глутамата и вза *et al.* имосвязи изменений S100b и аАТ у детей с ЧМТ различной тяжести и различным исходом, мы связываем этот факт с наличием гипоксии мозга, активацией аутоиммунных процессов и повышением проницаемости ГЭБ у детей с тяжелой ЧМТ. В значительной степени развитию аутоиммунного ответа со стороны рецепторов глутамата и повышению проницаемости ГЭБ может способствовать увеличение образования NO, интенсификация окислительных процессов и модификация тирозиновых остатков белков диоксидом азота (NO₂) в ходе свободнорадикального нитрования тирозина и образования нитротирозина, что показано в наших предыдущих исследованиях [11]. Поскольку NO₂ является одним из самых активных свободно радикальных соединений, способных окислять/повреждать практически все биохимические соединения, в том числе белки (особенно чувствительными являются SH-группы и тирозиновые остатки), ДНК (наиболее чувствительными являются гуаниновые основания) и ненасыщенные жирные кислоты (окисление осуществляется по двойным химическим связям между атомами углерода –C=C–), то эти повреждения могут иметь отдаленные последствия и приводить к повреждению ГЭБ, а в дальнейшем служить причиной ранних инфарктов миокарда и инсультов мозга [12, 13], опухолей мозга (отделенные последствия окисления гуаниновых оснований ДНК и повышения уровня хромосомных aberrаций, вследствие двунитевых разрывов ДНК). Таким образом, основной вывод работы состоит в том, что, независимо от полиморфизма гена АРОЕ и исхода у подавляющего большинства детей, перенесших тяжелую ЧМТ, в отдаленном периоде

возможны сохраняющиеся признаки нарушения функции ГЭБ и перенесенной гипоксии мозга в остром периоде ЧМТ, которые могут иметь последствия в виде сердечно-сосудистых заболеваний и нарушений функции мозга [13 – 15]. Все эти факторы могут приводить к сокращению средней продолжительности жизни у лиц, перенесших в детстве ЧМТ разной степени тяжести. В связи с этим требуются наблюдения за пациентами с ЧМТ на протяжении всей жизни.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда РНФ17-15-01487

Литература

1. *Kurowskia B., Martinb L.J., and Wad S. L.* Genetics and outcomes after traumatic brain injury (TBI): What do we know about pediatric TBI? // *J. Pediatr. Rehabil. Med.* 2012. V. 5. № 3. P. 217–231.
2. *Teasdale G.M., Murray G.D., Nicoll J.A.* The association between APOE epsilon4, age and outcome after head injury: a prospective cohort study. *Brain* // 2005. V. 128. P. 2556–2561.
3. *Corder E.H., Saunders A.M., Strittmatter W.J., Gaskell P.C. et al.* Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families // *Science*. 1993. V. 261. P. 921–504.
4. *McCarron M.O., De Long., Alberts M.J.* APOE genotype as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease. *Neurology*. 1999. V. 53. P. 1308–1311.
5. *Sofroniev M.V.* Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation // *Nat.Rev.Neurosci.* 2015. V. 16. No. 5. P. 249–263.
6. *Bell R.D., Winkler E.A., Singh I., Sagare A.P. et al.* Apolipoprotein E controls cerebrovascular integrity via cyclophilin A // *Nature*. 2012. V. 485. P. 512–516.
7. *Пинелис В. Г., Сорокина Е. Г., Семенова Ж. Б. и др.* Биомаркеры повреждения мозга при черепно-мозговой травме у детей // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015. Т. 115. № 8. С. 66–72.
8. *Пинелис В.Г., Сорокина Е.Г.* Аутоиммунные механизмы модуляции активности глутаматных рецепторов у детей с эпилепсией и черепно-мозговой травмой // *Вестник РАМН*. 2008. Т. 12. С. 44–51.
9. *Sorokina E.G., Semenova Zh.B., Bazarnaya N.A., et al.* 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. № 4. P. 329–334.
10. *Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Гранстрем О.К. et al.* 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. Т. 8. С. 25–30.
11. *Закиров Р.Ш., Сорокина Е.Г., Карасева О.В. др.* Функциональное состояние митохондрий лимфоцитов периферической крови при черепно-мозговой травме у детей // *Вестник российской Академии Мед. Наук*. 2015. Т. 70. № 6. С. 710–718.
12. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С.* Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. – М.: Наука, 1997. 156 с.
13. *Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалев В.Н. и др.* 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. 73–93.
14. *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.
15. *Реутов В.П., Самосудова Н.В., Сорокина Е.Г.* Модель глутаматной нейротоксичности и механизмы развития типового патологического процесса // *Биофизика*. 2019. Т. 64. № 2. С. 316–336.

Сведения об авторах

Елена Геннадьевна Сорокина

канд. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: sorokelena@mail.ru

ФГАУ «Научный Медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России

Information about authors

Elena Gennadievna Sorokina

Ph.D.

leading researcher

E-mail: sorokelena@mail.ru

Scientific Medical Research Center of Children's Health" Ministry of Health of Russia

Жанна Борисовна Семенова

д-р мед.наук, профессор
рук. отд. Нейротравмы
Эл. почта: j.seman@mail.ru
НИИ неотложной детской хирургии и травмы

Наталья Сергеевна Аверьянова

старший научный сотрудник
Эл. почта: belka1973@gmail.ru
Федеральный научный центр гигиены
им. Ф.Ф. Эрисмана

Валерий Иванович Лукьянов

старший научный сотрудник
Эл. почта: vallukianov@yandex.ru
НИИ неотложной детской хирургии и травмы

Ольга Витальевна Карасева

д-р мед. наук
зав. отд. Реанимации
Эл. почта: karaseva.o@list.ru
НИИ неотложной детской хирургии и травмы

Елена Николаевна Арсеньева

д-р биол. наук
вед. науч. сотр.
Эл. почта: arsenievaen@mail.ru
ФГАУ Научный Медицинский исследовательский
центр здоровья детей Минздрава России

Валентин Палладиевич Реутов

д-р. биол. наук
вед. науч. сотр.
Эл. почта: valentinreutov@mail.ru
ФГБУН Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН

Леонид Михайлович Рошаль

д-р мед. наук, профессор
президент института
Эл. почта: lmroshal@mail.ru
НИИ неотложной детской хирургии и травмы

Всеволод Григорьевич Пинелис

д-р биол.наук, профессор
главн. науч. сотр.
Эл. почта: pinelis@mail.ru
ФГАУ «Научный Медицинский
исследовательский центр здоровья детей»
Минздрава России
Россия, Москва

Zhanna Borisovna Semenova

MD, professor
E-mail: j.seman@mail.ru
Research Institute of emergency pediatric surgery
and trauma

Natalya Sergeevna Averyanova

Ph.D., senior researcher
E-mail: belka1973@gmail.ru
Federal Scientific Center for Hygiene.
F.F. Erisman

Valery Ivanovich Lukianov

senior researcher
E-mail: vallukianov@yandex.ru
Research Institute of emergency pediatric surgery and
trauma

Olga Vital'evna Karaseva

MD
head of the intensive care unit
E-mail: karaseva.o@list.ru
Research Institute of emergency pediatric surgery
and trauma

Elena Nikolaevna Arseneva

leading specialist
E-mail: arsenievaen@mail.ru
Scientific Medical Research Center of Children's
Health

Reutov Valentin Palladievich

Dr. biol. Sciences
leading researcher
E-mail: valentinreutov@mail.ru
Institute of Higher Nervous Activity and
Neurophysiology RAS

Leonid Michailovich Roshal

Dr. med. Sciences, Professor
President of the Institute
E-mail: lmroshal@mail.ru
Research Institute of emergency pediatric surgery
and trauma

Vsevolod Grigorievich Pinelis

Professor
Chief Researcher
E-mail: pinelis@mail.ru
Scientific Medical Research Center of Children's
Health" Ministry of Health of Russia
Russia, Moscow

УДК 546.72-06 +546.72+548.3
ГРНТИ 31.23.25

Санина Н.А.
ИПХФ РАН

**НИТРОЗИЛЬНЫЕ [NFE-MS] КОМПЛЕКСЫ ЖЕЛЕЗА И ПОЛИМЕРНЫЕ
МАТЕРИАЛЫ НА ИХ ОСНОВЕ – НОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ
СРЕДСТВА ДЛЯ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

В работе представлены экспериментальные данные по исследованию антибактериальной и цитотоксической активности представителей нового семейства высокоэффективных NO донирующих агентов - нитрозильных [nFe-mS] комплексов железа и полимерных композитов на их основе.

Ключевые слова: монооксид азота, нитрозильные комплексы железа, МТТ-тест, цитотоксичность, антибактериальная активность, поливинилпирролидон

NITROSYL [NFE-MS] IRON COMPLEXES AND POLYMERIC MATERIALS BASED ON THEM – NEW MEDICINAL TOOLS FOR NO THERAPY OF BACTERIAL INFECTIONS

The paper presents experimental data on the study of the antibacterial and cytotoxic activity of representatives of a new family of highly efficient NO donating agents - nitrosyl [nFe-mS] iron complexes and their polymer composites with polyvinylpyrrolidone.

Keywords: nitrogen monoxide, nitrosyl iron complexes, MTT test, cytotoxicity, antibacterial activity, polyvinylpyrrolidone

По данным ВОЗ [1], три пункта в списке десяти ведущих причин смертности в мире занимают бактериальные инфекции или болезни, ими опосредованные (респираторные инфекции нижних дыхательных путей, диарейные болезни и туберкулез): от них умирает каждый десятый человек в мире. Глобальную ежегодную смертность от самых распространенных лекарственно-устойчивых штаммов инфекций оценивают минимум в 700 000 человек, и если ситуация не изменится, 100 млн. человек к 2030 году умрут преждевременно, а через 35 лет эта цифра достигнет 300 млн. Развитие новых стратегий, направленных на поиск эффективных препаратов и лекарственных средств с широким спектром антибактериальной активности и отсутствием развития к ним резистентности - путь к решению этой очень важной проблемы, стоящей перед человечеством.

Данная работа направлена на разработку такой новейшей стратегии – терапии инфекционных поражений монооксидом азота (“NO терапии”). Оксид азота (NO), как известно, является важной сигнальной молекулой с широким спектром биологической активности, в том числе и антибактериальной. Известно, что доноры NO обладают бактерицидным действием против целого ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий [2-5], в том числе против резистентных к антибиотикам штаммов, таких как *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Гидрофобность, малые размеры и высокая реакционная способность NO - свойства, позволяющие этой молекуле быстро мигрировать через бактериальные липидные мембраны и запускать ряд нитрозативных и окислительных реакций. Все это обуславливают неспособность бактерий вырабатывать устойчивость к экзогенному NO. Антибактериальная активность NO реализуется через разрушение бактериальной мембраны вследствие образования активных форм кислорода и/или азота, прежде всего, действием пероксинитрита, образованного в результате взаимодействия NO с супероксидом, эндогенно выделенным в процессе бактериального клеточного дыхания [6]. Реакционные продукты NO способны инактивировать важные ферменты микроорганизмов, путем взаимодействия с железосодержащими центрами (особенно с Fe-S кластерами, гемами), истощая внутриклеточные запасы железа. Они способны напрямую взаимодействовать с ДНК, ингибировать репарацию и репликацию ДНК и усиливать синтез генотоксических медиаторов [7,8]. Несмотря на высокую антибактериальную эффективность, доставка NO к очагу инфекции остается терапевтически трудноразрешимой задачей. В связи с этим, разработка новых низкомолекулярных эффективных NO-донорных агентов и материалов на их основе, способных хранить ковалентно связанный NO [9], представляет собой перспективное направление в борьбе с бактериальными инфекциями.

Цель исследования - создание антибактериальных агентов на базе нового класса гибридных систем, нитрозильных [nFe-mS] комплексов железа, которые содержат в своем составе ингибиторы синтеза ДНК патогенов различной природы и NO группы - ключевые сигнальные молекулы, контролирующие инфекционный процесс.

В настоящей работе была исследована цитотоксичность и антибактериальные свойства ряда нитрозильных комплексов железа с лигандами - тиоаналогами пиридиновых оснований ДНК, алифатическим тиоамином, тиомочевинной и ее алифатическими производными, а также тиотриазолами (рисунок 1) на грамположительных (*Micrococcus luteus*) и грамотрицательных бактериях (*Escherichia Coli*).

На грамотрицательных бактериях нитрозильные комплексы проявили низкую антибактериальную эффективность по сравнению с антибактериальными препаратами ампицилином и цефтриаксоном, однако действие комплексов 7 и 5 сравнимо с действием стрептомицина и канамицина, соответственно. Исключение также составляет комплекс с природным лигандом – цистеамином 17. Комплекс контролирует рост планктона культуры

E. Coli в физиологических концентрациях, уменьшает образование зрелых биопленок и обладает антибиотической активностью, сравнимой с ципрофлоксацином.

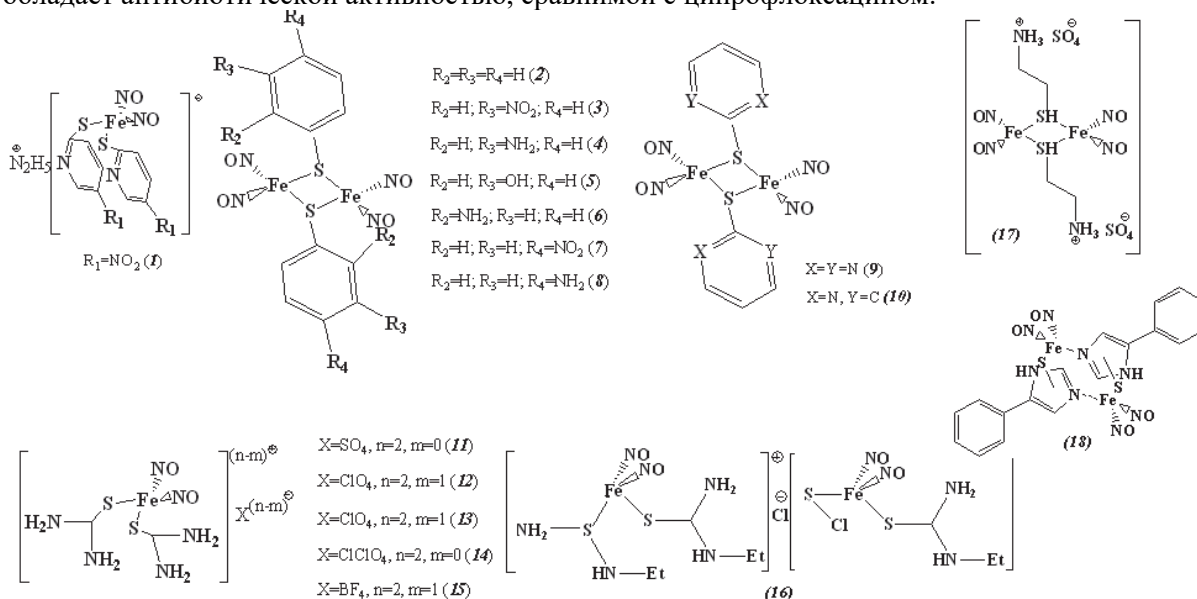


Рис.1 Нитрозильные комплексы железа различных структурных типов.

На грамположительных бактериях действие исследованных комплексов оказалось наиболее выраженным. Все комплексы более эффективны в случае *M.luteus*, чем препараты сравнения – канамицин и стрептомицин. Разный эффект исследуемых доноров NO на грамположительные и грамотрицательные бактерии может быть обусловлен принципиальными различиями в структуре мембран бактерий. Грамположительные организмы имеют одну клеточную мембрану, заключенную в слой клеточной стенки, состоящей из пептидогликана и других связанных с ним полимеров. Грамотрицательные бактерии имеют более сложную организацию клеточной стенки, в которой выделяют внутреннюю, плазматическую и наружную мембраны. При этом плотность наружной мембраны намного больше, чем внутренней из-за высокого содержания углеводов в виде липополисахаридов. Кроме этого, в клеточной стенке грамотрицательных бактерий выделяют множество плотных промежуточных слоев, образующих селективный барьер для проницаемости, защищающий клетку от многих внешних воздействий, включая антибактериальные соединения. Таким образом, грамотрицательные бактерии изначально более устойчивы к антибиотикотерапии, чем грамположительные [10].

Анализ корреляций «молекулярная структура – NO-донорная активность – антибактериальная активность» изученных соединений позволил выявить определенные закономерности, необходимые для дизайна новых соединений этого семейства с улучшенными свойствами.

Следует отметить, что антибактериальная эффективность исследуемых комплексов сравнима, а в некоторых случаях превосходит антибактериальное действие низкомолекулярных доноров других классов. Так, например, МПК некоторых нитроксильных производных окотиллола в отношении *E. coli* составляет $160 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ и более, что соответствует действию соединения 5 с МПК $\text{мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ [11]. Действие нитропруссиды натрия показало значительное снижение роста культуры *S. pneumoniae serotype* диапазоне концентраций от $500 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ до $5 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ через 2 полное прекращение роста культуры в концентрации более $5 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$ [12]. Производные

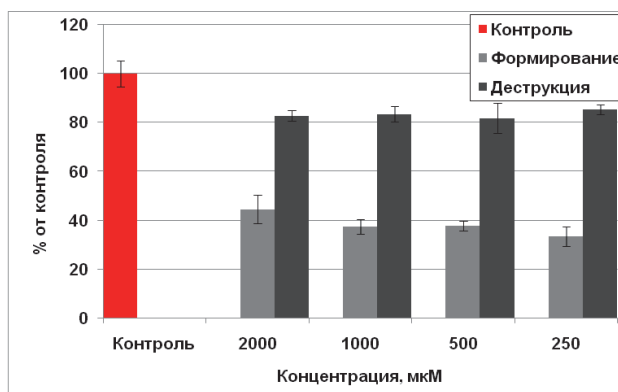


Рис. 2. Влияние нитрозильного комплекса железа 18 на формирование и деструкцию биопленок *M.luteus*.

фуруксана имеют значения МПК от 1.03 до 62 ммоль·л⁻¹ для *Mycobacterium tuberculosis* и от 7.0 до 50.0 ммоль·л⁻¹ *M. tuberculosis* устойчивого к изониазиду, рифампицину, стрептомицину и этамбутолу [13]. NO-доноры класса NONOатов ингибировали рост культуры *Burkholderia pseudomallei* в концентрациях 1530 мкмоль·л⁻¹ и > 3800 мкмоль·л⁻¹ [14].

Большие трудности в борьбе с инфекциями обусловлены, как известно, способностью бактерий формировать биопленки, которые представляют собой микробное сообщество с повышенной резистентностью к действию противомикробных агентов и факторов иммунной системы. Биопленки могут быть причиной развития тяжелых хронических заболеваний, внутрибольничных инфекций, включая инфекции медицинских имплантатов [15]. В этой связи в работе было также исследовано влияние комплексов на способность *M. luteus* формировать биопленки. В связи с этим в настоящей работе было также исследовано влияние комплексов на способность *M. luteus* формировать биопленки. Результаты исследования показали, что большинство комплексов, за исключением комплекса **6**, подавляют образование биопленок. Наибольшую подавляющую активность (выше 50% ингибирования) проявили биядерные комплексы **3**, **7**, **10** и мооядерные комплексы **11**, **14** и **15**, с показателями высвобождения NO выше 20 нмоль·л⁻¹ для биядерных комплексов, и от 17 до 30 нмоль·л⁻¹ для мооядерных комплексов. Комплексы с тиотриазолами оказались наиболее эффективны на стадиях формирования биопленок, и не оказывали разрушающего действия на биопленку как целое (рис.2). Разработана методика получения полимерных покрытий - композитов нитрозильных комплексов железа с поливинилпирролидоном (ПВП) методом спинкоутинга; исследованы морфология, толщина покрытий (метод АСМ) и их NO-донорная активность в сравнении с исходными комплексами. Впервые предлагается осуществить подход, который направлен на применение антибактериальных NO-генерирующих гибридных систем для создания технологии поверхностной и объемной обработки материалов медицинского назначения (имплантов и т.д.) и последующего применения ее в России и за рубежом.

Автор считает, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: нитрозильные комплексы железа разных структурных типов обладают антибактериальной активностью, сравнимой или превосходящей активность некоторых известных антибиотиков и соединений других классов NO-доноров. На основе полученных результатов можно сделать вывод, что исследуемые доноры NO могут служить основой для создания лекарственных средств, включая профилактические, и могут быть применимы для антибактериальной NO терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-03-00837.

Литература

1. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. A. J. Kutner, A. J. Friedman, *WileyInterdiscipRevNanomedNanobiotechnol.*, 2013, 5, 502.
3. J. Park, J.Kima, K.Singha, D.-K. Han, H. Park, W. J.Kima, *Biomaterials*, 2013, 34, 8766.
4. J.Pant , J. Gao , M. J. Goudie , S. P. Hopkins , J. Locklin, H. Handa, *ActaBiomater.*, 2017, 58, 421.
5. S. Priya, R. Nithya, S. Berchmans, *JMaterSci: MaterMed.*, 2014, 25, 1.
6. A. B. Seabra, G. Z. Justo, P. S. Haddad, *Biotechnology Advances*, 2015, 33, 1370.
7. H. Nurhasni, J. Cao, M. Choi, I. Kim, B. L. Lee, Yю Jung, J.-W.Yoo, *Int. J. Nanomedicine*, 2015, 10, 3065.
8. N.A. Reger, W. S. Meng, E. S. Gawalt, *J. Funct. Biomater.*, 2017, 8, 20.
9. P. G.Wang, M.Xian, X. Tang, X. Wu, Z. Wen, T. Cai, A.J. Janczuk, *Chem. Rev.*, 2002, 102, 1091.
10. A. J. F. Egan, *Mol Microbiol.*, 2018, 107(6), 676.
11. Y. Bi, X.Yang, T. Zhang, Z. Liu, X. Zhang, J.Lu, K. Cheng, J.Xu, H. Wang, G. Lv, P.John Lewis, Q. Meng, C.Ma, *Eur J Med Chem.*, 2015, 101, 71.
12. R. N. Allan, S. Morgan, S. Brito-Mutunayagam, P. Skipp, M. Feelisch, S.M. Hayes, W. Hellier, S. C. Clarke, P. Stoodley, A. Burgess, H. Ismail-Koch, R. J. Salib, J.S. Webb, S. N. Faust, L. Hall-Stoodleya, *Antimicrob Agents Chemother.*, 2016, 60, 2456
13. G.F. dos Santos Fernandes, P.C. de Souza, L.B. Marino, K. Chegaev, S. Guglielmo, L.Lazzarato, R. Fruttero, M. C. Chung, F. R. Pavan, J.L. dos Santos, *Eur J Med Chem.*, 2016, 123, 523.
14. J. Jones-Carson, J. R. Laughlin, A. L. Stewart, M. I. Voskuil, A. Vázquez-Torres, *Nitric Oxide*, 2012, 27(1), 25.

Сведения об авторе

Наталья А. Санина

профессор, доктор химических наук
заведующая отделом Строения вещества
Эл. почта: sanina@icp.ac.ru
Институт проблем химической физики РАН
Россия, Москва

Information about author

Nataliya A. Sanina

Professor, Doctor of Chemistry
E-mail: sanina@icp.ac.ru
Institute of Problems of Chemical Physics
Russian Academy of Sciences
Russia, Moscow

УДК 577.152.3 ¹Дерягина В.П., ²Реутов В.П., ¹Рыжова Н.И., ¹Савлучинская Л.А., ¹Голубева И.С.
ГРНТИ 76.29.49 ¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ
²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПОЛИФЕНОЛЫ – МОДУЛЯТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ ОКСИДА АЗОТА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

В обзоре анализируются данные литературы и результаты собственных исследований о роли активных форм азота (NO, NO₂) в инициации и прогрессии опухолей. Анализируется возможность модуляции активности индуцибельной NO-синтазы биологически активными компонентами растительных продуктов и их влияние на канцерогенез.

Ключевые слова: оксид азота и его активные формы, индуцибельная NO-синтаза, цикл оксида азота, канцерогенез, полифенолы.

¹Deryagina V.P., ²Reutov V.P., ¹Ryzhova N.I., ¹Savluchinskaya L.A., ¹Golubeva I.S.
FSBI N.N. Blokhin NMRCO
²Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS

VEGETABLE POLYPHENOLS - MODULATORS OF THE FORMATION OF NITRIC OXIDE DURING CARCINOGENESIS

The review analyzes literature data and the results of our own research on the role of reactive nitrogen species (NO, NO₂) in the initiation and progression of tumors. The possibility of modulating the activity of inducible NO synthase by the biologically active components of plant products and their effect on carcinogenesis is analyzed.

Keywords: nitric oxide, active forms of nitric oxide, inducible NO-synthase, cycles of nitric oxide, carcinogenesis, polyphenols.

Цель работы. Краткий обзор путей, модулирующих активность iNOS, а также анализ противоопухолевых эффектов растительных полифенолов (ПФ) с позиции их влияния на экспрессию iNOS в канцерогенезе.

Введение. Оксид азота (NO), продуцируемый NO синтазами (NOS), является универсальным и необходимым регулятором физиологических реакций: иммунных, нейрональных, сосудистых и др. За последние десятилетия получены убедительные доказательства участия NO и его активных форм (АФНО) в патогенезе злокачественных опухолей. Обнаружено, что экспрессия наиболее высокопродуктивного фермента – индуцибельной NO-синтазы (iNOS), положительно коррелирует с прогрессией при опухолях легких, простаты, молочной железы, мочевого пузыря, ротовой полости, пищевода, желудка и опухолей толстой кишки [1(334-43),2(130-6)]. Гиперпродукция NO (>1μM) способствует образованию активных форм NO – NO₂, ONOO⁻ и др., которые могут вызвать повреждение ДНК, активацию онкогенов, подавление активности репарирующих ДНК ферментов, химическую модификацию белков (содержащих гем-, тиоловые, тирозиновые остатки или металлы переменной валентности и др.), а также оказывают цитостатическое и цитотоксическое действие на опухолевые клетки [3 (18-31), 4 (78-82)].

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о наличии обратной связи между увеличением потребления овощей, фруктов, цельных злаков, бобовых, специй и риском онкологических заболеваний [5(564-86)]. Экспериментальные исследования подтверждают способность биологически активных компонентов растительных продуктов (БАКРП): полифенолов (ПФ), индолов, ретиноидов, витаминов и др. модулировать метаболизм

ксенобиотиков, ингибировать пролиферацию, индуцировать апоптоз, замедляя рост опухолей [5, 6(76-87)]. Можно ожидать, что их эффекты с присущим им антиоксидантным потенциалом затронут NO сигнальные пути через прямое взаимодействие с NO и с его активными формами, нивелируя их действие или через блокирование факторов, влияющих на образование NO: NF- κ B, активатора белка-1 (AP-1) или митоген-активирующих протеинкиназ (МАРК) и др.

Участие NO и АФНО в канцерогенезе

NO и АФНО модулируют различные связанные с опухолевым процессом события: мутагенез, репарацию ДНК, пролиферацию, апоптоз, ангиогенез, метастазирование и инвазию [7(157-73)]. NO может как индуцировать, так и тормозить рост опухолей, выступая в последнем случае как соединение, перспективное в терапии опухолей [1,7]. Активность важных для канцерогенеза белков (HIF-1 α , ERK, p53 и др.) существенно зависит от концентрации NO, продолжительности экспозиции NO и АФНО, градиента концентраций NO в клетке и межклеточном пространстве [8(8894-9)]. Количество продуцируемого NO зависит от природы стимулов; так при цитокиновой стимуляции образуется меньше NO, чем при стимуляции, активирующей Toll-подобные рецепторы [9(11341-7)]. Низкие концентрации NO (1-30 nM) способны стимулировать пролиферацию, ангиогенез; при высоких концентрациях NO оказывает токсическое действие на опухолевые клетки. Но даже при высоких концентрациях NO, опухолевые клетки могут избежать гибели. Так, на примере гепатоцитов показано, что нитрозилирование каспазы-3 предотвращает апоптоз, инициированный TNF- α . [10(31138-48)].

Регуляция активности iNOS

Индукция iNOS происходит под влиянием IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , бактериального липополисахарида (LPS), белков теплового шока и др. преимущественно в макрофагах, моноцитах, опухолевых, эпителиальных и др. типах клеток [11(829-37)]. В условиях гипоксии инфильтрирующие опухоль IFN-примированные макрофаги могут синтезировать NO [12((3682-8)]. В экспрессию iNOS вовлечены многочисленные транскрипционные факторы, такие как NF- κ B, AP-1, сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции 1 α (STAT-1 α), интерферон регулирующий фактор-1 (IRF-1), ядерный фактор интерлейкина-6 (NF-IL-6) и высокоподвижная группа I (Y) белка, фактор, индуцируемый гипоксией-1 (HIF-1) и др. [13(65-70), 14(593-615), 15(66-82), 16(30-34)]. Транскрипционный фактор NF- κ B играет ключевую роль в регуляции генов, участвующих в воспалительных и иммунных реакциях, включая iNOS и является основной мишенью для активаторов и ингибиторов экспрессии iNOS [17(157-73), 18(75-93)]. При гипоксии/ишемии, функциональной нагрузке или при переходе гемсодержащих белков в дезокси-форму ионы NO₂ легко превращаются в NO в крови и тканях человека и животных в цикле оксида азота. NO может напрямую взаимодействовать с супероксидным анион-радикалом, минуя ферментативные и неферментативные системы. В ходе этих реакций образуются молекулы NO₂ и анионы пероксинитритов, которые после протонирования распадаются на высокореакционные NO₂ и OH-радикалы, способные участвовать в цепных свободнорадикальных процессах и окислять/повреждать практически все биохимические структуры [19(20-5), 20(409-26)-21(219-29)].

Роль iNOS в канцерогенезе продолжает выясняться. Ученые сходятся во мнении, что необходимы исследования с широкой направленностью, учитывающие взаимодействие опухолевых, иммунных, эндотелиальных и эпителиальных клеток, экспрессирующих iNOS и другие изоформы NOS и чувствительных к действию NO с учетом генеза опухоли.

Биологически активные компоненты растительных продуктов, модулирующие экспрессию iNOS

Население, проживающее в Средиземноморском регионе, имеют более низкие показатели заболеваемости раком по сравнению с населением, проживающим в Северной Европе или США, вероятно, вследствие более здоровых привычек в питании. В США на долю причин, связанных с особенностями питания, относят 30-35% смертей, вызванных онкологическими заболеваниями [22(7-66)]. Употребление овощей, фруктов снижают риски возникновения рака ряда нозологий [22]. Многие БАКРП с выраженными антиоксидантными свойствами могут инактивировать активные формы кислорода (АФК) и АФНО, препятствуя свободнорадикальным цепным реакциям, влияя на биотрансформацию канцерогенов, репарацию ДНК и др. [6, 23(8118-8135), 24(586-621)]. БАКРП могут подавлять как активность iNOS, так и факторов, вовлеченных в активацию iNOS. ПФ могут препятствовать прогрессии опухолей, в том числе за счет образования полифенольно-белковых комплексов, последние

могут влиять на активность онкогенных белков-мишеней. Следует отметить, что в некоторых случаях, особенно при высоких дозах, БАКРП могут инициировать воспаление, повреждение ДНК, и оказывать другие побочные эффекты [24, 25(785)].

Рассмотрим на некоторых примерах противоопухолевые эффекты ПФ и их влияние на эндогенный синтез NO и его производных, а также на экспрессию iNOS, ответственную за гиперпродукцию NO.

Экспериментальные и эпидемиологические данные указывают на то, что полифенол **ресвератрол (фитоалексин –3, 4', 5 -тригидрокси-транс-стильбен)** и его производные, присутствующие в винограде, оказывают защитный эффект при сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и опухолевых процессах [26(586-621)]. В экспериментальных условиях **ресвератрол** разнонаправленно действовал на функцию iNOS в зависимости от типа опухолевых клеток. В тканях нейроэпителиальных опухолей головного мозга (астроцитомы, олигодендроглиомы, глиомы) экспрессия iNOS может быть значительной [27(43-8)]. В культуре клеток астроглиомы С6 крыс (предварительно обработанных бета-амилоидом) ресвератрол дозозависимо снижал образование NO и экспрессию iNOS, но добавление его в среду клеток аденокарциномы желудка (SNU-1), наоборот, стимулировало в них активность NOS, подавляя синтез ДНК в опухолевых клетках [28(1069-75), 29(G809-16)]. Активирующее действие ресвератрола на экспрессию iNOS и eNOS было зарегистрировано в культуре опухолевых клеток печени Нер G2 [30(1657-66)]. Одновременно, ресвераторол ингибировал пролиферацию опухолевых клеток печени, индуцируя апоптоз. Механизм действия ПФ связывают с подавлением активности bcl-2, активацией каспазы-3, а также снижением экспрессии iNOS. Подчеркивается низкая токсичность высоких концентраций ПФ по отношению к нормальным периферическим моноцитам, служащих контролем [31(1991-2002)]. К потенциальными молекулярным мишеням ресвератрола и птеростильбенов можно отнести NF-карра В, активирующий белок 1, STAT-3, протеинкиназу В (Akt), регулятор апоптоза (Bcl-2), каспазы, митоген-активирующие протеин-киназы и 5-липоксигеназы [32(350-5)].

Продолжительное и регулярное употребление зеленого чая может снизить риск развития злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта. Установлено, что эпигаллокатехин-3 галлат (ЭГКЗГ, ингредиент зеленого чая) ингибировал экспрессию iNOS и pNOS, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), металлопротеиназ матрикса, рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), регуляторные белки клеточного цикла и др. сигнальные пути, вовлеченные в процесс индукции и развития опухолей [33(1056-63), 34(1281-6), 35(2079-86)].

Растительный флавоноид, содержащийся в сельдерее, красном сладком перце, траве пустырника и др. – **апигенин** (5,7,4¹-триоксифлавоон), антиоксидант, тормозил рост опухолей различных локализаций, включая легкие, простату толстую кишку, поджелудочную и щитовидную железы, кожу, опухоли головы и шеи и др., действуя на многие вовлеченные в канцерогенез белки и онкогенные сигнальные пути. На культуре андроген-нечувствительных опухолевых клеток простаты, апигенин инициировал апоптоз, ингибировал NF-kB и экспрессию генов, контролируемых NF-kB: *Bcl 2*, *циклина D1*, *циклооксигеназы-2 (COX-2)*, *iNOS* и *VEGF*. Апигенин способен усиливать цитотоксический эффект 5-фторурацила (5-FU) через ингибирование лекарственной резистентности и активацию апоптоза [36(423-46)].

Нобилетин – полиметокси флавоноид, обнаруженный в цитрусовых, является одним из эффективных ингибиторов роста опухолевых клеток в системе *in vitro* и экспериментах на животных [37(2629-38)]. Предварительная обработка кожи нобилетином и **куркумином** (пигмент, получают из корня куркумы, семейство имбирных) снижала образование опухолей кожи, индуцированных пероксинитритом, приводила к супрессивному эффекту в отношении iNOS. Авторы подчеркивают, что комбинация каротиноидов и флавоноидов может быть более эффективной в профилактике опухолей кожи, чем отдельно взятые соединения [38(57-61)].

Экспериментально подтверждено, что содержащийся в сое изофлавоон **генистеин**, имеет антиканцерогенный потенциал [39(40), 40(121-65)]. Внесение генистеина в культуры клеток астроцитов и клеток глиомы С6 дозозависимо ингибировало как липополисахарид-, так и цитокин- а также хлорохин- индуцированную активность iNOS. Показано, что даже

предварительная инкубация клеток совместно с генистеином бывает достаточной для подавления активности iNOS [41(811-4)].

Фенолкарбоновые кислоты, к которым относят **галловую (ГК) и таниновую (ТК)**, обладают антиоксидантными свойствами, легко взаимодействуют со свободными радикалами. В серии экспериментов на клеточных линиях карциномы пищевода ГК продемонстрировала значимое ингибирование клеточной пролиферации и индуцировала апоптоз в злокачественных, но не в здоровых клетках, снижая активность антиапоптотических белков Bcl-2 и XIap [42(605-13)]. Антиканцерогенная активность ГК была показана на различных опухолевых клетках: простаты, желудка, толстой кишки, молочной железы, лейкозов и др. [43(525-30)]. ГК и ТК при пероральном введении мышам увеличивали латентный период формирования опухолевых узлов и задерживали опухолевый рост на 91% и 78%, соответственно, у животных с подкожно перевитой карциномой Эрлиха, разнонаправленно действуя на эндогенное образование производных NO [44(26-31)].

Ксантогуомол (Кг) - халкон, полученный из хмеля. Он является ловушкой реактивных форм кислорода, включая гидроксил-, перокси-, O_2^- радикалы, ингибирует образование NO, проявляет противовоспалительные свойства, ингибирует COX-1 и COX-2, а также оказывает противоэстрогенное действие, не обладая эстрогенным потенциалом. Экспериментально доказано, что Кг может ингибировать клеточный рост и индуцировать апоптоз в опухолевых клетках молочной железы, простаты, толстой кишки и лейкемических клетках человека [45((908-16)]. Показано, что Кг ингибировал синтез ДНК, пролиферацию, индуцируя арест клеточного цикла в фазах G0/G1 и S-фазе, апоптоз, вызывал снижение активации Notch-сигнального пути и др. [46(959-69)].

В условиях системного воспаления, характерного для опухолевого роста, избыточная продукция NO и АФНО может способствовать протеканию реакций нитрозирования с образованием в том числе потенциальных канцерогенных N-нитрозосоединений (N-НС) [2, 47(860-7), 48(73-80)]. Уже в самых ранних работах обнаружена высокая ингибирующая активность **аскорбиновой кислоты**, блокирующая до 90% образования N-НС из предшественников в организме [1, 49(189-201)]. Способность ингибировать нитрозирование морфолина и пиперазина выявлена также у глутатиона, таниновой кислоты (входит в состав чая), сульфида натрия (консервант), фолиевой кислоты, токоферолов, полифенолов и у некоторых пищевых продуктов, которые могут оказывать влияние на pH среды желудка, время пребывания в желудке предшественников и др. [50(1-45)].

Эпидемиологическими исследованиями установлена положительная связь частоты рака прямой кишки с количеством потребляемого красного мяса. Потребление мяса сопровождается увеличением уровня нитрогенных метаболитов – аминов и амидов, образующихся при бактериальном декарбокислировании аминокислот в толстой и прямой кишке. Нитрозирование аминов и амидов способствует образованию N-НС. В серии исследований на добровольцах-мужчинах показано, что содержание N-НС в кале дозозависимо нарастало с увеличением потребления красного мяса и не снижалось под действием источников пищевых волокон: отрубей, овощей и резистентных форм крахмалов [51(3522S-5S), 52(25-34)]. Потребление сои снижало содержание N-НС в кале [53((70-7)]. Бобовые, соленая рыба, ферментированные соевые продукты, плесневелые пищевые продукты способствуют образованию генотоксичных соединений в желудке, стимулируя реакции нитрозирования в присутствии нитритов [54 (179-84)]. Эти данные служат основанием, чтобы рекомендовать ограничение потребления таких продуктов.

Куркумин – полифенол, широко используется как специя к блюдам. Индуцирует детоксицирующие ферменты, в том числе глутатион-S-трансферазу. Куркумин проявил антиканцерогенную активность при опухолях толстой кишки, молочной железы, двенадцатиперстной кишки, кожи, ротовой полости и лейкозе. В основе антиканцерогенного потенциала куркумина лежит его способность подавлять пролиферацию опухолевых клеток, снижать активность транскрипционных факторов NF-kB, AP-1, экспрессию COX-2, липоксигеназы (LOX), iNOS, матриксной металлопротеиназы (ММР-9), IL-1 β и циклина D3, а также регулировать многочисленные факторы, вовлеченные в канцерогенез [55(963-7), 56(2446-60)].

Заключение

Обобщая данные исследований по влиянию ПФ на опухолевый процесс и активность iNOS, полученные *in vitro* и *in vivo*, можно заключить, что практически все протестированные

вещества оказывали противоопухолевое действие. На фоне ингибирования опухолевой прогрессии около 70% из испытанных ПФ снижали активность iNOS или образование производных NO в опухолевой ткани. При снижении iNOS под воздействием ЭГКГ, апигенина регистрировали одновременное снижение экспрессии NF- κ B. Снижение экспрессии iNOS часто сопровождалось ингибированием VEGF (под воздействием ЭГКГ, апигенина, нобилетина, генистеина), арестом различных фаз клеточного цикла (при действии ресвератрола и его аналогов, нобилетина, генистеина, ксантагумола). При ингибировании iNOS под воздействием апигенина, нобилетина, фенольных кислот отмечалось снижение активности белка, подавляющего апоптоз – Bcl-2. Проведенный анализ показывает, что ПФ проявляют мультитаргетный механизм действия, модулируя активность многочисленных белков и факторов, участвующих в канцерогенезе [57(158-177)].

Полагают, что около 25% случаев рака этиологически связаны с хроническим воспалением и инфекцией, которые могут сопровождаться активацией iNOS в клетках ткани и в иммунных клетках и избытком образования АФНО [58(762514)]. Например, риск колоректального рака в 10-раз выше при воспалительных заболеваниях кишечника, таких, как язвенный колит и болезнь Крона [59(G7-17)]. Инфицирование желудка *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) и связанное с ним воспаление может стать причиной возникновения аденокарциномы желудка [60(7130-6)]. При опухолевом росте ряд диетических ингредиентов (ресвератрол, куркумин, генистеин, EGCG, нобилетин и др.) оказывают противовоспалительные действие, подавляя активность NF- κ B, COX-2, iNOS, АКТ и фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), а также ERK [61(1409-12), 62((1-12))].

Ряд авторов считает, что текущего потребления БАКРП с диетой недостаточно, чтобы защитить организм от неблагоприятного воздействия канцерогенов, или оказать ингибирующее влияние на опухолевый процесс и в качестве альтернативного подхода рассматривают дополнительный прием биологически активных добавок (БАД). Тем не менее, необходимо подходить с особой осторожностью при назначении БАД онкологическим больным, так как некоторые флавоноиды или их комбинация могут стимулировать пролиферацию и выживаемость клеток, вызывать различные побочные эффекты [63(287-303)]. Примером могут служить данные экспериментов, полученные нами с использованием препарата из виноградных косточек, стандартизованного по содержанию олигомерных проантоцианидинов, с выраженной антиоксидантной активностью. Регулярное введение препарата в высокой дозе 300 мг/кг массы тела мыши стимулировало на 45% рост карциномы Эрлиха на фоне повышенной продукции АФНО [64(10-5)]. Пероральное введение мышам ГК или индол-3-карбинола или микроводоросли спирулины, обогащенной Se, вызывало задержку формирования опухолевых узлов и торможение роста опухолей. В тоже время, на фоне введения комбинации спирулины с ГК или с И-3-К регистрировали достоверное ускорение роста перевиваемых опухолей [65(49-55)].

Многочисленные данные, подтверждающие противоопухолевый потенциал флавоноидов при их низкой токсичности на здоровые клетки, могут служить основанием при рассмотрении этих соединений в качестве профилактических, а также в качестве поддерживающей терапии онкологических больных. Однако, в клинических исследованиях не выявлено значимой терапевтической эффективности флавоноидов при онкологических заболеваниях [66(515)]. Чтобы рекомендовать потребление ПФ в виде БАД с целью онкопрофилактики необходимо получить убедительные научные обоснования их противоопухолевой эффективности и безопасности.

Суммируя данные литературы и собственные результаты, можно заключить, что большинство ПФ снижают активность iNOS, ответственной за образование АФНО, тем самым уменьшая их проопухолевые эффекты. Можно считать оправданной стратегию, скорее направленную на снижение активности iNOS, в том числе с помощью диеты с высоким содержанием фруктов и овощей, богатых ПФ.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: обобщение и анализ данных, подтверждающих модуляцию растительными полифенолами активности индуцибельной NO-синтазы и образования NO и продуктов его метаболизма, позволяют сформулировать принципы применения этих соединений с целью ингибирования канцерогенеза.

Литература

1. Vannini F., Kashfi Kh. and Nath N. The dual role of iNOS in cancer. Redox Biol. 2015; 6:

334-43.

2. *Deryagina V.P., Ryzhova N.I., Krivosheeva L.V. and Golubeva I.S.* Formation of nitric oxide metabolites during growth of transplanted tumors with different metastatic potential. *Biochemistry (Moscow)*. Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 2015; 9(2): 130-6.

3. *Thomas D.D., Ridnour L.A., Isenberg J.S. et al.* The Chemical biology of nitric oxide. Implication in Cellular Signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 45(1): 18-31.

4. *Кондакова И.В., Загребельная Г.В., Реутов В.П.* Влияние пероксидных радикалов и оксида азота на пролиферирующую активность опухолевых клеток // Известия национальной академии наук Беларуси. Сер. мед.-биол. наук. 2003. №1. С. 78-82.

5. *Kaur V., Kumar M., Kumar A. et al.* Pharmacotherapeutic potential of phytochemicals: Implications in cancer chemoprevention and future perspectives // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 97: 564-86.

6. *Weng Ch.-J., Yen G.-Ch.* Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treat Rev.* 2012. 38: 76-87.

7. *Bonavida B., Khineche S., Huerta-Yepes S., and Garban H.* Therapeutic potential of nitric oxide in cancer. *Drug resist updates.* 2006; 9 (3): 157-73.

8. *Thomas D.D., Espey M.G., Ridnour L.A. et al.* Hypoxic inducible factor 1 alpha, extracellular signal-regulated kinase, and p53 are regulated by distinct threshold concentrations of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(24): 8894-9.

9. *Espey M.G., Miranda K.M., Pluta R.M., Wink D.A.* Nitrosative capacity of macrophages is dependent on nitric-oxide synthase induction signals. *J Biol Chem.* 2000; 275: 11341-7.

10. *Kim Y.M., Talanian R.V., Billiar T.R.* Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. *J Biol Chem.* 1997; 272(49): 31138-48.

11. *Förstermann U., Sessa W.C.* Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 2012; 33(7): 829-37.

12. *Tendler D.S., Bao C., Wang T. et al.* Intersection of interferon and hypoxia signal transduction pathways in nitric oxide-induced tumor apoptosis. *Cancer Res.* 2001; 61:9. 3682-8.

13. *Nathan C.F., Hibbs JB. Jr.* Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol* 1991; 3(1): 65-70.

14. *Alderton W.K., Cooper C.E. and Knowles R.G.* Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem. J.* 2001; 357: 593-615.

15. *Запорожан В.Н., Гоженко А.И., Корнеев Т.В., Дубинина В.Г.* Биологическая активность оксида азота в механизмах опухолевого роста. *Усп. физиолог наук.* 2004; 35(1): 66–82.

16. *Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Реутов В.П.* NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза. *Вестник РАМН.* 2000; 4: 30-34.

17. *Bonavida B., Khineche S., Huerta-Yepes S., and Garban H.* Therapeutic potential of nitric oxide in cancer. *Drug resist updates.* 2006; 9 (3): 157-73.

18. *Pautz A., Art J., Hahn S.* Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Nitric oxide.* 2010; 23: 75-93.

19. *Дерягина В.П.* Образование свободнорадикальных соединений при действии нитрита натрия на организм животных и в условиях *in vitro*. *Токсикологический вестник.* 2003; 6: 20-5.

20. *Menshikova E.B., Zenkov N.K., Reutov V.P.* Nitric oxide and NO-synthase in mammals in different functional states. *Biochemistry (Moscow)*. 2000. 65(4): 409-26.

21. *Reutov V.P., Kayushin L.P., Sorokina E.G.* Physiological role of nitric oxide cycle in human and animal organism. *Human Physiology.* 1994; 20: 219-29.

22. *Fresco P., Borges F., Diniz C., Marques M.P.* New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Med Res Rev.* 2006; 26 (6): 7-66.

23. *Maldonado-Rojas W. and Olivero-Verbel J.* Food-related compounds that modulate expression of inducible nitric oxide synthase may act as its inhibitors. *Molecules.* 2012. 17: 8118-8135.

24. *Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouysegu L.* Plant Polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011; 50: 586–621.

25. *Azqueta A., Collins A.* Polyphenols and DNA damage: a mixed blessing. *Nutrients.* 2016; 8(12): 785.

26. *Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouysegu L.* Plant Polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011; 50: 586–621.

27. *Hara A, Okayasu I.* Cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression in

- human astrocytic gliomas: correlation with angiogenesis and prognostic significance. *Acta Neuropathol.* 2004; 108(1): 43–8.
28. Kim Y.A., Lim S.Y., Rhee S.H. et al. Resveratrol inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in beta-amyloid-treated C6 glioma cells. *Int. J. Mol. Med.* 2006; 17(6): 1069-75.
29. Holian O., Wahid S., Atten M.J., Attar B.M. Inhibition of gastric cancer cell proliferation by resveratrol: role of nitric oxide. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002; 282 (5): G809-16.
30. Notas G., Nifli A.P., Kampa M. et al. Resveratrol exerts its antiproliferative effect on HepG2 hepatocellular carcinoma cells, by inducing cell cycle arrest, and NOS activation. *Biochem Biophys Acta.* 2006; 1760: 1657-66.
31. Billard C., Izard J.C., Roman V. et al. Comparative antiproliferative and apoptic effects of resveratrol, epsilon viniferin and vine-shots derived polyphenols (vineatrols) on chronic B lymphocytic leukemia cells and normal human lymphocytes. *Leuk Lymphoma.* 2002; 43(10): 1991-2002.
32. Nanjoo S., Shiby P., Xingpei H. et al. Pterostilbene, an active constituent of blueberries, suppresses aberrant crypt foci formation in the azoxymethane-induced colon carcinogenesis model in rats. *Clin Cancer Research.* 2007; 13: 350-5.
33. Nechuta S., Shu X.O., Li H.L. et al. Prospective cohort study of tea consumption and risk of digestive system cancers: results from the Shanghai women's health study. *J Clin Nutr* 2012; 96: 1056-63.
34. Chan M.M., Fong D., Ho C.T., Huang H.I. Inhibition of inducible nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity by epigallocatechin gallate, a natural product from green tea. *Biochem Pharmacol.* 1997; 54 (12): 1281-6.
35. Singh R., Ahmed S., Islam N. et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits interleukin-1beta-induced expression of nitric oxide synthase and production of nitric oxide in human chondrocytes: suppression of nuclear factor kappaB activation by degradation of the inhibitor of nuclear factor kappaB. *Arthritis. Rheum.* 2002; 46 (8): 2079-86.
36. Shankar E., Goel A., Gupta K., Gupta S. Plant flavone apigenin: an emerging anticancer agent. *Curr Pharmacol Rep.* 2017; 3(6): 423-46.
37. Chen J., Chen A.Y., Huang H. et al. The flavonoid nobiletin inhibits tumor growth and angiogenesis of ovarian cancer via the Akt pathway. *Int J Oncol.* 2015; 46(6): 2629-38.
38. Nishino H., Tokuda H., Satomi Y. et al. Cancer prevention by antioxidants. *Biofactors.* 2004; 22(1-4): 57-61.
39. Applegate C.C., Rowles J.L., Ranard K.M. et al. Soy consumption and risk of prostate cancer: an updated systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2018;10:40.
40. Ravindranath M.H., Muthugounder S., Presser N., Viswanathan S. Anticancer therapeutic potential of soy isoflavone, genestein. *Adv Exp Med and Biol.* 2004; 546(1): 121-65.
41. Feinstein D.L., Galea E., Cermak J. et al. Nitric oxide synthase expression in glial cells: suppression by tyrosine kinase inhibitors. *J. Neurochem.* 1994; 62 (2): 811-4.
42. Faried A., Kurnia D., Faried L.S. et al. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines. *Int J Oncol.* 2007; 30 (3): 605-13.
43. Sourani Z., Pourgheysari B., Beshkar P. et al. Gallic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in lymphoblastic leukemia cell line (C121). *Iran J. Med.Sci.* 2016; 41(6): 525-30.
44. Антошина Е.Е., Горькова Т.Г., Дерягина В.П., Рыжова Н.И. Ингибирующее действие фенольных кислот и разных форм микроводоросли спирулины на рост карциномы Эрлиха у мышей. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.* 2009; 20(4): 26-31.
45. Sun Z., Zhou C., Liu F., Zhang W. et al. Inhibition of breast cancer cell survival by xanthohumol via modulation of the Notch signaling pathway in vivo and in vitro. *Oncol. Lett.* 2018; 15(1): 908-16.
46. Gerhauser C., Alt A., Heiss E. et al. Cancer chemopreventive activity of Xanthohumol, a natural product derived from hop. *Mol Cancer Ther.* 2002; 1 (11): 959-69.
47. Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002; 420: 860-7.
48. Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Кривошеева Л.В. и др. Экспрессия iNOS и биосинтез метаболитов оксида азота при росте опухолей различного гистогенеза. *Усп. Мол. Онкологии.* 2016. Т.3: 73-80.
49. Bartsch H., Frank N. Blocking the endogenous formation of N-nitroso compounds and related carcinogens. *IARC Sci. Publ.* 1996; 39: 189-201.
50. Жукова Г.Ф., Михайлова М.В. Снижение уровня загрязненности N-нитрозаминами

продуктов животного происхождения: Обзорная информация. М:ВНИИТЭИагропром. 1989. 45 с.

51. *Bingham S.A., Hughes R., Cross A.J.* Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. *J Nutr.* 2002; 132: 3522S–5S.

52. *Bingham S.* Meat, starch and non-starch polysaccharides, are epidemiological and experimental findings consistent with acquired genetic alterations in sporadic colorectal cancer? *Cancer Lett.* 1997; 114 (1,2): 25-34.

53. *Hughes R., Pollock J.R., Bingham S.* Effect of vegetables, tea and soy on endogenous N-nitrosation, fecal ammonia, and fecal water genotoxicity during a high red meat diet in humans. *Nutr Cancer.* 2002; 42(1): 70-7.

54. *Cross A.J., Greetham H.L., Pollock J.R. et al.* Variability in fecal water genotoxicity, determined using the Comet assay, is independent of endogenous N-nitroso compound formation attributed to red meat consumption. *Environ Mol Mutagen.* 2006; 47(3): 179-84.

55. *Oyagbemi A.A., Saba A.B., Ibraheem A.O.* Curcumin: from Food Spice to cancer prevention. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2009; 10: 963-7.

56. *Siddapa G., Kulsum S., Ravindra D.R. et al.* Curcumin and metformin mediated chemoprevention of oral cancer is associated with inhibition of cancer stem cells. *Mol Carcinog.* 2017. 56(11): 2446-60.

57. *Белицкий Г.А., Курсанов К.И., Лесовая Е.А., Якубовская М.Г.* Природные ингибиторы канцерогенеза. Молекулярный канцерогенез. М: ООО «ИД «АБВ-пресс»; 2016; С. 158-177.

58. *Cherdantseva L.A., Potapova O.V., Scarcova T.V. et al.* Association of Helicobacter pylori and iNOS production by macrophages and lymphocytes in the gastric mucosa in chronic gastritis. *J Immunol Res* 2014; 2014:762514.

59. *Itzkowitz S.H., Yio X.* Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004; 287: G7-17.

60. *Hussain S.P., He P., Subleski J. et al.* Nitric oxide is a key component in inflammation-accelerated tumorigenesis. *Cancer Res.* 2008; 68 (17): 7130-6.

61. *Roxburgh C.S.D. and McMillan D.C.* Cancer and systemic inflammation: treat the tumor and treat the host. *Br J Cancer.* 2014; 110(6): 1409-12.

62. *Vahora H., Khan M.A., Alalami U. and Hussain A.* The potential role of nitric oxide in halting cancer progression through chemoprevention. *J Cancer Prevention.* 2016; 21: 1-12.

63. *Galati G., O'Brien P.* Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: Significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radic Biol Med.* 2004; 37: 287-303.

64. *Дерягина В.П., Рыжова Н.И.* Влияние флавоноидов и индолов на рост аденокарциномы у мышей. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина. 2009; 20(1): 10-5.

65. *Дерягина В.П., Рыжова Н.И., Голубкина Н.А. и др.* Экспериментальное изучение профилактических свойств обогащенных селеном растительных продуктов на модели перевиваемых опухолей у мышей. Вопросы биологической, медицинской и фармакологической химии. 2011; 11: 49-55.

66. *Zhou Y., Zheng J., Li Y. et al.* Natural Polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients.* 2016; 8(8): 515.

Сведения об авторах

Валентин Палладиевич Реутов

д-р биол.наук, проф.

вед. науч. сотр.

Эл. почта: valentinreutov@mail.ru

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Валентина Петровна Дерягина

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: derygina@inbox.ru

Наталья Ильинична Рыжова

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: 1124415@mail.ru

Information about authors

Valentin Palladievich Reutov

PhD., Doct. Biol. Sci.

Leading Researcher

E-mail: valentinreutov@mail.ru

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS

Valentina Petrovna Deryagina

Ph. Dr.

senior research. employee;

E-mail:

Natalya Ilyinichna Ryzhova

Ph. Dr.

senior research. Employee

E-mail: 1124415@mail.ru

Людмила Александровна Савлущинская

канд. биол. наук

науч. сотр.

Эл. почта: blood-research@yandex.ru

Ирина Сергеевна Голубева

канд. биол. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: irinagolubeva52@mail.ru

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Россия, Москва

Ludmila Alexandrovna Savluchinskaya

Ph. Dr.

scientific. Employee

E-mail: blood-research@yandex.ru

Irina Sergeevna Golubeva

Ph. Dr.

the vedas. scientific. employee

E-mail: irinagolubeva52@mail.ru

FSBI N.N. Blokhin NMRCO

Russia, Moscow

УДК 616:546.172.6: Паршина С.С., Афанасьева Т.Н., Петрова В.Д., Капланова Т.И., Потапова М.В.

615.849.11“313”(045)

ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет

ГРНТИ 76.29.30

им. В.И. Разумовского,

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАГЕРЦОВОЙ ТЕРАПИИ В КУПИРОВАНИИ ГИПЕРТОНИЧЕСКИХ КРИЗОВ

Показано, что электромагнитное излучение терагерцового диапазона на частотах оксида азота (ЭМИ ТГц-NO или ТГц-терапия-NO) (150,176 ... 150,664 ГГц) позволяет купировать гипертонические кризы. Режим воздействия непрерывный. Длительность облучения составляет 20-40 мин.

Ключевые слова: гипертонический криз, оксид азота, электромагнитное излучение, терагерцовый диапазон.

Parshina S.S., Afanasyeva T.N., Petrova V.D., Kaplanova T.I., Potapova M.V.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky

TERAHERTZ THERAPY POTENCY IN RELIEF OF HYPERTENSIC CRISES

It was demonstrated that electromagnetic radiation of terahertz band on the frequencies of nitrogen oxide (EMR of THz-NO or THz-NO-therapy) (150,176 ... 150,664 GHz) allows to relief hypertensive crises. Continious mode of exposure. The duration of the exposure is 20-40 minutes.

Keywords: hypertensive crisis, nitrogen oxide, electromagnetic radiation, terahertz band.

Гипертонические (ГК) кризы являются серьезным осложнением течения артериальной гипертензии (АГ), требующим не только перорального, но и парентерального введения лекарственных препаратов, которые обладают побочными действиями и могут вызывать аллергические реакции. Кроме того, резкое снижение артериального давления (АД) при лечении ГК приводит к ишемизации органов и требует дополнительных лечебных мероприятий. Именно поэтому возрастает интерес к немедикаментозным методам лечения АГ, одним из которых является электромагнитное излучение терагерцового диапазона на частотах оксида азота (ЭМИ ТГц-NO или ТГц-терапия-NO) (150,176 ... 150,664 ГГц), успешно используемое в кардиологии и хорошо зарекомендовавшее себя в терапии больных стабильной и нестабильной стенокардией с сопутствующей артериальной гипертензией [1, с.17-18].

Известно, что другой вид ЭМИ – ЭМИ крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ или КВЧ-терапия) применяется для купирования ГК, обеспечивая плавное снижение АД без дополнительного использования медикаментов при облучении в течение 20-40 мин. [2, с.1-4].

Цель. Изучить возможность использования ТГц-терапии-NO в купировании гипертонических кризов.

Объекты и методы исследования. Эффективность ТГц-терапии-NO (150,176 ... 150,664 ГГц) в купировании ГК проанализирована у 23 пациентов, страдавших АГ в сочетании со стабильной стенокардией напряжения II-III ф.к. При возникновении ГК применялось однократное воздействие ЭМИ ТГц-NO на область аорты (II межреберье справа от грудины) с помощью аппарата «Орбита». Использовался непрерывный режим воздействия. Время облучения – от 20 до 40 мин. Эффективность ЭМИ ТГц-NO оценивалась по динамике клинических симптомов ГК и уровню АД до и после электромагнитного воздействия.

Результаты. Исходное систолическое АД в группе больных с ГК составляло 155-180 мм рт.ст., диастолическое – 95-110 мм рт.ст. Решение об использовании ЭМИ ТГц-NO для

купирования ГК у этих пациентов принималось в связи с тем, что было известно либо об имеющейся рефрактерности к медикаментозным препаратам (отсутствие эффекта от традиционно применяемых капотена, физиотенза, нифедипина), либо о непереносимости данных препаратов, либо о гиперреакции на них (резкое снижение АД при сублингвальном приеме препаратов).

Для анализа антигипертензивного эффекта ЭМИ ТГЧ-NO использовался показатель «среднее АД» (диастолическое АД + 1/3 пульсового АД [систолическое АД – диастолическое АД]). Контроль динамики АД осуществлялся каждые 5 мин. Антигипертензивный эффект считался достигнутым при снижении среднего АД на 20-25%, поскольку более выраженное снижение АД при купировании ГК потенциально опасно из-за развития ишемии мозга.

Купирование ГК достигнуто у 22-х пациентов. Среднее АД в группе обследуемых составило до лечения $130,6 \pm 3,24$ мм рт.ст., после лечения – $99,6 \pm 8,2$ мм рт.ст. ($p < 0,05$).

При этом выявлено снижение систолического АД до уровня 125-145 мм рт.ст., диастолического – 75-87 мм рт.ст. Снижение АД на 30-35 мм рт.ст. отмечалось у 18 чел. (78,3%) больных, на 20 мм рт.ст. – у 3-х пациентов, на 15 мм рт.ст. – у 1 пациента (при исходном АД 155/90 мм рт.ст.). У одного пациента при исходном АД 155/90 мм рт.ст. АД снизилось до 145/90 мм рт.ст., что было признано недостаточным для купирования ГК. Таким образом, эффективность купирования ГК составила 95,7%.

Длительность облучения для купирования ГК составляла от 20 до 40 мин. При этом воздействие прекращалось при снижении среднего АД на 20-25%. Корреляции между уровнем исходного АД и временем облучения не выявлено ($p > 0,05$).

Снижение АД при купировании ГК с помощью ЭМИ ТГЧ-NO происходило достаточно постепенно. Резкого снижения АД не наблюдалось.

Отмечались следующие варианты снижения АД:

I тип - снижение на 3-5 мм рт.ст., начавшееся уже через 5 мин. воздействия и продолжавшееся с подобной скоростью до целевого значения;

II тип - сохранение исходного АД в течение 15-20 мин., а затем снижение на 5-10 мм рт.ст. каждые 5 мин. в течение последующих 10-15 мин. до целевого значения;

III тип - сохранение исходного АД в течение 15-20 мин., а затем постепенное снижение на 3-5 мм рт.ст. каждые 5 мин. в течение последующих 15-20 мин. до целевого значения.

В настоящем исследовании не удалось выявить корреляции между типом снижения АД, исходным АД и временем облучения ($p > 0,05$), возможно, это удастся сделать при увеличении мощности выборки.

Больные хорошо переносили процедуру. У всех пациентов, независимо от степени и типа снижения АД при купировании ГК, на 5-20-й мин. субъективно отмечалось улучшение самочувствия: уменьшилась головная боль, купировались либо значительно уменьшились головокружение, сердцебиение, исчезли кардиалгия, ощущение внутренней дрожи либо озноба. Следует отметить, что улучшение самочувствия в 50% случаев наступало раньше, чем снижение АД. Несмотря на отсутствие купирования ГК у 1 пациента (недостаточное снижение АД с 155/90 до 145/90 мм рт.ст.), субъективно его самочувствие улучшилось уже к 10-й мин. использования ЭМИ ТГЧ-NO. Таким образом, улучшение самочувствия отмечено у всех пациентов, независимо от степени и варианта снижения АД, и даже при отсутствии достижения целевого АД.

Проведенное исследование свидетельствует, что немедикаментозный способ купирования ГК с помощью ЭМИ ТГЧ-NO отличается высокой эффективностью, хорошей переносимостью, отсутствием побочных эффектов и аллергических реакций, обеспечивает плавное снижение АД, не требует дополнительных затрат на лекарственные препараты, а также способствует улучшению субъективного состояния больных независимо от степени снижения АД. Лечение осуществляется с помощью серийно выпускаемой аппаратуры, которая проста и безопасна в эксплуатации, может использоваться как в стационарных, так и в амбулаторных условиях.

Выводы. Электромагнитное излучение терагерцового диапазона на частотах оксида азота (ЭМИ ТГЧ-NO или ТГЧ-терапия-NO) (150,176 ... 150,664 ГГц) позволяет немедикаментозно купировать гипертонические кризы в 97,5% случаев при однократном непрерывном воздействии в течение 20-40 мин. Время облучения при купировании гипертонического криза определяется индивидуально в зависимости от ответной реакции организма и чувствительности пациента. Улучшение субъективного состояния и купирование клинических симптомов гипертонического криза отмечено у всех пациентов, независимо от

степени снижения АД. Корреляции между исходным повышением АД, степенью его снижения при воздействии ЭМИ ТГЧ-NO и типом снижения АД не выявлено.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: ТГЧ-терапия-NO позволяет купировать гипертонические кризы у больных артериальной гипертензией в сочетании со стенокардией напряжения без использования медикаментозных лекарственных средств. Однократное непрерывное воздействие волн терагерцового диапазона на частотах оксида азота в течение 20-40 мин. способствует плавному снижению АД и достижению его целевых значений без развития побочных и аллергических реакций. Длительность сеанса ТГЧ-терапии-NO при купировании гипертонических кризов индивидуальна для каждого пациента, определяется при динамическом мониторинге АД во время воздействия и связана с индивидуальной чувствительностью пациента к волнам терагерцового диапазона. Улучшение субъективного состояния отмечено у всех пациентов.

Литература

1. Паршина С.С. Терагерцовая терапия в кардиологии: 10-летний опыт применения // Биомедицинская радиоэлектроника. 2014. № 2. С. 3–18.
2. Афанасьева Т.Н., Головачева Т.В., Лукьянов В.Ф. Способ лечения гипертонических кризов. Патент № 2007994 РФ, 1994. Бюл. № 4.

Сведения об авторах

Светлана Серафимовна Паршина

Д-р мед. наук, проф.

Эл. почта: lparshinasvetlana@mail.ru

Татьяна Николаевна Афанасьева

канд. мед. наук

ассистент

Эл. почта: protegemoi18@mail.ru

Вера Дмитриевна Петрова

канд. мед. наук

доцент

Эл. почта: petrova.vd@yandex.ru

Татьяна Ивановна Капланова

канд. мед. наук

доцент

Эл. почта: mari1276@list.ru

Марина Валерьяновна Потапова

канд. мед. наук

ассистент

Эл. почта: marin9@bk.ru

*ФГБОУ ВО Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
Россия, Саратов*

Information about authors

Svetlana Serafimovna Parshina

M.D., professor,

E-mail: lparshinasvetlana@mail.ru

Tatyana Nikolaevna Afanasyeva

Ph.D. (Medicine)

assistant

E-mail: protegemoi18@mail.ru

Vera Dmitriyevna Petrova

Ph.D. (Medicine)

associate professor

E-mail: petrova.vd@yandex.ru

Tatyana Ivanovna Kaplanova

Ph.D. (Medicine)

Associate professor

E-mail: mari1276@list.ru

Marina Valeryanovna Potapova

Ph.D. (Medicine)

assistant

E-mail: marin9@bk.ru

*Saratov State Medical University n.a. V.I.
Razumovsky
Russia, Saratov*

КОСМИЧЕСКАЯ ПОГОДА 2019: ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ЖИЗНИ НА ЗЕМЛЕ

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

Samsonov S.N.

Yu .G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Federal
Research Centre Yakutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the RAS

SPACE WEATHER OF 2019: CONSEQUENCES FOR LIFE ON THE EARTH

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.

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 2019 году.

В академическом издании Великобритании «The Conversation» в декабре 2017 г. была опубликована статья [1], в которой ученые назвали пять главных угроз человечеству из космоса: 1. Мощная солнечная вспышка, 2. Воздействие астероида, 3. Расширяющееся Солнце, 4. Локальный гамма-всплеск, 5. Движущиеся звезды. И на первом месте, как наиболее реальная опасность для землян, присутствовала солнечная вспышка, поэтому обзор 2019 года начнем именно с Солнца

Считается, что наиболее мощная вспышка произошла в 1859 году во время так называемого «события Каррингтона». Во время этой мощнейшей вспышки выделилось приблизительно 10 йоттоджоулей (10 в 25 степени) энергии, что в 20 раз больше энергии, выделившейся во время падения метеорита, уничтожившего динозавров и морских рептилий [2, с.1-17].

5 апреля 2019 года-ученые из NOAA (США), которым поручено предсказать активность Солнца на следующий 11-летний солнечный цикл, говорят, что он, вероятно, будет слабым, как и текущий. Текущий солнечный цикл, цикл 24, сокращается и, по прогнозам, достигнет солнечного минимума - периода, когда Солнце наименее активно - в конце 2019 или 2020 года [3, с.1].

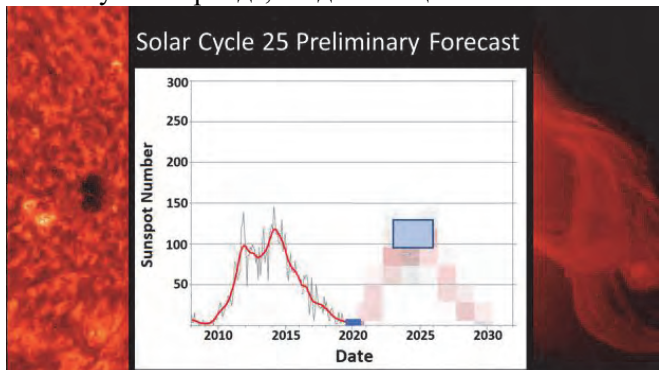


Рис.1. Предварительный прогноз солнечного цикла 25

цикл должен преодолеть тенденцию к ослаблению солнечной активности, наблюдавшуюся в течение последних четырех циклов.

«Хотя мы не прогнозируем особенно активный солнечный цикл 25, сильные извержения от солнца могут произойти в любое время»,-сказал Дуг Бисекер, доктор философии,

Эксперты прогнозирования солнечного цикла 25 заявили, что солнечный цикл 25 может иметь медленный старт, но, как ожидается, достигнет пика с солнечным максимумом, происходящим между 2023 и 2026 годами, и диапазоном солнечных пятен от 95 до 130. Это значительно ниже среднего количества солнечных пятен, которое обычно колеблется от 140 до 220 солнечных пятен за солнечный цикл. Группа убеждена в том, что предстоящий

сопредседатель группы и физик-солнце в центре прогнозирования космической погоды NOAA [3, с. 1]. Пример этого произошел 23 июля 2012 года, когда мощное извержение корональной массы (СМЕ) пролетело мимо Земли, но охватило стерео-спутник НАСА. Исследование 2013 года показало, что США понесли бы от \$600 млрд до \$2,6 трлн убытков, особенно для электрической инфраструктуры, такой как электросеть, если бы эта СМЕ была направлена на Землю. Сила извержения 2012 года была сопоставима со знаменитым событием 1859 года Кэррингтона, которое нанесло значительный ущерб телеграфным станциям по всему миру и привело к появлению полярных сияний на юге Карибского бассейна.

Но «вспышки убийцы» могут возникнуть не только на нашем Солнце, но и на ближайших к нам звездах. Так, ученые обнаружили мощнейшую вспышку на поверхности относительно близкой и молодой звезды в созвездии Ориона, чья мощность превышает силу типичных событий такого рода на Солнце в 10 миллиардов раз. Ее фотографии были опубликованы в *Astrophysical Journal* [4, с.72].

В мае 2012 года планетологи, работавшие с телескопом "Кеплер", нашли несколько сотен светил класса G, к которым принадлежит Солнце, на поверхности которых происходили вспышки, превышающие по своей мощности событие Каррингтона в несколько миллионов раз. Это натолкнуло их на мысль о том, что и Солнце может порождать подобные катаклизмы, однако их максимальная сила оставалась предметом дискуссий из-за различий в возрасте, химическом составе и истории эволюции этих светил.

Астероиды

Астероиды по-прежнему несут опасность для Земли. К сожалению до сих пор в мире существуют лишь национальные агентства по наблюдениям за небесными телами.

Неподалеку от побережья Камчатки 18 декабря 2018 г., примерно в полдень по местному времени, метеорит пробился в атмосферу Земли со скоростью 32 километра в секунду, на крутой траектории в семь градусов. Метеорит, размером в несколько метров, взорвался в 25,6 км над поверхностью Земли, с энергией удара в 173 килотонны. «Энергия взрыва достигла 40% энергии взрыва над Челябинском, но так как это произошло над Беринговым морем, в новости этот момент не попал», — говорит Келли Фаст, специалист НАСА по околоземным объектам. По ее словам, тот факт, что большая часть Земли покрыта водой, защищает человечество от таких взрывов [5, с.1].

Таблица

Последние и предстоящие встречи Земля-астероид [6, с.1]:

| Дата (UT) | Астероид | Расстояние | Скорость (км/с) | Диаметр (м) |
|-------------|----------------------------|------------|-----------------|-------------|
| 2019-Mar-23 | 2019 FP | 3.7 LD | 12.1 | 21 |
| 2019-Mar-23 | 2019 FF | 3.2 LD | 8.6 | 20 |
| 2019-Mar-23 | 2019 EK2 | 4.7 LD | 8.1 | 11 |
| 2019-Mar-23 | 2019 FQ | 0.9 LD | 8.5 | 14 |
| 2019-Mar-25 | 2019 ER2 | 8.9 LD | 4.8 | 23 |
| 2019-Mar-27 | 2019 EN | 9.7 LD | 15.2 | 205 |
| 2019-Mar-28 | 2019 FX | 5.4 LD | 5 | 23 |
| 2019-Mar-29 | 2019 FW | 8.1 LD | 6.2 | 22 |
| 2019-Apr-04 | 2016 GE1 | 3.9 LD | 10.1 | 17 |
| 2019-Apr-06 | 2019 FV | 14.9 LD | 7.7 | 58 |
| 2019-Apr-09 | 2019 FU | 5.3 LD | 14.2 | 86 |
| 2019-Apr-09 | 2014 UR | 13 LD | 4.6 | 17 |
| 2019-Apr-09 | 2016 GW221 | 10.1 LD | 5.3 | 39 |
| 2019-Apr-10 | 2014 HD177 | 6.1 LD | 14 | 102 |
| 2019-Apr-18 | 2012 XO134 | 14.8 LD | 11 | 56 |
| 2019-Apr-19 | 522684 | 19 LD | 11.5 | 214 |
| 2019-May-05 | 2018 KK1 | 13.9 LD | 13.9 | 71 |
| 2019-May-09 | 2017 RC | 14.5 LD | 10.6 | 9 |
| 2019-May-09 | 2008 HS3 | 14.6 LD | 5.3 | 162 |
| 2019-May-12 | 2018 VX8 | 6.2 LD | 15.5 | 118 |
| 2019-May-18 | 2012 KT12 | 3.3 LD | 3.9 | 20 |
| 2019-May-25 | 2015 KQ18 | 10.7 LD | 13.1 | 30 |

| | | | | |
|-------------|-----------------------|---------|------|------|
| 2019-May-25 | 66391 | 13.5 LD | 21.5 | 1780 |
|-------------|-----------------------|---------|------|------|

Примечания: LD означает "лунное расстояние." 1 LD = 384,401 км, расстояние между Землей и Луной. 1 LD также равен 0.00256 AU. MAG-это визуальная величина астероида на дату ближайшего приближения.

Как спастись от астероидов

Какие космические тела опасны и как можно от них защититься, рассказал ТАСС научный руководитель Института астрономии РАН, председатель экспертной группы по космическим угрозам Борис Шустов [7, с.1].

Реальную опасность для Земли и ее обитателей представляют тела небольшого по космическим меркам размера – 50 м и меньше. В этот диапазон попадут, например, тунгусское и челябинское тела. «По астрономическим понятиям челябинское тело совсем небольшое (около 17 м), но видите, сколько оно наделало шума и даже ущерб нанесло солидный», – сказал Шустов. Он отметил, что сейчас мы обладаем очень скудной информацией по метеоритам от 50 м и меньше. Мы знаем, где находятся, можем проконтролировать, то есть спрогнозировать движение, оценить вероятность столкновения всего для 1% опасных астероидов размером 50 м. А о телах еще меньшего размера, как челябинское, мы не знаем практически ничего – они слишком малы, чтобы обнаружить их на большом расстоянии.

Что делать

По словам директора Института астрономии РАН, в России нужно создавать систему обнаружения метеоритов. Сейчас «мы в основном опираемся на те данные, которые дают нам американские системы или работающие в кооперации с НАСА», сказал Шустов. При этом на государственном уровне проблемой астероидно-кометной опасности кроме США уже занимаются в Европе и отчасти в Японии, Южной Корее и Китае.

На долю же российских средств обнаружения приходится менее 0,1%. При этом, отметил ученый, в России есть заделы для решения проблемы астероидно-кометной опасности. Есть телескоп в Институте солнечной и земной физики Сибирского отделения РАН (Иркутск). Телескоп под Иркутском понадобится для обнаружения тел на дальних подступах к Земле – за месяц и более до возможного сближения. Но необходимо также развивать систему обнаружения на ближних дистанциях. «Вторая часть – создание сети наземных телескопов, небольшого размера, диаметром около 50 см, но их должно быть много. Они нужны, чтобы очень оперативно обнаруживать на ближних подступах тела типа челябинского и успевать предупредить об опасности», — сообщил он. «Пока все, что делается у нас в России, – это работы, проводимые на инициативном уровне.

Другие способы

По словам Шустова, серьезным вызовом в проблеме обнаружения опасных небесных тел являются так называемые дневные астероиды. Это небесные тела, летящие к Земле со стороны дневного неба. В этом случае наземные и даже околоземные оптические средства обнаружения не могут работать эффективно из-за сильной засветки. Радары, которым все равно, когда работать, днем или ночью, не подходят для обнаружения астероидов, так как видят на слишком короткой дистанции

Со стороны дневного неба, уточнил Шустов, прилетает половина таких тел, как челябинское. Заблаговременно обнаружить их можно только из космоса, причем с достаточного удаления от Земли. «Поэтому мы предложили разместить между Солнцем и Землей в так называемой точке L1 (на расстоянии 1,5 млн км от Земли) космический аппарат с небольшим телескопом размером всего 25 см, чтобы смотреть на окрестности Земли со стороны. Проект называется СОДА (Система обнаружения дневных астероидов)», – рассказал ученый.

Для более крупных тел при достаточном времени упреждения рассматриваются различные способы противодействия – заблаговременное изменение орбиты или разрушения таких тел, добавил специалист.

«Ученые ждут, что государство поддержит эти работы на системном уровне, и готовы помочь в работе по созданию национальной системы противодействия космическим угрозам», – подытожил Шустов.

О магниторецепции

Помимо прямой опасности (солнечные возмущения, астероиды) на жизнь человека оказывает влияние изменения магнитного поля, причем в первую очередь это может касаться изменения работы головного мозга человека. В связи с этим, хотелось бы отметить новое исследование [8, с.1], только что опубликованное в журнале *eNeuro* исследователями из Caltech, которое дает убедительные доказательства того, что изменения магнитного поля Земли могут подавлять альфа-волны в человеческом мозге.

Исследователи давно знают, что живые существа могут чувствовать магнитные поля. Например, пчелы, лосось, черепахи, птицы, киты и летучие мыши используют геомагнитное поле для навигации, а собак можно обучить обнаружению скрытых магнитов.

Многие животные могут это сделать, так почему бы не нам? - спрашивает Конни Ван, аспирант Калтеха и ведущий автор исследования *eNeuro*.

Чтобы выяснить, действительно ли люди могут чувствовать магнитные поля, исследователи построили изолированную радиочастотную камеру, где участники сидели в полной темноте в течение часа. Когда магнитные поля бесшумно перемещались вокруг камеры, волны мозга участников измерялись с помощью электродов, расположенных в 64 местах на их головах. У некоторых из 34 участников альфа-волны мозга уменьшились на 60% в ответ на изменение поля. Дополнительные прогоны эксперимента показали, что эффект воспроизводим.

Соавторы исследования Джозеф Киршвинк и Шин Шимодзе отмечают, что это первое конкретное свидетельство нового человеческого чувства: магниторецепции. Примечательно, что участники, которые испытали изменения, сообщили, что не знают о них. Это кажется совершенно бессознательным эффектом, никогда не поднимающимся до уровня сознательного прерывания. Это заставило исследователей предположить, что он может быть рудиментарным, некоторым остатком древней способности ориентироваться с помощью местных магнитных сигналов.

«Возможно, не удивительно, что мы можем сохранить хотя бы некоторые функционирующие нейронные компоненты [магниторецепции], особенно учитывая кочевой образ жизни охотников-собирающих наших не слишком далеких предков», - говорит Киршвинк. «В качестве следующего шага мы должны попытаться осознать это», - добавляет Шимодзе. Означает ли это, что люди могут чувствовать геомагнитные бури? Непонятно.

Солнечные возмущения, трансформирующиеся в геомагнитные возмущения при воздействии на земную магнитосферу, заставляют магнитное поле нашей планеты изменяться. Стрелки компаса в средних широтах могут двигаться на целых 4 или 5 градусов. Однако в исследовании Caltech не рассматривались изменения такого размера. Магнитные поля внутри их испытательной камеры сдвинулись на + / - 90 градусов-намного, намного больше, чем типичная геомагнитная буря. В результате мы еще не знаем, достаточно ли чувствителен человеческий магниторецептор, чтобы обнаружить относительно тонкие изменения, связанные с космической погодой.

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. Astrid M. Veronig, Tatiana Podladchikova, Karin Dissauer at al. GENESIS AND IMPULSIVE EVOLUTION OF THE 2017 SEPTEMBER 10 CORONAL MASS EJECTION // The Astrophysical Journal, 868:107(17pp), 2018 December 1, P.1-17 (<https://doi.org/10.3847/1538-4357/aaeac5>); <https://ria.ru/20181205/1543518347.html>

3. <https://www.weather.gov/news/190504-sun-activity-in-solar-cycle>

4. Steve Mairs, Bhavana Lalchand, Geoffrey C. Bower et al. THE JCMT TRANSIENT SURVEY: AN EXTRAORDINARY SUBMILLIMETER FLARE IN THE T TAURI BINARY SYSTEM JW 566 // The Astrophysical Journal, Volume 871, Number 1, Page 72 (DOI: <https://doi.org/10.3847/1538-4357/aaf3b1>); <https://ria.ru/20190212/1550727948.html>

5. <https://news.mail.ru/society/34209153/>

6. <http://www.spaceweather.com/>

7. <https://tass.ru/>; <https://news.mail.ru/media/522/>

8. Connie X. Wang, Isaac A. Hilburn, Daw-An Wu, Yuki Mizuhara, Christopher P. Cousté, Jacob N. H. Abrahams, Sam E. Bernstein, Ayumu Matani, Shinsuke Shimojo and Joseph L. Kirschvink Transduction of the Geomagnetic Field as Evidenced from Alpha-band Activity in the Human Brain // *eNeuro* 18 March 2019, ENEURO.0483-18.2019; DOI: <https://doi.org/10.1523>

Сведения об авторе

Самсонов Сергей Николаевич

к.ф.-м.н.

ведущий научный сотрудник

Эл. почта: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Институт космифизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера СО РАН

– обособленное подразделение Федерального исследовательского центра Якутский научный центр Сибирского отделения РАН
Россия, Якутск

Information about author

Sergey N. Samsonov

Ph.D. (Physics)

leading researcher

E-mail: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Yu .G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Federal Research Centre Yakutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the RAS
Russia, Yakutsk

УДК 616-092(571.56);
551.521.6
ГРНТИ 37.15.21, 76.03.53

¹Самсонов С.Н., ¹Манькина В.И., ¹Кобякова С.Е., ²Петрова П.Г.,
²Стрекаловская А.А., ²Комзин К.В., ³Паршина С.С., ³Кодочигова А.И.
¹Институт космифизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера
СО РАН – обособленное подразделение Федерального исследовательского
центра Якутский научный центр Сибирского отделения РАН
²Медицинский институт Северо-Восточного федерального университета
им. М.К. Аммосова
³Саратовский медицинский университет им. В.И.Разумовского

СЕРДЦЕ И СЛАБАЯ ГЕОМАГНИТНОЙ ВОЗМУЩЕННОСТЬ

В представленной работе исследуется отклик сердечно-сосудистой системы добровольцев (коэффициент симметрии Т-зубца электрокардиограммы (КСТ), проживающих в авральной и субавральной зонах на слабую геомагнитную возмущенность. Анализ полученных данных показал совпадение изменений КСТ с изменениями Kp- и AE-индексов геомагнитной возмущенности в Якутске и практическое отсутствие такого совпадения в Тикси. Была высказана гипотеза, что из-за наличия над Тикси струи аврального электроджета на организм людей воздействуют более высокие значения геомагнитных возмущений. Это приводит к тому, что организм людей, проживающих в авральной зоне, адаптируются к высоким геомагнитным возмущениям и их сердечно-сосудистая система не откликается на слабые геомагнитные возмущения.

Ключевые слова: геомагнитная возмущенность, авральная и субавральные зоны, сердечно-сосудистая система человека, электрокардиограмма.

¹Samsonov S.N., ¹Manykina V.I., ¹Kobyakova S.E., ²Petrova P. G., ²Strekalovskaya A.A.,
²Komzin K. V., ³Parshina S. S., ³Kodochigova A.I.
¹Yu.G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Federal Research Centre
Yakutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the RAS
²Medical Institute of M. K. Ammosov North-Eastern Federal University
³V.I. Razumovsky Saratov medical University

HEART AND WEAK GEOMAGNETIC DISTURBANCE

In the present work the response of cardiovascular system of volunteers (symmetry coefficient of T-wave of the electrocardiogram (SCT), residing in auroral and sub-auroral zones to the weak geomagnetic disturbance is studied. The analysis of obtained data showed the coincidence of changes in SCT with changes in Kp - and AE-indices of geomagnetic disturbance in Yakutsk and practical absence of such coincidence in Tixie. It has been hypothesized that due to the presence of auroral electrojet over Tixie, higher values of geomagnetic disturbances affect people's organisms. This leads to the fact that the organisms of people living in the auroral zone are well adapted to high geomagnetic disturbances and their cardiovascular systems do not respond to weak geomagnetic disturbances.

Key words: geomagnetic disturbance, auroral and sub-auroral zones, human cardiovascular system, electrocardiogram.

Цель работы. Исследовать отклик сердечно-сосудистой системы добровольцев, проживающих в авроральной и субавроральной зонах на слабое геомагнитное возмущение.

Введение. Появившиеся в начале прошлого века работы А.Л. Чижевского по изучению наземных проявлений воздействия Солнца на биосферу Земли, в том числе на здоровье человека в последние десятилетия получили новый импульс. Прежде всего, это обусловлено развитием космических технологий и получением огромного количества данных о состоянии околоземного космического пространства. Российские ученые являются одними из лидеров в мире по изучению влияния гелиогеофизической возмущенности на здоровье человека. Это прежде всего работы ученых Института космических исследований РАН [1, с.53-62], Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (2, с.183), Полярного геофизического института [3, 44-52], Института физики Земли РАН [4, с.5-24] и т.д.

За рубежом вопросами реакции человека на возмущения на Солнце и в гелиосфере занимаются ученые Украины, Японии, США, Китая, Израиля, Италии, Германии, Словакии, Чехии, Болгарии и др. Международная ассоциация БИОКОС: (Биология и Космос) объединяет более 150 членов из различных стран, в том числе России.

Известно, что основными мишенями для воздействия электромагнитных полей – как земного так и межпланетного, является сердце и сердечно-сосудистая, а также нервная системы организма человека. При этом известно, что геомагнитные возмущения имеют наибольшую интенсивность в высоких широтах. Это связано с тем, что в авроральной области на высоте порядка 100 км протекает электрический ток, так называемый авроральный электроджет, амплитудой в миллионы ампер, что приводит к появлению дополнительной магнитной индукции в этом регионе [3, с.44-52], т.е. наблюдается геомагнитное возмущение [5, с. 69-90]. Поэтому было интересно выяснить вопрос о том, как геомагнитное возмущение проявляется в состоянии сердечно-сосудистой системы человека в авроральной и соседней с ней субавроральной зонах.

Экспериментальные данные и анализ

С целью исследования отклика сердечно-сосудистой системы добровольцев, проживающих в авроральной и субавроральной зонах на слабое геомагнитное возмущение был проведен эксперимент на группах добровольцев с целью выявления связи функционального состояния сердечно-сосудистой системы человека с изменениями параметров космической погоды и метеопараметров. В качестве экспериментального материала использовались данные первого отведения электрокардиограммы ЭКГ добровольцев с последующим вычислением коэффициента симметрии Т-зубца (КСТ), характеризующего функциональное состояние сердечно-сосудистой системы человека [Fainzilberg L., Potapova T., 1995]. В качестве показателя геомагнитной активности использовались суточные значения Кр- и АЕ-индексов, а метеопараметры были представлены приземным атмосферным давлением, скоростью ветра, влажностью и температурой. Сведения о геомагнитной активности были получены с сайта <http://wdc.kugi.kyoto-u.ac.jp/>, а данные метеопараметров: по г. Якутску - http://meteocenter.net/UEEE_current.htm, по пос. Тикси - <http://meteocenter.net/forecast/all.php>.

Измерения проводились ежедневно в Якутске (субавроральная зона), а также в пос. Тикси (авроральная зона). Измерения в этих пунктах осуществлялись в один и тот же временной интервал, на едином оборудовании и по единому протоколу. Все измерения поступали в единую базу данных, где они централизованно и обрабатывались по единой методике, исключающей внесение субъективных факторов при локальной обработке результатов измерений в конкретных пунктах. Эксперимент был проведен с октября по декабрь 2009 г. с участием 45 добровольцев по измерению функционального состояния сердца человека с помощью датчика 1-го отведения ЭКГ (Фазаграф).

Результаты и обсуждение

На рисунках 1 и 2 представлены данные измерения КСТ и Кр- и АЕ-индексов геомагнитной возмущенности в Якутске и Тикси. По оси абсцисс показано время в сутках. Сравнение временных вариаций КСТ каждого испытуемого с временными вариациями Кр- и АЕ-индексов геомагнитной возмущенности показало совпадение этих показателей у половины испытуемых г. Якутска (вторая половина показала частичное совпадение). При этом, из 9 максимумов Кр-индекса 8 совпали с максимумами КСТ (прерывистой линией показано совпадение с).

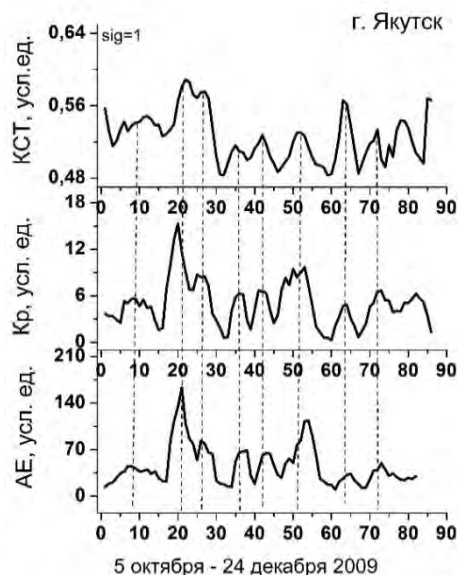


Рис. 1. Изменения коэффициента симметрии Т-зубца, АЕ- и Кр-индексов

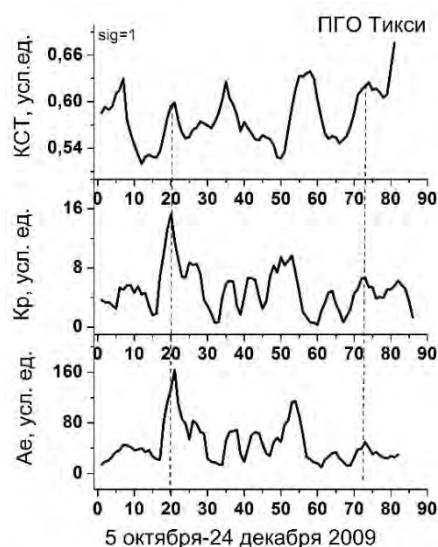


Рис.2. Изменения коэффициента симметрии Т-зубца, АЕ- и Кр-индексов

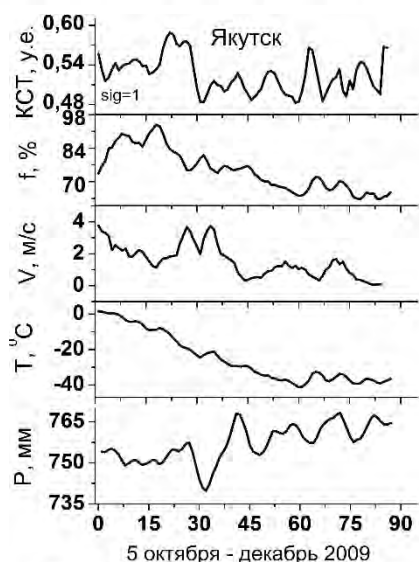


Рис.3. Изменение коэффициента симметрии Т-зубца и метеопараметров

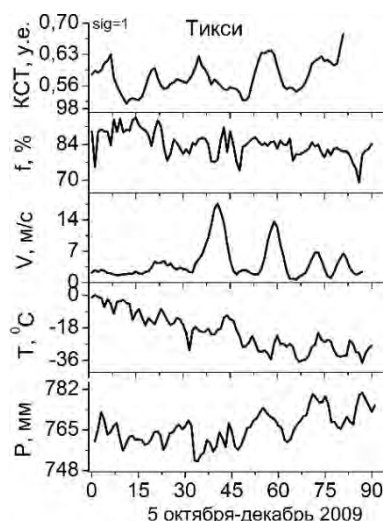


Рис.4. Изменения коэффициента симметрии Т-зубца и метеопараметров

В то же время в Тикси из 9 максимумов Кр- и АЕ-индексов лишь 2 совпали с максимумами КСТ. Средний возраст испытуемых в г. Якутска, с совпадающими изменениями составлял 35,1 лет, В то время, как усредненный возраст испытуемых с частично совпадающими изменениями составлял 48,1 лет.

Сравнение изменений коэффициента симметрии Т-зубца ЭКГ по г. Якутску и по пос. Тикси с метеоданными (влажность, температура, атмосферное давление, скорость ветра), показано на рис. 3 и 4. На рисунках по оси ординат представлен вариации метеопараметров и усредненный КСТ испытуемых, у которых совпали изменения геомагнитной возмущенности с КСТ, в г. Якутске и п. Тикси, а по оси абсцисс время в сутках с начала эксперимента. Как видно из этих рисунков не наблюдается совпадение изменений КСТ и метеопараметров как в Якутске, так и в Тикси. Это означает, что рассматриваемые нами метеопараметры не были связаны с изменениями в состоянии сердечно-сосудистой системы добровольцев.

Выводы

1. Обнаружено устойчивое временное совпадение экстремумов в вариациях геомагнитной возмущенности и КСТ (характеризует состояние сердечно-сосудистой системы) половины добровольцев, принимающих участие в эксперименте в Якутске, при низких значениях уровня геомагнитной возмущенности. При этом, в Тикси наблюдалось лишь

частичное совпадение, а именно, двух максимумов из девяти. На основании этого экспериментального факта была высказана гипотеза, что из-за наличия над Тикси струи аврорального электроджета на организм людей воздействуют более высокие значения геомагнитных возмущений. Это приводит к тому, что организм людей, проживающих в авроральной зоне, адаптируются к высоким геомагнитным возмущениям и сердечно-сосудистая система недостаточно эффективно откликается на слабые геомагнитные возмущения.

2. Вариации метеопараметров в Якутске (субавроральная зона) и в Тикси (авроральная зона) не показали совпадение с изменениями КСТ добровольцев. Это означает, что рассматриваемые нами метеопараметры не были связаны с изменениями в состоянии сердечно-сосудистой системы добровольцев.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 18-415-140002).

Литература

1. Бреус Т.К. Влияние «космической погоды» на биологические объекты // Земля и Вселенная. 2009. № 3. С. 53–62.

2. Бреус Т. К., Рапопорт С. И. Магнитные бури : Медико-биологические и геофизические аспекты. – М.: Сов. спорт, 2003. с. 186.

3. Белишева Н.К., Конрадов А.А. Значение вариаций геомагнитного поля для функционального состояния организма человека в высоких широтах // Геофизические процессы и биосфера. 2005. Т. 4, № 1/2. С. 44–52.

4. Н.Г.Клейменова, О.В.Козырева Магнитные бури и инфаркты: всегда ли бури опасны? // Геофизические процессы и биосфера. 2008. Т. 7. № 3. С. 5–24.

5. Самсонов С.Н. Параметры космической погоды и состояние сердечно-сосудистой системы человека: групповые и популяционные эффекты // Биотропное воздействие космической погоды / Под ред. М.В. Рагульской. – СПб.: ВВМ, 2010. С. 69–90.

6. Файнзильберг Л.С. Информационная технология для диагностики функционального состояния оператора // Управляющие системы и машины. 1998. № 4. С. 40–45.

Сведения об авторах

Сергей Николаевич Самсонов

канд. физ.-мат. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Вероника Ивановна Манькина

мл. науч. сотр.

Эл. почта: manykina_vi@ikfia.ysn.ru

Саргылана Егоровна Кобыкова

мл. науч. сотр.

Эл. почта: s.e.kobyakova@ikfia.ysn.ru

Институт космофизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера СО РАН – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Якутский научный центр Сибирского отделения РАН Россия, Якутск

Пальмира Георгиевна Петрова

доктор мед. наук

профессор

Эл. почта: mira_44@mail.ru

Алена Анатольевна Стрекаловская

канд. мед. наук

доц.

эл. почта: a_strekalovskaya@mail.ru

Кирилл Васильевич Комзин

ст. препод.

Information about authors

Sergey N. Samsonov

Ph.D. (Physics)

leading researcher

E-mail: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Veronika I. Manykina

Junior researcher

E-mail: gayane@ikfia.ya.ru

Sargylana E. Kobyakova

Junior researcher

E-mail: s.e.kobyakova@ikfia.ysn.ru

Yu.G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Federal Research Centre "Yakutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the RAS", Separate Subdivision Russia, Yakutsk

Palmira G. Petrova

D. Sc. (Medicine)

Professor

E-mail: mira_44@mail.ru

Alena A. Strekalovsky

Ph. D. (Medicine)

associate Professor

E-mail: a_strekalovskaya@mail.ru

Kirill V. Komzin

senior lecturer

E-mail: de_trout@mail.ru

Эл. почта: *de_trout@mail.ru*
Медицинский Институт Северо-Восточного
федерального университета
Россия, Якутск
Светлана Серафимовна Паршина
д-р мед. наук
проф.
Эл. почта: *lparshinasvetlana@mail.ru*
Анна Ивановна Кодочигова
д-р мед. наук
проф.
Эл. почта: *kodochigovaai@yandex.ru*
Саратовский государственный медицинский
университета им. В.И. Разумовского
Россия, Саратов

Medical Institute North-Eastern Federal University
Russia, Yakutsk
Svetlana S. Parshina
D. Sc. (Medicine)
Professor
e-mail: *lparshinasvetlana@mail.ru*
Anna Ivanovna Kodochigova
D. Sc. (Medicine)
Professor
E-mail: *kodochigovaai@yandex.ru*
Saratov state medical University n. a. V.I.
Razumovsky
Russia, Saratov

УДК 616.12.-009.72-
085.849.11(045)-
611.018.8
ГРНТИ 76.29.30

¹Паршина С.С., ²Самсонов С.Н., ¹Афанасьева Т.Н.,
¹Токаева Л.К., ³Глухова Н.А.
¹ФГБОУ ВО Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского
²ФГБУН Институт космофизических исследований и аэронауки
им. Ю.Г. Шафера СО РАН
³АО «Санаторий Октябрьское ущелье»

ГЕОМАГНИТНАЯ ВОЗМУЩЕННОСТЬ, РЕОЛОГИЯ И ГОМЕОПАТИЯ

Сезонные колебания геомагнитной возмущенности не влияют на антиангинальное действие гомеопатических препаратов (Кралонин, Пумпана) и на их общий сезонно-независимый механизм – улучшение текучести крови в сосудах микроциркуляторного русла. Максимальные реопротекторные эффекты гомеопатических препаратов выявлены зимой - в период минимальной геомагнитной возмущенности.

Ключевые слова: геомагнитная возмущенность, нестабильная стенокардия, реология, гомеопатия, сезоны.

¹Parshina S.S., ²Samsonov S.N., ¹Afanasyeva T.N.,
¹Tokayeva L.K., ³Glukhova N.A.
¹V.I. Razumovsky Saratov State Medical University
²Yu.G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy of Siberian Branch of the RAS
³Health resort Oktyabrskoe gorge

A GEOMAGNETIC ACTIVITY, RHEOLOGY AND HOMEOPATHY

Seasonal variations of geomagnetic activity does not affect the antianginal effect of homeopathic medicines (Cralonin, Pumpan) and their total seasonal-independent mechanism – improvement of blood fluidity in microcirculatory vessels. Maximum rheoprotective effects of homeopathic preparations were revealed in winter - during the period of minimal geomagnetic activity.

Keywords: geomagnetic activity, unstable angina, rheology, homeopathy, seasons.

Известно, что изменения геомагнитной возмущенности (ГМВ) могут оказывать воздействие на состояние здоровых лиц [1, с.55, 69; 2, с.316], но особенно сильно они влияют на течение кардиологических заболеваний [1, с.87]. Одним из механизмов воздействия ГМВ на состояние сердечно-сосудистой системы признается изменение реологических свойств крови [3, с.165]. У больных стенокардией, для которых гемореологические нарушения являются важнейшим компонентом патогенеза заболевания и определяют стабильность его течения, изменение реологических свойств крови под влиянием ГМВ приобретают особое значение.

В комплексной терапии больных с сердечно-сосудистой патологией все шире используются гомеопатические лекарственные средства (ГЛС), позволяющие повысить эффективность лечения без увеличения химической нагрузки на организм. [4, с.44; 5, с.68]. Данные о влиянии ГМВ на эффективность лечения больных стенокардией единичны [6, с.53], тем более практически отсутствуют сведения об эффективности ГЛС при изменении факторов космической погоды [7, с.0405].

Цель. Изучить влияние сезонных колебаний геомагнитной возмущенности на клиническую и реопротекторную эффективность гомеопатических препаратов Кралонин и Пумпан у больных нестабильной стенокардией.

Объекты и методы исследования. Под наблюдением находились 155 больных нестабильной стенокардией (НС). У 80 пациентов дополнительно к стандартной медикаментозной терапии использовались комплексные гомеопатические препараты: у 40 чел. - Кралонин, у 40 чел. - Пумпан. В группе Кралонина у 14 пациентов лечение проводилось в зимний период, у 13 – в весенне-летний, у 13 – в осенний период. В группе Пумпана у 13 пациентов лечение проводилось в зимний период, у 13 – в весенне-летний, у 14 – в осенний.

Группу контроля составили 75 пациентов с НС, получавших только медикаментозную терапию: 24 пациента - в зимний период, 20 больных - в весенне-летний и 31 пациент - в осенний сезоны.

Оценивался антиангинальный эффект терапии в баллах и гемореологические показатели и до и после лечения в каждый из сезонных периодов: вязкость крови (ВК) при скоростях сдвига 200 c^{-1} , 100 c^{-1} , 20 c^{-1} , индексы агрегации (ИАЭ) и деформируемости (ИДЭ) эритроцитов, степень доставки кислорода тканям (Ht/η), содержание фибриногена (ФГ), эндотелий-зависимые механизмы регуляции текучести крови с помощью реологического индекса сосудистой стенки (РИСС).

РИСС характеризует изменение текучести крови под влиянием индуцированной ишемии [4, с.16-18], которая моделируется с помощью манжеточной пробы (МП).

РИСС рассчитывается как $[\text{ВК после МП} / \text{ВК до МП}]$ и позволяет количественно оценить способность эндотелия сосудов выделять в кровоток в условиях ишемии вещества, влияющие на ВК. При выделении веществ, понижающих ВК, РИСС приобретает значение меньше 1. В случае повышения ВК после МП РИСС приобретает значение больше 1, что свидетельствует об истощении эндотелий-зависимой регуляции текучести крови в условиях сосудистого спазма. РИСС в определенной степени отражает состояние эндотелия в сосудах мелкого, среднего и крупного диаметров, в зависимости от анализа ВК при соответствующих скоростях сдвига (20 c^{-1} , 100 c^{-1} , 200 c^{-1}) [4, с.16-18]

Геомагнитная возмущенность оценивалась по Кр-индексу. По данным суммарного суточного Кр-индекса определялся среднемесячный Кр-индекс для каждого сезона.

Результаты. За период наблюдения среднемесячный Кр-индекс составил 425,7 для зимнего сезона, 510,7 - для весенне-летнего, 563,0 — для осеннего сезонов.

Таким образом, за указанный период наибольшая ГМВ наблюдалась в весенне-летний и осенний сезоны в сравнении с зимним. Максимальные значения ГМВ установлены для осеннего сезона в сравнении с остальными сезонными периодами ($p < 0,05$). Наиболее резкие межсезонные изменения ГМВ ($p < 0,05$) в течение всего года связаны прежде всего с осенним сезоном. Так, при переходе от весенне-летнего сезона к осеннему отмечено резкое повышение ГМВ (от 510,7 до 563,0) а при переходе от осени к зиме – резкое снижение (с 563,0 до 425,7). Кроме того, резкое повышение ГМВ отмечено и при переходе от зимнего сезона к весенне-летнему (с 425,7 до 510,7).

Терапия с применением Кралонина либо Пумпана во все сезонные периоды превосходила по эффективности стандартную медикаментозную терапию ($p < 0,05$) (таблица 1). Межсезонных различий по эффективности антиангинального воздействия как в группе Кралонина, так и в группе Пумпана не выявлено, препараты одинаково хорошо уменьшали количество приступов стенокардии в различные сезонные периоды (таблица 1). При этом различий по антиангинальному эффекту между группами Кралонина и Пумпана ни в один из сезонных периодов не выявлено. Таким образом, межсезонные колебания ГМВ не влияют на клинический эффект ГЛС.

В то же время чувствительность реологических характеристик крови к гомеопатическому воздействию имеет сезонные особенности. Гемореологические эффекты как Кралонина, так и Пумпана представлены сезонно-независимыми (во все сезонные периоды) и сезонно-зависимыми механизмами.

Сезонно-независимые эффекты Кралонина включают влияние на вязкость крови и функцию эндотелия: снижение ВК в сосудах микроциркуляторного русла ($\text{ВК } 20 \text{ c}^{-1}$, $p < 0,05$), в сосудах крупного диаметра ($\text{ВК } 200 \text{ c}^{-1}$, $p < 0,05$), улучшение функционирования эндотелия в сосудах мелкого и среднего диаметров (РИСС 20 c^{-1} , $p < 0,05$) и РИСС 100 c^{-1} , $p < 0,05$) (рис. 1).

Ранее нами было выявлено, что сезонно-независимыми эффектами терапии, включающей Пумпан, являются снижение ВК в сосудах микроциркуляторного русла (ВК 20 с⁻¹) и уменьшение агрегационной активности эритроцитов [4, с.44; 7, с.0405].

Таблица 1

Сезонная эффективность лечения больных нестабильной стенокардией при различных вариантах терапии (M±m)

| Методы лечения | Эффективность лечения в различные сезоны (баллы) | | |
|-----------------|--|-------------|-------------|
| | Зима | Весна-лето | Осень |
| Группа контроля | 1,93±0,17 | 2,00±0,16 | 1,89±0,12 |
| Пумпан | 2,60±0,14 * | 2,50±0,13 * | 2,80±0,18 * |
| Кралонин | 2,43±0,18 * | 2,45±0,12 * | 2,70±0,16 * |

Примечание: * - различие с группой контроля статистически достоверно, p<0,05.

Таким образом, различные по составу гомеопатические препараты отличаются и сезонно-независимыми эффектами. Тем не менее, общим для обоих препаратов является сезонно-независимое улучшение текучести крови в мелких сосудах (ВК 20с⁻¹). Возможно, это связано с общим гомеопатическим компонентом – Калиум карбоникум, оказывающим влияние на сосудистый тонус.

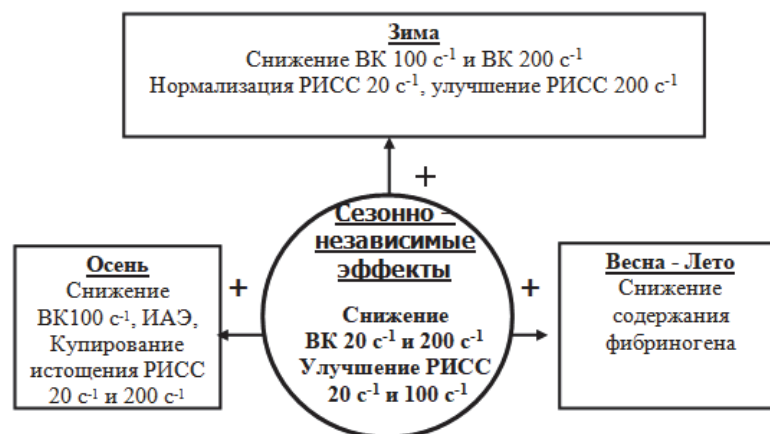


Рис. 1. Сезонные особенности влияния гомеопатического препарата Кралонин на показатели реологии крови у больных нестабильной стенокардией

Сезонно-зависимые эффекты ГЛС представлены следующими механизмами. В группе Кралонина (рис.1) в зимнее время дополнительно снижается ВК в сосудах среднего диаметра (ВК 100 с⁻¹, с 11,0±1,51 до 8,59±0,59 мПа·с, p<0,05) и улучшается функция эндотелия в крупных сосудах (РИСС 200 с⁻¹, с 1,03±0,02 до 0,99±0,006 усл. ед., p<0,05). Купируется исходное истощение функции эндотелия (РИСС>1) в сосудах всех диаметров (p<0,05): РИСС приобретает значение <1. А в сосудах микроциркуляторного русла (РИСС 20 с⁻¹) функция эндотелия полностью нормализуется (1,39±0,35 и 0,86±0,08 усл. ед. до и после лечения, p<0,05). В весенне-летний сезон в группе Кралонина дополнительный сезонно-зависимый эффект представлен только снижением содержания ФГ (с 3,65±0,25 до 3,35±0,09 г/л, p<0,05).

Сезонные эффекты Кралонина в осенний период схожи с зимними: так же снижается ВК в сосудах среднего диаметра (ВК 100 с⁻¹, с 10,1±1,72 до 6,44±0,55 мПа·с, p<0,05), и улучшается функция эндотелия в крупных сосудах (РИСС 200 с⁻¹, с 1,04±0,03 до 0,99±0,004 усл. ед., p<0,05), отмечено также снижение ИАЭ (с 1,42±0,03 до 1,31±0,02 усл. ед., p<0,05). Однако улучшение функции эндотелия выражено в меньшей степени: купируется исходное истощение в сосудах мелкого и крупного диаметров (РИСС 20 с⁻¹, p<0,05 и РИСС 200 с⁻¹, p<0,05) (а зимой - в сосудах всех диаметров). Кроме того, осенью не происходит полной нормализации функции эндотелия в мелких сосудах, характерной для зимнего периода.

Таким образом, максимально выраженное восстановление функции эндотелия под влиянием Кралонина отмечено в зимний период, когда наблюдается минимальная геомагнитная возмущенность.

Ранее нами было установлено, что и в группе Пумпана максимальный реопротекторный эффект Пумпана выявлен в период минимальной ГМВ (зимний), а наименьший – при максимальной ГМВ (осенью) [7, с.0405]. Так, зимой дополнительно отмечено снижение ВК в

сосудах крупного и среднего диаметров ($BK\ 100c^{-1}$ и $200c^{-1}$, $p<0,05$), а также повышение Ht/η ($p<0,05$). В весенне-летний период также присоединяется снижение BK в сосудах крупного и среднего диаметров ($BK\ 100c^{-1}$ и $200c^{-1}$, $p<0,05$), однако улучшения оксигенации тканей не происходит ($p>0,05$). Осенью выявлены только снижение $BK\ 20\ c^{-1}$ ($p<0,05$) и уменьшение $ИАЭ$ ($p<0,05$), то есть сезонно-независимые механизмы, дополнительных эффектов в осенний период не отмечено [4, с.44].

Поскольку и в группе Кралонина, и в группе Пумпана наиболее выраженное реопротекторное действие выявлено в зимний период, когда отмечаются минимальные значения $ГМВ$, следует признать, что реопротекторные эффекты $ГЛС$ также подвержены влиянию геомагнитных факторов.

Пумпан, в отличие от Кралонина, не влияет на эндотелий-зависимые механизмы текучести крови и на содержание $ФГ$, зато снижение $ИАЭ$ для него является сезонно-независимым эффектом, а для Кралонина возникает только в осенний период. Ни Кралонин, ни Пумпан не оказывают влияния на деформируемость эритроцитов.

В группе контроля сезонно-независимых реопротекторных эффектов не выявлено. Зимой динамики изучаемых показателей установлено не было ($p>0,05$). В весенне-летний период отмечено уменьшение $BK\ 200\ c^{-1}$ (с $7,12\pm 0,36$ до $6,84\pm 0,42$ $мПа\cdot c$, $p<0,05$) и неблагоприятное возрастание $РИСС\ 100\ c^{-1}$ (с $0,95\pm 0,03$ до $1,02\pm 0,02$ усл. ед., $p<0,05$); в осенний сезон - снижение $ИАЭ$ (с $1,42\pm 0,03$ до $1,31\pm 0,02$ усл. ед., $p<0,05$) и неблагоприятное снижение $ИДЭ$ (с $1,19\pm 0,02$ до $1,17\pm 0,02$ усл. ед., $p<0,05$) [4, с.30].

Выводы. Антиангинальное и реопротекторное действие терапии с использованием $ГЛС$ превосходит стандартную медикаментозную терапию независимо от сезонных колебаний $ГМВ$ и вида гомеопатического препарата. Реопротекторные эффекты гомеопатии чувствительны к сезонным колебаниям $ГМВ$. Самым постоянным в течение года, при любых изменениях $ГМВ$ и независимо от вида $ГЛС$, является улучшение текучести крови в микроциркуляторном русле. Сезонно-зависимые эффекты специфичны для каждого $ГЛС$, однако в зимний период, при минимально выраженной $ГМВ$, реопротекторные эффекты $ГЛС$ более выражены, чем в другие сезонные периоды. Особенностью воздействия Кралонина является более выраженное влияние на функцию эндотелия, а Пумпана – на агрегацию эритроцитов. $ГЛС$ не оказывают влияния на деформируемость эритроцитов.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: сезонные колебания $ГМВ$ не влияют на антиангинальный эффект различных гомеопатических препаратов (Кралонин, Пумпан); наиболее устойчивым к колебаниям $ГМВ$ в течение года является улучшение текучести крови в сосудах микроциркуляторного русла под влиянием $ГЛС$, что позволяет считать улучшение микроциркуляции общим ведущим механизмом гомеопатического воздействия данных препаратов. Зимний период с минимальной $ГМВ$ характеризуется максимальным реопротекторным воздействием как у Пумпана, так и у Кралонина.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №18-415-140002.

Литература

1. Биотропное воздействие космической погоды (по материалам российско-украинского мониторинга «Гелиомед» 2003-2010) / Под ред. М.В. Рагульской. – М., Киев – СПб: ВВМ, 2010. 312 с.
2. Паршина С.С., Самсонов С.Н., Маныкина В.И. и др. Особенности групповой реакции сердечно-сосудистой системы на изменение космической погоды. // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: матер. Международной конференции IT + M&E; 2015. 316–322.
3. Гурфинкель Ю.И. Ишемическая болезнь сердца и солнечная активность. – М.: ИИКЦ «Эльф-3», 2004. 170 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. Голиков А.П., Бабаян И.С. Пумпан при лечении ишемической болезни сердца в сочетании с артериальной гипертензией // Терапевтический архив. 2001. № 10. С. 68–69.

6. Паршина С.С., Самсонов С.Н., Токаева Л.К., Афанасьева Т.Н., Долгова Е.М., Манькина В.И. Космическая погода и эффективность лечения нестабильной стенокардии электромагнитным излучением миллиметрового диапазона // Биомедицинская радиоэлектроника. 2014. № 6. С. 41–53.

7. Паршина С.С., Самсонов С.Н., Афанасьева Т.Н., Глухова Н.А. Сезонные гемореологические эффекты гомеопатии при нестабильной стенокардии и геомагнитная возмущенность // Психосоматические и интегративные исследования. 2018. № 4. С. 0405

Сведения об авторах

Сергей Николаевич Самсонов

канд. физ.-мат. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Институт космофизических исследований и аэронауки им. Ю.Г. Шафера СО РАН – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Якутский научный центр Сибирского отделения РАН Россия, Якутск

Светлана Серафимовна Паршина

д-р мед. наук

проф.

Эл. почта: 1parshinasvetlana@mail.ru

Татьяна Николаевна Афанасьева

канд. мед. наук

ассистент

Эл. почта: protegetoi18@mail.ru

Лилиана Константиновна Токаева

д-р мед. наук

проф.

Эл. почта: 624494@mail.ru

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Россия, Саратов

Надежда Александровна Глухова

канд. мед. наук

глав. врач

Эл. почта: nadvimax@yandex.ru

АО «Санаторий Октябрьское ущелье» Россия, Саратов

Information about authors

Sergey N. Samsonov

Ph.D. (Physics)

leading researcher

E-mail: s_samsonov@ikfia.ysn.ru

Yu.G. Shafer Institute of Cosmophysical Research and Aeronomy, Federal Research Centre "Yakutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the RAS", Separate Subdivision Russia, Yakutsk

Svetlana S. Parshina

D. Sc. (Medicine)

Professor

E-mail: 1parshinasvetlana@mail.ru

Tatyana Nikolaevna Afanasyeva

Assistant

E-mail: protegetoi18@mail.ru

Liliana Konstantinovna Tokayeva

Professor

E-mail: 624494@mail.ru

B.I. Razumovsky Saratov State Medical University

Nadezhda Aleksandrovna Glukhova

head physician

E-mail: nadvimax@yandex.ru

Health resort Oktyabrskoe gorge Russia, Saratov

УДК
615.015+543.872
ГРНТИ 76.31

Резников К.М., Коваленко И.В.
Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко

РАЗРАБОТКА ОПТИМАЛЬНОЙ ОСНОВЫ ДЛЯ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ

В работе представлены материалы о безопасности для живого организма католита (жидкость с отрицательным ОВП - минус 540-590 мВ) и анолита (жидкость с положительным ОВП - 750- 790 мВ). Известно, что жидкие среды организма имеют отрицательный окислительно-восстановительный потенциал, но этот показатель для инъекционных растворов не учитывается. Это представляет научный интерес особенно для рационального применения инфузионных растворов, которые, как известно, применяют в больших объемах. Представленные данные свидетельствуют о лечебном действии католита и анолита, применяемых внутривенно при тяжелых состояниях: обезвоживание, сепсис, анафилактический шок.

Ключевые слова: анолит, католит, инфузионная жидкость, анафилактический шок, сепсис, дегидратация.

Reznikov R.M, Kovalenko I.V.

Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko

DEVELOPMENT OF AN OPTIMAL BASIS FOR INFUSION SOLUTIONS

Annotation. The paper presents materials on safety for the living organism of catholyte (liquid with negative redox potential - minus 540-590 mV) and anolyte (liquid with positive redox potential - 750-790 mV). It is known that liquid organisms of the organism have negative redox potentiality, but this indicator for injection solutions is not taken into account. This is of scientific interest especially for the rational use of infusion solutions, which are known to be used in large volumes. The data presented show a therapeutic effect to catholyte and anolyte, used intravenously in severe conditions: dehydration, sepsis, anaphylactic shock.

Keywords: anolyte, catholyte, infusion fluid, anaphylactic shock, sepsis, dehydration.

Актуальность. Инфузионные растворы должны соответствовать обязательным требованиям и свойствам: нетоксичность, текучесть, нейтральность инфузионной среды, отсутствие механических примесей (прозрачность), стерильность, апиrogenность, относительная стабильность и простота дозирования. Кроме того, к инфузионным растворам, направляемым в кровоток в больших объемах, предъявляют особые требования, основными из которых являются изотоничность и изосмотичность, величина ОВП. В настоящее время при капельном введении всех известных растворов для внутривенных инфузий пациенты часто имеют достаточно выраженные негативные реакции, в частности нарушение гомеостаза. Вероятно, это происходит из-за несоответствия некоторых параметров инфузионных растворов и жидкостей организма, в частности величины окислительно-восстановительного потенциала (ОВП, Red-Ox). Гомеостаз Red-Ox может иметь решающее значение при ряде патологических состояний. Экспериментально доказано, что ионизированная жидкость с низким Red-Ox эффективна при лечении и профилактике тревожных и депрессивных состояний, шизофрении, заболеваний почек, гнойных ран, перитонитов, пародонтитов, заболеваний желудочно-кишечного тракта и других заболеваний [1 46,98,113-165, 173-206, 216-221; 4 47-50]. Результаты исследований по лечебным эффектам ионизированных жидкостей послужили обоснованием для изучения возможности применения жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом, в качестве основы для инфузионных растворов.

Цель исследования. Обосновать возможность применения ионизированных жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом в качестве основы инфузионных растворов.

Материалы и методы. Наблюдения проведены с участием 36 добровольцев женского пола в возрасте 19-23 лет. Всем волонтерам, принимавшим участие в исследовании, была предоставлена информация об исследовании и ими была подписано информированное согласие в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20 декабря 2012 года № 1177н. Эксперименты проведены на

100 кроликах обоего пола массой 3200-3400 г., 20 белых крысах массой 250-280 г. Содержание лабораторных животных соответствует требованиям (ГОСТ Р 50258-92). Все материалы и методы, используемые в рабочих процедурах и протоколах, соответствуют передовой лабораторной практике [2] в рамках Приказа Минздравсоцразвития России № 708Н от

23.08.2010г. и в соответствии с Международными рекомендациям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (СЕД № 124, Страсбург, 22.06.1998).

Перед каждым экспериментом приготавливались свежие ионизированные жидкости с заданными параметрами ОВП и рН. Для этого использовали установку для электрохимического синтеза моющих, дезинфицирующих и стерилизующих растворов «Карат» (мод. 40) (производство ООО «СЭЛ», г. Воронеж, (регистрационное удостоверение ФСР 2011/11995 от 30.09.2011; сертификат соответствия РОСС RU.И М10.Д00241 от 29.02.2016) При хранении ионизированных жидкостей с положительным ОВП (анолит) в темном стеклянном контейнере ОВП оставался стабильным в течение 30 дней, Ионизированная жидкость с отрицательным ОВП (католит) сохраняет отрицательный окислительно-восстановительный потенциал в течение 12 часов.

Исследование осмолярности ионизированных жидкостей с различными ОВП проводилась криоскопическим методом с использованием термометра Бекмана. Использовались экспериментальные модели тяжелых патологических состояний: моделирование тяжелой дегидратации проводили на 20 белых крысах-самцах массой 200 ± 20 г, сохраняя полностью сухую диету животного в течение 10 дней;

До начала дегидратации количество жидкости, не выведенной из организма животных с мочой за сутки примерно составляло 20% от количества выпитой жидкости. Моделирование анафилактического шока проводилось на 40 кроликах после предварительной сенсibilизации внутримышечным введением лошадиной сыворотки из расчета 1 мл / кг массы тела животного, инъецированной в регионарную вену уха кролика. Разрешающая доза АГ, норма 1 мл / кг. Моделирование бактериального сепсиса проводили на 60 кроликах шиншиллы обоего пола и средней массе 3000 г путем введения в краевую вену уха культуры *Staphylococcus aureus* в 0,2% -ном голодном агаре для усиления вирулентных свойств микроорганизмов. Суспензию стафилококков вводили из расчета 0,1 мл на 1 кг массы тела.

Приготовление морфологических препаратов осуществлялось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Воронежского государственного медицинского университета им. Н. Н. Бурденко. Фиксацию тканей проводили в 10% нейтральном растворе формалина, полученные срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Все полученные результаты были проанализированы с использованием описательной статистики, с использованием параметрических и непараметрических критериев [3]. Статистическая обработка полученных данных проводилась на основе статистических пакетов Microsoft Excel 2007 и операционной системы «STATSGRAPHICS Plus 6.0» Windows7. Критерий уровня значимости при проверке статистической гипотезы принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение. Представляет большой интерес: может ли введение жидкости с отрицательным ОВП изменить ОВП жидких сред организма. При пероральном применении ионизированных жидкостей с различным окислительно-восстановительным потенциалом были получены значения показателей сердечно-сосудистой системы и параметров ОВП и рН мочи (таблица 1).

Таблица 1.

Изменение рН и ОВП мочи, артериального давления и частоты сердечных сокращений после приема жидкости с отрицательным ОВП (католит), жидкости с положительным ОВП (анолит) и питьевой воды (вода)внутри, (n=12, M±m)

| Показатели | Вода | | Анолит | | Католит | |
|---------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|----------------|
| | Исходное значение | Через 90 минут | Исходное значение | Через 90 минут | Исходное значение | Через 90 минут |
| ОВП, мВ | 165,0±26,0 | 108,0±29,0* | 126,0±17,0 | 120,0±40,0 | 132,0±25,0 | 115,0±27,0* |
| рН | 5,8±0,2 | 6,5±0,4* | 6,3±0,6 | 6,5±0,6 | 5,9±0,4 | 6,2±0,6* |
| САДмм.рт.ст. | 113,0±11,0 | 111,0±10,0 | 121,0±8,0 | 119,0±10,0 | 119,0±9,0 | 118,0±10,0 |
| ДАД мм.рт.ст. | 72,0±8,0 | 76,0±8,0 | 78,0±6,0 | 78,0±9,0 | 75,0±11,0 | 75,0±8,0 |
| ЧСС уд/мин | 73,0±5,0 | 72,0±5,0 | 78,0±8,0 | 78,0±7,0 | 84,0±7,0 | 84,0±7,0 |

Примечание: * - $p < 0,05$ – различия достоверны по сравнению с исходными показателями.

Прием католита с ОВП= -527 мВ вызвал увеличение рН мочи на 12% ($p < 0,05$) и снижение ОВП мочи на 35% ($p < 0,05$). Остальные показатели: САД, ДАД и ЧСС при однократном приеме жидкости с отрицательным ОВП через 1,5 часа не изменились. Через 1,5 часа после приема ионизированной жидкости с ОВП=720мВ показатели рН, ОВП мочи, САД, ДАД и ЧСС не изме-

нились. В группе сравнения (Вода) через 1,5 часа после приема обычной питьевой воды с ОВП=+230мВ эти показатели также не изменились.

Из литературы известны данные о параметрах некоторых жидких сред организма (кровь артериальная: минус 30 мВ; кровь венозная: минус 120 мВ; желудочный сок: плюс 600 мВ; слюна: от минус 100 мВ до плюс 300 мВ).

Введение в организм жидкостей с показателями, отличающимися от показателей жидких сред организма (рН, ОВП, содержание солей и др.) может нарушить внутренний баланс организма (кислотно-щелочной, натрий-калиевый и т.д.). Как известно, даже небольшое отклонение рН крови может вызвать необратимые последствия вплоть до летального исхода. Немаловажную роль играет и значение окислительно-восстановительного потенциала жидкостей, вводимых в организм, в особенности внутривенно. В связи с этим нами было проведено исследование значений ОВП некоторых инфузионных растворов (табл. 2). Установлено, что в среднем окислительно-восстановительный потенциал инфузионных растворов составляет плюс 176 мВ, самый низкий показатель имеет раствор натрия хлорида 0,9%- плюс 128 мВ, самый высокий – раствор глюкозы 5%- плюс 216 мВ.

Таблица 2

Величина ОВП некоторых инфузионных растворов (M±m)

| Раствор | ОВП, мВ |
|-------------------------|------------|
| Реополиглюкин 10% | 211,6±15,2 |
| Аминокапроновая кислота | 200,7±15,4 |
| Гемодез-Н | 131,2±15,5 |
| Натрия хлорид 0,9% | 128,6±15,3 |
| Р-р калия хлорида 10% | 152,9±15,2 |
| Раствор глюкозы 5% | 216,9±15,4 |
| Вода для инъекций | 195,3±15,4 |

Анализ влияния на организм внутривенного введения больших количеств растворов (10 мл на 1 кг массы) показал, что при внутривенном введении изотонического раствора натрия хлорида (ОВП = плюс 315мВ) и ионизированной жидкости с положительным ОВП (ОВП = плюс 740мВ) в максимально допустимом объеме появляются признаки перегрузки правого предсердия и желудочков. При внутривенном введении ионизированной жидкости с отрицательным ОВП (ОВП = минус 550мВ) в том же объеме показатели работы сердечно-сосудистой системы (ЭКГ) не изменяются. Введение максимального объема жидкости с положительным и отрицательным ОВП приводит к урежению дыхания в течение первого часа после введения. При введении максимального объема жидкости с положительным ОВП наблюдается тенденция к снижению ЧСС. Следовательно, в/в введение максимально допустимых количеств изучаемых жидкостей не вызывает существенных нарушений состояния лабораторных животных.

При моделировании анафилактического шока у кроликов установлено, что летальность в контрольной группе животных составила 25% (p<0,05) в первые сутки эксперимента, на 7 день – 12,5% (p<0,05) от общего количества животных группы (итого погибло 37,5% животных группы). При введении ионизированной жидкости с положительным ОВП смертность животных отмечалась только в 1 сутки исследования и составила 25% (p<0,05) от общего количества животных группы. Введение ионизированной жидкости с отрицательным ОВП вызвало смертность 14,4% (p<0,05) животных группы в 1 день эксперимента, а при введении преднизолона все животные группы остались живы до конца эксперимента. Морфологический анализ показал, что при введении ионизированных жидкостей снижается риск повреждения тканей головного мозга, сердца, почек и печени при анафилактическом шоке.

Эффективность католита и анолита прослежена и на животных с предварительно вызванным сепсисом. Установлено, что к концу эксперимента летальность животных, которым вводили анолит составила 40%, при введении католита – 70%, а в контрольной группе – 60%. Таким образом, можно заключить, что ионизированная жидкость с положительным ОВП (+700±50 мВ) губительно действует на стафилококки и её целесообразно применять в процессе инфузионной терапии стафилококкового сепсиса.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: Католит при введении в организм добровольцев в дозе 2 мл/кг массы снижает ОВП мочи более чем на 30%; вводимые внутривенно жидкости с положительным и отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом не токсичны; они быстрее и полнее восста-

навливают потерю жидкости при дегидратации; существенно улучшают нарушения во внутренних органах при анафилактическом шоке и стафилококковом сепсисе.

Литература

1. Роль водного сегмента организма в процессах его жизнедеятельности. Коллективная монография под ред. проф. К.М. Резникова. – Воронеж: Изд. ВГМА, 2014. 249 с.
2. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей (И.В. Белозерцева, О.А. Драволина, М.А. Тур, под ред. Э.Э Звартау. – Изд.2-е СПб: Изд. СПб МУ, 2014. 80 с.)
3. Хафизьянова Р.Х. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии / Р.Х. Хафизьянова, И.М. Бурькин, Н.Г. Алеева. – Казань: Медицина, 2006. 374 с.
4. Бабушкин О.С. Стратегия использования ЭХА растворов в многопрофильной больнице / О.С. Бабушкин, В.А. Назин // Электрохимическая активация: третий междунар. симп.: сб. науч. тр. – М., 2001. С. 46–50.

Сведения об авторах

Константин Михайлович Резников

д-р мед. наук

проф. каф. фармакологии

Эл. почта: vrkmf@yandex.ru

Ирина Викторовна Коваленко

ассистент каф. фармакологии

Эл. почта: kovalenkoirin@gmail.com

Воронежский государственный медицинский

университет им. Н.Н.Бурденко

Россия, Воронеж

Information about authors

Konstantin M. Reznikov

Doctor of Medical Sciences

Professor Department of Pharmacology

E-mail: vrkmf@yandex.ru

Irina V. Kovalenko

assistant at the Department of Pharmacology

E-mail: kovalenkoirin@gmail

Voronezh State Medical University named after

N.N. Burdenko

Russia, Voronezh

УДК 617

ГРНТИ 76.29.39

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко

Желудев А.А.

ОПТИМАЛЬНАЯ ПРОФИЛАКТИКА НЕСОСТОЯТЕЛЬНОСТИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ АНАСТОМОЗОВ

В работе представлены результаты экспериментальных исследований, установления изменений показателей крови и гуморального иммунитета у крыс в послеоперационном периоде при применении метилурацила и католита.

Ключевые слова: тонкий кишечник, окислительно-восстановительный потенциал, жидкости с отрицательным и положительным редокс-потенциалом, иммунитет.

Zheludev A.A.

Voronezh State Medical University N.N. Burdenko

OPTIMUM PREVENTION OF INSOLVENCY OF GASTROINTESTINAL

The paper presents the results of experimental studies, the establishment of changes in blood parameters and humoral immunity in rats in the postoperative period with the use of methyluracil and catholyte.

Keywords: small intestine, redox potential, liquid with a negative oxidation-reduction potential, immunity.

Введение. В последнее время в мире наблюдается рост увеличения заболеваний желудочно-кишечного тракта. Эта проблема весьма актуальна в ургентной хирургии и хирургии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Одно из самых опасных осложнений заболевания ЖКТ является кровотечение. Кровотечение 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 [1].

В последние годы в медицине большое внимание уделяется жидкостям с отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом. Множество работ посвящены изучению этого явления и применения во многих направлениях медицины [2,3]. Анолиты обладают высокой биоцидной активностью (дезинфицирующий эффект), а католиты, имея отрицательный окислительно-восстановительный потенциал, обладают антиоксидантными свойствами одним из

хорошо изученных эффектов анолита является антисептическое действие. Известна малая токсичность этих растворов, как при приеме внутрь, так и при инъекционном введении [3].

Наше внимание привлечен препарат метилурацил (МУ), который давно и успешно применяется как стимулятор регенерации [4]. Препарат обладает ранозаживляющим, анаболическим, противовоспалительным и иммуностимулирующим действием.

Цель исследования. Обосновать возможность оптимизации преодоления несостоятельности кишечного шва в эксперименте.

Материалы и методы: В эксперименте использовано 315 крыс - самцов, массой 250-300 г., которые были распределены на следующие группы:

1-я группа интактные животные - 15 крыс.

2-я группа - контроль (оперированные животные) без лечения- 15 крыс.

3-я группа – оперированные животные с использованием католита - 15 крыс.

4-я группа – оперированные животные с моделированной кровопотерей

5-я группа – оперированные животные с моделированной кровопотерей и применением католита в послеоперационном периоде

6-я группа - оперированные животные в послеоперационном периоде которым применялся метилурацил.

7-я группа-оперированные животные у которых в послеоперационном периоде использовался метилурацил с католитом.

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). Исследования сыворотки крови проводились на биохимическом полуавтоматическом анализаторе Stat Fax 1904 (США), применялись наборы реактивов фирмы «DiaSys» (Германия).

Моделирование острой кровопотери проводилась за сутки до операции. Крысам внутрибрюшинно вводилось 100 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 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.

Метилурацил 0,008г., вводили внутрь, в виде раствора (0,8%) 1 раз в сутки с помощью иглы на конце которой была напаяна олива.

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), Исследование проводили в день забора биоматериала. Для фиксации стенки тонкого кишечника использовался нейтральный 10% формалин.

Католит использовался с параметрами PH = 8,5-9,0, ОВП - минус 510-570 мВ. Он применялся per os в качестве питья ежедневно вместо питьевой воды в течение всего периода наблюдения.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась на ПК Pentium V с помощью пакетов программ Excel 2007, Statistica 7.0. с использованием параметрических и непараметрических критериев [5].

Результаты и обсуждение. При введении католита уровень гемоглобина на 5 сутки был увеличен по сравнению со животными 2 группы в 1,2 раза ($P < 0,05$), Уровень лейкоцитов во 2 группе уменьшен по сравнению с 1 группой на 37,5% ($P < 0,05$), уменьшены показатели уровня лимфоцитов во 2 группе на 15 сутки по сравнению с 1 группой на 28% ($P < 0,05$), и в 3 группе на 5 сутки их уровень уменьшился по сравнению с 1 группой на 23%. ($P < 0,05$), При применении католита в 3 группе на 15 сутки уровень лимфоцитов увеличился на 27% ($P < 0,05$), по сравнению со 2 группой, а показатели СОЭ изменяются во 2 группе на 5 сутки: происходит увеличение уровня СОЭ в 2,5 раза ($P < 0,01$), и на 15 сутки у животных 2 группы в 2,3 раза ($P < 0,01$), по сравнению с животными 1-й группы. В 3 группе экспериментов на 5 сутки происходит уменьшение уровня СОЭ на 57% ($P < 0,05$), по сравнению с соответствующим показателем 2 группы и

уменьшение на 15 сутки в 3 группе - на 55% ($P<0,01$), по сравнению с изменениями у животных 2 группы. При кровопотере число эритроцитов на 5 сутки у анемизированных животных увеличился на 31,7 % ($P<0,05$) по сравнению с анемизированными животными контрольной группы. Уровень гемоглобина на 5 сутки увеличен на 36,3% ($P<0,05$), а на 15 также увеличен на 14,9% ($P<0,05$). Лейкоциты на 15 сутки у животных принимавших католит при кровопотери снижен на 52,8% ($P<0,01$). метилурацил внутрь увеличился на 23,6% ($P<0,05$), а в группе крыс принимавших метилурацил с католитом на 5 сутки гемоглобин увеличился на 12,3% ($P<0,05$), по сравнению с контрольными животными, т.е. был равен уровню показателя здоровых животных. На 15 сутки в группе крыс принимавших МУ гемоглобин увеличился на 15,2% ($P<0,05$), по сравнению с контрольными животными. На 5 сутки в группе животных принимавших МУ количество тромбоцитов уменьшилось на 45,2% ($P<0,05$), по сравнению с контрольной группой крыс. В группе крыс принимавших МУ на 15 сутки произошло снижение количества палочкоядерных нейтрофилов на 69,7% ($P<0,01$), а на 15 сутки у животных принимавших МУ + К на 77,3% ($P<0,01$), по сравнению с уровнем контрольных животных. Количество сегментоядерных нейтрофилов в группе животных принимавших МУ на 5 сутки уменьшаются на 63,4% ($P<0,01$), по сравнению с контрольной группой. Количество сегментоядерных нейтрофилов снижается и на 15 сутки в группе крыс, принимавших МУ на 79,6% ($P<0,01$), а в группе крыс принимавших МУ и К на 88,6% ($P<0,01$), по сравнению с контрольной группой животных.

Представленные данные свидетельствуют о том, что наибольшее снижение величины показателей характеризующих воспаление отмечается при применении метилурацила в комбинации с католитом в послеоперационном периоде.

Вместе с этим на 5 сутки у животных 2 группы фагоцитарный индекс уменьшился в 13,7 раза ($P<0,01$), в то время как уровень фагоцитарной активности увеличился в 4,1 раза ($P<0,01$). На 15 сутки 2 группы уровень фагоцитарного индекса возрастает по сравнению с 1 группой в 1,3 раза и фагоцитарная активность повышается в 56 раз ($P<0,01$). В 3 группе при применении католита в послеоперационном периоде происходит уменьшение фагоцитарного индекса по сравнению с 1 группой в 42 раза, ($P<0,01$), а фагоцитарная активность увеличивается по сравнению с 1 группой в 12,3 раза ($P<0,01$). На 15 сутки в 3 группе уровень фагоцитарного индекса уменьшается 2,6 раза ($P<0,05$). в то время как фагоцитарная активность на 15 сутки увеличивается в 14,5 раз ($P<0,01$). На 15 сутки у животных 3 группы уровень фагоцитарного индекса уменьшается. В группе животных принимавших МУ и К ФА снизилась на 29,3% ($P<0,05$), на 5-е сутки и на 30,4% ($P<0,05$), - на 15-е по сравнению с контрольными крысами. ФИ на 15 сутки снизилась на 86,1% ($P<0,01$), по сравнению с показателями животных контрольной группы.

При сравнении показателей иммунитета животных 3 группы со 2 группой на 5 сутки происходит уменьшение фагоцитарного индекса на 3,1 ($P<0,01$), в то время как фагоцитарная активность увеличивается в 3 раза ($P<0,01$). На 15 сутки 3 группе уровень фагоцитарного индекса уменьшается в 2,6 ($P<0,01$), раза по сравнению со 2 группой и уровень фагоцитарной активности уменьшается в 3,8 раза ($P<0,01$),. Введение католита при кровопотере на процессы фагоцитоза существенно не влияет

Изменения Ig G у животных контрольной группы остается высоким: на 5 сутки величина Ig G увеличилась в 1,7 раза ($P<0,05$), а на 15 сутки - в 1,4 раза ($P<0,05$). В группе животных принимавших католит в послеоперационном периоде Ig G также оставался на высоком уровне на 5 сутки увеличился в 1,4 раза ($P<0,05$), а на 15 сутки в 2,1 раза ($P<0,01$), по сравнению с контрольной группой животных.

Уровень Ig A в контрольной группе животных снизился на 5 сутки в 1,7 раза ($P<0,05$), на 15 сутки в 1,3 ($P<0,05$) раза. В группе животных принимавших католит в послеоперационном периоде также уменьшался на 15 сутки на 2,2 раза ($P<0,01$). После Ig G на 15 сутки в группе животных с анемией принимавших католит снижен на 28,1% ($P<0,05$) по сравнению с контрольной кровопотерей. Уровень Ig A кровопотери с католитом на 15 сутки увеличился на 152,8% (2,5 раза) ($P<0,01$) по сравнению с контролем. Ig M снизился на 15 сутки 38,9% ($P<0,05$) по сравнению с контролем. Эти данные свидетельствуют, что католит при кровопотере влияет в процессы гуморального иммунитета, оказывает позитивное действие. Во 2 группе животных уровень Ig M увеличился на 5 сутки в 6,2 раза ($P<0,01$), а на 15 сутки в 7 раз ($P<0,01$), по сравнению со здоровыми животными. В группе животных принимавших католит показатель Ig M на 5 сутки увеличился в 3 раза ($P<0,01$), а на 15 сутки в 9,3 раза ($P<0,01$), по сравнению с контрольной группой. Уровень Jg A в контрольной группы на 5 сутки уменьшился в послеоперационном периоде на 40,7% ($P<0,05$), а на 15 сутки 23,7% ($P<0,05$) по сравнению со здоровыми животными.

Уровень Jg A в группе животных принимавших МУ на 5 сутки увеличился в 2,4 ($P<0,01$) раза, а в группе животных принимавших МУ и К увеличился 2,5 раза ($P<0,01$), по сравнению с контрольными животными. Этот показатель на 15 сутки в группе животных принимавших МУ увеличился на 65% ($P<0,01$), по сравнению с контрольными животными.

Уровень Jg M в контрольной группе на 5 сутки увеличился более чем в 5 раз ($P<0,01$), а на 15 сутки - в 7 ($P<0,01$) раз по сравнению со здоровыми животными. На 15 сутки уровень Jg M в группе крыс принимавших МУ снизился на 32,6% ($P<0,05$), по сравнению с контрольными животными. При использовании Му и К одновременно различий в величине этих показателей как на 5-е, так и на 15-е сутки не выявлено. Эти данные позволяют говорить о том, что изученные стимуляторы регенерации оптимизируют состояние кишечного шва после резекции, снижая признаки воспаления и активизируя иммунологические процессы. Так, показатель Jg A в группе животных принимавших МУ с К равен животным контрольной группы и меньше показателя здоровых животных, что говорит о отсутствии воспалительной реакции в организме крысы. И показатель Jg G на 15 сутки в группе животных принимавших МУ с К имеет тенденцию к снижению, что говорит о более выраженном противовоспалительном действии МУ в сочетании с жидкость К, нежели одинарного применения МУ.

После кровопотери отмечается большой дефект слизистой, заполнено молодой грануляционной тканью. Со стороны слизистой гнойные некротические наложения в ране. признаков эпителизации нет. В грануляционной ткани заметны тучные клетки-эозинофилы. формирование гранулем. Вокруг швов гранулемы инородных тел с гигантскими многоядерными клетками. При кровопотери можно на 15 сутки применения католита отметить хорошо сформированную грануляционную ткань, формирующийся рубец. Остаточное воспаление в брыжейке. Сформированные гранулы вокруг швов. При использовании метилурацила особенно одновременно с католитом наиболее полно восстанавливают морфологическую структуру кишечного анастомоза.

Автор считает, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты:

1. Метилурацил самостоятельно и в комбинации с католитом являющимся донатором электронов положительно влияет на процессы воспаления в зоне кишечного шва.

2. Применение католита в комбинации с метилурацилом позитивно влияет на фагоцитарную активность и уровень иммуноглобулинов при экспериментальной резекции тонкого кишечника.

3. Использование анолита, обладающего антисептическим и кровоостанавливающим действием, при обработки операционной раны предупреждает развитие гнойных процессов.

Список литературы

1. Гостищев В.К., Евсеев М.А. Острые гастродуоденальные язвенные кровотечения: от стратегических концепций к лечебной тактике. – М.: Анта-Эко, 2005. 352 с.
2. Прилуцкий В.И. Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия / Прилуцкий В.И., Бахир В.М.. – М.: ВНИИИМТ, 1995. 228 с.
3. Резников К.М. Системный анализ безопасности и фармакологических свойств электроактивированных водных растворов / К.М. Резников, Ю.Н. Латышева, Ю.А. Левченко, Е.Б. Сабитова Е.Б. // Системный анализ и управление в биомеханических системах. 2008. Т. 7. № 2. С. 409–413.
4. Авер Г.М. Характеристика влияния метилурацила на частоту острых и обострение хронических очаговых инфекций / Авер Г.М., Хотим Е.Н. // Материалы международной научной конференции. – Гродно: 1993. №2.
5. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии / Е.В. Сидоренко. – СПб.: ООО «Речь», 2002.

Сведения об авторах

Алексей Анатольевич Желудев
соискатель каф. госпитальной хирургии
Врач-хирург
Эл. почта: alexei-zheludev@yandex.ru
Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н.Бурденко
Россия, Воронеж

Information about authors

Alexey Anatolyevich Zheludev
Applicant Department of Hospital Surgery
Surgeon
E-mail: Alexei-zheludev@yandex.ru
Voronezh State Medical University named after
N.N. Burdenko
Russia, Voronezh

УДК 612.15; 612.13;
612.67; 616-053.9
ГРНТИ 31.23.33; 76.03.29;
76.03.31; 76.29.59

Ахуба Л.О., Матуа А.З., Каландия Т.З., Добаджан Н.В., Джидарян А.А., Степанова А.А., Трапш Х.З., Миквабия З.Я.
НИИ экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии

ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НА ГЕМОЦИРКУЛЯЦИЮ В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ.

В работе была дана оценка зависимости микроциркуляции крови от некоторых биохимических параметров. Выявлены возрастные тенденции в микроциркуляторных процессах, коррелирующие с липидным уровнем, определены группы риска по сердечно-сосудистым заболеваниям в зависимости от возраста, пола и биохимических параметров.

Ключевые слова: микроциркуляция, липидный профиль, сердечно-сосудистые заболевания, застой крови.

Akhuba L. O., Matua, A. Z., Kalandiya T. Z., Stepanova A.A., Dobadjan N.V.,
Djidaryan A.A., Trapsh H. Z., Mikvabiya Z. Y.
Research Institute of experimental pathology and therapy
of the Academy of Sciences of Abkhazia

INFLUENCE OF BIOCHEMICAL PARAMETERS ON HEMOCIRCULATION IN AGE ASPECT

This research evaluated the dependence of the microcirculation of blood and some biochemical parameters. Age trends in microcirculatory processes correlating with lipid level were revealed, risk groups for cardiovascular diseases were determined depending on age, sex and biochemical parameters.

Key words: microcirculation, lipid profile, cardiovascular diseases, blood stagnation.

Микрососудистое русло кровеносной системы является местом реализации транскапиллярного обмена, обеспечивающего необходимый для жизни многоклеточного организма тканевой гомеостаз [1, С.6]. Процессы нормальной перфузии тканей подчиняются различным факторам влияющим на закономерности динамики кровотока и лимфотока в микрососудах. От успешной разработки этой фундаментальной проблемы в клинике и эксперименте в значительной мере зависит решение серии важных вопросов практической медицины, а именно: профилактика и терапия нарушений регионарного, в частности коронарного, мозгового, почечного и печеночного кровообращения, общей недостаточности кровообращения, различных видов шока [2, С. 256; 3, С. с. 24- 26].

Изучение микроциркуляции объединяет специалистов из различных областей науки. С каждым годом исследования в области микроциркуляции принимают все больший размах [5, С.108-111; 6, С. 398–405].

Цель работы. Установить роль некоторых биохимических параметров сыворотки крови в изменениях микрогемодициркуляции в возрастном аспекте.

Материалы и методы исследования. В исследовании после получения информированного согласия приняли участие практически здоровые лица разных возрастных категорий. Обследование проводилось в состоянии покоя (базальный микрокровоток) при помощи портативного лазерного анализатора микроциркуляции крови «ЛАЗМА ПФ» в утренние часы (период с 9:00 до 11:00), в стандартных условиях ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) после 15-минутного периода адаптации. В качестве тестируемой области была избрана зона Захарьина-Геда для сердца на предплечье. Выбор данной области обусловлен малым количеством тут артериоло- веноулярных анастомозов и поэтому в большей степени отражает кровоток в микроциркуляторном русле [7, С. 347–353].

При регистрации кровотока и его оценке анализировали следующие параметры:

- средняя перфузия в микроциркуляторном русле за определенный интервал времени исследований - Постоянная составляющая (М), единицы измерения – перфузионные единицы (пФ.ед.);

- величину колебательных отклонений – переменная величина (σ),
- коэффициента вариации, или коэффициент перфузии (K_v),
- амплитудно-частотные спектры колебаний дыхательных (Д) и сердечных (С) ритмов в контексте модуляции микрокровотока ($A/3\sigma$)100% и общего уровня тканевой перфузии (A/M)100% [4, С.80-86].

Время регистрации сигналов при каждом исследовании составляло 4 минуты.

У всех брали венозную кровь утром натощак с использованием вакуумных систем забора: пробирки с активатором (для биохимических исследований).

Биохимические исследования показателей липидного спектра крови включали: определение общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП).

Для определения концентрации общего холестерина, также как и для определения триглицеридов в сыворотке крови мы использовали энзиматический колориметрический метод – реагенты фирмы «ВИТАЛ». А концентрацию ЛПВП в сыворотке крови мы определяли методом избирательной преципитации. После чего высчитывали ЛПНП по формуле: $C = [\text{общий холестерин}] - [\text{ЛПВП} - \text{холестерин}] - [\text{триглицериды}/2,2]$ ммоль/л.

Так же мы рассчитывали коэффициент или индекс атерогенности (КА или ИА) по следующей формуле: $ИА = (\text{общий холестерин} - \text{ЛПВП})/\text{ЛПВП}$.

Общее количество обследуемых составило 99 человек. Из них 29 мужчины и 70 женщин. Возрастной диапазон от 20 до 89 лет. Указанные лица были поделены вне зависимости от пола на 4 группы: в I группу были включены лица возрастной категории от 20 до 35 лет (молодые); во II группу – лица от 36 до 55 лет (зрелые); в III – от 56 до 74 (пожилые); в IV – от 75 до 89 (старческая возрастная группа).

Результаты. При проведении анализа данных холестеринového профиля группы представителей мужского пола, было установлено, что уровень общего холестерина (норма 5,2 ммоль/л) в I и II группах был в пределах нормы, а среднее значение его повышается в период с 56 лет по 74 года, то есть в группе III. Триглицериды (норма 0,14-1,82 ммоль/л) имели схожую тенденцию. У женщин во II и III группах, уровень общего холестерина находится на верхней границе нормы согласно возрасту (до 7,25 ммоль/л для женщин), в I и IV группах обнаруживается нормальное его значение. Уровень триглицеридов во всех группах в пределах нормы, оптимальные показатели – в I и IV. Значения липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) (норма 0,9-1,9 ммоль/л) у мужской группы имеют максимум в группе I, чуть ниже он в IV, и минимум во II и III группах, что является негативным показателем для лиц мужского пола. Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) (норма 1,5-3,5 ммоль/л) завышены в I, II и III группах, что является максимально допустимым значением, и полностью в норме в IV группе. Уровень ЛПВП у женщин в I группе – в пределах нормы (1,3 ммоль/л), во II и IV – оптимальный (2,1 ммоль/л и 1,6 ммоль/л соответственно), а в III – плохой (1,14 ммоль/л). Показатели ЛПНП в I группе в норме (3,25 ммоль/л), во II – на максимально допустимом уровне (3,6 ммоль/л), а в III группе – высокие (4,2 ммоль/л), что является негативным результатом. В IV группе уровень ЛПНП наименьший из всех групп (3,1 ммоль/л), что является оптимальным показателем. Таким образом, индекс атерогенности (ИА) (норма – ниже 3), то есть риск развития атеросклероза у обследованных мужчин IV группы – наименьший, умеренный – в I, а высокий в III и II группах. У женщин индекс атерогенности в каждой возрастной категории на порядок ниже, нежели у мужчин. Он в норме в каждой группе за исключением III, где риск развития атеросклероза высокий (4,77). Таким образом можно полагать, что группой с наиболее высоким риском развития сердечно-сосудистой патологии, а возможно и ее наличием, является группа возрастного диапазона 56-74 лет. Причем как у мужчин, так и у женщин. При анализе данных обследования было выяснено, что общий уровень тканевой перфузии (показатель А/М) подвержен колебаниям и у женщин и у мужчин, особенно в плане дыхательных осцилляций. Модуляция кровотока (показатель А/3σ) у мужчин за счет дыхательных колебаний снижается, демонстрируя свой максимум во II группе и минимум – в IV. В то время как кардиальные влияния во II группе, наоборот, имеют свой минимум, а в IV – максимум. У женщин прослеживается та же тенденция. Уровень перфузии у мужчин имеет четкую тенденцию к росту с периода 20 лет вплоть до 85, чуть занижаясь в период с 36 до 55 лет. Среднеквадратическое отклонение – флукс, с возрастом плавно возрастает, а коэффициент вариации слабо снижается к 56-74 годам и резко возрастает в IV группе. У женщин величина перфузии наряду со среднеквадратическим отклонением возрастает в каждой группе, достигая своего максимального значения в IV. Коэффициент вариации снижается во II группе, но, начиная с 56 лет, возрастает вплоть до 89. Показатель перфузии (М) у группы обследуемых мужского пола имеют достаточно высокий показатель в III группе, то есть в период с 56 до 74 лет, в этой же группе повышен уровень общего холестерина и триглицеридов. Однако, коэффициент вариации (K_v) именно в этой группе является самым низким среди всех остальных. Кардиальный механизм регуляции общего уровня тканевой перфузии (А/М(С)) максимален в IV группе, где среднее значение общего холестерина минимально, и

находится практически на одних уровнях в первых трех группах, как и показатели общего холестерина. Модуляция микрокровотока за счет кардиальных влияний ($A/3\sigma(C)$) максимальна в 4 группе, а уровень общего холестерина в данной группе минимален. Во II и III группах уровень модуляции достаточно минимальный, однако зарегистрировано низкое содержание ЛПВП и высокий уровень ЛПНП. Индекс атерогенности высок во II и III группах, при этом прослеживается низкая модуляция микрокровотока за счет кардиального механизма ($A/3\sigma(C)$) и низкий уровень сердечной регуляции тканевой перфузии ($A/M(C)$). Показатель перфузии (M) (и среднеквадратичное отклонение (σ)) у группы обследуемых женского пола, как и в мужской группе, с возрастом повышается, имея достаточно высокие показатели во II и III группах, уровень общего холестерина в них при этом максимален. Коэффициент вариации (K_v) во II и III группах самый низкий, а уровень общего холестерина – самый высокий (как в случае с мужскими показателями). Кардиальный механизм регуляции общего уровня тканевой перфузии ($A/M(C)$) максимален в I и IV группах, а показатели общего холестерина там минимальны, во II и III группах кардиальное влияние минимально, а уровни общего холестерина максимальны. Однако, модуляция микроциркуляции за счет кардиального механизма ($A/3\sigma(C)$) во II и III группах максимальна, при таком же максимальном уровне общего холестерина, а показатели ЛПНП – самые высокие. Индекс атерогенности в III группе высок наряду с повышенным кардиальным влиянием на модуляцию микрокровотока.

С возрастом уровень перфузии увеличивается. Это происходит в основном за счет снижения оттока крови и усиления влияния пульсовой волны. При этом приток артериальной крови не представляет собой истинное улучшение перфузии, так как при этом отсутствует приток «новых» эритроцитов, что свидетельствует о застойных явлениях.

У мужчин уровень общей перфузии (M) повышается в период с 56 до 74 лет (III возрастная группа), при этом наблюдается снижение адаптационных возможностей микроциркуляции, что коррелирует с возрастанием уровня общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП и индекса атерогенности, что, согласно с литературными данными, свидетельствует о манифестации сердечно-сосудистой патологии у лиц мужского пола. Однако, на фоне усиления влияния кардиального механизма регуляции прослеживается снижение риска развития атеросклероза.

У женщин относительно показателей базального кровотока прослеживается идентичная картина. При этом анализ данных ЛДФ-грамм у этой группы свидетельствует об увеличении с возрастом застойных явлений, отягощающихся ухудшением показателей липидного профиля. В отличие от мужской группы, повышение кардиальных влияний коррелирует с возрастанием риска развития сосудистых заболеваний (тромбофлебиты, ангиосклероз и т.д.). Возможно, такая картина связана с гормональными отличиями в этих группах, при этом как для мужчин, так и для женщин характерна тенденция к усугублению описанных явлений с возрастом.

Авторы считают, что в работе были выявлены основные закономерности в возрастных изменениях базальной микроциркуляции, а так же корреляция кардиальных и дыхательных механизмов с липидным профилем. Выделены группы риска по сосудистым заболеваниям в зависимости от возраста, пола и биохимических параметров.

Литература

1. Баженова Е. О., Галузо А. В. Новые рубежи в изучении микроциркуляции крови // В мире науки. 2010. № 08-09. С. 6.
2. Курпаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флуометрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. – М.: Медицина, 2005. 256 с.
3. Молотков О.В., Халепо О.В. Микроциркуляция и функция эндотелия: теоретические основы. Принципы диагностики нарушений, значение для клинической практики: научно-методическое пособие. Смоленск, 2015. С. 24–26.
4. Тихомирова И.А., Бабошина Н.В., Терехин С.С. Возможности метода лазерной доплеровской флуометрии в оценке возрастных особенностей функционирования системы микроциркуляции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2018. № 17(3). С. 80–86.
5. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция. 2-е издание. Москва, изд. Медицина, 1984 г., с. 8, 11, 108–111, 142, 145–150, 250, 258–267, 278.
6. El-Domyati M., Attia S., Saleh F. et al. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin // Exp Dermatol. 2002. N. 11. P. 398–405.

7. Mrowietz C, Franke RP, Pindur G et al. Reference range and variability of Laser-Doppler-Fluxmetry // Clin Hemorheol Microcirc. 2017. No. 67 (3–4). P. 347–353.

Сведения об авторах

Лариса Отаровна Ахуба

канд. биол. наук, доц.
зав. лаб.

Эл. почта: lara_ahuba@mail.ru

Алиса Зауровна Матуа

канд. биол. наук, доц.
ст. науч. сотр.

Эл. почта: azmatua76@mail.ru

Теона Зурабовна Каландия

канд. биол. наук, доц.
ст. науч. сотр.

Эл. почта: tea_78@mail.ru

Нвард Вардановна Добаджян

ст. лаб.

Эл. почта: dobadzhyan@mail.ru

Ануш Ашотовна Джидарян

асп.

Эл. почта: anush.djidaryan@gmail.ru

Анна Александровна Степанова

студ.

Эл. почта: anka_steps@mail.ru

Хамида Зурабовна Трапш

асп.

Эл. почта: trapsh_777@inbox.ru

Зураб Ясонович Миквабия

Д-р мед. наук, акад., проф.

Дир.

Эл. почта: niiepit@rambler.ru

НИИ экспериментальной патологии и терапии
Академии наук Абхазии.

Республика Абхазия, Сухум

Information about authors

Larisa Otarovna Akhuba

Candidate of Biological Sci., Associate Professor,
head of laboratory

Email: lara_ahuba@mail.ru

Alisa Zauravna Matua

Candidate of Biological Sciences, Associate Profes-
sor, Senior Researcher

Email: azmatua76@mail.ru

Teona Zurabovna Kalandia

Candidate of Biological Sciences, Associate Profes-
sor, Senior Researcher

Email: tea_78@mail.ru

Nvard Vardanovna Dobadjyan

Senior Assistant

Email: dobadzhyan@mail.ru

Anush Ashotovna Dzhidaryan

graduate student

Email: anush.djidaryan@gmail.ru

Anna Alexandrovna Stepanova

student

Email: anka_steps@mail.ru

Hamida Zurabovna Trapsh

graduate student

Email: trapsh_777@inbox.ru

Zurab Yasonovich Mikvabiya

Doctor of Medical Sciences, academic, professor,
director

Email: niiepit@rambler.ru

Research Institute of Experimental Pathology and
Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia.

Republic of Abkhazia, Sukhum

УДК 637:634.424.8

Симоненко Е.С., Золотин А.Ю., Фелик С.В., Седова А.Е.

НИИ Детского питания
- филиал ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ВИДОВ СЫРЬЯ ПРИ СОЗДАНИИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

В настоящее время одним из приоритетных направлений в области питания населения, как в России, так и за рубежом, является разработка альтернативной пищевой продукции, в том числе молочной, которая в свою очередь могла бы быть обогащена биологически активными веществами.

Ключевые слова. Альтернативные виды сырья, биологически активные вещества, кобылье молоко, козье молоко, детское питание, сухой модуль, комбинированное молоко, фейжоа

Simonenko E., Zolotin A.Yu., Felik S.V., Sedova A.E.

Research Institute of Baby Food
- branch of FSBI of science "FRC of nutrition and biotechnology"

USE OF ALTERNATIVE TYPES OF RAW MATERIALS FOR CREATING SPECIALIZED FOOD PRODUCTS FOR CHILDREN'S FOOD

Currently, one of the priority areas in the field of nutrition of the population, both in Russia and abroad, is the development of alternative food products, including dairy, which in turn could be enriched with biologically active substances.

Keywords. Alternative raw materials, biologically active substances, mare's milk, goat's milk, baby food, dry module, combined milk, feijoa, *Acca sellowiana*

Обеспечение нормальной жизнедеятельности человеческого организма невозможно без адекватного, сбалансированного поступления всех пищевых веществ.

Потребление молочных продуктов в 2017 году, по данным отраслевой организации «Союз-молоко», заметно снизилось по сравнению с предыдущими годами и, непосредственно, рекомендуемой нормой потребления молока на душу населения, рекомендованным Минздравом РФ. [1]

Снижение потребления молочных продуктов также зависит от многих факторов, таких как:

- качество молочных продуктов, молока-сырья;
- стоимость молочной продукции и уровень дохода населения;
- инновационные технологии по созданию молочных продуктов;
- рост распространенности пищевой аллергии на коровий белок, непереносимость лактозы.

Для людей с непереносимостью компонентов молока животного происхождения или не употребляющих его по каким-то другим причинам, существует растительное молоко из различных видов растений (соевое, миндальное, овсяное, кедровое). Также альтернативным видом коровьему молоку является молоко других видов сельскохозяйственных животных – коз, кобыл, овец, буйволиц, как отдельно, так и в различных сочетаниях. К новому виду молока относится молоко не содержащее бета-казеин А1.

Поиск альтернативных видов сырья и создание на их основе новых продуктов питания для населения всех возрастных групп, на сегодняшний день является перспективной задачей для пищевой промышленности.

Природные объекты растительного происхождения часто содержат комплекс биологически активных соединений благодаря чему, некоторые из них могут использоваться в качестве сырья и ингредиентов в продуктах питания как в нативной форме, так и в форме различных экстрактов или концентратов.

Для производства продуктов, в том числе специализированного назначения рационально использовать натуральное сырье. Таким сырьём могут служить растительные компоненты (фруктовые, ягодные, овощные, злаковые и пр.), обладающие высоким содержанием витаминов, пектина, минеральных веществ, аминокислот, пищевых волокон и других не менее важных веществ.

Преимущество продуктов с добавлением экстрактов растительного сырья по сравнению с традиционными заключается в том, что помимо выполнения их основной функции - удовлетворения потребности организма в макронутриентах (белках, жирах, углеводах и жидкости), - они могут выступать в качестве дополнительного источника необходимых биологически активных веществ. [2,3]

На основе анализа научно-технической и патентной литературы теоретически обоснован выбор фруктового сырья – плоды фейхоа, как перспективного источника биологически активных веществ.

В ходе проведенных исследований охарактеризован качественный и количественный состав, проведены исследования биологически-активных компонентов фруктового сырья фейхоа. [4,5]

Цель работы – оценить перспективность фруктового сырья, как источника биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, разработать технологию получения порошка сублимированной сушки и экстрактов фруктового сырья для использования в качестве потенциального ингредиента в пищевой промышленности, в том числе и для детского питания. [6,7]

В процессе работы проводились исследования по изучению химического состава плодов фейхоа, по отработке процессов переработки фруктового сырья, по получению опытных образцов в сухом виде и в виде экстракции, проведена оценка перспективности последующего использования в качестве потенциального пищевого ингредиента – источника биологически активных соединений. Были сформированы основные направления по использованию полученного сублимированного порошка и экстракта из плодов фейхоа в пищевой промышленности, в том числе и для продукции детского питания:

- Исследован минеральный состав фейхоа, определено содержание калия, натрия, магния, кальция.

- Изучен количественный витаминный состав плодов: витамин С (в 100 г. плодов обнаружена суточная норма РР и бета-каротин). Определено содержание органических кислот (яблочной и лимонной).

- Проведены исследования содержания общей клетчатки и растворимых пищевых волокон (в 100 г. плодов обнаружена суточная норма).

▪ Исследовано содержание йода в мякоти и кожце плодов фейхоа, в 1 г кожцы обнаружена суточная потребность, в 1 г. мякоти – 1/3 суточной потребности.

Таблица

Физико-химические показатели плодов фейхоа

| Наименование показателя | Ед. изм. | Результат |
|--|----------|-----------|
| Массовая концентрация витамина РР | мг/100г | 4,30 |
| Растворимые пищевые волокна | % | 2,04 |
| Содержание кальция | мг/100г | 12,6 |
| Содержание магния | мг/100г | 11,1 |
| Содержание йода (в кожце) | мг/100г | 16,14 |
| Содержание йода (в мякоти) | мг/100г | 5,24 |
| Флавоноиды в перерасчете на рутин (в кожце) | мг/100г | 65,4 |
| Флавоноиды в перерасчете на рутин (в мякоти) | мг/100г | 3,4 |
| Содержание лимонной кислоты | г/100г | 1,8 |
| Содержание яблочной кислоты | г/100г | 0,2 |
| Массовая доля титруемых кислот (в перерасчете на лимонную кислоту) | % | 1,3 |
| Массовая доля растворимых сухих веществ | % | 12,1 |
| Массовая доля витамина С | мг/100г | 102,0 |
| Массовая доля общей клетчатки | % | 2,11 |
| Массовая доля β - каротина | % | 0,0114 |
| Массовая доля натрия | мг/кг | 69,17 |
| Массовая доля калия | мг/кг | 3840,55 |
| Водородный показатель | рН | 3,2 |

Результатами проведенной работы являются:

1. Данные химического состава свежих плодов фейхоа, которые подтверждают перспективность их использования в качестве исходного фруктового сырья для получения ингредиентов.

2. Отработаны процессы переработки фруктового сырья с использованием технологий, обеспечивающих хранимоспособность субтропических плодов фейхоа:

- изучено влияние различных вариантов подготовки сырья и режимов сублимационной сушки на качество сухого продукта с целью сохранения нативных свойств, органолептических показателей;

- выбраны рациональные режимы сублимационной сушки, адаптированные к параметрам промышленных сублимационных установок;

- теоретически и экспериментально определены технологические параметры вакуумной сублимационной сушки, обеспечивающие сохранность нативных свойств исследуемых плодов фейхоа.

Козье молоко обладает полезными свойствами, оно менее аллергенно, чем коровье молоко, по аминокислотному составу ближе к женскому молоку. Содержание белков в молоке козьем и коровьем отличается незначительно. Жир в козьем молоке представлен в виде мелких жировых частиц (порядка 1 мкм), что обеспечивает развитую поверхность жировой фазы, доступность пищеварительных ферментов и, как следствие, легкую усвояемость. Минеральный состав козьего молока несколько превосходит коровье по содержанию кальция, железа, калия, марганца и меди.

Козье молоко почти не содержит аллергенов, полезно ослабленным детям и людям, страдающим заболеваниями, связанными с нарушением обмена веществ, а также беременным и кормящим женщинам. [8,9]

Молоко кобыл, несмотря на существенное отличие его состава от состава молока коров обладает высокой биологической ценностью. Его белки, по большей части альбумины, и жир, содержащий низкомолекулярные и ненасыщенные жирные кислоты, легко усваиваются организмом. Содержание витамина С в кобыльем молоке значительно выше, чем в коровьем. Максимальная адаптация кобыльего молока к женскому является важным фактором при разработке продуктов для питания детей раннего возраста. Качественные особенности кобыльего молока, поступающего с пищей в организм ребенка, в значительной степени определяют характер мик-

рофлоры кишечника, весьма существенной для процессов их жизнедеятельности. Кобылье молоко полностью обеспечивает потребность детей раннего возраста в минеральных веществах.

Грудное молоко и молоко коров и коз только незначительно отличаются по своему содержанию воды. Более высокое содержание воды имеет кобылье молоко. Это молоко также содержит довольно много белка, а особенно жира. Примечательно низкое содержание белка в грудном молоке, но и кобылье молоко содержит значительно меньше белка. [10,11]

В качестве продукта на основе трёх видов молока, максимально сбалансированного по аминокислотному составу, подобран расчётным путем состав из коровьего, козьего и кобыльего молока. [12, 13]

Основная сбалансированность белкового и жирнокислотного состава достигается за счет комбинации молока различных видов сельскохозяйственных животных;

- Кобылье молоко - имеет характеристики состава наиболее близкие к составу женского молока, обладает высокой биологической ценностью;
- Козье молоко - обладает полезными свойствами, менее аллергенно, чем коровье молоко, по аминокислотному составу ближе к женскому молоку.

Эта комбинация служит основой для создания новых продуктов детского питания с высокой биологической ценностью.

НИИДП разработана технология получения сухого модуля из комбинированного молока различных видов сельскохозяйственных животных, с учетом сбалансированности аминокислотного состава, с целью создания функциональной основы для разработки сухих и жидких продуктов детского питания повышенной биологической ценности. [14,15]

Коровье молоко является неотъемлемым продуктом питания у большинства населения, но у некоторых людей есть непереносимость молока и проявляется она по-разному, различные симптомы не позволяют употреблять коровье молоко в своем рационе. В состав коровьего молока входят - вода, жиры, белки, минеральные вещества. 30 % белка представлено бета-казеином и может быть представлен двумя видами А1 и А2.

Присутствие в молоке смешанных фракций А1А2 при его употреблении для лиц с индивидуальной непереносимостью молока может привести к нарушению усвояемости такого молока, что приводит к нежелательным последствиям для организма человека.

Применение молока, не содержащего А1 бета-казеин в рационе лиц с непереносимостью молока, позволяет добиться уменьшения выраженности клинических проявлений заболевания, нормализации моторики желудочно-кишечного тракта, позволит разнообразить рацион пациентов и обеспечить адекватное поступление основных макро- и микронутриентов. [16,17,18]

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

- Сформированы перспективные направления по использованию полученных образцов экстрактов плодов фейхоа в пищевых продуктах, в том числе для детского питания;
- Сформированы направления по созданию продуктов питания для детей раннего возраста на основе молока А2;
- В настоящее время разрабатывается инновационный продукт для искусственного и смешанного вскармливания детей – 3 вида адаптированной молочной смеси для детей раннего возраста на основе козьего молока;
- Разработана технология производства сухих адаптированных смесей на основе кобыльего молока для питания детей первого года жизни. Создана уникальная линейка гипоаллергенных продуктов;
- С учетом сбалансированности аминокислотного состава и в качестве функциональной основы для дальнейшей разработки сухих и жидких продуктов детского питания повышенной биологической ценности была разработана технология получения сухого модуля из комбинированного молока различных видов сельскохозяйственных животных - «Модуль сухой комбинированный молочный»;
- Разработаны рецептуры и технологии молочных продуктов на основе комбинированного коровьего, козьего и кобыльего молока для категорий детей от года, дошкольного и школьного возраста.

Литература

1. Рациональные нормы потребления пищевых продуктов. [Электронный ресурс]: Министерство здравоохранения Российской Федерации <https://www.rosminzdrav.ru/opendata/7707778246-normpotrebproduct/visual>
2. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания: Справочник. -М.: ДеЛипринт. 2007. С. 276.
3. Омаров М.Д., Омарова З.М. Биохимический состав плодов перспективных сортов и форм хурмы и фейхоа // Инновационные подходы в селекции цветочно-декоративных, субтропи-

ческих и плодовых культур: Материалы научно-практической конференции. 2005. С. 185–191.

4. Симоненко Е.С., Антипова Т.А., Фелик С.В., Симоненко С.В. Разработка детских продуктов на основе фруктового сырья с антиоксидантной активностью // Конгресс педиатров. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2018. Т. 63. № 4. С. 173–174.

5. Симоненко Е.С., Фелик С.В., Симоненко С.В. Переработка фруктового сырья, обладающего антиоксидантной активностью // Вопросы питания: Спецвыпуск журнала, Сборник трудов XVII Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Профилактическое, лечебное и спортивное питание». 2018. С. 238.

6. Симоненко С.В., Симоненко Е.С., Краснова И.С., Семенов Г.В. Расширение применения и сроков использования сублимированных плодов фейхоа в рецептурах продуктов питания // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. № 11 (часть 2).

7. Симоненко Е.С., Симоненко С.В., Золотин А.Ю., Седова А.Е. Исследования экстрактов плодов фейхоа // Международный научно-исследовательский журнал. 2018. № 11. С. 50–54.

8. Симоненко С.В., Дмитриева С.Е. Разработка продуктов детского питания на основе козьего молока // Молочная промышленность. № 6. 2015. С. 67–68.

9. Шахайло Н.А., Дмитриева С.Е. «Производство продуктов детского питания из козьего молока» // Пищевая промышленность. № 12. 2017. С. 58–61.

10. Антипова Т.А., Фелик С.В. Перспективы использования кобыльего молока в детском питании // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2016. № 1. С. 33–36.

11. Антипова Т.А., Фелик С.В., Симоненко С.В. Исследование молока кобыл с целью использования в производстве продуктов детского питания // Молочная промышленность. № 12. 2017. С. 63–64.

12. Дмитриева С.Е., Лесь Г.М., Гиро Т.М., Хвыля С.И. Исследование микроструктуры сухого молока разных видов животных // Аграрный научный журнал. 2015. № 8. С. 41–44.

13. Симоненко С.В., Мануйлов Б.М., Симоненко Е.С., Сидорова Е.В. Продукты из комбинированного молочного сырья для питания детей дошкольного и школьного возраста // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2018. Т. 63. № 4. С. 174–175.

14. Симоненко С.В., Сидорова Е.В., Антипова Т.А., Мануйлов Б.М., Симоненко Е.С. Разработка специализированных продуктов детского питания на основе комбинированного молока // Вопросы питания (специальный выпуск). Сборник трудов конгресса диетологов и нутрициологов «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Лечебное, профилактическое и спортивное питание», 2018.

15. Мануйлов Б.М., Симоненко С.В., Сидорова Е.В. Комбинированные продукты для детского питания // Молочная промышленность. 2018. № 12. С. 39–41.

16. Гуськова С.В. А2-молоко - продукт для детского питания // Молочная промышленность. 2018. № 5. С. 48–49.

17. Горлов И.Ф., Сычева О.В., Кононова Л.В. Бета-казеин: известный, но не познанный // Молочное и мясное скотоводство. 2016. № 6. С. 18–19.

18. Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В., Шахназарова Ю.Ю. Производство молока А2 - перспективное направление повышения рентабельности отрасли молочного скотоводства // Эффективное животноводство. 2018. № 5 (144). С. 22–23.

Сведения об авторах

Елена Сергеевна Симоненко
младший научный сотрудник
Александр Юрьевич Золотин
кандидат технических наук
Светлана Валерьевна Фелик
кандидат биологических наук
Анастасия Евгеньевна Седова
лаборант-исследователь
Эл. почта: info@niidp.ru
НИИ Детского питания - филиал ФГБУН «ФИЦ
питания и биотехнологии»
Россия, Московская обл., Истра

Information about authors

Elena Simonenko
Junior Researcher;
Alexander Y. Zolotin
Candidate of Technical Sciences
Svetlana Valerievna Felik
Candidate of Biological Sciences;
Anastasia Evgenievna Sedova
Research Assistant
E-mail: info@niidp.ru
Research Institute of Baby Food - branch of FSBI
of science "FRC of nutrition and biotechnology",
Russia, Moscow region, Istra

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТАБОЛИТОВ NO НА ГЕМОГЛОБИН

Связанные с гемоглобином метаболиты NO – ДНКЖ защищают белок от окислительной модификации: снижают уровень карбонильных производных, препятствуют образованию межбелковых сшивок и распаду гема. Формирование ДНКЖ на Hb можно рассматривать как способ стабилизации белка в условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: гемоглобин, окислительная модификация, карбонильные производные, тиоловые группы, динитрозильные комплексы железа

Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Topunov A.F.

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the RAS

PROTECTIVE ACTION OF NO METABOLITES ON HEMOGLOBIN

Hemoglobin-bound DNIC (NO metabolites) protect the protein from oxidative modification: reduce the level of carbonyl derivatives, prevent the formation of protein cross-links and heme degradation. The formation of hemoglobin-bound DNIC can be considered as a way of protection the protein under conditions of oxidative stress.

Keywords: hemoglobin, oxidative modification, carbonyl derivatives, thiol groups, dinitrosyl iron complexes

Адаптация белков к редокс-условиям

Известно, что многие физико-химические свойства белков модулируются редокс-условиями. Приведенные некоторые примеры, иллюстрирующие этот тезис. Наиболее изучен способ стабилизации белков за счет образования внутримолекулярных дисульфидных сшивок. Увеличение S-S-связей в белке происходит при адаптации к окислительному стрессу или при переживании неблагоприятных условий: диапаузы насекомых, тепловой закалки растений, образования спор у бактерий и др. [1]. После временной инактивации такие белки способны реактивироваться при увеличении концентрации глутатиона, т.е. при нормализации метаболизма и восстановлении редокс-условий. Иллюстрацией данного тезиса являются изменения в белке кардиомиоцитов титине, наблюдаемые при старении или сердечной недостаточности [2]. В условиях сильного окислительного стресса в титине образуются дополнительные дисульфидные связи, с одной стороны, стабилизирующие белок, а, с другой, повышающие жесткость клеток. Модификации, стабилизирующие белок и снижающие его восприимчивость к окислению, были обнаружены в альбумине, выделенном из крови пациентов, прошедших процедуру гемодиализа [3]. Интересно, что в цитоглобине каталитические свойства (пероксидазная, нитритредуктазная и NO-диоксигеназная активности) значительно усиливаются при образовании внутримолекулярной дисульфидной связи [4, 5]. Была высказана интересная точка зрения, что наблюдаемую в гемоглобине пришивку гема к белку можно рассматривать как защитный механизм, направленный на стабилизацию молекулы в условиях окислительного стресса [6].

Формирование на белке ДНКЖ как способ адаптации к редокс-условиям

Известно, что ионы металлов образуют координационно-ковалентные связи с кислород-, азот- и серосодержащими электрон-донорными группами белков. Гемоглобин эритроцитов, как и многие белки, способен связывать ионы металлов по белковой части. В частности для этого белка показана способность образовывать тройные комплексы с двухвалентным железом и оксидом азота – динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ). Ранее было показано образование ДНКЖ, связанных с SH-группой остатка цистеина β-цепи гемоглобина (Cys-93β) [7]. Также было показано образование подобных комплексов на растительном гемоглобине – леоглобине сои, у которого отсутствуют поверхностные реакционноспособные цистеины [8].

В последнее время активно разрабатывается гипотеза, согласно которой Hb в эритроцитах является одним из важнейших элементов системы метаболизма оксида азота (NO) и его доноров внутри организма. Немаловажная роль в этой функции гемоглобина отводится связанным с ним ДНКЖ. Поскольку реакционная способность SH-групп гемоглобина зависит от четвертичной конформации белка [9], то образование и распад железонитрозильных комплексов также может модулироваться конформационными R-T-переходами молекулы Hb. Моноядерные ДНКЖ, связанные с тиольной группой белка, парамагнитны и детектируются с помощью ЭПР-спектроскопии по характерному значению g-фактора 2,034 [7, 10-11]. Связанные с белка-

ми ДНКЖ с одной стороны находятся в равновесии с низкомолекулярными комплексами (глутатионовыми и цистеиновыми), с другой стороны с диамагнитной биядерной формой. Это равновесие (низкомолекулярные ДНКЖ ↔ белковые ДНКЖ ↔ биядерные ДНКЖ) зависит от доступности SH-групп и от редокс-условий внутри клетки. По мере усиления окислительного стресса равновесие смещает от низкомолекулярных комплексов к белковым, а затем к биядерным, формирующимся с участием двух молекул белка. В конечном итоге динитрозильные комплексы распадаются с образованием окисленного глутатиона, нитрит-ионов и Fe(II)/ Fe(III). Биологическая активность ДНКЖ связана с их способностью быть донорами NO-группы или [Fe(NO)₂]-фрагмента [11]. Также ДНКЖ поддерживают прооксидантно-антиоксидантное равновесие в клетке благодаря антиоксидантному, антирадикальному и хелатному действиям, исследованных в работах [7, 11-18].

Несмотря на многочисленные факты, подтверждающие участие ДНКЖ в различных биологических процессах, наиболее полно представленных в монографии [11], остается еще много нерешенных вопросов, связанных с их ролью в регуляции физико-химических свойств белковой молекулы. Пока еще не выяснено влияние ДНКЖ на стабильность Hb. Плохо изучено влияние редокс-активных соединений на динамику ДНКЖ. До сих пор обсуждается природа второго белкового лиганда (помимо Cys-93β) ДНКЖ в гемоглобине. Нельзя исключить возможность образования ДНКЖ с участием в качестве лигандов продуктов неферментативного гликирования аминокислотных остатков [14]. Поиск ответов на все эти вопросы может привести к раскрытию новых аспектов функционирования гемоглобина в качестве сигнального белка в эритроцитах.

Несмотря на то, что о способности гемоглобинов связывать ионы железа известно достаточно давно, до сих пор нет определенного мнения о том, имеют ли такие комплексы физиологическое значение. Мы придерживаемся точки зрения, что связывание гемоглобином железа в структуре динитрозильных комплексов, индуцируемое определенными условиями, может быть механизмом изменения функций белка или механизмом стабилизации молекулы белка.

Протекторное действие ДНКЖ на гемоглобин

Окислительная модификация белков сопровождается образованием карбонильных производных, дисульфидных связей и дитиозинового сшивков. В случае гемоглобина происходит также окисление железа в гемовой группе до оксоферрил-состояния, образование радикалов на порфирине, разрыв порфиринового кольца и высвобождение железа. Все эти процессы были изучены при использовании в качестве окислителя различных эндогенных веществ: перекиси водорода (H₂O₂), гидропероксид *трет*-бутила (*t*-BOOH), гипохлорида (HOCl/OCl⁻) и пероксинитрита (ONOO⁻).

1. Образование карбонильных производных

Образование карбонильных производных изучали с помощью метода, предложенного М.А. Фоминой и Ю.В. Абаленихиной [19]. При обработке Hb гипохлоридом в соотношении (1 : 6,5 мМ для тетрамера) уровень карбонильных производных в гемоглобине с ДНКЖ был на 23% меньше чем в белке со свободными SH-группами. Добавление к раствору Hb двухвалентного железа в концентрации, эквивалентной его содержанию в ДНКЖ имело обратный эффект: уровень карбониллов возрастал в два раза. Аналогичные результаты были получены и при обработке гемоглобина пероксидом водорода в соотношении (1 : 6,5 мМ). В этом случае связанные с белком ДНКЖ снижали образование карбонильных производных на 48%. Однако если в качестве окислителя использовали органическую перекись (1 : 6,5 мМ) – *t*-BOOH, то достоверных отличий данных опыта от контроля не было. Это видимо объясняется тем, что *t*-BOOH более мягкий окислитель, чем гипохлорид и пероксид водорода и исследуемой концентрации было недостаточно для окисления аминокислотных остатков Hb.

Существенное ингибирующее действие ДНКЖ на окислительную модификацию Hb было выявлено в экспериментах с ONOO⁻. ДНКЖ, связанные с молекулой Hb, защищали белок в широком диапазоне концентраций пероксинитрита от 0,38 до 4,20 мМ, что соответствует молярному соотношению от 1 : 2,5 до 1 : 28 мМ. При соотношении (1 : 6,5 мМ) карбонильных производных белка было на 80% меньше, чем в контрольном образце. Такое же действие на белок оказывали и низкомолекулярные ДНКЖ с глутатионовыми лигандами (ДНКЖ-GS). Поскольку ДНКЖ-GS содержат восстановленный глутатион, с которым они находятся в равновесии, был поставлен эксперимент по влиянию GSH на окислительную модификацию Hb. Защитный эф-

факт GSH при концентрации ONOO⁻ (1 : 6,5 мМ) составлял 30%. Эти данные указывают на то, что протекторное действие ДНКЖ-GS обусловлено не только входящим в их состав GSH.

2. Образование межбелковых сшивок

Образование дисульфидных связей регистрировали с помощью денатурирующего SDS электрофореза в 10% ПААГ в невосстановительных и восстановительных (с дитиотрейтолом) условиях. Анализ электрофореграмм показал, что в случае необработанного белка во всем диапазоне концентраций окислителя происходило дозозависимое образование димеров Hb и высокомолекулярных агрегатов. При концентрациях ONOO⁻ (2,6 мМ и 4,2 мМ) межмолекулярные сшивки были настолько интенсивные, что белок даже не проникал в концентрирующий гель. В случае, если SH-группы были защищены связанными с ними ДНКЖ, дисульфидные сшивки возникали только при концентрации ONOO⁻ (2,6 мМ и 4,2 мМ) и в гораздо меньшей степени, чем в контрольном образце. Аналогичные результаты были получены для ДНКЖ-GS. Следует отметить, что в восстановительных условиях количество сшитых молекул Hb было меньше, но не исчезало полностью. Это означает, что наряду с образованием S-S –связей происходит образование дитиозиновых сшивок. Интересно, что дитиозиновых сшивок в контрольном образце было тоже существенно больше. В эксперименте с GSH степень сшивания белка была практически такой же как в контроле. Полученные данные показывают, что связанные с белком и низкомолекулярные ДНКЖ препятствуют образованию межбелковых связей и прежде всего S-S-сшивок, что подтверждает полученные ранее данные о способности ДНКЖ выступать в роли сайт-специфичных антиоксидантов, защищающих от окисления связанные с ними SH-группы [11].

3. Дегградация гемовой группы

Распад гемовой группы Hb под действием ONOO⁻ регистрировали с помощью пиридингемохромового метода. ДНКЖ как связанные с белком, так и низкомолекулярные оказывали протекторное действие и на простетическую группу белка. В контрольном образце дегградация гема происходила в зависимости от концентрации окислителя, при концентрации 4,2 мМ у 20% молекул белка гемовая группа разрушалась, в то время как в присутствии ДНКЖ – только у 5%. Добавление к белку GSH стимулировало распад гема: 40% против 20% в контроле. Защитное действие ДНКЖ по отношению к гему можно объяснить, исходя из нескольких возможностей. Первая возможность заключается в том, что ДНКЖ выступают донорами NO (или NO⁻), который может образовывать нитрозильный комплекс с гемовым железом в реакции восстановительного нитрозилирования. Такой комплекс более устойчив к окислению по сравнению с аква-метHb. Вторая возможность связана со способностью включения атомов железа, высвободившихся при распаде гема, в ДНКЖ., препятствуя таким образом их участию в реакции Фентона. Третья возможность состоит в том, что при окислении ДНКЖ образуются интермедиаты (нитроорганические соединения), в дальнейшем превращающиеся в нерадикальные продукты. Эффект, вызванный GSH объясняется образованием в реакции с пероксинитритом тиольных радикалов.

4. Активность белковых тиолов

Активность тиоловых групп Hb оценивали по интенсивности флуоресценции аддукта SH-группы цистеина с ThioGlo1. Было показано, что связанные с гемоглобином ДНКЖ оказывают сенсibiliзирующее действие на активность SH-групп. Особенно это действие ДНКЖ проявлялось при действии на Hb *t*-BOOH. При концентрации окислителя 7 мМ (1 : 11 мМ) интенсивность флуоресценции аддукта Hb-ДНКЖ в два раза превышала таковую для контрольного Hb. Причем этот эффект сохранялся около 60 минут. Если использовали в качестве окислителей HOCl и ONOO⁻, то в контрольном образце происходило дозозависимое окисление тиолов, однако в Hb-ДНКЖ после незначительного снижения флуоресценции происходило ее восстановление до почти исходного состояния, и только при более высоких концентрациях уровень флуоресценции аддуктов падал. Связан ли наблюдаемый эффект с регенерацией окисленных SH-групп или с конформационными переходами белковой молекулы предстоит еще изучить. Защитное действие ДНКЖ на SH-группы было продемонстрировано и на пептиде – глутатионе при его окислении гипохлоридом [18].

Заключение

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

1. ДНКЖ связанные с гемоглобином и низкомолекулярные эффективно защищают белок от окислительной модификации.

2. ДНКЖ оказывают на SH-группы белка разнонаправленное действие: блокирующее и сенсibiliзирующее.

3. На основе полученных результатов была сформулирована гипотеза: образование связанных с гемоглобином ДНКЖ можно рассматривать как защитный механизм, направленный на стабилизацию белковой молекулы в условиях окислительного стресса.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№19-015-00444-а).

Цитируемая литература

1. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. –Л.: Наука, 1985. 318 с.
2. Grützner A., Garcia-Manyes S., Kötter S., Badilla C.L., Fernandez J.M., Linke W.A. Modulation of titin-based stiffness by disulfide bonding in the cardiac titin N2-B unique sequence. // *Biophys J*. 2009. V. 97. P. 825–834.
3. Pieniazek A., Gwozdziński L., Zbrog Z., Gwozdziński K. Alterations in conformational state of albumin in plasma in chronic hemodialyzed patients // *PLoS One*. 2018. 13:e0192268. doi: 10.1371/journal.pone.0192268. eCollection 2018.
4. Beckerson P., Svistunenko D., Reeder B. Effect of the distal histidine on the peroxidatic activity of monomeric cytoglobin // *F1000Res*. 2015. V. 4. P. 87. doi: 10.12688/f1000research.5971.1.
5. Reeder B.J., Ukeri J. Strong modulation of nitrite reductase activity of cytoglobin by disulfide bond oxidation: Implications for nitric oxide homeostasis // *Nitric Oxide*. 2018. V. 72. P. 16–23.
6. Widmer C.C., Pereira C.P., Gehrig P., Vallelian F., Schoedon G., Buehler P.W., Schaer D.J. Hemoglobin can attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress by acting as an antioxidative peroxidase // *Antioxid. Redox. Signal*. 2010. V. 12. P. 185–198.
7. 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.
8. Космачевская О.В. Влияние физиологических лигандов на функционирование левоглобина / Дис. ... канд. биол. наук. М.: Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН. 2008. 193 с.
9. Сандалова Т.П., Игнатенко Т.В. Окисление гемоглобина с модифицированными SH-группами. – Препринт №308Ф, 1984. 16 с.
10. 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. 445–461.
11. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. – М.: Ин-т комп. Исследований, 2015. 219 с.
12. Шумаев К.Б., А.А. Губкин, С.А. Губкина, Л.Л. Гудков, Свиряева И.В., Тимошин А.А., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К. Взаимодействие динитрозильных комплексов железа с интермедиатами окислительного стресса // *Биофизика*. 2006. Т. 51. № 3. С. 472–477.
13. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Гудков Л.Л., Лакомкин В.Л., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К. Взаимодействие связанных с альбумином динитрозильных комплексов железа и активных форм кислорода. // *Биофизика*. 2007. Т. 52. № 3. С. 534–538.
14. Шумаев К.Б., Губкина С.А., Ванин А.Ф., Бурбаев Д.Ш., Мох В.П., Топунов А.Ф., Рууге Э.К. Образование нового типа динитрозильных комплексов железа, связанных с цистеином, модифицированным метилглиоксалем // *Биофизика*. 2013. Т. 58. № 2. С. 239–245.
15. Шумаев К.Б., Петрова Н.Э., Заббарова И.В., Ванин А.Ф., Топунов А.Ф., Ланкин В.З., Рууге Э.К. Взаимодействие оксоферрилмиоглобина и динитрозильных комплексов железа // *Биохимия*. 2004. Т. 69. № 5. P. 699–705.
16. Shumaev K.B., Dudylyna A.L., Ivanova M.V., Pugachenko I.S., Ruuge E.K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // *Biofactors*. 2018. V. 44. № 3. P. 237–244.
17. Пугаченко И.С., Космачевская О.В., Насыбулина Э.И., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К., Шумаев К.Б. Антиоксидантное и антирадикальное действие динитрозильных комплексов железа с различными лигандами // *Биорадикалы и Антиоксиданты*. 2018. Т. 5. № 3. С. 62–65.
18. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O., Grigoryeva D., Panasenko O.M., Vanin A., Topunov A., Terekhova M., Sokolov A., Cherenkevich S.N., Ruuge E.K. Protective effect of

dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid. // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019. V. 2019. Article ID 2798154. 12 pages.

19. Фомина М.А., Абаленихина Ю.В. Методические рекомендации. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях – Рязань: РИО РязГМУ, 2014. 60 с.

Сведения об авторах

Ольга Владимировна Космачевская

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: rizobium@yandex.ru

Эльвира Ильгизовна Насыбуллина

мл. науч. сотр.

Эл. почта: lvirus198709@rambler.ru

Константин Борисович Шумаев

д-р биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: tomorov@mail.ru

Алексей Федорович Топунов

д-р биол. наук, профессор

зав. лабораторией

Эл. почта: aftopunov@yandex.ru

Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный

исследовательский центр «Фундаментальные

основы биотехнологии» РАН

Россия, Москва

Information about authors

Olga Vladimirovna Kosmachevskaya

PhD

Senior research scientist

E-mail: rizobium@yandex.ru

Elvira Ilgizovna Nasybullina

PhD, Junior research scientist

E-mail: lvirus198709@rambler.ru

Konstantin Borisovich Shumaev

DSc

Senior research scientist

E-mail: tomorov@mail.ru

Alexey Fedorovich Topunov

DSc

Head of laboratory

E-mail: aftopunov@yandex.ru

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of

Biotechnology of the Russian Academy of Sciences,

Russian Federation, Moscow

УДК 577.112.4
ГРНТИ 34.15.61.

¹Насыбуллина Э.И., ¹Космачевская О.В., ¹Пугаченко И.С.,
¹Шумаев К.В., ²Блиндарь В.Н., ¹Топунов А.Ф.

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина

ДЕЙСТВИЕ ОКИСЛИТЕЛЕЙ И ЭЛЕКТРОФИЛОВ НА ПЕРЕХОД ГЕМОГЛОБИНА В МЕМБРАНОСВЯЗАННОЕ СОСТОЯНИЕ

В условиях окислительного и электрофильного стрессов доля связанного с мембранами гемоглобина (МВНб) возрастает пропорционально силе стресса. Частным случаем электрофильного стресса является карбонильный стресс. В этих условиях метаболиты оксида азота (NO₂⁻, CysNO и GSNO) снижают уровень МВНб.

Ключевые слова: гемоглобин, мембраносвязанный гемоглобин, окислители, электрофилы, оксид азота, метилглиоксаль, эритроциты

¹Nasybullina E.I., ¹Kosmachevskaya O.V., ¹Pugachenko I.S.,
¹Shumaev K.V., ²Blindar V.N., ¹Topunov A.F.

¹Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS

²Blokhin Russian Cancer Research Center

EFFECT OF OXIDATIVE AND ELECTROPHILIC COMPOUNDS ON THE TRANSITION OF HEMOGLOBIN TO MEMBRANE-BOUND STATE

Under conditions of oxidative and electrophilic stress hemoglobin binds to membranes in proportion to the strength of stress. A particular case of electrophilic stress is carbonyl stress. Physiological metabolites of nitric oxide (NO₂⁻, CysNO and GSNO) inhibit the binding of hemoglobin to the erythrocyte membrane.

Keywords: hemoglobin, membrane-bound hemoglobin, oxidative compounds, electrophiles, nitric oxide, methylglyoxal, erythrocytes

Введение

Многие болезни системы крови связаны с дисфункцией эритроцитов, которая может быть вызвана повышенным уровнем метаболитов с ярко выраженным окислительным и электрофильным потенциалом, накапливающихся в плазме крови вследствие развития воспалительного процесса, гипергликемии и хронической почечной недостаточности. Реакционно-способные метаболиты могут приводить к модификации мембранных белков и гемоглобина. Результатом такой модификации может быть необратимое (ковалентное) связывание гемоглобина (Hb) с мембранной, а именно с белком полосы 3 [1].

Фракция необратимо связанного Hb (membrane-bound Hb – MBHb) может содержать как нативные молекулы белка, с сохраненными окислительно-восстановительными свойствами, так и окислительно-модифицированные – необратимые гемихромы [1]. Поскольку примембранная область практически недоступна для цитозольных антиоксидантных ферментов, преципитация Hb к мембране эритроцитов может только усилить процесс свободнорадикального окисления липидов и спровоцировать гемолиз [1-4]. Повышенные уровни необратимо связанного Hb наблюдаются при различных патологических процессах: при метаболическом синдроме [5, 6], коронарном атеросклерозе [7], инфаркте миокарда [8], ишемии [6, 7-10], гипертонии [6], псориазе [11], хронической почечной недостаточности [12], хронической обструктивной болезни легких [12], тяжелом алкогольном делирии [13], сахарном диабете [14]. В наибольшей степени связывание Hb с мембранами происходит в стареющих клетках с низким уровнем антиоксидантных ферментов. Во всех ситуациях наблюдается прямая корреляция между тяжестью патологии и уровнем MBHb.

Известно, что в условиях окислительного стресса доля связанного с мембранами гемоглобина (Hb) возрастает пропорционально силе стресса [1]. Влияние оксида азота (NO) на этот процесс практически не исследовано. Поэтому целью работы было изучение влияния физиологических метаболитов оксида азота и активных карбонильных соединений на переход Hb из растворимого в мембраносвязанное состояние.

Действия метаболитов NO на суспензию эритроцитов в присутствии метилглиоксаля

Было изучено образование мембраносвязанного Hb (MBHb) при действии на эритроциты, отмытые от компонентов плазмы, различных концентраций физиологических доноров оксида азота (NaNO₂, CysNO и GSNO) и метилглиоксаля (MG), моделирующего карбонильный стресс [15]. Наибольшее влияние на уровень MBHb оказывал NaNO₂, что может быть связано с образованием свободнорадикальных интермедиатов в системе охуHb–NaNO₂. Активное карбонильное соединение – метилглиоксаль вызывал дозозависимое увеличение MBHb, не оказывая никакого влияния на окислительно-восстановительное состояние гемоглобина. При этом во всех случаях наблюдалась отрицательная корреляция между количеством MBHb и количеством восстановленных SH-групп мембранных белков. Добавление метаболитов NO к суспензии эритроцитов на фоне действия метилглиоксаля приводило к разным последствиям: NaNO₂ снижал концентрацию MBHb на 50%, CysNO на 20%, а GSNO, напротив, приводил к незначительному увеличению уровня MBHb. Эффект, вызванный нитрозоглутатионом, можно объяснить образованием свободнорадикальных продуктов в системе (MG – GSNO – Hb), которые, индуцируя окислительные процессы липидов и белков, способствуют связыванию Hb с компонентами мембраны. При этом даже незначительные изменения уровня MBHb влияли на степень гемолиза эритроцитов.

Взаимосвязь между уровнем MBHb и устойчивостью эритроцитов

Была исследована взаимосвязь между устойчивостью эритроцитов к окислительному гемолизу и содержанием MBHb. Мы изучали дозозависимый гемолиз эритроцитов, индуцированный хлорноватистой кислотой (НОСІ/ОСІ). Хлорноватистая кислота является предшественником свободных радикалов и важнейшей составляющей бактерицидной системы организма человека и животных. Кривые, отражающие изменение уровня гемолиза (оценивали по концентрации Hb в растворе – SHb) и MBHb, являются как бы зеркальным отражением друг друга, что указывает на наличие обратной связи между двумя параметрами: SHb и MBHb. Колебаниям MBHb в диапазоне концентраций 0,7 – 2,2% (зона стабилизации I) и 3,3 – 4,9% (зона стабилизации II) соответствует область повышенной устойчивости клеток к лизису.

Стабилизирующее действие глутатионовых ДНКЖ на эритроциты

Одними из универсальных регуляторов различных биохимических и физиологических процессов являются метаболиты NO – нитрозотиолы (GSNO) и динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), которые включают три компонента: NO-группу, двухвалентное железо и ли-

ганды [16]. Поскольку в эритроцитах наиболее вероятно образование низкомолекулярных ДНКЖ с глутатионовыми лигандами (ДНКЖ-GS), то было изучено действие именно этих комплексов.

Нами было исследовано влияние низких физиологических доз ДНКЖ-GS на устойчивость суспензии эритроцитов к индуцированному HOCl гемолизу. Во всем диапазоне используемых концентраций окислителя в предобработанных динитрозильными комплексами эритроцитах уровень гемолиза был ниже, чем в контрольном образце. Кроме этого ДНКЖ-GS снижали уровень автогемолиза, вызванного экспериментальными манипуляциями. Поскольку лизису подвергаются прежде всего старые и поврежденные эритроциты, то, вероятно, ДНКЖ-GS оказывают стабилизирующее действие именно на эти клетки. Для сравнения было исследовано цитопротекторное действие веществ, образующихся при диссоциации ДНКЖ или их распаде: нитрозоглутатиона (GSNO), восстановленного глутатиона (GSH), нитрит-ионов и двухвалентного железа. Предварительная обработка суспензии эритроцитов перечисленными веществами, взятыми в концентрациях, эквивалентных их содержанию в динитрозильных комплексах, приводила к ингибированию окислительного гемолиза эритроцитов в случае GSH на 42%, нитрита – 35%, GSNO – 20%. Двухвалентное железо практически не оказывало влияние на устойчивость клеток. Степень ингибирования ДНКЖ-GS в аналогичных условиях составляла 55%.

Цитопротекторное действие ДНКЖ-GS обусловлено их способностью перехватывать свободные органические радикалы [17, 18]. В системе ($\text{HOCl} - t\text{-BOOH}$), моделирующей свободнорадикальное перекисное окисление липидов, добавление в реакционную среду ДНКЖ-GS ингибировало продукцию аддуктов спиновой ловушки DEPMPO, измеренных с помощью спектроскопии ЭПР [19]. Поскольку антиоксидантный эффект ДНКЖ может быть обусловлен входящими в их состав тиолами, в аналогичной системе был изучен глутатион. У свободного GSH антирадикальное действие оказалось ниже, чем у ДНКЖ-GS. Также было показано, что ДНКЖ-GS эффективно восстанавливают оксоферрильную форму Hb, образующуюся в результате действия гидропероксидов на гемоглобин [20].

Наблюдаемое защитное действие ДНКЖ на эритроциты может быть также связано с регуляцией метаболизма, с переводом клетки на более низкий уровень реактивности. Клетки становятся менее чувствительны, но более устойчивы к повреждению. В предобработанных ДНКЖ эритроцитах уровень мембраносвязанного гемоглобина (МВНб) поддерживался в одной из зон стабилизации (0,7 – 2,2%). Следует отметить, что другие физиологические метаболиты оксида азота (GSNO и NO_2) не оказывали выраженного влияния на уровень МВНб в эритроцитах.

Заключение

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

1. При действии на эритроциты, предварительно обработанные метилглиоксалем, нитрозоглутатион не оказывает цитопротекторное действие. Нитрозоглутатион также в некоторых случаях является источником активных форм азота, вызывающих необратимую модификацию порфирина – образование нитриметгемоглобина.

2. Выявлены диапазоны изменения МВНб, соответствующего зонам повышенной устойчивости эритроцитов.

3. Динитрозильные комплексы с глутатионовыми лигандами оказывают стабилизирующее действие на популяцию эритроцитов, предрасположенных к лизису. Поэтому не исключено, что эти комплексы являются частью механизма, регулирующего распад эритроцитов в кровеносном русле.

Примембранный белковый слой, образованный продуктами окисления Hb, может быть фактором, поддерживающим целостность нативной мембраны. Возможно, такие эритроциты, жертвуя функциональностью, приобретают большую стабильность. С другой стороны, высокий уровень МВНб приводит к нарушению ряда характеристик эритроцитов: зарядового баланса, барьерных свойств мембран, реологических свойств. Но даже дестабилизация мембраны и последующий лизис единичных клеток могут быть физиологически оправданы, например, в условиях гипоксии [21, 22]. Поэтому в исследованиях необходимо учитывать тот факт, что наблюдаемые при различных болезненных состояниях сдвиги в уровне МВНб не всегда имеют патологическую направленность и могут отражать компенсаторно-приспособительные процессы, реализующиеся с целью защитить организм и/или клетку в изменившихся условиях [23].

Полученные результаты могут найти практическое приложение. 1) ДНКЖ-GS в определенных дозах можно применять в качестве стабилизаторов эритроцитов при проведении фото-

динамической терапии и при консервировании донорской крови. 2) Показатель – МВНб, может иметь значение для диагностики болезней системы крови или состояния хронической эндогенной интоксикации [24].

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 18-34-00561_мол_а, №19-015-00444-а).

Цитируемая литература

1. Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A., Metodiev M.V., Cooper C.E. The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. V. 103. P. 95–106.
2. 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.
3. Rifkind J.M., Nagababu E. Hemoglobin redox reactions and red blood cell aging // *Antioxid. Redox Signal.* 2013. V. 18. P. 2274–2283.
4. Созарукова М.М., Владимиров Г.К., Измайлов Д.Ю. Мембранно-связанный гемоглобин эритроцитов как возможный источник свободных радикалов. / In: *Science and Practice: new Discoveries*. Чехия, Карловы Вары – Россия, Москва, 2015. С. 771–781.
5. Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Бабушкина И.В. Белки мембраны эритроцитов и метаболический синдром // *Acta Biomedica Scientifica*. 2015. № 4. С. 12–17.
6. Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Сергеева А.С., Бабушкина И.В., Корякина Л.Б., Андреева Е.О. Уровень мембраносвязанного гемоглобина и белки мембраны эритроцитов у больных гипертонической болезнью, осложненной и не осложненной метаболическим синдромом // *Бюллетень ВШЦ СО РАМН*. 2016. Т. 1. № 4. С. 61–67.
7. Чуйко Е.С., Орлова Г.М., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Корякина Л.Б. Белки эритроцитов и мембраны у больных ишемической болезнью сердца: ответ на ишемическое воздействие // *Сибирский медицинский журнал*. – Иркутск:, 2015. № 7. С. 101–104.
8. Santos-Silva A., Castro E.M.B., Teixeira N.A., Guerra F.C., Quintanilha A. Altered erythrocyte membrane band 3 profile as a marker in patients at risk for cardiovascular disease // *Atherosclerosis*. 1995. V. 116. P. 199–209.
9. Santos-Silva A., Rebelo I., Castro E., Belo L., Catarino C., Monteiro I., Almeida M.D., Quintanilha A. Erythrocyte damage and leukocyte activation in ischemic stroke // *Clin. Chim. Acta*. 2002. V. 320. P. 29–35.
10. Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Корякина Л.Б., Горохова В.Г., Курильская Т.Е. Реакция мембраны эритроцитов у больных стенокардией напряжения и гипертонической болезнью при кратковременной ишемии // *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2013. № 2. С. 39–45.
11. Rocha-Pereira P., Santos-Silva A., Rebelo I., Figueiredo A., Quintanilha A., Teixeira F. Erythrocyte damage in mild and severe psoriasis // *Br. J. Dermatol.* 2004. T. 150. C. 232–244.
12. Costa E., Rocha S., Rocha-Pereira P., Castro E., Miranda V., do Sameiro Faria M., Loureiro A., Quintanilha A., Belo L., Santos-Silva A. Band 3 profile as a marker of erythrocyte changes in chronic kidney disease patients // *The Open Clinical Chemistry Journal*. 2008. V. 1. P. 57–63.
13. Виноградов Д.Б. Соотношение между свободно-радикальным окислением и уровнем антиоксидантной защиты при алкогольном делирии и его немедикаментозной коррекции / Дис. ... канд. мед. наук. Челябинск: Челябин. гос. мед. акад., 2011. 119 с.
14. Bryszewska M. Interaction of normal and glycated human haemoglobin with erythrocyte membranes from normal and diabetic individuals // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1988. V. 26. P. 809–813.
15. 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.
16. Ванин А.Ф. Динитрозильные комплексы железа с тиолсодержащими лигандами: физикохимия, биология, медицина. – М.: Ин-т комп. Исследований, 2015. 219 с.
17. Shumaev K.B., Dudylina A.L., Ivanova M.V., Pugachenko I.S., Ruuge E.K. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // *Biofactors*. 2018. V. 44. № 3. P. 237–244.
18. Пугаченко И.С., Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К., Шумаев К.Б. Антиоксидантное и антирадикальное действие динитрозильных комплексов

сов железа с различными лигандами // Биорадикалы и Антиоксиданты. 2018. Т. 5. № 3. С. 62–65.

19. *Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O., Grigoryeva D., Panasenko O.M., Vanin A., Topunov A., Terekhova M., Sokolov A., Cherenkevich S.N., Ruuge E.K.* Protective effect of dinitrosyl iron complexes with glutathione in red blood cell lysis induced by hypochlorous acid // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. V. 2019, Article ID 2798154, 12 pages.

20. *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. 445–461.

21. *Luneva O.G., Sidorenko S.V., Ponomarchuk O.O., Tverskoy A.M., Cherkashin A.A., Rodnenkov O.V., Alekseeva N.V., Deev L.I., Maksimov G.V., Grygorczyk R., Orlov S.N.* Deoxygenation affects composition of membrane-bound proteins in human erythrocytes // *Cell Physiol. Biochem*. 2016. V. 39. P. 81–88.

22. *Grygorczyk R., Orlov S.N.* Effects of hypoxia on erythrocyte membrane properties—implications for intravascular hemolysis and purinergic control of blood flow // *Frontiers in Physiology*. 2017. V. 8. Article ID 1110. doi: 10.3389/fphys.2017.01110.

23. *Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Блиндарь В.Н., Топунов А.Ф.* Связывание эритроцитарного гемоглобина с мембраной как способ осуществления сигнально-регуляторной функции // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2019. Т. 55. № 2. С. 107–123.

24. *Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Nikitaev V.G., Pronichev A.N., Polyakov E.V., Topunov A.F.* Hemoglobin as substantial object for biomedical studies and diagnostics // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2019. 1189. 012048. DOI 10.1088/1742-6596/1189/1/012048

Сведения об авторах

Эльвира Ильгизовна Насыбуллина

канд. биол. наук

мл. науч. сотр.

E-mail: lvirus198709@rambler.ru

Ольга Владимировна Космачевская

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

E-mail: rizobium@yandex.ru

Игорь Сергеевич Пугаченко

и.о. мл. науч. сотр.

E-mail: gewalthaber-igor@mail.ru

Константин Борисович Шумаев

д-р биол. наук.

ст. науч. сотр.

E-mail: tomorov@mail.ru

Алексей Федорович Топунов

д-р биол. наук, профессор

зав. лабораторией

E-mail: aftopunov@yandex.ru

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

Валентина Николаевна Блиндарь

д-р мед. наук, профессор

зав. лабораторией

E-mail: bld51@list.ru

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина
Россия, Москва

Information about authors

Elvira Ilgizovna Nasybullina

PhD

Junior research scientist

E-mail: lvirus198709@rambler.ru

Olga Vladimirovna Kosmachevskaya

PhD

Senior research scientist

E-mail: rizobium@yandex.ru

Igor Sergeevich Pugachenko

Junior research scientist

E-mail: gewalthaber-igor@mail.ru

Konstantin Borisovich Shumaev

DSc

Senior research scientist

E-mail: tomorov@mail.ru

Alexey Fedorovich Topunov

DSc

Head of laboratory

E-mail: aftopunov@yandex.ru

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS

Valentina Nikolaevna Blindar

DSc

Head of laboratory

E-mail: bld51@list.ru

Blokhin Russian Cancer Research Center
Russia, Moscow

УДК 571.27
ГРНТИ 34.43.35

^{1,2}Басов А.А., ²Федулова Л.В., ²Василевская Е.Р.
¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»
Минздрава России
²ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

ОСОБЕННОСТИ ГЕНДЕРНОГО ВЛИЯНИЯ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ БИОМОЛЕКУЛ *SUS SCROFA* ПРИ ЦИКЛОФОСФАМИД-ИНДУЦИРОВАННОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ У КРЫС

*В исследовании на крысах с моделью циклофосфамид-индуцированного иммунодефицита изучены особенности гендерного влияния комплексного экстракта иммунокомпетентных органов (тимуса, селезенки и мезентеральных лимфатических узлов) *Sus scrofa* и его отдельной фракции с молекулярной массой менее 30 кДа.*

Ключевые слова: тканеспецифичные биомолекулы, иммунодефицит, интерлейкины, тимус, селезенка.

^{1,2}Basov A.A., ²Fedulova L.V., ²Vasilevsky E.R.

¹Kuban State Medical University

²Federal research center for food systems named after V.M. Gorbатов of the RAS

GENDER EFFECT PECULIARITIES OF THE TISSUE-SPECIFIC BIOMOLECULES *SUS SCROFA* ON IMMUNE SYSTEM FUNCTIONAL ACTIVITY IN CYCLOPHOSPHAMIDE-INDUCED IMMUNODEFICIENCY RATS

The research in rats with cyclophosphamide-induced immunodeficiency model, the gender-related effects of the complex extract of immunocompetent organs (thymus, spleen, and mesenteric lymph nodes) and its separate fraction with a molecular mass of less than 30 kDa were studied.

Keywords: tissue-specific biomolecules, immunodeficiency, interleukins, thymus, spleen.

Введение

Новейшим подходом в области медицины и ветеринарии является создание биологических веществ, способных напрямую стимулировать генерацию и аккумуляцию биомолекул и повышать функциональную активность иммунокомпетентных клеток. Известны стимуляторы неспецифического иммунитета природного происхождения, включающие адаптогены, представленные веществами, выделенными из органов продуктивных животных [1], прежде всего селезенки, тимуса и лимфатических узлов, а также эпителиальных тканей и крови. Действие у них осуществляется за счет регулирования сигнальных процессов на молекулярно-биологическом (белково-пептидном), биохимическом и физико-химическом (выравнивание химического потенциала, снижение общей энтропии процессов) уровнях. Все это создает целую систему, которая обеспечивает при нарушении иммунного гомеостаза помимо реактивности врожденного иммунитета, еще и реакцию, приводящую к интенсификации последующей поляризации адаптивного иммунного ответа с формированием эффективного иммунитета в ответ на воздействие антигена [2].

Цель работы

Исследование влияния тканеспецифичных биомолекул, выделенных из иммунокомпетентных органов *Sus scrofa*, на функциональную активность иммунной системы крыс при циклофосфамид-индуцированном иммунодефиците (ЦИИ), с учетом гендерных особенностей воздействия полученных белково-пептидных комплексов.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись комплексный экстракт иммунокомпетентных органов (тимуса, селезенки и мезентеральных лимфатических узлов) *Sus scrofa* и его фракция с молекулярной массой менее 30 кДа. Получение экстрактов проводили с использованием в качестве экстрагента раствора 0,9% NaCl ($t = 4$ часа); осадок отделяли 8 минут центрифугированием при 3500 об/мин на СМ-6М (ELMI, Латвия). Получение фракции с молекулярной массой менее 30 кДа проводили методом ступенчатой ультрафильтрации на установке VivaFlow200 (Влидисарт, Россия) с использованием модулей из полисульфона (Sartorius, Германия), под давлением 2,5 бар (работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 15-16-00008). Жидкую среду с модифицированным изотопным составом со сниженным содержанием дейтерия получали методом электролиза [3], остаточное содержание дейтерия составило $\delta^2\text{H} = -743\text{‰}$. Исследование проведено на половозрелых клинически здоровых сексуально

наивных крысах Wistar (самцах и самках) spf-категории, получавших полнорационный концентрированный комбикорм (Россия) и воду *ad libitum* и разделенных на 8 групп (по 12 крыс): группа 1 – интактные самцы; группа 2 – самцы, которым моделировали ЦИИ; группа 3 – самцы, которые 14 дней получали комплексный экстракт с последующим моделированием ЦИИ; группа 4 – самцы, которые 14 дней получали фракцию 30 кДа с последующим моделированием ЦИИ; группа 5 – интактные самки; группа 6 – самки, которым моделировали ЦИИ; группа 7 – самки, которые 14 дней получали комплексный экстракт с последующим моделированием ЦИИ; группа 8 – самки, которые 14 дней получали фракцию 30 кДа с последующим моделированием ЦИИ.

Животным в группах 3, 4, 7, 8 внутривенно с помощью animal feeding needles 16x2"W/3 (Popper, USA) вводили исследуемые образцы по 2 г белка на 100 г массы тела. Крысам в группах 2, 6 внутривенно вводили дистиллированную воду по 2,0 мл на 100 г массы тела. В группах 2, 3, 4, 6, 7, 8 моделирование ЦИИ осуществляли путем трехкратного внутрибрюшинного введения «Циклофосамида» (Sigma, США) на 15, 18 и 21 сутки эксперимента в дозе 10 мг на 100 г массы тела животного. На 25 сутки эксперимента животных усыпляли в камере для эвтаназии (VETtech) в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и отбирали кровь из правого желудочка сердца.

Количественный анализ форменных элементов цельной крови проводили на анализаторе Abacus junior vet 2.7 (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия). Цитометрический анализ и иммунофенотипирование проводили на цитофлуориметре Guava easyCyte (MerchMillipore, Франция), используя видоспецифичные моноклональные антитела CD8+, CD4+. Исследование интерлейкинов (IL-2, IL-4, IL6), а также компонентов комплемента (C1q, C3, C4, C5) сыворотки крови проводили на иммуноферментном анализаторе Immunochem 2100 (HTI, USA), используя наборы видоспецифичных реактивов ELISA (rat). Оценку достоверности найденных различий для средних (M) значений в группах осуществляли с использованием непараметрического U-критерия (Манна-Уитни).

Полученные результаты

В результате проведенного эксперимента в группе 2 по сравнению с группой 1 выявлено снижение количества лейкоцитов (на 98,1 %), лимфоцитов (на 99,7 %, табл. 1) и патологическое изменение относительного содержания моноцитов (понижение на 22,6 %), гранулоцитов (повышение на 98,5 %), кластеров дифференцировки CD4+ (понижение на 26,6 %) и CD8+ (повышение на 107,9 %, табл. 2), при этом в группе 6 по сравнению с группой 5 отмечено снижение количества лейкоцитов (на 96,4 %), лимфоцитов (на 99,8 %, табл. 1), изменение относительного содержания моноцитов (понижение на 25,9 %), гранулоцитов (повышение на 80,6 %), кластеров дифференцировки CD4+ (понижение на 53,8 %, табл. 2). Все это подтверждает развитие иммунных нарушений, выраженных в большей степени у самцов, чем у самок. Изменение других форменных элементов крови в группах 2 и 6 носило менее существенный характер (табл. 1). В группе 3 по сравнению с группой 2 выявлено менее выраженное развитие нарушений в показателях иммунной системы ($p < 0,05$): повышение количества лейкоцитов в 4,2 раза, лимфоцитов в 18,0 раз (табл. 1). Также отмечено в группе 3 по сравнению группой 2 более высокое относительное содержание гранулоцитов (на 110,0 %), при отсутствии достоверных изменений относительного содержания моноцитов, CD4+ и CD8+ (табл. 2). Еще более существенные позитивные изменения гематологических показателей были отмечены в группе 4 по сравнению с группой 2: повышение количества лейкоцитов в 4,6 раза, лимфоцитов в 22,0 раза ($p < 0,05$, табл. 1), более низкое относительное содержание гранулоцитов (на 82,9 %, $p < 0,05$), возрастания относительного содержания моноцитов (на 118,0 %, $p < 0,05$), при отсутствии изменений в отношении кластеров дифференцировки CD4+ и CD8+ (табл. 2).

Таблица 1

Результаты гематологического анализа крови крыс

| Показатели | M±m | Группы экспериментальных животных | | | | | | | |
|-------------------------------|---------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Лейкоциты, 10 ⁹ /л | M ±m | 7,30 ±0,36 | 0,14 ±0,01 * | 0,59 ±0,05 * | 0,65 ±0,05 * | 4,39 ±0,13 | 0,16 ±0,02 # | 1,32 ±0,14 # | 0,58 ±0,03 # |
| Лимфоциты, 10 ⁹ /л | M | 5,74 | 0,02 | 0,36 | 0,44 | 3,95 | 0,01 | 0,81 | 0,39 |

| | | | | | | | | | |
|---------------------------------|----|--------|---------|---------|---------|--------|---------|----------|---------|
| | ±m | ±0,29 | ±0,01 * | ±0,04 * | ±0,05 * | ±0,13 | ±0,01 # | ±0,12 # | ±0,04 # |
| Эритроциты, 10 ¹² /л | М | 8,16 | 6,82 | 7,40 | 7,74 | 8,04 | 7,03 | 7,44 | 7,21 |
| | ±m | ±0,05 | ±0,21 * | ±0,07 | ±0,06 | ±0,05 | ±0,13 # | ±0,08 # | ±0,02 # |
| Тромбоциты, 10 ⁹ /л | М | 714,67 | 17,01 | 105,75 | 308,42 | 832,74 | 5,01 | 335,58 | 227,92 |
| | ±m | ±6,81 | ±3,18 * | ±9,04 * | ±5,27 * | ±6,62 | ±0,43 # | ±29,18 # | ±3,5 # |

* - p < 0.05 по сравнению с группой 1, # - p < 0.05 по сравнению с группой 5

Таблица 2

Результаты цитометрического анализа крови крыс

| Группы животных | Относительное содержание, % | | | | |
|-----------------|-----------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| | Лимфоциты | Гранулоциты | Моноциты | CD4+ | CD8+ |
| 1 группа | 84,59±3,88 | 1,41±0,34 | 14,02±1,98 | 39,23±2,39 | 12,61±1,41 |
| 2 группа | 86,34±7,91 | 2,80±0,29 * | 10,86±0,73 * | 28,78±6,71 * | 26,20±3,52 * |
| 3 группа | 81,70±3,50 | 5,91±1,22 * | 12,39±1,84 | 25,90±4,42 * | 22,35±4,67 * |
| 4 группа | 75,79±5,60 | 0,48±0,19 * | 23,73±5,70 | 28,70±7,14 * | 20,31±3,94 * |
| 5 группа | 89,00±2,45 | 1,23±0,41 | 9,77±0,63 | 41,02±4,31 | 12,65±3,32 |
| 6 группа | 90,52±3,09 | 2,24±0,79 # | 7,24±0,52 # | 18,95±4,05 # | 15,40±5,21 |
| 7 группа | 77,19±3,72 # | 2,85±0,63 # | 19,97±4,86 # | 27,68±7,29 # | 18,94±4,47 |
| 8 группа | 82,17±7,83 | 0,39±0,17 # | 17,44±3,80 # | 27,08±4,52 # | 23,89±4,83 # |

* - p < 0.05 по сравнению с группой 1, # - p < 0.05 по сравнению с группой 5

В группах 7 и 8 по сравнению с группой 6 установлено менее выраженное развитие нарушений в показателях иммунной системы (p<0,05): повышение количества лейкоцитов в 8,3 раз и 3,6 раза, лимфоцитов в 81,0 раз и 39,0 раз (табл. 1). Также отмечено в группе 7 по сравнению с группой 6 более низкое относительное содержание лимфоцитов (на 14,7 %, p<0,05) с одновременно более высоким относительным содержанием моноцитов (на 175,8 %, p<0,05), при отсутствии достоверных изменений относительного содержания гранулоцитов, CD4+ и CD8+ (табл. 2). В то же время у группы 8 по сравнению с группой 6 было выявлено более низкое относительное содержание гранулоцитов (на 82,6 %, p<0,05), возрастания относительного содержания моноцитов (на 140,9 %, p<0,05) и CD8 (на 55,1 %, p<0,05), при отсутствии достоверных изменений в отношении относительного содержания лимфоцитов, кластеров дифференцировки CD4+ (табл. 2).

По сравнению с группой 1 в группе 2 отмечено существенное уменьшение содержания IL-2 (на 84,9 %), IgG (на 54,3 %), IgM (на 83,5 %), C1q (на 25,8 %), C3 (на 14,1 %), C4 (на 45,8 %) и C5 (на 89,9 %), при одновременном увеличении содержания IL-4 (на 46,9 %), IL-6 (на 80,0 %). В группе 3 по сравнению с группой 2 было установлено (p<0,05, табл. 3) увеличение содержания IL-2 (в 2,2 раза) при уменьшении содержания C3 (на 14,6 %). При этом в группе 4 по сравнению с группой 2 было обнаружено более существенное увеличение, чем у животных группы 3: IL-2 в 3,0 раза, IgM в 2,9 раз, C1q (в 1,14 раза), C5 (в 2,6 раза), тогда как у группы 4 по сравнению с группой 2 наблюдалось уменьшение в содержания IL-4 (на 35,7 %), IL-6 (на 68,7 %), C3 (на 15,2 %).

Таблица 3

Результаты иммуноферментного анализа крови крыс

| Показатели | M±m | Группы экспериментальных животных | | | | | | | |
|-------------|-----|-----------------------------------|----------|---------|----------|--------|---------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| IL-2, пг/мл | М | 324,60 | 48,73 | 104,80 | 146,79 | 262,13 | 36,49 | 107,52 | 91,75 |
| | ±m | ±44,51 | ±7,45 * | ±9,56 * | ±27,90 * | ±20,35 | ±1,82 # | ±29,84 # | ±14,73 # |
| IL-4, пг/мл | М | 32,97 | 48,46 | 44,71 | 31,16 | 37,12 | 34,45 | 26,71 | 17,24 |
| | ±m | ±11,56 | ±14,78 * | ±8,12 * | ±10,64 | ±8,15 | ±9,86 | ±6,43 | ±3,14 # |
| IL-6, пг/мл | М | 15,21 | 27,38 | 16,95 | 8,57 | 10,48 | 19,60 | 11,36 | 8,89 |
| | ±m | ±1,24 | ±1,93 * | ±8,17 | ±2,51 * | ±2,42 | ±1,7 # | ±2,32 | ±2,35 |
| IgG, нг/мл | М | 3,83 | 1,75 | 1,77 | 1,48 | 5,26 | 2,21 | 2,64 | 1,58 |
| | ±m | ±0,68 | ±0,32 * | ±0,39 * | ±0,46 * | ±1,47 | ±0,35 # | ±0,72 # | ±0,41 # |

| | | | | | | | | | |
|--------------|---------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|------------------|
| IgM, нг/мл | M ±m | 0,85 ±0,04 | 0,14 ±0,03 * | 0,23 ±0,15 * | 0,41 ±0,22 * | 0,73 ±0,18 | 0,19 ±0,02 # | 0,18 ±0,03 # | 0,21 ±0,09 # |
| C1q, нг/мл | M ±m | 7,36 ±0,51 | 5,46 ±0,82 * | 6,32 ±1,01 | 6,54 ±1,07 | 7,75 ±1,38 | 5,89 ±1,32 | 6,74 ±0,85 | 7,50 ±1,24 |
| C3, нг/мл | M ±m | 50,64 ±1,32 | 43,49 ±1,81 * | 37,14 ±1,65 * | 36,89 ±1,97 * | 45,01 ±2,07 | 40,73 ±2,78 | 32,51 ±2,59 # | 41,45 ±2,79 |
| C4, нг/мл | M ±m | 405,07 ±29,46 | 219,42 ±48,61 * | 244,29 ±32,97 * | 268,60 ±42,61 * | 262,43 ±50,57 | 198,90 ±48,06 # | 221,02 ±35,79 | 203,30 ±39,85 |
| C5, нг/мл | M ±m | 52,98 ±10,94 | 5,30 ±1,47 * | 5,78 ±1,26 * | 13,86 ±1,74 * | 42,64 ±2,52 | 8,01 ±0,19 # | 24,65 ±1,53 # | 33,28 ±1,21# |

* - $p < 0.05$ по сравнению с группой 1, # - $p < 0.05$ по сравнению с группой 5

В группе 6 по сравнению с группой 5 отмечено ($p < 0,05$, табл. 3): значительное снижение содержания IL-2 (на 86,1 %), IgG (на 58,0 %), IgM (на 73,9 %), C5 (на 81,2 %), при увеличении содержания IL-6 (на 87,0 %). В то же время у крыс-самок группы 7 по сравнению с группой 6 выявлено увеличение содержания IL-2 в 2,9 раза, C5 в 3,1 раза с одновременным уменьшением содержания IL-6 на 42,0 %, C3 на 20,2 %. Аналогичные по направленности изменения для большей части иммунологических показателей были отмечены у крыс-самок группы 8 по отношению к группе 6, в том числе наблюдалось увеличение содержания IL-2 в 2,5 раза и C5 в 4,2 раза при уменьшении концентрации IL-6 на 54,6 % (табл. 3). В то время как отличием показателей группы 7 от данных в группе 8 (в сравнении с группой 6) являлось уменьшение в последней содержания IL-4 на 49,9 % ($p < 0,05$).

Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: в группах 3, 4, 7 и 8 изменения количества лейкоцитов, лимфоцитов, относительного количества гранулоцитов и моноцитов, а также кластеров дифференцировки CD4 и CD8 свидетельствуют о большей эффективности фракции 30 кДа для всех звеньев иммунной системы крыс-самцов, тогда как у крыс-самок комплексный экстракт был более эффективен в отношении фагоцитарного звена лейкоцитов, при этом фракция 30 кДа увеличивала функциональную активность Т-клеточного звена (CD8+). Поэтому использование фракции 30 кДа целесообразно при вирусной инфекции и клеточной дисплазии, а также у самцов в качестве универсального иммунорегулятора и при бактериальной инфекции, в то время как применение комплексного экстракта возможно лишь у крыс-самок при комбинированной терапии оппортунистических инфекций. Активация C5 компонента системы комплемента в большей мере при введении крысам фракции 30 кДа может свидетельствовать о способности полученных тканеспецифичных биомолекул увеличивать скорость хемоаттракции и эффективность фагоцитоза иммунокомпетентных клеток в очаге воспаления. Наиболее существенный цитокиновый дисбаланс (IL-2 и IL-6/IL-4) отмечен в группе 2, тогда как у крыс-самцов группы 3, получавших комплексный экстракт, отмечено улучшение соотношения интерлейкинов, но более значимое формирование дисбаланса в продукции провоспалительных цитокинов по отношению к противовоспалительным в сравнении с группой 4, что отражает более высокую эффективность фракции 30 кДа а при хронических заболеваниях инфекционного генеза, обусловленных недостаточной активностью регуляторного звена иммунной защиты. Также необходимо отметить более высокую эффективность у крыс-самцов при использовании фракции 30 кДа в сравнении с комплексным экстрактом для стимуляции эффекторного звена иммунной системы (IgM), что может иметь значение для коррекции нарушений дифференцировки В-лимфоцитов, в том числе нарушений Ig-генеза. У крыс-самок, получавших комплексный экстракт, отмечено большее возрастание интенсивности продукции интерлейкинов и, как следствие, стимуляция В-лимфоцитов с образованием IgG. Тогда как у крыс-самок, получавших фракцию 30 кДа, менее выраженное повышение (в сравнении с группой 7) продукции IL-2, IL-4, IL-6 сопровождалось уменьшением синтеза IgG и компенсаторным возрастанием активности системы комплемента (C3 и C5).

Цитируемая литература

1. Fedulova L.V., Vasilevskaya E.R., Kotenkova E.A., Elkina A.A., Baryshev M.G., Lisitsyn A.B. Influence of different polypeptides fractions derived from *Sus Scrofa* immune organs on the rats immunological reactivity // Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences. 2017. Vol. 7. № 2. P. 35–40.
2. Werz, O. Gerstmeier, J., Liberos, S., De La Rosa, X., Werner, M., Norris, P.C., Chiang, N., Serhan, C.N. Human macrophages differentially produce specific resolvin or leukotriene signals

that depend on bacterial pathogenicity // Nature Communications. 2018. Vol. 9 (1). P. 02538.

3. Барышев М.Г., Басов А.А., Болотин С.Н., Джимаков С.С., Кашаев Д.В., Федосов С.Р., Фролов В.Ю., Малышко В.В., Власов Р.В. ЯМР и ЭПР исследование влияния воды с пониженным содержанием дейтерия на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы у лабораторных животных // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. 2011. № 3. С. 16–20.

Сведения об авторах

Басов Александр Александрович

д-р мед. наук

доц.

Эл. почта: son_sunytch@mail.ru

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»

Россия, Краснодар

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Россия, Москва

Федулова Лилия Вячеславовна

Канд. техн. наук

зав. лаб.

Эл. почта: fedulova@vniimp.ru

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Россия, Москва

Василевская Екатерина Романовна

мл. науч. сотр.

Эл. почта: rina715@yandex.ru

ФГБНУ «ФНЦ Пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Россия, Москва

Information about authors

Alexandr A. Basov

MD

PhD

E-mail: son_sunytch@mail.ru

Kuban State Medical University

Russia, Krasnodar

FGBNU FNTs Food Systems. V.M. Gorbatov RAS

Russia Moscow

Lilia V. Fedulova

PhD

E-mail: fedulova@vniimp.ru

Federal research center for food systems named

after V.M. Gorbatov of the RAS

Russia Moscow

Ekaterina R. Vasilevsky

E-mail: rina715@yandex.ru

Federal research center for food systems named

after V.M. Gorbatov of the RAS

Russia, Moscow

УДК 597.562-116:577.1

ГРНТИ 31.27.17, 34.15.29

Мухин В.А., Новиков В.Ю.

Полярный филиал ФГБНУ «ВНИРО»

МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИЙ КРИОРЕЗИСТЕНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Адаптационные процессы, проявляющиеся на организменном уровне, проявляются на уровне функционирования ферментных систем. Существование живых организмов при низких температурах обеспечивается уникальными химическими механизмами. Изучение этих механизмов, безусловно, является приоритетным направлением биохимии и биотехнологии, как с теоретической, так и с практической точки зрения.

Ключевые слова: протеиназы, температурные адаптации, криорезистентность, организмы-психрофилы

Mukhin V.A., Novikov V.Yu.

Polar branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution
«The Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography»

THE MECHANISMS OF ADAPTATIONS OF CRYORESISTENCE ENZYMES

The adaptation processes taking place at the organism level, primarily occur at the level of enzyme systems. The existence of living organisms at low temperatures is ensured by unique chemical mechanisms. The study of these mechanisms, of course, is a priority of biochemistry and biotechnology, both from theoretical and practical points of view.

Keywords: proteinases, temperature adaptation, cryoresistence, organisms-psychrophiles

Введение в проблему

В последние десятилетия многие ученые посвящают свои исследования поиску новых ферментов, источником выделения которых являются организмы – обитатели холодных морей. Скринингу подвергаются различные живые существа от микроорганизмов и грибов до позво-

ночных. Сформировалось целое направление исследований под общим брендом «Морской Арктический биопроспектинг».

Среди морских биохимиков весьма популярна идея существования ферментов, адаптированных к холодным условиям среды обитания. Некоторые исследователи даже допускают возможность существования специальных «холодолюбивых» протеиназ со сверхвозможностями, способных проявлять более высокую активность при более низких температурах. Актуальность этих исследований трудно переоценить. Безусловно, ферменты, которые сохраняют достаточно высокую активность при низких температурах, найдут широкое применение во многих биотехнологических процессах.

Основная идея поиска состоит в обнаружении ферментов с уникальными психрофильными свойствами и базируется она на факте существования организмов-психрофилов, которые более комфортно функционируют при низких температурах. Термин «психрофильный» по отношению к ферментам стал активно применяться и, фактически, подменять собой термины «холодоадаптированный» и «холодоустойчивый». Однако, по-нашему мнению, между этими понятиями существует принципиальная разница.

Протеолиз и протеиназы в пищеварительных органах холоднокровных и теплокровных животных

Для исследования этой проблемы, мы использовали комплексы пищеварительных протеиназ типичного представителя психрофилов – камчатского краба и типичного теплокровного животного домашней свиньи.

Среднегодовая температура воды в местах обитания камчатского краба колеблется от 0 °С до 8 °С, следовательно, именно в этом температурном диапазоне приходится «работать» его пищеварительным ферментам. Пищеварительные протеиназы домашней свиньи, напротив, всегда функционируют при постоянной температуре 38-40 °С. Означает ли это, что протеиназы, обеспечивающие распад белков в пищеварительных органах столь различных организмов, отличаются настолько же существенно? Особенно, нас интересуют качественный состав и «температурные оптимумы» функционирования этих протеиназ.

Прежде всего, известно, что пищеварительные процессы и, в частности, протеолиз у теплокровных и холоднокровных организмов протекает по одинаковой схеме и обеспечивается гомологичными протеиназами, несмотря на гигантский «эволюционный разрыв» между этими существами.

В качестве аргумента этого утверждения следует обратить внимание на принципиальное сходство, а иногда и поразительное совпадение ферментных систем, реализующих пищеварение у различных классов живых организмов. Например, доказано, что все кислые аспарагиновые и нейтральные сериновые протеиназы происходят от соответствующих общих ферментов-предшественников [1, 2]. Последовательность аминокислотных остатков пепсина, гастриксина и реннина весьма близка, высказано предположение, что эти ферменты произошли в процессе эволюции от одного общего предшественника – кислой протеазы в результате удвоения гена через гипотетическую промежуточную протеазу [3]. Наличие трипсиновой активности в пищеварительных органах всех изученных классов животных подтверждает генетическую древность трипсиноподобного фермента и предположение об эволюционном происхождении от него всех сериновых протеиназ [4].

Возможно, что химическая эволюция, протекающая медленнее, но взявшая старт значительно раньше, чем биологическая эволюция, привела к образованию ферментов, которые с термодинамической точки зрения практически совершенны и имеют очень маленькую потенцию к модификации. В дальнейшем, практически исчерпав химические способы модификации ферментных молекул, организмы совершенствовались, преимущественно, путем «цитологической» и «гистологической» эволюции. В эти понятия, мы вкладываем эволюционные изменения, приведшие к образованию специализированных пищеварительных органов, а также к созданию пищеварительных полостей с оптимальными условиями функционирования ферментных систем, такими как постоянный рН среды и температура.

В ходе экспериментов, нами было убедительно показано, что температурный оптимум комплекса протеиназ, выделенных из пищеварительных органов камчатского краба и домашней свиньи подчиняется одной и той же термодинамической закономерности и по мере увеличения продолжительности инкубации постепенно «дрейфует» в сторону более низких температур.

Однако для протеиназ камчатского краба этот «дрейф» осуществляется несколько быстрее, что, по-видимому, и является адаптационным механизмом к обитанию в холодной среде.

Различия ферментов теплокровных и холоднокровных животных

Что же обеспечивает эту адаптацию на биохимическом уровне?

Определенно доказано, что имеются некоторые различия в третичной структуре аналогичных протеиназ, способствующие проявлению термолабильности или термостабильности ферментов *in vivo* [5,6].

Несмотря на высказанное ранее утверждение, обнаружен ряд закономерных различий в аминокислотном составе гомологичных ферментов психрофильных и мезофильных организмов. В некоторых случаях гибкость молекулы фермента обеспечивается путем коррекции первичной структуры за счет синтеза изоферментов. Так, в одном из изоферментов лактатдегидрогеназы - пролин, создающий определенную жесткость, заменяется на аланин, который способствует более гибкой структуре молекулы [7, 8]. В трипсине холодолюбивых рыб отмечено повышенное содержание метионина. Эта неразветвленная аминокислота не склонна к межмолекулярному зарядовому взаимодействию, что обеспечивает белку определенную гибкость [9].

Другими авторами отмечается, что адаптация к холоду достигается снижением содержания остатков пролина и аргинина и повышением количества глициновых остатков [10].

Описанные особенности аминокислотного состава предопределяют вторичную и третичную структуру белков этих живых существ, что, в свою очередь, обеспечивает конформационную гибкость молекулы [11]. Очевидно, что именно пространственная ориентация молекулы фермента сказывается на его термолабильности.

Ферменты холодолюбивых организмов обладают такими особенностями строения, которые позволяют им эффективно понижать энергию активации молекул и поддерживать клеточный метаболизм при температурах, близких к 0 °С [12].

Говоря о механизме температурных адаптаций ферментов, выделенных из тканей обитателей холодных морей, необходимо затронуть еще один очевидный факт, описанный в классической работе П. Хочачки и Дж. Сомеро [13]. Эти авторы определили, что главной стратегией адаптации к низким температурам: увеличение общего количества синтезируемых ферментов (экстенсивный путь). Действительно, нельзя не отметить общая протеолитическая активность в гепатопанкреасе камчатского краба значительно выше таковой в пищеварительных органах теплокровных животных.

Синтезируют ли психрофильные организмы психрофильные ферменты?

Таким образом, белки-ферменты всех живых организмов независимо от среды обитания имеют единый структурный формат и качественно состоят из одинаковых аминокислот. В силу этого обстоятельства функционирование ферментов осуществляется по одним и тем же закономерностям. Согласно термодинамическим законам, чем выше температура среды, тем выше активность любого фермента, однако физиология ограничивает эту закономерность диапазоном температур денатурации белка (летальная граница).

Общепризнанное разделение животных, основанное на отношении к температуре обитания, классифицирует их как «психрофильные», «мезофильные» и «термофильные» организмы. Мы полагаем, что эта классификация не может быть автоматически распространена на ферменты, как это делается многими исследователями [14, 15, 6, 16, 17 и др.]. В данном случае уместнее применять термин не «психрофильные» и «термофильные», а «психрорезистентные» («криорезистентные») и «терморезистентные» ферменты.

В подтверждение этому тезису, стоит привести ряд работ, в которых показана существенная разница между оптимальной температурой для жизни и размножения организма и «оптимальной температурой» для проявления активности ферментов, выделенных из этого организма [18, 19, 20, 21].

Заключение

Итак, рассматривая проблему температурных адаптаций ферментов, выделенных из обитателей холодных морей мы можем сформулировать ряд выводов:

1. Не существует особых ферментов, которые проявляют более высокую активность при низких температурах, однако возможно некоторое смещение в сторону снижения температуры денатурации, главным образом, за счет особенностей вторичной и третичной структуры белков.
2. Эти различия в пространственной структуре белков обитателей холодных морей и наземных теплокровных существ обеспечивают возможность их существования в качественно

различных природных средах. Именно эти биохимические особенности обеспечивают некоторые сдвиги в «температурном оптимуме» работы ферментов обитателей холодных морей, однако эти сдвиги весьма ограничены. Возможно, дело в том, что химическая эволюция, взявшая старт значительно раньше, чем биологическая эволюция, привела к образованию практически совершенных ферментов с термодинамической точки зрения. Именно по этой причине, оптимальная температура для жизнедеятельности психрофильных организмов и «оптимальная температура» для работы их ферментных систем не совпадает по значению и по сути это разные понятия.

3. Термин «психрофильный», принятый для описания организмов, предпочитающих холодные условия обитания, не должен автоматически распространяться на ферменты, выделенные из этого организма. Мы считаем, что более корректно для таких ферментов использовать термины «криорезистентный», «холодоадаптированный» или «холодоустойчивый», подчеркивая тем самым, существенную разницу между оптимальной температурой для существования организма и «кажущемся температурным оптимумом» для работы его ферментных систем.

Литература

1. Gildberg A. Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates // *Comp. Biochem. Physiol.*- 1988. Vol. 91 B, No. 3. P. 425–435.
2. Ikeo K., Takahashi K., Gojobori T. Molecular evolution of serine proteases with kringle structures // *J. Cell Biochem.* 1994. Suppl. 18 d. P. 156.
3. Foltmann B. Gastric proteinases-structure, function, evolution and mechanism of action // *Essays Biochem.* 1981. Vol. 17. P. 52–84.
4. Hartley B.S. Homologies in serine proteinases // *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. Biological Sciences.* 1970. Vol. 257. No. 813. P. 77–87.
5. Papaleo E., Olufsen M., De Gioia L., Bransdal B. O. Optimization of electrostatics as a strategy for cold-adaptation: a case study of cold- and warm-active elastases // *J. Mol. Graph. Model.* 2007. Vol. 26. No. 1. P. 93–103.
6. Struvay C., Feller G. Optimization to low temperature activity in psychrophilic enzymes // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. Vol. 13. No. 9. P. 11643–11665.
7. Озернюк Н.Д. Температурные границы жизни // *Природа.* 2003. № 4. С. 457–462.
8. Клячко О. С., Полосухина Е. С., Озернюк Н. Д. Температура вызывает структурные и функциональные изменения лактатдегидрогеназы из скелетных мышц рыб // *Биофизика.* 1993. Т. 38. № 4. С. 596–601.
9. Thomas T. Archaeal cold adapted proteins structural and evolutionary analysis of the elongation factor 2 proteins from psychrophilic, mesophilic and thermophilic methanogens // *FEBS Lett.* 1998. No. 439. P. 281–286.
10. Gerday C., Aittaleb M., Bentahir M., Chessa J.-P., Claverie P., Collins T., D'Amico S., Dumont J., Garsoux G., Georgette D., Hoyoux A., Lonhienne T., Meuwis M.-A., Feller G. Cold-adapted enzymes: from fundamentals to biotechnology // *Trends Biotechnol.* 2000. Vol. 18. No. 3. P. 103–107.
11. Zhong M., Chen T., Hu C., Ren C. Isolation and characterization of collagen from the body wall of sea cucumber *Stichopus monotuberculatus* // *J. Food Sci.* 2015. Vol. 80. No. 4. P. C671–C679.
12. Чернова Н.М., Былова А.М. Общая экология: Учеб. пособие для студентов пед. вузов / Н.М. Чернова, А.М. Былова. – М.: 2004. Сер. Высшее педагогическое образование. 416 с.
13. Hochachka P. W., Somero G. N. *Biochemical adaptation: Mechanism and process in physiological evolution.* – Oxford, UK: Oxford University Press, 2002. 466 p.
14. Feller G., Gerday C. Psychrophilic enzymes: Hot topics in cold adaptation // *Nat. Rev. Microbiol.* 2003. Vol. 1. No. 3. P. 200–208.
15. Paredes D. I., Watters K., Pitman D. J., Bystriff C., Dordick J. S. Comparative void-volume analysis of psychrophilic and mesophilic enzymes: Structural bioinformatics of psychrophilic enzymes reveals sources of core flexibility // *BMC Struct. Biol.* 2011. Vol. 11. P. 42 (9 p.).
16. Cipolla A, Delbrassine F, Da Lage JL, Feller G (2012) Temperature adaptations in psychrophilic, mesophilic and thermophilic chloride-dependent alpha-amylases. *Biochimie* 94 (9):1943–1950.
17. Bae E., Phillips G. N. Jr. Structures and analysis of highly homologous psychrophilic, mesophilic, and thermophilic adenylate kinases // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. No. 27. P. 28202–28208.

18. Turkiewicz M., Kur J., Biakowska A., Cieliski H., Kalinowska H., Bielecki S. Antarctic marine bacterium *Pseudomonas* sp. 22b as a source of cold-adapted β -galactosidase // *Biomol. Eng.* 2003. Vol. 20. No. 4–6. P. 317–324.

19. Florczak T., Daroch M., Wilkinson M. C., Białkowska A., Bates A. D., Turkiewicz M., Iwanejko L. A. Purification, characterisation and expression in *Saccharomyces cerevisiae* of LipG7 an enantioselective, cold-adapted lipase from the Antarctic filamentous fungus *Geomyces* sp. P7 with unusual thermostability characteristics // *Enzyme. Microb. Technol.* 2013. Vol. 53. No. 1. P. 18–24.

20 Новиков В.Ю., Мухин В.А., Рысакова К.С. Свойства хитинолитических ферментов гепатопанкреаса камчатского краба *Paralithodes camtschaticus*// Прикладная биохимия и микробиология. 2007. Т. 43. № 2. С. 178–183.

21. Мухин В. А., Смирнова Е. Б., Новиков В. Ю. Особенности пищеварительной функции протеиназ беспозвоночных – обитателей холодных морей // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2007. Т. 43. № 5. С. 398–403.

Сведения об авторах

Вячеслав Анатольевич Мухин

д-р биол. наук

зав. лабораторией

E-mail: vmukhin@pinro.ru

Виталий Юрьевич Новиков

канд. хим. Наук

ст. науч. сотр.

E-mail: nowitaly@yandex.ru

Полярный филиал ФГБНУ «ВНИРО»

Россия, Мурманск

Information about authors

Viacheslav Anatolievich Mukhin

DSc

Head of laboratory

E-mail: vmukhin@pinro.ru

Vitaly Yurievich Novikov

PhD

Senior research scientist

E-mail: nowitaly@yandex.ru

Polar branch «The Russian Research Institute of

Fisheries and Oceanography»

Russia, Murmansk

УДК 543.544.613.2:615.916

ГРНТИ 34.17.15

Текуцкая Е.Е.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет».

ОБРАЗОВАНИЕ 8-ОКСОГУАНИНА И ОДНОНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ В ДНК ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ

В работе изучены механизмы окислительных повреждений молекул ДНК, выделенной из цельной крови человека, при воздействии электромагнитного поля низкой частоты, связанные с образованием активных форм кислорода.

Ключевые слова: 8-гидрокси-2-деоксигуанозин, однонитевые разрывы ДНК, электромагнитное поле, флуоресцентная спектроскопия, ИК-спектроскопия, репарация

Tekutskaya E.E.

The Kuban state university

THE FORMATION OF 8-OXOGUANINE AND SINGLE-STRAND BREAKS IN DNA WHEN EXPOSED TO AN ELECTROMAGNETIC FIELD

The work studied the mechanisms of oxidative damage to DNA molecules isolated from human whole blood, when exposed to a low-frequency electromagnetic field, associated with the formation of reactive oxygen species.

Keywords: 8-hydroxy-2-deoxyguanosine, single-stranded DNA breaks, electromagnetic field, fluorescence spectroscopy, IR spectroscopy, repair

Введение

Исследования действия низкочастотного электромагнитного поля (ЭМП) на денатурационные и конформационные переходы ДНК во многом мотивированы задачей скрининга ДНК-повреждающих факторов. Известными проявлениями стресс-реакции в клетках являются повреждения биологически значимых молекул и, прежде всего, ДНК. Ранее в ряде работ [2-5] было показано, что образование активных форм кислорода (АФК) приводит к повреждению первичной структуры ДНК и накоплению однонитевых разрывов при воздействии на лимфоциты периферической крови человека ЭМП.

Одним из ключевых биомаркеров окислительных повреждений нуклеиновых кислот, опосредованных с генерацией АФК, является образование 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-OHdG) в ДНК [1]. Уровни содержания 8-OHdG и его аналогов 8-гидроксигуанозина и 8-гидроксигуанина связаны со многими дегенеративными заболеваниями. Так, взаимосвязь АФК и использование 8-OHdG в качестве маркера оксидативного стресса были исследованы при многих заболеваниях, включая рак простаты, муковисцидоз, атопический дерматит и ревматоидный артрит.

В статье [2] высказано предположение, что изменение гидратной оболочки ДНК под действием низкочастотного ЭМП при некоторых параметрах ЭМП приводит к восстановлению водородных связей и образованию сшивок.

Цель работы

Целью настоящей работы явилось исследование образования окислительных повреждений ДНК (однонитевых разрывов и повреждений азотистых оснований 8-OHdG), вызванных появлением активных форм кислорода при действии низкоинтенсивного электромагнитного поля.

Материалы и методы

Объектом исследований были образцы сыворотки крови, собранные у добровольцев (мужчины 20–25 лет, некурящие, $n = 10$), лимфоциты, выделенные из периферической крови тех же добровольцев, и водные растворы ДНК.

Обработка проб электромагнитным полем. Обработку проб сыворотки крови, взвеси лимфоцитов и растворов ДНК ЭМП низкой частоты проводили в химически чистой стерильной пластиковой посуде при температуре 20–22⁰С и толщине облученного слоя 2 мм. В ходе экспериментов использовалось разработанное нами устройство для автоматизированного исследования биологических жидкостей в переменном магнитном поле, описанное в [6]. Время обработки составляло 10 мин. Напряженность магнитной составляющей поля достигала 24 ± 4 А/м, частота изменялась с шагом 2 Гц от 3 до 50 Гц.

Иммуноферментный анализ. Для количественного определения 8-гидрокси-2-деоксигуанозина в ДНК использовали иммуноферментный анализ с применением моноклональных антител, специфичных к 8-OHdG. Чувствительность метода Stress Xpress DNA Damage ELISA составила 0.59 нг/мл. Диапазон калибровочной кривой составил 0,94 - 60 нг/мл. Измерения проводили на микропланшетном иммуноферментном анализаторе Multiscan при длине волны 450 нм.

Определение количества однонитевых разрывов ДНК в лимфоцитах осуществляли с помощью их реакции с бромистым этидием. Это химическое вещество из группы фенантридинов (3,8-диамино-6-этил-5-фенилфенантридиумбромид), широко применяемое для флуоресцентной маркировки ДНК. Интенсивность флуоресценции полученных образцов измеряли в кварцевой кювете на флуоресцентном спектрофотометре Hitachi F-2700 (Япония) при длине волны возбуждения – 540 нм и $\lambda_{\text{полг}}$ 610 \pm 5 нм под прямым углом к направлению возбуждающего света. Количество однонитевых разрывов ДНК оценивали по отношению величин флуоресценции контрольных и экспериментальных образцов. Результаты представляли в виде процентного соотношения количества щелочнолабильных сайтов ДНК, содержащих однонитевые разрывы ДНК, к общему количеству ДНК, как это описано в работах [7, 8].

Спектры интенсивности поглощения растворов ДНК в ИК-диапазоне регистрировали с помощью ИК-Фурье спектрометра Tensor 27 (Bruker) в спектральном диапазоне 4000–500 см⁻¹. Соотношение сигнал/шум при 1 мин сканирования при разрешении 4 см⁻¹ с применением аподизации Blackman—Harris было не менее 45000:1; минимальное спектральное разрешение не более 0,9 см⁻¹.

Лабораторное диагностическое обследование выполнено в соответствии с обязательным соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации 1975 г. с дополнениями 1983 года.

Полученные данные анализировали в пакете статистического анализа Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [9].

Полученные результаты

Метод ИК-спектроскопии дает возможность получить сведения об относительных положениях молекул в течение очень коротких промежутков времени, а также оценить характер связи между ними. На полученных ИК-спектрах водных растворов ДНК наблюдались три ха-

рактерные полосы поглощения (рис.). Данные пики проявляются в спектральной области, которую принято связывать с надмолекулярными типами возбуждения водных растворов [10] и могут представлять собой обертоны комбинации валентных и деформационных колебаний молекулы воды, а также свидетельствовать о переходе кислородных молекул из основного в синглетное состояние.

Установлено [11], что синглетный кислород, обладающий высокой реакционной способностью, образуется при прямом возбуждении этих полос лазерным ИК-возбуждением с достаточной скоростью, чтобы вызвать окисление некоторых органических соединений. Одной из мишеней такого окисления служат азотистые основания молекулы ДНК.

С помощью иммуноферментного анализа определено содержание повреждений азотистых оснований 8-ОНдГ в ДНК после воздействия на нее ЭМП в диапазоне частот от 3 до 50 Гц. Полученные результаты косвенно подтверждаются литературными данными [10 - 11]. Было показано, что с увеличением частоты ЭМП содержание 8-оксогуанина изменяется сложным образом. Обработка ЭМП с частотой 50 Гц не приводит к увеличению количества 8-оксогуанина в ДНК, как при воздействии ЭМП с частотой 3 Гц. Такое изменение количества 8-оксогуанина в ДНК не может быть вызвано депуринизацией модифицированного основания, так как данная модификация приводит не к ослаблению, а к повышению устойчивости гликозидной связи. Поскольку 8-оксогуанин имеет более низкий окислительно-восстановительный потенциал, чем природные, он в большей степени подвержен дальнейшему окислению [1]. Возможно, что под действием ЭМП с частотой 3 Гц происходит дальнейшее окисление 8-оксогуанина до таких продуктов, как оксазолон, гуанидиногидантоин и спироиминодигидантоин [1]. Таким образом, при воздействии ЭМП с низкими частотами от 3 до 30 Гц скорость доокисления 8-оксогуанина сопоставима со скоростью окисления нативных гуанинов ДНК. Скорость образования продуктов окисления азотистых оснований под действием ЭМП зависит от концентрации кислорода в растворе.

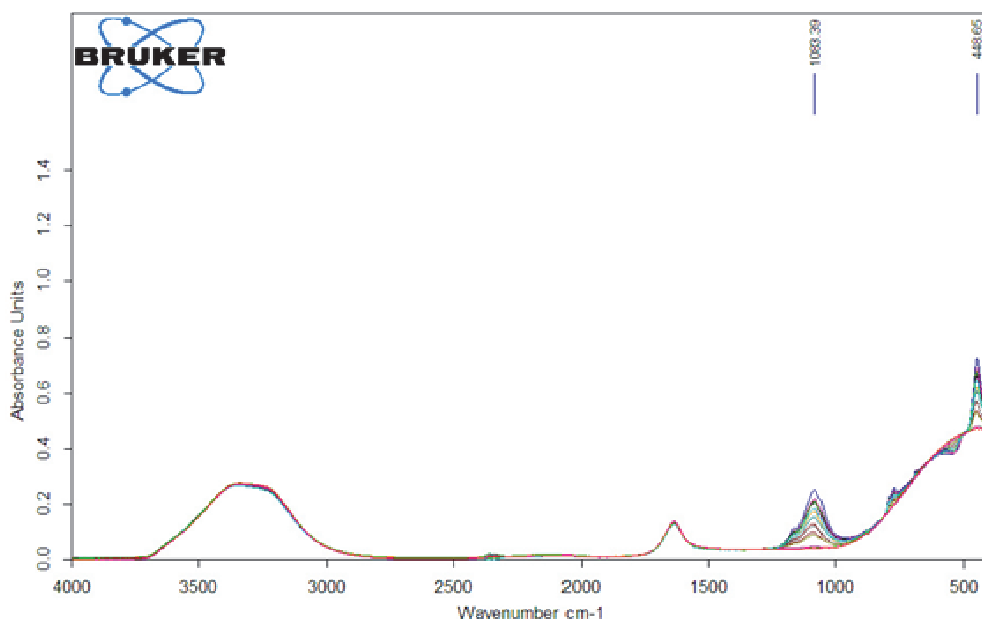


Рис. ИК-спектры водных растворов ДНК, выделенной из цельной крови человека, облученные ЭМП НЧ, при 23 °С

Наличие кислородного эффекта при низкоинтенсивных воздействиях на молекулу ДНК впервые продемонстрировано в работе [12]. В частности, было показано, что образование продуктов депуринизации, урацила и 8-оксогуанина происходит в ДНК за счет АФК, образующихся в растворе под действием тепла. Это согласуется с мнением, изложенным в работах [4, 5], 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 однопонитевых разрывов в растворе ДНК под действием как пероксирадикалов, так и низкочастотного ЭМП отмечается и авторами статьи [12].

Было также рассмотрено влияние СВЧ-излучения на появление однопонитевых разрывов (ОР) ДНК при облучении лимфоцитов на частотах 3,5 ГГц, 50 ГГц, 70 ГГц. Выделение чистой

взвеси лимфоцитов из донорской крови проводили в градиенте плотности фикола-урографина (плотность 1,077 г/мл), как описано в работе [13].

Несмотря на то, что порог ионизации ДНК при данном воздействии составляет несколько десятков эВ, разрыв нитей может эффективно проходить и ниже порога ионизации, а сам механизм, с помощью которого низкоэнергетическая частица порождает такие разрывы, включает в себя короткоживущие промежуточные состояния, связанные с образованием в водной среде гидроксид-радикалов или синглетного кислорода. Полученные данные свидетельствуют о том, что в основе всех типов подобных повреждений ДНК и образованием ОР и продуктов окисления азотистых оснований лежит универсальный механизм, связанный с генерацией АФК в водном растворе под действием ЭМП [7, 12].

Клетки обладают многочисленными механизмами защиты от окислительного повреждения АФК. При этом модифицированные липиды и белки удаляются с помощью нормальных механизмов обмена липидов и белков. Однако модифицированная ДНК не может быть заменена, а должна быть восстановлена [8]. Восстановление целостности двойной спирали, активация чекпойнтов, контролирующей повреждение ДНК, которая останавливает клеточный цикл и предупреждает передачу поврежденных хромосом, изменения в транскрипционном ответе клетки и апоптоз – вот некоторые из важных ответных реакций клетки на окислительные повреждения ДНК [14, 15].

Заключение

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

Определение содержания в сыворотке крови одного из ключевых биомаркеров окислительных повреждений нуклеиновых кислот, опосредованных с генерацией АФК, 8-гидрокси-2-деоксигуанозина, при воздействии на биопробы электромагнитного поля низкой частоты.

В основе всех типов повреждений ДНК, приводящих к образованию ОР и продуктов окисления азотистых оснований, лежит универсальный механизм, связанный с генерацией АФК в водном растворе под действием ЭМП.

Литература

1. Смирнова, С.В. 8-оксогуанин и продукты его окисления. Образование в ДНК под действием тепла, ионов уранила и гамма-излучения / В.С. Смирнова, С.В. Гудков, В.И. Брусков. – Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2011. 152 с.
2. Текуцкая Е.Е. Влияние низкочастотного электромагнитного поля на хемилюминесценцию водных растворов ДНК / Е.Е. Текуцкая, М.Г. Барышев, Г.П. Ильченко // Биофизика. № 6. 2015. Т. 60. вып.6. С. 1099–1103.
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. Tekutskaya, E.E. Study of influence of the low-frequency 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.
5. Текуцкая, Е.Е. Структурные повреждения ДНК лимфоцитов периферической крови человека при воздействии физических факторов / Е.Е. Текуцкая, Р.В. Василяди // Экология человека. 2017. № 12. С. 9–14.
6. 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.
7. Текуцкая Е.Е. Генерация активных форм кислорода под влиянием СВЧ-излучения и их генотоксическое действие / Е.Е. Текуцкая, М.Г. Барышев, Г.П. Ильченко // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018. Т. 52. № 1. С. 56–61.
8. Текуцкая Е.Е. Оценка влияния среды с различным изотопным D/H составом на репарацию ДНК лимфоцитов / Е.Е. Текуцкая, С.С. Джимаков, А.А. Басов, Е.В. Барышева, С.З. Федосов, О.М. Арцыбашева // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2015. Т. 10. № 3. С. 287–292.
9. Герасимов А. Н. Медицинская статистика / А.Н. Герасимов – М.: ООО Медицинское информационное агентство, 2007. 480 с.
10. Пеньков Н.В. Об особенностях молекулярной релаксации в водных растворах // Биофизика. 2013. Т. 58. Вып. 6. С. 933–941.

11. Козлов А.С. Исследование фоторецепторной активности кислорода в связи с задачами беспигментной лазерной терапии / А.С. Козлов, А.А. Красновский // Российский биотерапевтический журнал. 2016. Т. 15. № 1. С. 48.

12. Черников А.В. Кислородный эффект при тепловых повреждениях ДНК / А.В. Черников, С.И. Гудков, И.Н. Штаркман, В.И. Брусков // Биофизика. 2007. Т. 52. № 2. С. 244–251.

13. Текуцкая Е.Е. Влияние внешних факторов на повреждение и репарацию ДНК лимфоцитов периферической крови человека / Е. Е. Текуцкая, З.А. Василиади, А.А. Храмцова // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). № 3 (1). С. 223–225.

14. 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.

15. 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.

Сведения об авторе

Елена Евгеньевна Текуцкая

канд. хим. наук

доц.

Эл. почта: tekytska@mail.ru

Кубанский государственный университет

Россия, Краснодар

Information about author

Elena Evgenievna Tekutskaya

PhD in Chemistry

Assistant professor

E-mail: tekytska@mail.ru

The Kuban state university

Russia, Krasnodar

УДК 577.344
ГРНТИ 34.17.09

¹Тифлова О.А., ¹Дмитриев А.К., ¹Кортунов В.Н., ²Смирнова А.В.,
²Сильверстова С.Ю., ³Калабина Е.А., ⁴Воронов П.Г.

¹ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, Институт фотонных технологий

²ГБУЗ Московский Клинический Научный Центр им.А.С. Логинова ДЗМ

³ФГБУН Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

⁴ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

АНТИФИБРОЗНАЯ РОЛЬ ЦИТОГЛОБИНА В ЛАЗЕРНОМ ПЕРФОРИРОВАНИИ ПЕЧЕНИ

Проведено сравнение отдаленных эффектов перфорации печени крыс in vivo с помощью поглощаемого (980нм) или непоглощаемого (1940нм) глобинами лазерного излучения. Предполагается, что особенности формирования постперфорационного шрама обусловлены антифиброзной активностью цитоглобина.

Ключевые слова: цитоглобин, печень, фиброз, лазерное перфорирование

¹Tiflova O.A., ¹Dmitriev A.K., ¹Kortunov V.N., ²Smirnova A.V., ²Silvestrova S.Yu.,
³Kalabina E.A., ⁴Voronov P.G.

¹FRC "Crystallography and Photonics" RAS

²The Loginov Moscow Clinical Scientific Center

³Branch of Shemyakin - Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS

⁴Institute for Biochemical Physics RAS

CYTOGLOBIN ANTIFIBROTIC ROLE IN LASER PERFORATION

The comparison between long-term effects of rat liver in vivo perforation via laser radiation with wavelengths 980nm (absorbed by globins) and 1940nm (nonabsorbed by globins) has been performed. The features of postoperational scar formation imply their determination by antifibrotic activity of cytoglobin.

Keywords: Cytoglobin, liver, fibrosis, laser perforation

Введение

Лазерная перфорация ишемизированных участков сердечной мышцы широко используется для реваскуляризации миокарда [1]. Одним из возможных эффектов перфорирования является прямая лазерная коррекция жесткости патологических тканей необходимая для нормализации физиологической активности как кардиомиоцитов [2], так и гепатоцитов [3]. В случае

перфорирования печени исключительно важным является разработка метода выбора параметров лазерного излучения, минимизирующих риски индукции неконтролируемой регенерации или фиброза. Одним из ключевых белков, препятствующих фиброзу, является цитоглобин [4] - эффективный рецептор лазерного излучения [5]. Цитоглобин — белок человека и других млекопитающих, продукт гена *CYGB*. Этот глобиновый белок, экспрессируется во всех тканях. Наибольшую концентрацию определяют у морских млекопитающих, способных поддерживать активный метаболизм в условиях гипоксии и гипоксемии при низких температурах окружающей среды. Полагают, что он защищает их от гипоксии [6,7]. Этот тип белков имеет димерную структуру, и, как предполагается, принимает участие в переносе кислорода и его депонировании в органах и тканях с активным метаболизмом [8]. Участие данного типа белков в патологии в настоящее время активно изучается в связи с возможным участием их в сохранении функций мозга при гипоксии [9, 10]. Также данный белок является важным компонентом для выживания опухолевых клеток [11, 12]. Целью работы являлось сравнение отдаленных последствий лазерного перфорирования печени крыс *in vivo* с помощью ближнего ИК излучения, лежащего в полосе поглощения глобинов, и более длинноволнового лазерного излучения.

Материалы и методы исследования

В качестве источников лазерного излучения использовались диодный лазер с длиной волны 0,98 мкм мощностью до 15 Вт и волоконный лазер с длиной волны 1,94 мкм мощностью до 10 Вт. Перфорация проводилась волокном диаметром 600 мкм при естественном надавливании на поверхность выделенной доли печени. Скорость перфорации приблизительно 5 мм/с. После перфорации волокно извлекалось из образованного канала. До начала и во время перфорации, а также, через 2 мин и 4 мин после перфорации область печени сканировалась тепловизором и измерялась температура поверхности ткани печени как в области перфорации, так и соседних участков. Скорость съемки варьировалась от 6 кадр/с – неповрежденная печень, до 25 кадр/с – во время и после перфорации.

Для визуализации температурных полей в биотканях при их лазерной перфорации была использована инфракрасная камера (тепловизор) FLIR A655sc (FLIR Systems, Inc. Швеция). Разрешение камеры: 640x480 пикселей при 50 Гц, 640x120 п. при 200 Гц, динамический диапазон 16 бит. Датчик – неохлаждаемый 17 мкм болометр с быстродействием 8 мсек, работающий в диапазоне длин волн 7.5мкм-14мкм. Температурная чувствительность 50мК в диапазоне температур (-20°C - +150°C). Тепловизор располагался на расстоянии 10-15 см от поверхности образца, под углом к ней, чтобы исключить прямую засветку камеры тепловизора лазерным излучением.

В качестве объектов воздействия излучения использовались самки крыс Wistar, которые были сгруппированы по весу 250-255гр. За 12 часов до начала исследования животным оставляли только воду. Анестезия использовалась общая, для чего в/м вводили 15 мг/кг веса раствора «Телозол». Оценка глубины анестезии проводилась физикальными методами, при которых оценивали корнеальный и сухожильный рефлекс, глубину дыхания, частоту дыхательных движений и частоту сердечных сокращений.

После достижения желаемой глубины общей анестезии проводили разрез по белой линии живота в верхней трети брюшка, добивались надежного гемостаза краев операционной раны, затем освобождали край правой центральной доли печени. В дальнейшем крысам проводили лазерное воздействие на ткани печени или в горизонтальной плоскости, или в вертикальной плоскости или во взаимоперпендикулярных направлениях горизонтальной плоскости.

При выполнении всех типов манипуляций возникли сложности с проведением светодиода под капсулу печени. Учитывая ее толщину и высокий риск развития кровотечения ее не вскрывали инструментально, а пропаявали светодиодом.

После окончания процедуры лазерного воздействия, органы помещали обратно в брюшную полость, операционную рану ушивали послойно, соблюдая правила асептики. Наложение кожных швов проводили прерывистым методом, п-образными разнонаправленными швами. Кожный шов обрабатывали порошком «Раносан» после герметизации краев клеем БФ-6 с целью профилактики самостягивания лигатуры.

Наблюдение за животными осуществляли с первого дня после операции до 14-ого. Для определения концентрации глюкозы крови был использован глюкометр Accu-Chek (RocheDiagnostics, Швейцария) с прилагающимся ланцетом и тест-полосками. Прибор был откалиброван на концентрацию глюкозы 2,8-21,0 мМ/л. Для взятия крови животное мягко фикси-

ровали, кончик хвоста пробивали иглой ланцета, каплю крови помещали на тест-полоску для измерения глюкозы крови. Группа контроля была составлена из равновесных животных той же поставки, но не имевших оперативного повреждения печени.

Убой прооперированных животных осуществляли методом передозировки анестетика «Телазол» с последующей дислокацией и декапитацией. Аутопсия прежде всего была направлена на определение внешнего вида поврежденного лазером органа. При дневном освещении на белой подложке определяли степень изменения цвета печени, ее консистенцию, наличие образований: абсцессов и сухих некрозов. Также оценивали степень спаянности органа с прилежащими тканями и органами. Печень, взятую при аутопсии, взвешивали, измеряли в 3 направлениях: толщина, длина и ширина.

Результаты и обсуждение

Печень первой крысы перфорировалась излучением диодного лазера 0,98 мкм, мощностью 4,5 Вт. В печени, вдоль плоскости доли, производилось одно несквозное отверстие, на глубину около 1 см. На рис.1 представлена динамика изменения температуры на поверхности печени в области воздействия.

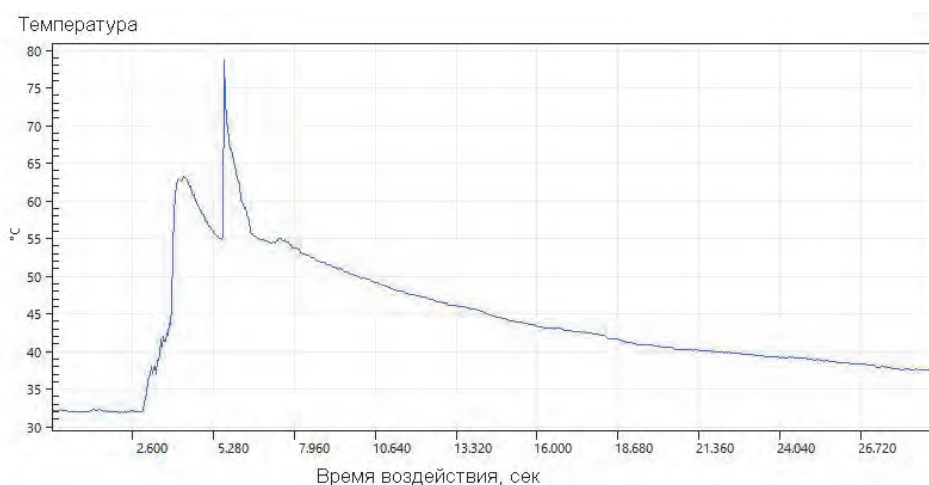


Рис.1. Динамика изменения температуры на поверхности печени в области воздействия. Нормальная температура печени (31 -33 °C) восстанавливается за 1- 2 мин.

Печень второй крысы перфорировалась излучением диодного лазера 0,98 мкм, мощностью 2,5 Вт и 8 Вт, т.е. дважды. При мощности 2,5 Вт отверстие сделать не удалось, но нагрев печени был. Повторная перфорация той же доли печени произведена успешно, также вдоль плоскости доли, на глубину около 1 см. На рис.2 представлена динамика изменения температуры на поверхности печени в области воздействия. Мощность излучения – 8 Вт.

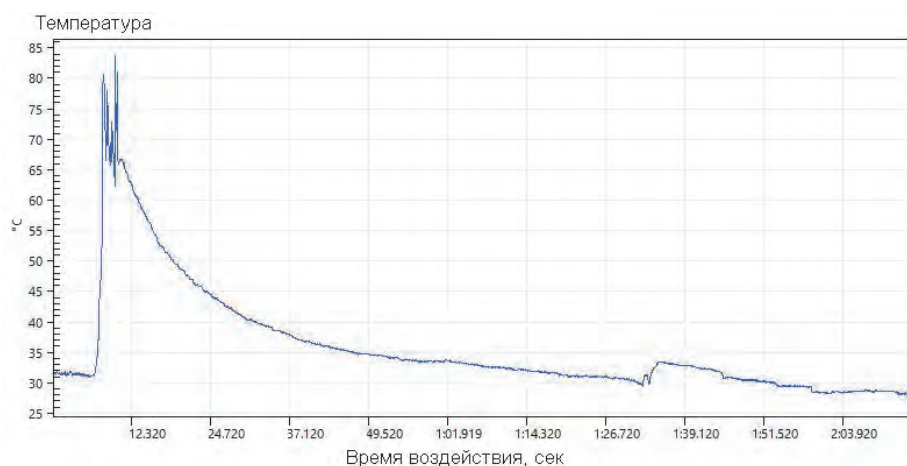


Рис.2. Динамика изменения температуры на поверхности печени в области воздействия. Мощность излучения – 8 Вт.

Печень третьей крысы перфорировалась излучением волоконного лазера 1,94 мкм, мощностью 4,5 Вт и 8,5 Вт, т.е. дважды. При мощности 4,5 Вт отверстие сделать не удалось, но на-

грев печени был значительный – до 60-70 °С, поэтому повторно перфорировалась другая доля печени. Для перфорации при максимальной мощности излучения пришлось прикладывать дополнительные механические усилия, возможно из-за быстрого разогрева торца волокна и образования нагара. Температура поверхности печени не превышала 100° С при перфорации и быстро остывала до нормы.

Установлено, что у первого из 3 животных в процессе заживления дефекта образовался сухой некроз. У всего нижележащего под поперечным ходом лазера участок печени преобладал серо-коричневый внешний цвет, при разрезе пораженного участка, кровь выделялась скудно, консистенция этого края была плотная, схожая с толстой резиной. Сосудистый рисунок на органе изменен не был, остальные доли печени изменений не имели, внешний вид соответствовал группе контроля.

У второго животного образовался подпеченочный абсцесс, который распространялся по задней поверхности 2-ой доли печени, захватывая левую центральную долю, часть передней поверхности правой центральной доли, сальник, поджелудочную железу и петли тонкой кишки. Селезенка этого животного имела увеличенные размеры, края были сглажены, строма была представлена крупными дольчатыми элементами. Капсула почки снималась с трудом, почки при разрезе были темно-вишневого цвета, несколько увеличенный в размере корковый слой видимых изменений не имел. Петли тонкой кишки были спаяны в конгломерат с тканями печени и поджелудочной железы. Кровеносные сосуды были расширены.

У третьего животного после операции на поверхности доли печени, в проекции хода лазерного луча, образовался серый, с измененной консистенцией тяж. Селезенка была увеличена, края сглажены, структура при разрезе не измененная, края по разрезу сопоставлялись полностью, но на краю не плотно. Почки были увеличены в поперечном размере в сравнении с контролем, но с прооперированными животными.

Быстрая реакция на тепловое воздействие перфорирующего лазерного излучения может быть подразделена на три уровня: во-первых, немедленная гибель клеток уже в процессе облучения, во-вторых, отсроченная гибель клеток, которые подверглись термическому шоку или страдают от недостатка питательных веществ вследствие лазерной коагуляции сосудов; в-третьих, не исключена также возможность стимулирующего воздействия умеренного нагрева на рафтовую структуру мембран различных типов клеток, составляющих печень [13]. Известно, что гибель значительной части клеток печени может стать причиной острой гипогликемии, а в условиях недостатка кислорода и питательных веществ гепатоциты накапливают глюкозу, что в случае их отсроченной гибели приводит к острой гипергликемии [14]. Наблюдаемая в наших экспериментах (Рис. 3) корреляция между уровнем термического воздействия и концентрацией глюкозы в венозной крови в первые дни после облучения открывает возможность после всестороннего изучения использовать этот простой и надежный критерий для количественной оценки воздействия на печень тепловой компоненты перфорирующего лазерного излучения.

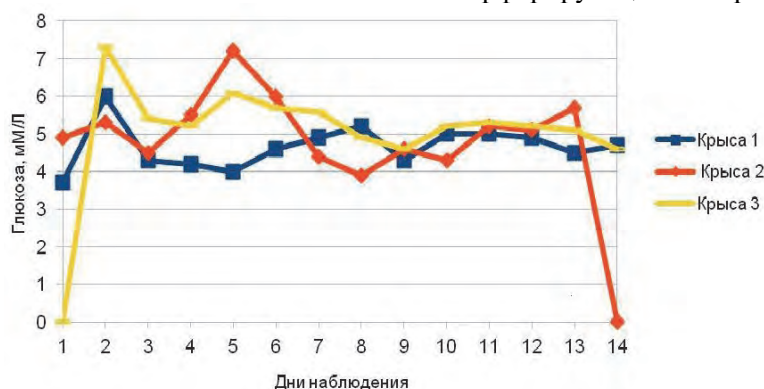


Рис.3. Динамика изменения концентрации глюкозы в крови крыс

Вклад в конечный эффект лазерной перфорации печени может также вносить механическая компонента лазерного излучения, обусловленная акустикой, поскольку механическая модуляция поверхности гепатоцитов, открывает перспективы лазерной коррекции образования микровезикул, осуществляющих межклеточные взаимодействия в норме [15] и патологии [16].

Световая компонента лазерного излучения воспринимается эндогенными фоторецепторами, имеющими полосы поглощения соответствующие длинам волн перфорирующего излучения. Одним из таких хромофоров, имеющим, как и другие глобины, полосу поглощения с мак-

симумом около 1000нм и не поглощающий в области 2000 нм [5], является цитоглобин, присутствующий в высокой концентрации в клетках печени [17], невусов [18] и хрящей [19]. Ранее нами было показано, что лазерное излучение в полосах поглощения цитоглобина способно приводить к фотобиомодуляции хондроцитов [20]. Известно, что в печени цитоглобин играет ключевую роль в предотвращении фиброза [4]. В условиях наших экспериментов не наблюдается признаков фиброза при использовании излучения с длиной волны 0,98мкм в отличие от излучения с длиной волны 1,94мкм. Такое наблюдение согласуется с литературными данными о преимуществах воздействия на печень мощного лазерного излучения с длиной волны 1064нм, также лежащей вблизи пика поглощения цитоглобина по сравнению с длинноволновым излучением [21]. Эти данные позволяют предположить важную роль антифиброзной фотобиомодуляции в процессе лазерной перфорации насыщенных хромофорами органов.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты: выявлена роль цитоглобина, поглощающего рассеянное излучение перфорирующих лазерных установок в торможении фиброза. Предложен критерий для количественной оценки воздействия на печень тепловой компоненты перфорирующего лазерного излучения, основанный на корреляции между уровнем термического воздействия и концентрации глюкозы в венозной крови.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН.

Литература

1. Беришвили И. И. Трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация. Вторая жизнь. – М.: Изд.-во ГЕОС, 2016.
2. Li J. et al // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2016. 94 (11). 1178.
3. Desai S. S. et al // *Hepatology.* 2016. 64 (1). 261.
4. Xu R. et al // *Mol. Ther.* 2006, 13, 1093.
5. Nozawa T. et al // *Biochim. et Biophys. Acta.* 1976. 427. 28.
6. Kawada N, et al. // *J. Biol. Chem.* 2001. 276 (27). 25318.
7. JT, Hargrove MS // *J. Biol. Chem.* 2002. 277 (22). 19538.
8. Степанов Е.В. Диодная лазерная спектроскопия и анализ биомаркеров. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. 416. Глава 4. 163.
9. Tan B. // *Alzheimer's research & therapy*, 2018. 10(1), 114.
10. Ainslie P. N. et al *Experimental physiology*, 2016. 101(9), 1160.
11. Milani M. et al *Oncotarget*, 2017 8(45), 78870.;
12. Bholah T. C. et al // *BioMed research international*, 2015 Article ID 824514, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/824514>
13. Baum O. I. Dmitriev A. K. et al // *J. of Biomedical Photonics & Engineering.* 2018. 4. 020302-1.
14. Han S, Ko J. S. et al *PLoS ONE.* 2014. 9 (10): e109120.
15. Herrera M. B. Fonsato V. et al // *J Cell Mol Med.* 2010. 14(6b): 1605.
16. Bocca C., Novo E. et al // *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2015, 1, 477.
17. Stone LC, Thorne LS, Weston CJ, Graham M. et al // *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2015 doi: 10.1186/s13069-015-0032-y. eCollection 2015.
18. Fujita Y, Koinuma S, De Velasco MA, Bolz J, Togashi Y, et al. // *PLoS ONE* 2014. 9(4): e94772. doi:10.1371/journal.pone.0094772
19. Schmidt M, Gerlach F, Avivi A, et al // *J Biol Chem.* 2004. 279(9). 8063.
20. Alexandrovskaya Yu. M. et al // *Laser Physics Letters.* 2018. 15. 085601-1.
21. Швед И.А., Владимирская Т.Э. и др. // *Здравоохранение.* 2014. № 3. С. 4.

Сведения об авторах

Ольга Антоновна Тифлова

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: olantp@gmail.com

Александр Константинович Дмитриев

науч. сотр.

Эл. почта: dmitriev_a62@mail.ru

Information about authors

Olga Antonovna Tiflova

Candidate of Biological Sciences

senior researcher

E-mail: olantp@gmail.com

Alexandr Konstantinovich Dmitriev

Researcher

E-mail: dmitriev_a62@mail.ru

Владимир Николаевич Кортунов

науч. сотр.

Эл. почта: vnkor@yandex.ru

ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН

Институт фотонных технологий

Россия, Москва

Анна Вячеславовна Смирнова

канд. биол. наук

науч. сотр.

Эл. почта: Smirno-ova@mail.ru

Светлана Юрьевна Сильверстова

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: syusilvestrova@yandex.ru

ГБУЗ Московский Клинический Научный Центр

им.А.С. Логинова ДЗМ

Россия, Москва

Елена Андреевна Калабина

мл. науч. сотр.

Эл. почта: kalabina73@yandex.ru

ФГБУН Институт биоорганической химии им.

академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

РАН

Россия, МО, Пушкино

Петр Георгиевич Воронов

науч. сотр.

Эл. почта: elly.estel@gmail.com

ФГБУН Институт биохимической физики им.

Н.М. Эмануэля РАН.

Россия, Москва

Vladimir Nikolaevich Kortunov

Researcher

E-mail: vnkor@yandex.ru

FRC "Crystallography and Photonics" RAS

Institute of Photonic Technologies

Russia Moscow

Anna Vyacheslavna Smirnova

Candidate of Biological Sciences

senior researcher

E-mail: Smirno-ova@mail.ru

Svetlana Yur'evna Silvestrova

Candidate of Biological Sciences

senior researcher

E-mail: syusilvestrova@yandex.ru

The Loginov Moscow Clinical Scientific Center

Russia Moscow

Elena Andreevna Kalabina

Researcher

E-mail: kalabina73@yandex.ru

Branch of Shemyakin - Ovchinnikov Institute of

Bioorganic Chemistry RAS

Russia, MO, Pushchino

Petr Georgievich Voronov

Researcher

E-mail: elly.estel@gmail.com

Institute for Biochemical Physics RAS

Russia Moscow

УДК 577.1.04;577.15.03

ГРНТИ 34.17.23

Алексеева О.М., Кременцова А.В., Кривандин А.В., Шаталова О.В.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН

ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА И ЕГО ГИДРОФИЛЬНЫХ И ГИДРОФОБНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НА ОРГАНИЗАЦИЮ БЕЛКОВ В СТРУКТУРЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ.

В статье обсуждается действие экзогенных синтетических веществ, проявляющих свойства биологически активных веществ, на экспериментальные объекты - эритроциты и их тени. Применялись два производных антиоксиданта фенозана – гидрофильный феноксан и гидрофобный ИХФАН. Регистрация ДСК методом параметров термоиндуцированной денатурации белковых микродоменов в тенях эритроцитов при обработке водными растворами феноксана или водными суспензиями ИХФАНа при больших и средних концентрациях выявила перестройку в организации белковых микродоменов.

Ключевые слова: ДСК, эритроциты, тени эритроцитов, антиоксидант, фенозан, производные фенозана.

Alekseeva O.M., Kremontsova A.V., Krivandin A.V., Shatalova O.V.

Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS

THE ACTION OF SYNTHETIC ANTIOXIDANT FENOZAN AND ITS HYDROPHYLIC AND HYDROPHOBIC DERIVATIVES TO PROTEIN ORGANISATION AT ERITHROCYTE MEMBRANE'S STRUCTURE

The paper discusses the actions of exogenous synthetic substances, which have the biological active properties, to experimental objects. These substances are the two derivatives of antioxidant fenzan – hydrophilic fenoksan and hydrophobic IHFAN. Experimental objects are the erythrocytes and its ghosts as. DSC measuring of thermo induced thermodenaturation parameters of erythrocyte's ghosts under the treatment by fenzan derivatives have shown that aqua solutions of fenoksan and aqua suspensions of IHFAN at large and middle concentration led to the perturbations of proteins microdomains organization.

Keywords: DSC, erythrocytes, erythrocyte's ghost, hemolysis, antioxidant, fenzan derivatives

Введение. Актуальность представленных исследований заключается в том, что влияние синтетических биологически активных веществ (БАВ), предлагаемых для терапевтических целей или адаптации, должно быть протестировано на моделях клеточных структур и на целых клетках животного происхождения. Получение эритроцитов достаточно простыми методами, исследование изменений проницаемости их мембраны и факторов влияния на функции и структуру мембраны позволяет использовать эритроциты, как тест-объект для проверки разнообразных воздействий БАВ. Как модель, освобожденные от гемоглобина эритроциты - тени эритроцитов, являются достаточно адекватной имитацией основных белок-липидных компонентов плазматической мембраны и внутреннего цитоскелета большинства клеток животного организма. Тестируемые вещества - производные антиоксиданта фенозана [1], созданного для стабилизации полимеров, гидрофильный феноксан и гидрофобизованный ИХФАН-10[2], представлены на рисунке 1.

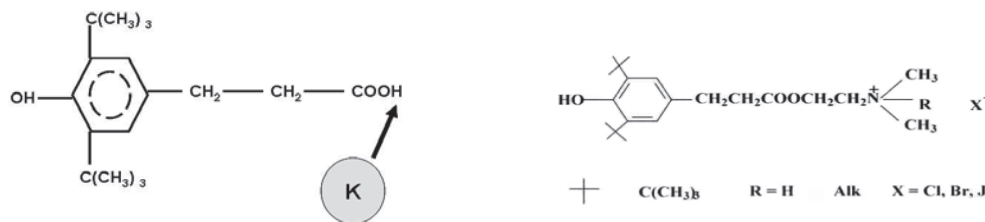


Рис. 1. Структурная формула фенозана и его калиевой соли - феноксана (слева), структурная формула ИХФАНов (справа)

При исследовании вероятных биологических эффектов фенозана и его производных было обнаружено, что большие концентрации БАВ нарушают структуру бислоев в фосфолипидных мультисамеллярных липосомах [3,4] и, встраиваясь в верхний листок мембраны эритроцитов, меняют поверхностную архитектуру клеток [5]. При кратковременном воздействии фенозана и его производных в организме теплокровных животных происходит изменение морфологии эритроцитов [6]. И при длительном воздействии фенозана на животных в биологических жидкостях определяются продукты его катаболизма, имеющие большие гепатопротекторные свойства, чем исходно инъецированный фенозан [7]. Кроме того, производные фенозана проявили и адаптогенные свойства при применении в малых и сверхмалых концентрациях [8-10].

Целью данной работы было выявление возможного влияния водных растворов и эмульсий производных антиоксиданта фенозана на клетки животных на модельных системах – эритроцитах и их тенях. Примененный в настоящей работе метод ДСК, позволяет оценить стабильность белковых микродоменов клеточной оболочки и цитоскелета в присутствии БАВ и некоторых факторов среды.

Материалы и методы NaCl, KCl, KН₂PO₄, Na₂HPO₄, (Sigma). Феноксан – калиевая соль фенозана - β-(4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилфенил) пропионовая кислота, синтезированного в ИХФ РАН им. Н.Н.Семенова. ИХФАНЫ – сложноэфирные производные (метилокса) (3,5 дитрет бутил -4-гидроксифенилпропановой кислоты) и этаноламина (коламина), замещенного алкильными заместителями с разной длиной цепи 8; 10; 12; 16 углеродных атомов, синтезированы в ИБХФ РАН им. Н.М.Эмануэля.

Приготовление водных растворов и суспензий биологически активных веществ. Водные растворы феноксана, в диапазоне концентраций (10⁻¹⁰ - 10⁻² М) приготавливали методом последовательных разбавлений с интенсивным перемешиванием с помощью вортекса. Суспензии ИХФАН-10 приготавливали также. Исходный концентрированный раствор ИХФАН-10 готовили в этаноле. Перед измерениями раствор БАВ добавляли в образец сравнения, содержащий фосфатный буфер, образец вносили в контрольную ячейку. Для приготовления экспериментального образца раствор БАВ добавляли в приготовленную суспензию теней эритроцитов.

Получение эритроцитов и теней эритроцитов проводилось по методам [11,12] с дифференциальным центрифугированием с соблюдением температурного режима

Микрокалориметрическое исследование теней эритроцитов проводили по методу [13]. Температурная зависимость избыточного удельного теплопоглощения экспериментальных модельных объектов отражалась в виде кинетической кривой – термограммы. Термограммы

водных суспензий теней эритроцитов регистрировали на дифференциальном адиабатном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (Специальное Конструкторское Бюро АН СССР, г. Пущино). Устройство, принцип работы и основные характеристики ДАСМ-4 описаны в [14]. Измерения проводили в фосфатном буфере при скорости прогрева 1 град/мин. Регистрировали в режиме цикла не менее трех раз. Феноксан добавляли к теням, ИХФАН-10 добавляли в процессе получения препарата теней из эритроцитов. Анализировали термограммы с помощью программного пакета MicroCal Origin 5 («Microcal Software», Northampton, MA) по методу [12].

Результаты. Как представлено в таблице 1 и на рисунках 2 и 3, методом ДСК было показано, что температурная зависимость структурных переходов основного скелетного белка мембраны эритроцитов – спектрина (пик *A*), существенно изменяется малыми дозами ИХФАНа и феноксана. При ДСК тестировании теней эритроцитов происходит сдвиг температурных максимумов и меняется амплитуда пиков, если предварительно эритроциты инкубировались в течение 45-90 мин. в присутствии БАВ. Подобные изменения, выявленные в структуре теней эритроцитов, могут появляться в мембранах других клеток, поскольку белки семейства спектрина, анкирина, белков полос 4,1 и 4,2 и белка полосы 3 представлены в составе цитоскелета многих клеток организма.

Таблица 1

Влияние феноксана 10^{-5} М на температуру максимума ($T_{\text{макс}}$) перехода ($^{\circ}\text{C}$) в мембранах теней эритроцитов

| Пики термо-индуцированных переходов белковых микродоменов | $T_{\text{макс}}$ ($^{\circ}\text{C}$), феноксан | $T_{\text{макс}}$ ($^{\circ}\text{C}$), контроль |
|---|--|--|
| <i>A</i> (денатурация α - и β - спектрина и актина) | 53.2 | 52.0 |
| <i>B1</i> (денатурация анкирина, дематина и белков полос 4.1, 4.2.) | 56.4 | 55.2 |
| <i>B2</i> (денатурация цитоплазматического фрагмента белка полосы-3) | 60.2 | 62.0 |
| <i>C</i> (денатурация мембранного фрагмента 55 кДа белка полосы-3, с компонентами ионных каналов) | 67.0 | 67.4 |
| <i>D</i> (термоденатурация неидентифицированных белков и везикуляция мембраны) | 73.6 | 75.0 |

На рисунке 2 показано, что ИХФАН-10 и феноксан меняют структуру теней. Тени эритроцитов преинкубировали с ИХФАН-10, переосаждали, суспендировали и тестировали методом ДСК. ИХФАН-10 и феноксан смещают *A*-переход в область более высоких температур, *B2*, *C* и *D*-переходы смещаются в область более низких температур.

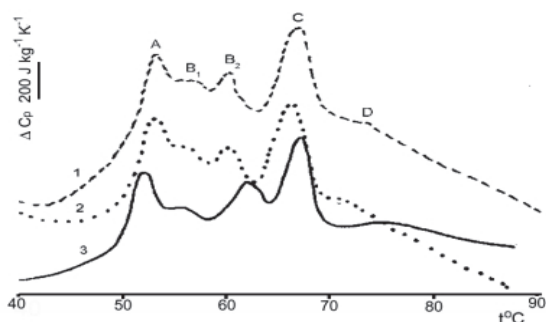


Рис. 2. Влияние производных фенозана на термостабильность белков теней эритроцитов. Термограммы: 1 - тени, обработанные феноксаном; 2 – тени с ИХФАН-10; 3 – контроль

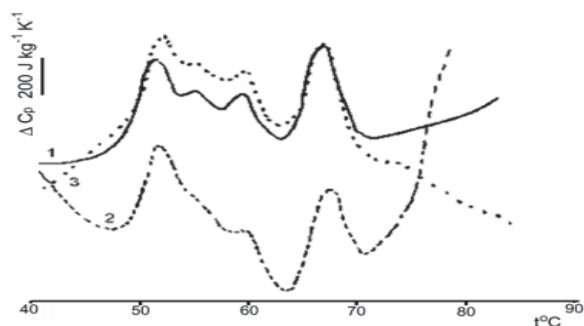


Рис.3. Влияние производных фенозана на термостабильность белков теней эритроцитов в присутствии этанола. Термограммы: 1 - тени необработанные - контроль; 2 – тени с добавлением этанола (менее 1%); 3 – с ИХФАН-10 (с этанолом)

Выявлены изменения структурной организации белковых доменов мембран теней эритроцитов присутствии ИХФАН-10 при концентрации 10^5 - 10^7 М, что коррелирует также и со степенью гемолиза [15]. При более низких концентрациях уровень изменений резко снижается. По-видимому, клетки крови не подвергаются побочным эффектам при использовании ИХФАН-10 в фармакологии концентрации не выше 10^8 М. Далее оценили стабильность белковых микродоменов клеточной оболочки и цитоскелета в присутствии БАВ и некоторых факторов среды (в данном случае этанола). Тени эритроцитов преинкубировали с ИХФАН-10 10^6 М на фоне этанола, только с этанолом, и не обрабатывали ничем - контроль. Переосаждали, отмывая от не связавшихся веществ, и тестировали методом ДСК. Термограммы, представленные на рисунке 3, показывают, что

ИХФАН-10 и этанол меняют структуру теней эритроцитов. Этанол нарушает структуру мембраны теней, добавление ИХФАН-10 восстанавливает структуру. Сделан вывод о стабилизирующей роли ИХФАН-10 (в дозе 10^{-6} М) на структуру выделенной мембраны. Видно, что этанол влияет на вид термограммы, искажая пики переходов V_1 и V_2 -и D - перехода. Обработка ИХФАН-10 возвращает вид термограммы практически к первоначальному, за исключением D - перехода.

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты. При исследовании мембран и цитоскелета эритроцитов было показано доза-зависимое влияние производных фенозана на структуру эритроцитов. Деструктивные изменения белковых компонентов плазматической мембраны и цитоскелета эритроцитов производные фенозана: калиевая соль фенозана - гидрофильный феноксан и гидрофобизованный ИХФАН-10, вызывали при применении в диапазоне больших концентраций 10^{-4} М - 10^{-5} М. ИХФАН на структуру мембран эритроцитов оказывал стабилизирующее действие при применении в концентрациях 10^{-6} М и менее. Это соответствует литературным данным о полимодальном, доза-зависимом изменении микровязкости целых, изолированных из кровяного русла, эритроцитов. Гемолиз эритроцитов и активацию утечки через K^+ каналы ИХФАН-10 вызывал в концентрации 10^{-4} М - 10^{-5} М. [15]. Актуальность проведенных исследований заключается в том, что, фенозан, ранее известный, как адаптоген [8], при применении в диапазоне больших концентраций 10^{-4} М - 10^{-5} М, может приводить к перестройке белковых компонентов клетки. А ИХФАН-10 при применении даже в малых дозах, являясь гидрофобизованным веществом, может накапливаться в мембранах, что приведет к их деструкции. Принимая во внимание то, что состав белковых микродоменов в тенях эритроцитов в значительной степени подобен белок-липидному составу цитоскелета и плазматической мембраны многих видов клеток, можно эту модель использовать для тестирования биологически активных веществ, предлагаемых для регуляции клеточных активностей в норме и в патологии [12].

Литература

1. *Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А.* Пространственно - затруднённые фенолы. Химия. 1972. 352 с.
2. *Никифоров Г.А., Белостоцкая И.С., Вольева В.Б., Комиссарова Н.Л., Горбунов Д.Б.* Биоантиоксиданты «поплавкового» типа на основе производных 2,6 дитретбутил-фенола // Научный вестник мед акад: сб. "Биоантиоксиданты". – Тюмень, 2003. С. 50–51.
3. *Архипова Г.В., Бурлакова Е.Б., Кривандин А.В., Погорецкая И.Л.* Влияние фенозана на структуру фосфолипидных мембран // Нейрохимия. 1996. Том 13. С. 128–132.
4. *Кривандин А.В., Фаткуллина Л.Д.* Исследование встраивания антиоксиданта ИХФАН в липосомы методом малоуглового рентгеновского рассеяния // Химическая физика. 2013. Т. 32. С. 91–96.
5. *Гендель Л.Я., Ким Л.В., Лунева О.Г., Федин В.А., Круглякова К.Е.* Изменения поверхностной архитектуры эритроцитов под влиянием синтетического антиоксиданта фенозана-1. // Известия РАН. сер. биологическая. 1996. № 4. С. 508–512.
6. *Бинюков В. И., Алексеева О. М., Миль Е. М., Албантова А.А., Фаттахов С. Г., Голощапов А. Н., Бурлакова Е. Б., Коновалов А. И.* Изучение влияния фенозана, ИХФАН-10 и мелафена на эритроциты *in vivo* методом АСМ. ДАН. 2011. Т. 441. № 1. С. 114–117.
7. *Прокопов А.А., Шукиль Л.В., Берлянд А.С.* Изучение метаболизма фенозан-кислоты в организме кроликов // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40. С. 3–4.
8. *Фаткуллина Л.Д., Бурлакова Е.Б., Заварыкина Т.М., Жижина Г.П.* Действие антиоксиданта фенозана на структурные характеристики мембран и ДНК при развитии спонтанного лимфолейкоза мышей // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник материалов IX Международного симпозиума. Москва 20-25 апреля 2015 г. под ред. Загоскиной Н.В. С. 151–154. 3.
9. *Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н., Трещенкова Ю.А.* Действие малых доз фенозана на биохимические свойства лактатдегидрогеназы и микровязкость мембран микросом мозга мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2003. № 3. С. 320–323.
10. *Molochkina E.M., Ozerova I.B., Burlakova E.B.* «ICHFAN» - new antioxidant drug for the treatment of Alzheimer's disease. *Free Rad Biol Med.* 2002, V. 33. Issue 2S1. P. 229–230.
11. *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.

12. 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.
13. 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.
14. Privalov P.L., Plotnikov V.V. Three generations of scanning microcalorimeters for liquids // Therm. Acta. 1989. Vol. 139. P. 257–277.
15. Векишина О.М. (Алексеева), Фаткуллина Л.Д., Ким Ю.А., Бурлакова Е.Б. Изменения структуры и функций мембран эритроцитов и клеток асцитной карциномы Эрлиха при действии гибридного антиоксиданта нового поколения ИХФАН-10 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2007. № 4. С. 402–406.

Сведения об авторах

Ольга Михайловна Алексеева

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: olgavek@yandex.ru

Анна Владимировна Кременцова

канд. физ.-мат. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: akrementsova@mail.ru

Алексей Владимирович Кривандин

канд. физ.-мат. наук

вед. науч. сотр.

Эл. почта: a.krivandin@sky.chph.ras.ru

Ольга Владимировна Шаталова

науч. сотр.

Эл. почта: Shatalova@sky.chph.ras.ru;

Институт биохимической физики им. Н.М. Эммуэля РАН
Россия, Москва

Information about authors

Olga Michailovna Alekseeva

PhD Biologist

Senior Scientist

E-mail: olgavek@yandex.ru

Anna Vladimirovna Kremntsova

PhD of Physical and Mathematical Sciences

Senior Scientist

E-mail: akrementsova@mail.ru

Aleksey Vladimirovich Krivandin

DSc of Physical and Mathematical Sciences

Leading Scientist

E-mail: a.krivandin@sky.chph.ras.ru

Olga Vladimirovna Shatalova

Scientist Emanuel

E-mail: Shatalova@sky.chph.ras.ru;

Institute of Biochemical Physics of RAS
Russia, Moscow

УДК 577.3
ГРНТИ 76.29.29

¹Петухов В.И., ²Дмитриев Е.В., ³Баумане Л.Х., ⁴Скальный А.В.

¹Владимирский госуниверситет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых

²Институт вычислительной математики РАН

³Латвийский институт органического синтеза

⁴АНО «Центр Биотической Медицины»

**СИНХРОННОСТЬ РАБОТЫ МЕМБРАННЫХ ПОМП В ЭПИДЕРМИСЕ:
ВОЗМОЖНОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ УРОВНЯ СИНХРОНИЗАЦИИ**

В работе представлены результаты количественной оценки содержания в волосах металлов (Al, Cd, Fe, Cr, Cu, Li, Pb, V и Zn) методом атомно-эмиссионной спектроскопии у 952 здоровых субъектов и 952 ликвидаторов Чернобыльской аварии. С помощью корреляционного анализа полученных данных (Pearson) были найдены парные корреляции между концентрационными значениями металлов. По мнению авторов, критичность или синхронизация (как частный случай критического состояния системы) могут быть присущи всем АТР-зависимым мембранным насосам (P-type), контролирующим металло-лигандный гомеостаз в эпидермисе. Предложен количественный критерий (индекс синхронизации) для измерения уровня синхронизации (критичности) в функционировании мембранных АТФаз.

Ключевые слова: оксид натрия, металло-лигандный гомеостаз, окислительный/нитроза-
тивный стресс, самоорганизованная критичность, эпидермис

¹Petukhov V.I., ²Dmitriev E.V., ³Baumane L.K., ⁴Skalny A.V.

¹Vladimir State University

²Institute of Numerical Mathematics RAS

³Latvian Institute of Organic Synthesis

⁴ANO «Centre of Biotic Medicine»

QUANTITATIVE EVALUATION OF THE LEVEL OF SYNCHRONIZATION IN THE WORK OF MEMBRANE PUMPS IN EPIDERMIC CELLS

The paper presents the results of a quantitative assessment of the content of metals in the hair (Al, Cd, Fe, Cr, Cu, Li, Pb, V and Zn) by atomic emission spectrometry in 952 healthy subjects and 952 Chernobyl disaster cleaners. Using correlation analysis of the obtained data (Pearson), paired correlations were found between the concentration values of metals. According to the authors, criticality or synchronization (as a specific case of the critical state of the system) may be inherent in all ATP-dependent membrane pumps (P-type) controlling the metal-ligand homeostasis in the epidermis. A quantitative criterion (synchronization index) is proposed for measuring the level of synchronization (criticality) in the functioning of membrane ATPases.

Keywords: nitric oxide, metal-ligand homeostasis, oxidative/nitrosative stress, self-organized criticality, epidermis

Введение. Критичность или синхронизация (как частный случай критического состояния системы) может быть присуща всем АТФ-зависимым мембранным насосам (Р-типе), контролирующим МЛГ эпидермиса. Поэтому представляет интерес количественная оценка синхронизации (критичности) работы этих мембранных помп.

Одна из попыток получить такую оценку сделана авторами настоящей статьи. Предлагаемый подход базируется на основных положениях *теории самоорганизованной критичности* [3] и современном представлении о существовании в клетке трёхкомпонентной биосистемы, состоящей из нитрооксида (NO), нитрозотиолов (RS-NO) и негемового железа, точнее его динитрозильных комплексов (ДНКЖ) [4].

NO, точнее, его активные дериваты (ионы нитрозония и нитроксила) выступают в роли активаторов АТФаз из семейства Р-типе, S-нитрозилируя SH-группы цистеина в белковых молекулах этих помп. Способностью к редокс-модификации аминокислотных остатков с образованием дисульфидных связей обладают также активные формы кислорода (АФК).

Активированные молекулы АТФаз на клеточной мембране образуют (по терминологии *теории самоорганизованной критичности*) “систему осцилляторов со слабым взаимодействием между ними”, что допускает (при достижении пороговой плотности) возможность их спонтанной *самоорганизации* – переходу в *критическое состояние* или *синхронизацию*.

В недавних исследованиях нам удалось обнаружить признаки критического периода в МЛГ (по наличию степенной зависимости между концентрационными значениями) для таких металлов, как Na, K, Ca [1], а также Fe, Cu и Zn [2]. На принадлежность гомеостаза этих металлов к СК-явлениям может также указывать фрактальный (не зависящий от масштаба системы) характер распределения их концентрационных значений.

Количественная оценка синхронизации мембранных АТФаз. В Центре Биотической Медицины (г. Москва) на приборе Optima 2000 DV (Perkin Elmer Inc., USA) был сделан анализ минерального состава волос методом атомно-эмиссионной спектроскопии у 952 здоровых лиц (238 мужчин и 714 женщин в возрасте от 2 до 86 лет), а также у 952 ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС – жителей Москвы (213 женщин и 739 мужчины в возрасте от 37 до 82 лет). Были проанализированы результаты атомно-эмиссионной спектроскопии образцов волос на содержание Al, Cd, Fe, Cr, Cu, Li, Pb, V и Zn с последующим корреляционным анализом (Pearson) полученных данных. Найдены парные корреляции между концентрационными значениями металлов (“каждого с каждым”) в 36 парах: Al-Cd, Al-Fe, Al-Cr, Al-Cu, Al-Li, Al-Pb, Al-V, Al-Zn, Cd-Fe, Cd-Cr, Cd-Cu, Cd-Li, Cd-Pb, Cd-V, Cd-Zn, Fe-Cr, Fe-Cu, Fe-Li, Fe-Pb, Fe-V, Fe-Zn, Cr-Cu, Cr-Li, Cr-Pb, Cr-V, Cr-Zn, Cu-Li, Cu-Pb, Cu-V, Cu-Zn, Li-Pb, Li-V, Li-Zn, Pb-V, Pb-Zn, V-Zn. Для измерения площади на графике под кривой парных коэффициентов корреляции (r) был использован метод трапеций.

По результатам корреляционного анализа (коэффициенты r линейных парных связей без учёта знака) были построены графики, где значения r образуют кривую (рис. 1-2). Площадь под этой кривой, подсчитанная с помощью метода трапеций, мы использовали в качестве количественного критерия синхронизации (критичности) – индекс синхронизации (ИС).

Как показано на рисунках 1, 2 и в таблице, площадь под кривой значений $|r|$ или *индекс синхронизации* (ИС) у ликвидаторов аварии более чем вдвое превышал аналогичный показатель у здоровых лиц (6,13 vs 2,17).

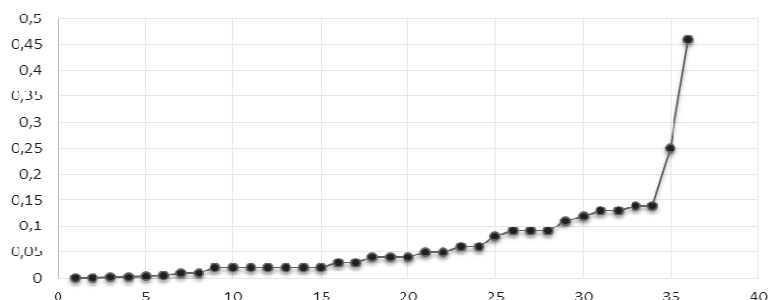


Рис. 1. Коэффициенты $|r|$ парных корреляций (Pearson) среди концентрационных значений металлов (Al, Cd, Fe, Cr, Cu, Li, Pb, V, Zn) у здоровых лиц (n=952).

По оси ординат – значения $|r|$; по оси абсцисс – номер пары по мере возрастания $|r|$. Площадь под кривой – индекс синхронизации (ИС = 2,17).

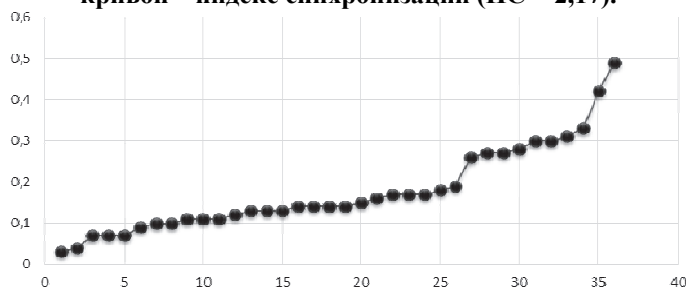


Рис. 2. Коэффициенты $|r|$ парных корреляций (Pearson) среди концентрационных значений металлов (Al, Cd, Fe, Cr, Cu, Li, Pb, V, Zn) у ликвидаторов Чернобыльской аварии (n=952). По оси ординат – значения $|r|$; по оси абсцисс – номер пары по мере возрастания $|r|$.

Площадь под кривой – индекс синхронизации (ИС = 6,13).

Эти данные, на наш взгляд, демонстрируют согласованное (синхронное) функционирование АТРаз (P-type), которые отвечают за трансмембранный трафик металлов [5, 6]. При этом повышенная продукция нитроксида у ликвидаторов аварии (что было ранее нами показано по увеличению NO-сигнала на ЭПР-спектрограмме [7]) приводила к возрастанию уровня синхронизации (ИС) и изменению уровня металлов в том же субстрате, см. табл.

Таблица

Результаты спектрометрии металлов в эпидермисе (волосы) у ликвидаторов Чернобыльской аварии и здоровых лиц

| Металлы | Медиана (Me) (мкг/г) | |
|---------------------------|-------------------------------|---------------------|
| | Ликвидаторы аварии (n=952) | Здоровые (n=952) |
| Al | ↑ 17,1 | 6,05 |
| Cd | ↑ 0,16 | 0,01 |
| Fe | ↑ 18,4 | 17,5 |
| Cr | ↑ 0,77 | 0,35 |
| Cu | ↓ 9,9 | 15,8 |
| Li | ↑ 0,03 | 0,02 |
| Pb | ↑ 0,81 | 0,51 |
| V | ↑ 0,08 | 0,05 |
| Zn | ↓ 167,9 | 210,5 |
| Индекс синхронизации (ИС) | 6,13 | 2,17 |

Примечание: Стрелками обозначены изменения содержания металла в биосубстрате (↑ - увеличение; ↓ - уменьшение).

Последовательность событий, происходящих в эпидермисе, которые приводят к син-

хронному (критическому) режиму работы мембранных АТФаз может быть следующей.

Генерация NO^+ и HNO автоколебательными $\text{RS-NO} \leftrightarrow \text{ДНКЖ}$ системами в большем объёме (ликвидаторы аварии) способствует достижению пороговой плотности активированных АТФаз. В системе осцилляторов (со слабым взаимодействием между ними), которую представляет собой система АТФаз, это с неизбежностью приведёт к *самоорганизации* системы и к критическому (синхронному) режиму её функционирования. Одним из критериев критического состояния системы является величина так называемого *параметра ветвления* (branching parameter) σ , равного среднему числу ближайших соседей, которым каждый из осцилляторов передаёт возбуждающий импульс. В критическом состоянии $\sigma=1$. Наряду с критическим, выделяют *докритическое* ($\sigma < 1$) и *надкритическое* ($\sigma > 1$) состояния (или режимы самоорганизации).

Среди вопросов, которые могут возникнуть при дальнейшем изучении этой проблемы, наибольший интерес, на наш взгляд, представляют следующие.

Ограничивается ли роль $\text{RS-NO} \leftrightarrow \text{ДНКЖ}$ -систем в отношении мембранных насосов только бесперебойной продукцией в клетке активаторов АТФаз (NO^+ и HNO), и как влияет на работу мембранных помп осцилляторный характер функционирования самой $\text{RS-NO} \leftrightarrow \text{ДНКЖ}$ -системы?

Бесспорных ответов на них пока не получено, что стимулирует продолжение исследований в этой области.

Заключение. По мнению авторов, *новым* в данной работе следует считать:

1) предложен новый способ количественной оценки уровня синхронизации мембранных АТФаз в эпидермисе;

2) основные положения теории *самоорганизованной критичности*, как показывает наш опыт, помогают объяснить (хотя бы предположительно) некоторые сложные и плохо изученные процессы в МЛГ эпидермальных клеток.

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., Baumann L.Kh., Skalny A.V., Lobanova Yu.N., and Grabeklis A.R. Some aspects of regulatory criteria for metal-ligand homeostasis in epidermal cells // Journal of Antioxidant Activity. 2018. V. 1 (3). P. 22–32.
3. Bak P. How Nature Works. The science of self-organized criticality. Copernicus, New York, 1996.
4. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as a “working forms” of endogenous nitric oxide // Nitric Oxide Biol. Chem. 2016. V. 54. 3. 15–29.
5. Argüello J.M. Identification of ion-selectivity determinants in heavy-metal transport $\text{P}_{1\text{B-type}}$ ATPases // J Membrane Biol. 2003. V. 195. P. 93–108.
6. Argüello J.M., Eren E, Gonzalez-Guerrero M. The structure and function of heavy metal transport $\text{P}_{1\text{B-type}}$ ATPases // BioMetals. 2007. V. 20. P. 233–248.
7. Petukhov V.I., Baumann L.K., Reste E.D., Zvagule T., Romanova M.A., Shushkevich N.I., Sushkova T.L., Skavronskii S.V., and Shchukov A.N. Diagnosis of nitrosative stress by quantitative EPR-spectroscopy of epidermal stress // Bull. Exp. Biol. Med. 2013. V. 154. P. 734–736.

Сведения об авторах

Валерий Иванович Петухов

д-р мед. наук

профессор ВлГУ

Эл. почта: vip-val@yandex.ru

Владимирский госуниверситет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых

Россия, Владимир

Егор Владимирович Дмитриев

канд. физ.-мат. наук,

ст. науч. сотр.

Эл. почта: yegor@inm.ras.ru

Институт вычислительной математики РАН

Россия, Москва

Information about authors

Valery Ivanovich Petukhov

DSc

Professor VISU

E-mail: vip-val@yandex.ru

Vladimir State University

Russia, Vladimir

Egor Vladimirovich Dmitriev

PhD

Senior research scientist

E-mail: yegor@inm.ras.ru

Institute of Numerical Mathematics RAS

Russia, Moscow

Лариса Харитоновна Баумане

канд. хим. Наук

ведущ. науч. сотр.

Эл. почта: lbaumane@osi.lv

Латвийский институт органического синтеза

Латвия, Рига

Анатолий Викторович Скальный

д-р мед. наук

профессор

Эл. почта: skalny@orc.ru

АНО «Центр Биотической Медицины»

Россия, Москва

Larisa Kharitonovna Baumane

PhD

Senior research scientist

E-mail: lbaumane@osi.lv

Latvian Institute of Organic Synthesis

Latvia, Riga

Anatoly Viktorovich Skalny

DSc

Professor

E-mail: skalny@orc.ru

ANO «Centre of Biotic Medicine»

Russia, Moscow

УДК 577.112.4

ГРНТИ 34.15.01.

Топунов А.Ф., Космачевская О.В.

Институт биохимии им. А.Н. Баха,

ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ КОНТИНУУМ ГЕМОГЛОБИНА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Эритроцитарный гемоглобин является полифункциональным белком. Помимо основной функции, связанной с транспортом газов, он обладает рядом дополнительных функций, в частности, каталитической и сигнальной. Альтернативные функции гемоглобина должны обязательно учитываться при изучении его роли в организме

Ключевые слова: гемоглобин, множественные функции, сигнальная функция, эритроциты.

Topunov A.F., Kosmachevskaya O.V.

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS

FUNCTIONAL CONTINUUM OF HEMOGLOBIN: PROBLEMS AND PERSPECTIVE

Erythrocytic hemoglobin is a multifunctional protein. In addition to the main function associated with the transport of gases, it exhibits a number of additional functions, in particular, catalytic and signal ones. Alternate hemoglobin functions have to be taken into account when its role in the organism is studying.

Keywords: hemoglobin, multiple functions, signal function, erythrocytes.

Введение. Несмотря на то, что гемоглобин (Hb) считается хорошо изученным белком, можно выделить несколько до конца не выясненных вопросов, связанных с его функционированием. Некоторые из них представляют большой интерес для общей и теоретической биологии, другие актуальны для практической медицины. К первой группе относятся изучение механизмов посттрансляционной модификации Hb, а также молекулярных механизмов передачи сигнала от гемоглобина на другие компоненты клетки, что напрямую связано с проблемой адаптации эритроцитов, их повреждения и устойчивости. Ко второй – разработка методов стабилизации эритроцитов и использование данных о его модифицированных формах, в том числе о мембраносвязанном гемоглобине (МВHb) в клинико-биохимической диагностике. Отметим, что на последней международной конференции, посвященной кислородпереносящим белкам (Барселона, Испания, 2018), была организована специальная секция, посвященная роли гемоглобинов при здоровье и болезни [1].

Полифункциональность гемоглобина. Структура эритроцитарного Hb эволюционно адаптирована для транспорта кислорода. Но эта структура не является строго специализированной для выполнения единственной биологической задачи и может быть также использована для катализа (в этом случае Hb работает как ферментомиметик) и для трансдукции сигнала как сигнальная молекула [2]. Эритроцитарный Hb не является классическим сигнальным белком. В то же время функционирование этого белка в организме в качестве переносчика кислорода сопряжено с его функцией датчика кислорода. Детекция кислорода гемоглобином осуществляется по такому же механизму, как транспорт этого газа, т.е. с участием аллостерических свойств белковой молекулы. Сигнальные свойства Hb направлены в первую очередь на регуляцию периферического кровотока [3], которая осуществляется посредством двух основных механизмов: 1) высвобождение сигнальных метаболитов (NO, ATP, ADP, аденозин, K⁺, NAD(P)H, PGE2) и 2) изменение механических свойств мембраны, т.е. реологических свойств эритроцитов. На-

чальным этапом в цепи передачи сигнала является образование комплекса deoxyHb–белок полосы 3 (Band3), однако дальнейшая последовательность событий не изучена. До сих пор не идентифицированы промежуточные компоненты этого процесса, модулирующие такие свойства клетки, как деформируемость эритроцита и его лизис (гемолиз).

Отметим, что связывание Hb с мембраной влияет и на адаптационные возможности эритроцитов млекопитающих, которые ограничены цитоплазматическими механизмами, в которых Hb играет ключевую роль. К таким механизмам можно отнести посттрансляционные модификации, стабилизирующие белок в R-конформации (от relaxed – расслабленный), что повышает сродство Hb к кислороду и, следовательно, снижает вероятность автоокисления и образования супероксидного анион-радикала. К цитоплазматическим механизмам регуляции также относятся процессы, увеличивающие ассоциацию гемоглобина с компонентами мембраны, что одновременно стабилизирует и белок, и мембрану. В качестве иллюстрации можно привести следующий пример. Было показано, что Hb связывается с мембранами эритроцитов больных диабетом с более высоким сродством, чем с мембранами эритроцитов здоровых людей [4]. Благодаря этому мембрана приобретает повышенную устойчивость по отношению к активным формам кислорода, образование которых сопровождает течение болезни.

Наличие у белков дополнительных функций иногда называют белкового или функциональным промискуитетом (protein or functional promiscuity) [5]. Этот термин переводится также как распушенность, разнородность, разношерстность, смешанность, беспорядочность. С общепризнанных биологических позиций, функциональный промискуитет может быть важен для эволюции и выживаемости организмов, предоставляя материал для естественного отбора. Например, функция гемоглобина обратимо связывать кислород, послужившая основой для использования этого белка для транспорта кислорода, ранее (в условиях преимущественно бескислородной атмосферы) для гемоглобин-подобных белков, скорее всего, была побочной и лишь в дальнейшем под давлением естественного отбора оказалась приспособлена для обеспечения кислородом организмов, перешедших к кислородному метаболизму.

Часто считается, что дополнительные функции белков в первую очередь влияют на вредные побочные эффекты и почти никогда не обсуждается их использование для нужд организма. Гемоглобину в этом смысле повезло, и положительные и отрицательные аспекты его функционирования изучены достаточно хорошо. Поэтому необходимо обобщение всей известной информации о функционировании эритроцитарного Hb, а также определение ситуаций, при которых эти побочные функции могут быть полезны или вредны для организма.

Демонстрируя на примере гемоглобина многообразие функций белков, мы призываем шире смотреть на роль того или иного белка в организме и исследовать не только то, что белок делает лучше всего (быстрее или специфичнее), но и то, что он еще может делать дополнительно. При этом важно учитывать, что многие функции, описанные *in vitro*, могут быть неактуальными *in vivo*. Существование функционального континуума гемоглобина разрушает до сих пор бытующий в биохимии упрощенный взгляд: один белок – одна функция.

Недооценка биологической значимости побочных функций белков может привести к сокрытию механизмов многих биологических явлений. Так, например, реакция восстановления гемоглобином нитрита до NO (нитритредуктазная реакция), известная уже около 100 лет, долгое время не рассматривалась как физиологически значимая. Эта реакция нашла применение в пищевой промышленности для придания мясным продуктам привлекательного розового цвета. И только лишь после открытия биологической активности NO (около 30 лет назад), исследователи обратили внимание на эту способность гемоглобина.

Закключение. *Авторы считают*, что в данной работе новыми являются следующие положения: Гемоглобин является полифункциональным белком, и его альтернативные функции должны обязательно учитываться при описании функционирования Hb в организме.

Литература

1. XXth International Conference on Oxygen Binding and Sensing Proteins. (O2BIP). 3-6 Sep 2018 / Barcelona. Abstract Book. 102 p.
2. Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Альтернативные и дополнительные функции эритроцитарного гемоглобина // Биохимия. 2019. Т. 84. № 1. С. 3–23.
3. Космачевская О.В., Насыбуллина Э.И., Блиндарь В.Н., Топунов А.Ф. Связывание эритроцитарного гемоглобина с мембраной как способ осуществления сигнально-регуляторной функции // Прикл. биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 2. С. 107–123.

4. Bryszewska M. Interaction of normal and glycated human haemoglobin with erythrocyte membranes from normal and diabetic individuals // J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1988. V. 26. P. 809–813.

5. Nobeli I., Favia A.D., Thornton J.M. Protein promiscuity and its implications for biotechnology // Nat. Biotechnol. 2009. V. 27. P. 157–167.

Сведения об авторах

Алексей Федорович Топунов

д-р биол. наук, профессор

зав. лаб.

Эл. почта: aftopunov@yandex.ru

Ольга Владимировна Космачевская

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: rizobium@yandex.ru

Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Фун-

даментальные основы биотехнологии РАН

Россия, Москва

Information about authors

Alexey Fedorovich Topunov

DSc

Head of laboratory

E-mail: aftopunov@yandex.ru

Olga Vladimirovna Kosmachevskaya

PhD

Senior research scientist

E-mail: rizobium@yandex.ru

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of

Biotechnology RAS

Russia, Moscow

УДК 577.115.4
ГРНТИ 34.15.63.

¹Пугаченко И.С., ^{1,2}Шумаев К.Б., ¹Космачевская О.В.,
²Рууге Э.К., ³Мартусевич А.К., ¹Топунов А.Ф.

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН

²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрав РФ

³ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрав РФ

НИТРОЛИПИДЫ: ОБРАЗОВАНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Нитролипиды являются новым классом биологически активных производных оксида азота. В работе обсуждаются механизмы образования и молекулярные мишени нитролипидов в живых системах. Физиологическое действие нитролипидов во многом определяется их участием в модификации белков, а также процессах свободнорадикального окисления.

Ключевые слова: нитролипиды, оксид азота, митохондрии, супероксид, пероксинитрит, гемм

¹Pugachenko I.S., ¹Shumaev K.B., ¹Kosmachevskaya O.V.,
²Ruuge E.K., ³Martusevich A.K., ¹Topunov A.F.

¹Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the RAS

²National Medical Research Centre for Cardiology

³Privolzhsky Research Medical University

NITROLIPIDS: FORMATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Nitrolipids are a new class of biologically active nitric oxide derivatives. The paper discusses the mechanisms of formation and molecular targets of nitrolipids in living systems. The physiological effect of nitrolipids is largely determined by their participation in protein modification and free radical oxidation processes.

Keywords: nitrolipids, nitric oxide, mitochondria, superoxide, peroxyxynitrite, heme

В последние годы в организме человека и других живых существ обнаружены нитропроизводные различных ненасыщенных жирных кислот [1-4]. Эти соединения обладают широким спектром биологического действия и рассматриваются в качестве нового класса сигнальных молекул [2, 5]. Установлено, что нитропроизводные жирных кислот включаются в состав фосфолипидов, триглицеридов и эфиров холестерина, а также образуют конъюгаты с глутатионом, коэнзимом А и SH-группами белков. Нитролинолеат и его производные были обнаружены в плазме крови, липопротеинах низкой плотности и эритроцитах [1, 5]. В литературе имеются данные об образовании нитропроизводных ненасыщенных жирных кислот в митохондриях кардиомиоцитов при ишемии/реперфузии или ишемическом прекондиционировании сердца [4, 6]. Нитрофосфолипиды также обнаружены в митохондриях из сердца животных с индуцированной стрептозотоцином гипергликемией (экспериментальной моделью диабета I типа) [7].

Вместе с тем остается открытым вопрос о роли активных форм кислорода и азота в образовании нитролипидов (L-NO₂) *in vivo*. Предполагают, что L-NO₂ продуцируются в условиях нитрозативного стресса в результате рекомбинации NO и диоксида азота со свободными ради-

калами липидов [4]. Реакции с участием оксида азота вызывают терминацию цепных процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и являются основным механизмом антиоксидантного действия NO. С другой стороны, диоксид азот и гидроксильный радикал, образующиеся при гомолизе пероксинитрита, сами инициируют ПОЛ. Кроме того, диоксид азота образуется при окислении нитрита гемсодержащими пероксидазами. Также, нитрование липидов может происходить в кислой среде под действием HNO_2 , например, в желудке или в лизосомах [4]. Ещё одним важным механизмом формирования L-NO₂ может быть присоединение к двойной связи жирной кислоты катиона нитрония, который образуется в реакции пероксинитрита с металлами переменной валентности. Так в условиях, моделирующих окислительный и карбонильный стресс, NO, связанный с железом гемоглобина (нитрозильный комплекс гема), может превращаться в пероксинитрит, который нитрует винильные группы порфирина [8]. Известно также что, при взаимодействии нитрозильных комплексов железа или меди с кислородом и пероксидом водорода, соответственно, образуются интермедиаты, содержащие пероксинитрит [9, 10]. Показано, что такие комплексы эффективно нитруют органические молекулы, однако эти эксперименты проводились в условиях далеких от физиологических. Тем не менее, нельзя исключить, что подобный механизм может участвовать в образовании нитролипидов в живых системах. В частности, некоторые физиологические эффекты динитрозильных комплексов железа могут быть связаны с их влиянием на формирование нитролипидов [11, 12].

В настоящее время наиболее изучено противовоспалительное действие L-NO₂ [5, 13], которое связывают с их влиянием на активность транскрипционных факторов NF-κB, PPARs и Keap1/Nrf2 [2, 5, 6]. Нитролипиды могут индуцировать экспрессию ряда белков, участвующих в антиоксидантной защите, например, гемоксигеназы 1 [14]. Кроме того, L-NO₂ ингибируют НАДФН-оксидазу и ксантиноксидазу – ферменты, продуцирующие супероксидный радикал [5, 15]. Благодаря вышеперечисленным свойствам L-NO₂ рассматривают в качестве перспективных фармакологических средств при так называемых свободнорадикальных патологиях, в том числе заболеваниях сердечно-сосудистой системы и диабете [5, 16].

Электрофильные L-NO₂ (нитроалкены) вызывают обратимое нитроалкилирование депротонированных тиольных групп, имидазолов гистидина и эпсилон-аминогруппы остатков лизина [6, 14, 15]. Считается, что такая постраницационная модификация белков является одним из основных механизмов регуляторного действия нитролипидов [17]. В литературе имеются данные о том, что кардиопротекторное действие L-NO₂ связано с модификацией этими соединениями митохондриальных белков [18-20]. Известно, что S-нитрозилирование комплекса I дыхательной цепи ингибирует продукцию супероксида [21]. Тем не менее, нитроолеат не вызывает модификацию комплекса I митохондрий [22]. Вместе с тем, Koenitzer с соавторами показали, что нитроолеат существенно снижает продукцию супероксида митохондриями сердца крыс, а также ингибирует активность комплекса II дыхательной цепи [20]. Предполагают, что эти эффекты связаны с образованием конъюгатов L-NO₂ с остатками цистеина Fr субъединицы комплекса II. С другой стороны, 9-нитроолеат индуцирует окислительный стресс и апоптоз в культуре колоректальных раковых клеток, причём ключевую роль в этих процессах играют митохондрии [23]. Неоднозначные эффекты нитролипидов в митохондриях могут быть обусловлены взаимосвязью метаболизма L-NO₂ и других физиологических производных оксида азота, таких как динитрозильные комплексы железа, S-нитрозотиолы и нитроксил (HNO). Следует отметить, что все эти соединения способны превращаться друг в друга и могут вызывать постраницационную модификацию цистеиновых остатков белков. Действительно, S-нитрозотиолы, HNO и нитроолеат активируют митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы, что может играть важную роль в защите сердца при ишемии/реперфузии [18]. С другой стороны, динитрозильные комплексы железа с тиольными лигандами также обладают антиоксидантными и цитопротекторными свойствами [24-27]. Недавно нами было изучено формирование этих комплексов NO в митохондриях [28]. Можно также предположить, что L-NO₂ нитрозилируют железосерные центры ферментов, как это было показано для свободного оксида азота [29]. Важно, что в этом случае должны формироваться связанные с белками динитрозильные комплексы железа. Биологическая активность L-NO₂ может быть связана с тем, что эти соединения являются донорами NO и/или HNO [13]. Биохимические механизмы высвобождения NO и нитроксила из L-NO₂ до сих пор являются предметом дискуссии. В частности, неизвестно участвуют ли в этом процессе ферменты. В связи с этим нужно отметить, что альдегиддегидрогеназа митохондрий катализирует высвобождение NO из нитроглицерина [30].

Заключение

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

1) в образование нитролипидов могут участвовать нитрозильные комплексы металлов, в том числе меди, гемового и негемового железа;

2) биологическая активность и значительный терапевтический потенциал нитролипидов может быть связан с конверсией этих соединений в другие метаболиты NO.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 18-34-00561_мол_а, 18-015-00125 и 19-015-00444).

Литература

1. *Kalyanaraman B.*, Nitrated lipids: A class of cell-signaling molecules // PNAS. 2004. V. 101. N. 32. P. 11527–11528.
2. *Baker P.R., Lin Y., Schopfer F.J., Woodcock S.R. et al.* Fatty acid transduction of nitric oxide signaling: multiple nitrated unsaturated fatty acid derivatives exist in human blood and urine and serve as endogenous peroxisome proliferator-activated receptor ligands // J Biol Chem. 2005. V. 280. N. 51. P. 42464–42475.
3. *Mata-Pérez C., Sánchez-Calvo B., Padilla M.N. et al.* Nitro-Fatty Acids in Plant Signaling: Nitro-Linolenic Acid Induces the Molecular Chaperone Network in Arabidopsis // Plant Physiol. 2016. V. 170. N. 2. P. 686–701.
4. *Buchan G.J., Bonacci G., Fazzari M. et al.* Nitro-fatty acid formation and metabolism // Nitric Oxide. 2018. V. 79. P. 38–44.
5. *Rubbo H.* Nitro-fatty acids: novel anti-inflammatory lipid mediators // Braz. J. Med. Biol. Res. 2013. V. 46. N. 9. P. 728–734.
6. *Villacorta L., Gao Z., Schopfer F.J. et al.* Nitro-fatty acids in cardiovascular regulation and diseases: characteristics and molecular mechanisms // Front Biosci. 2016. V. 21. P. 873–889.
7. *Melo T., Domingues P., Ferreira R. et al.* Recent advances on mass spectrometry analysis of nitrated phospholipids // Anal Chem. 2016. V. 88. N. 5. P. 2622–2629.
8. *Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Topunov A.F.* Formation of Nitri- and Nitrosylhemoglobin in systems modeling the Maillard reaction // Clinical Chemistry & Laboratory Medicine. 2014. V. 52. N. 1. P. 161–168.
9. *Tran N.G., Kalyvas H., Skodje K.M. et al.* Phenol nitration induced by an {Fe(NO)₂}₁₀ dinitrosyl iron complex // JACS. 2011. V. 133. N. 5. P. 1184–1187.
10. *Kalita A., Kumar P., Mondal B.* Reaction of a copper(II)–nitrosyl complex with hydrogen peroxide: putative formation of a copper(I)–peroxynitrite intermediate // Inorg. Chem. 2013. V. 52. N. 19. P. 10897–10903.
11. *Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Chumikina, L.V., Topunov A.F.* Dinitrosyl Iron Complexes and other Physiological Metabolites of Nitric Oxide: Multifarious Role in Plants // Natural product communications. 2016. V. 11. N. 8. P. 1189–1192.
12. *Hsiao H.-Y., Chung C.-W., Santos J.H. et al.* Fe in biosynthesis, translocation, and signal transduction of NO: toward bioinorganic engineering of dinitrosyl iron complexes into NO-delivery scaffolds for tissue engineering // Dalton Trans. 2019. DOI: 10.1039/c9dt00777f.
13. *Baker P.R.S., Schopfer F.J., O'Donnell V.B., Freeman B.A.* Convergence of Nitric Oxide and Lipid Signaling: Anti-Inflammatory Nitro-Fatty Acids // Free Radic Biol Med. 2009. V. 46. N. 8. P. 989–1003.
14. *Wright M.M., Schopfer F.J., Baker P.R. et al.* Fatty acid transduction of nitric oxide signaling: nitrolinoleic acid potently activates endothelial heme oxygenase 1 expression // PNAS. 2006. V. 103. N. 11. P. 4299–4304.
15. *Kelley E.E., Batthyany C.I., Hundley N.J. et al.* Nitro-oleic acid, a novel and irreversible inhibitor of xanthine oxidoreductase // J Biol Chem. 2008. V. 283. N. 52. P. 36176–36184.
16. *Mollenhauer M., Mehrkens D., Rudolph V.* Nitrated fatty acids in cardiovascular diseases // Nitric Oxide. 2018. pii: S1089-8603(17). P. 30292–30296.
17. *Turell L., Vitturi D.A., Coitiño E.L. et al.* The Chemical Basis of Thiol Addition to Nitro-conjugated Linoleic Acid, a Protective Cell-signaling Lipid // J Biol Chem. 2017. V. 292. N. 4. P. 1145–1159.
18. *Queliconi B.B., Wojtovich A.P., Nadtochiy S.M. et al.* Redox Regulation of the Mitochondrial K_{ATP} Channel in Cardioprotection // Biochim. Biophys. Acta. 2011. V. 1813. N. 7. P. 1309–1315.
19. *Nadtochiy S.M., Madukwe J., Hagen F.K., Brookes P.S.* Mitochondrially targeted nitro-linoleate: a new tool for the study of cardioprotection // British Journal of Pharmacology. 2014. V. 171. P. 2091–2098.
20. *Koenitzer J.R., Bonacci G., Woodcock S.R.* Fatty acid nitroalkenes induce resistance to ischemic cardiac injury by modulating mitochondrial respiration at complex II // Redox Biol. 2016. V. 8. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.redox.2015.11.002.

21. Chouchani E.T., Methner C., Nadtochiy S.M. Cardioprotection by S-nitrosation of a cysteine switch on mitochondrial complex I // *Nat Med.* 2013. V. 19. N. 6. P. 753–759.
22. Nadtochiy S.M., Baker P.R., Freeman B.A., Brookes P.S. Mitochondrial nitroalkene formation and mild uncoupling in ischaemic preconditioning: implications for cardioprotection // *Cardiovasc Res.* 2009. V. 82. N. 2. P. 333–340.
23. Kühn B., Brat C., Fettel J., Hellmuth N. et al. Anti-inflammatory nitro-fatty acids suppress tumor growth by triggering mitochondrial dysfunction and activation of the intrinsic apoptotic pathway in colorectal cancer cells // *Biochem Pharmacol.* 2018. V. 155. P. 48–60.
24. Shumaev K.B., Gubkin, A.A., Serezhenkov V.A. et al. Interaction of reactive oxygen and nitrogen species with albumin- and hemoglobin-bound dinitrosyl iron complexes // *Nitric Oxide.* V. 18. P. 37–46.
25. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A. et al. Dinitrosyl iron complexes bound with haemoglobin as markers of oxidative stress // *Meth. Enzymol.* 2008. V. 436. P. 441–457.
26. Dungal P., Perlinge M., Weidinger A. et al. The cytoprotective effect of nitrite is based on the formation of dinitrosyl iron complexes // *Free Radic. Biol. Med.* 2015. V. 89. P. 300–310.
27. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O.V. et al. Protective Effect of Dinitrosyl Iron Complexes with Glutathione in Red Blood Cell Lysis Induced by Hypochlorous Acid // *Oxid Med Cell Longev.* V. 2019. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/2798154>.
28. Shumaev K.B. Dudylina A.L., Ivanova M.V. et al. Dinitrosyl iron complexes: Formation and antiradical action in heart mitochondria // *Biofactors.* 2018. V. 44. P. 237–244.
29. Cheng Z., Landry A.P., Wang Y., Ding H. Binding of Nitric Oxide in CDGSH-type [2Fe-2S] Clusters of the Human Mitochondrial Protein Miner2 // *J Biol Chem.* 2017. V. 292. N. 8. P. 3146–3153.
30. Daiber A., Munzel T. Organic Nitrate Therapy, Nitrate Tolerance, and Nitrate-Induced Endothelial Dysfunction: Emphasis on Redox Biology and Oxidative Stress // *Antioxid. Redox Signal.* 2015. V. 23. N. 11. P. 899–942.

Сведения об авторах

Игорь Сергеевич Пугаченко

аспирант

Эл. почта: gewalthaber-igor@mail.ru

Константин Борисович Шумаев

д-р биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: tomorov@mail.ru

Ольга Владимировна Космачевская

канд. биол. наук

ст. науч. сотр.

Эл. почта: rizobium@yandex.ru

Алексей Федорович Топунов

д-р биол. наук, профессор

зав. лабораторией

Эл. почта: aftopunov@yandex.ru

Институт биохимии им. А.Н. Баха,

ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН

Россия, Москва

Энно Куставич Рууге

д-р физ.-мат. наук, профессор

зав. лабораторией

Эл. почта: ruuge@mail.ru

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава РФ

Россия, Москва

Андрей Кимович Мартусевич

д-р биол. наук, профессор

зав. лабораторией

Эл. почта: cryst-mart@yandex.ru

ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава РФ

Россия, Нижний Новгород

Information about authors

Igor Sergeevich Pugachenko

Post-graduate student

E-mail: gewalthaber-igor@mail.ru

Konstantin Borisovich Shumaev

DSc

Senior research scientist

E-mail: tomorov@mail.ru

Olga Vladimirovna Kosmachevskaya

PhD

Senior research scientist

E-mail: rizobium@yandex.ru

Alexey Fedorovich Topunov

DSc

Head of laboratory

E-mail: aftopunov@yandex.ru

Bach Institute of Biochemistry, Research Center of

Biotechnology of the RAS

Russia, Moscow

Enno Kustovich Ruuge

DSc

Head of laboratory

E-mail: ruuge@mail.ru

National Medical Research Centre for Cardiology

Russia, Moscow

Andrew Kimovich Martusevich

DSc

Head of laboratory

E-mail: cryst-mart@yandex.ru

Privolzhsky Research Medical University

Russia, Nizhny Novgorod

ИНТЕРФЕРОН-ЛЯМБДА 3: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И РАЗВИТИЕ ПНЕВМОНИИ

Проанализировано влияние аллельных вариаций rs8099917 (T/G) и rs12979860 (C/T) в генах IFNL3 и IFNL4 на развитие пневмонии у людей. Выявлена ассоциация между аллельной парой TT (rs12979860) и риском развития пневмонии на фоне респираторных инфекций ($p=0,0045$; ОШ 4,2; 95% ДИ 1,21–3,33).

Ключевые слова: интерферон-лямбда 3, генетический полиморфизм, ген IFNL3, ген IFNL4, респираторные инфекции, пневмония.

¹Nikolaeva L.I., ¹Burtseva E.I., ²Sapronov G.V., ²Dyachenko V.V.,
¹Mukasheva E.A., ¹Rosatkevich A.G., ¹Grishechkin A.E., ¹Nikolaev D.I.
¹N.F. Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology
²Central Clinical Hospital, Presidential Affairs of Russian federation

INTERFERON-LAMBDA 3: GENETIC POLYMORPHISM AND PNEUMONIA

The influence of rs8099917 (T/G) and rs12979860 (C/T) allelic variations in genes IFNL3 and IFNL4 on the development of pneumonia in humans is analyzed. The association was found between TT (rs12979860) allelic variation and the risk of pneumonia developing in patients with respiratory infections ($p=0,0045$; OR 4,2; 95% CI: 1,21–3,33).

Keywords: interferon-lambda 3, genetic polymorphism, gene IFNL3, gene IFNL4, respiratory infections, pneumonia.

Введение

Эпителиальные клетки дыхательных путей – это первичный барьер и основная зона репликации респираторных патогенов. При оптимальном иммунном ответе происходит ограничение инфекции в верхних отделах дыхательных путей. Если патоген проникает в нижние отделы респираторного тракта, повышается риск развития пневмонии. В ограничении репликации респираторных патогенов еще до формирования адаптивного иммунного ответа существенная роль отведена интерферонам (ИФНам) I и III типа [1, с. 88-89].

ИФНы-лямбда, открытые относительно недавно, отнесены к III типу и вместе с ИФНами I типа формируют начальный уровень иммунной защиты от респираторных патогенов. Показано, что ИФНы-лямбда продуцируются быстрее и раньше ИФНов-альфа/бета и могут ограничивать респираторную инфекцию при небольших инфекционных дозах вируса гриппа [2, с. 876]. Анализ м-РНК в эпителиальных клетках, инфицированных пневмотропными вирусами, подтвердил, что интерфероны I и III типа запускают очень близкую программу ИФН-индуцируемых генов [3, с. 6-9]. ИФНы-лямбда могут влиять на течение бактериальных инфекций через регуляцию активности нейтрофилов, дендритных клеток и опосредованно воздействовать на T- и B-клеточный ответ [4, с. 6-7; 5, с. 2-5]. В отличие от ИФНов I типа, ИФНы-лямбда имеют рецепторы на узком спектре клеток, их действие специфично и не вызывает воспалительные реакции.

У людей выделяют четыре варианта ИФНов-лямбда: ИФН-лямбда 1-4 [1, с. 87]. В генах ИФНов III типа обнаружены полиморфные участки, вариации нуклеотидов в которых могут влиять, в основном, на стабильность м-РНК, что в итоге приводит к различному содержанию ИФНов-лямбда в крови [6, с. 501-503]. Вероятно, для ограничения вирусных и бактериальных инфекций наиболее значимым является ИФН-лямбда 3 и однонуклеотидные полиморфизмы, влияющие на его продукцию: rs8099917 T/G (около гена IFNL3) и rs12979860 C/T (в интроне гена IFNL4).

Данных о влиянии отдельных генотипов по полиморфным точкам rs12979860 (C/T) и rs8099917 (T/G) на течение респираторных инфекций у людей и развитие пневмонии нет. Сезонные респираторные инфекции представляют существенную медико-социальную и экономическую проблему для всего мира. Актуальность данного исследования связана с интенсивным развитием в последнее время предиктивной медицины.

Целью исследования

Изучение частоты встречаемости аллельных пар по rs8099917 T/G (около гена IFNL3) и rs12979860 C/T (в интроне гена IFNL4), вариации которых влияют на продукцию интерферона-

лямбда 3, у пациентов с тяжелым течением острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и тяжелых острых респираторных инфекций (ТОРИ) и людей, редко болеющих инфекционными респираторными заболеваниями; установление различий в частоте встречаемости аллельных пар в группах наблюдения; выявление ассоциаций между генотипами участников и развитием пневмонии.

Материалы и методы

ДНК участников исследования выделяли из лейкоцитов крови, используя набор реагентов «Проба-рапид-генетика» и методику производителя (ДНК-технология, Россия). Выявление генетического полиморфизма генов *IFNL3* (rs8099917, T/G) и *IFNL4* (rs12979860, C/T) выполняли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, используя сертифицированный набор реагентов «Иммуногенетика IL28B» по методике производителя и детектирующий амплификатор ДТлайт (ДНК-технология, Россия).

Группы наблюдения. Группу сравнения (n=145) составили здоровые люди, редко болеющие респираторными заболеваниями. Группу пациентов (n=117) с острыми респираторными заболеваниями (ОРВИ и ТОРИ) составили больные, госпитализированные в инфекционные отделения клинических больниц г. Москва.

Анализ достоверности различий между сравниваемыми показателями групп наблюдения был выполнен методом хи-квадрат с использованием пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Различия сравниваемых величин признавали статистически достоверными при вероятности 95% (p<0,05).

Полученные результаты

Установлена частота встречаемости аллельных пар по rs12979860(C/T, *IFNL4*) и rs8099917(T/G, *IFNL3*) в группе сравнения и в группе пациентов с тяжелым течением ОРВИ и ТОРИ. Между сравниваемыми группами установлены различия в частоте встречаемости отдельных генотипов по отмеченным выше полиморфным точкам генов *IFNL3* и *IFNL4*. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1
Частота встречаемости отдельных генотипов по rs12979860 (C/T) и rs8099917(T/G) в группах наблюдения

| Группы наблюдения и уровень значимости различий | Генотип CC/TT | Генотип CT/TT | Генотип CT/TG | Генотип TT/TT | Генотип TT/TG | Аллельная пара TT (rs12979860) |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------------|
| Группа сравнения | 55,2% | 19,3% | 25,6% | 2,1% | 2,1% | 4,2% |
| Группа пациентов | 47,0% | 17,1% | 21,4% | 4,3% | 5,1% | 9,4% |
| Уровень значимости различий (p) | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 | >0,05 | 0,0521 |

Как следует из данных таблицы 1, обнаружена тенденция к статистически значимому различию по частоте встречаемости аллельной пары TT в полиморфной точке rs12979860 гена *IFNL4*.

Выполнен сравнительный анализ частоты встречаемости различных генотипов по анализируемым полиморфным точкам генов *IFNL3* и *IFNL4* у пациентов с пневмонией (n=65) и участников группы сравнения (Таблица 2).

Таблица 2
Частота встречаемости отдельных генотипов rs12979860 (C/T) и rs8099917(T/G) у пациентов с пневмонией и в группе сравнения

| Группы наблюдения и уровень значимости различий | Генотип CC/TT | Генотип CT/TT | Генотип CT/TG | Генотип TT/TT | Генотип TT/TG | Аллельная пара TT (rs12979860) |
|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|
| Группа сравнения | 55,2% | 19,3% | 25,6% | 2,1% | 2,1% | 4,2% |
| Группа с пневмонией | 49,2% | 13,8% | 21,5% | 7,7% | 7,7% | 15,4% |
| Критерии значимости различий | p>0,05 | p>0,05 | p>0,05 | p=0,0491 | p=0,0491 | p=0,0045. ОШ=4,2. 95% ДИ 1,21 – 3,33 |

Полученные данные свидетельствуют в пользу существования ассоциации между наличием аллельной пары TT (rs12979860) в интроне гена *IFNL4* и повышенным риском развития

пневмонии, что подтверждается статистическими критериями: отношение шансов – 4,2; 95% доверительный интервал 1,21 – 3,33.

Выводы

1. Обнаружены достоверные различия между пациентами с пневмонией в исходе острых респираторных заболеваний и участниками группы сравнения, редко болеющими респираторными инфекциями, по частоте встречаемости аллельной пары ТТ (rs12979860, С/Т) в интроне гена *IFNL4*. Этот полиморфизм влияет на продукцию интерферона-лямбда 3.

2. Полученные данные свидетельствуют о наличии генетической предрасположенности и повышенного риска определенной группы людей к развитию тяжелого осложнения (пневмонии) на фоне респираторной инфекции.

Заключение

Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения: (1) генетический полиморфизм в гене *IFNL4* является одним из факторов, который в сочетании с другими неблагоприятными компонентами, способствует развитию пневмонии на фоне острой респираторной инфекции; (2) люди с генотипом ТТ (rs12979860, С/Т) в интроне гена *IFNL4* имеют повышенный риск развития пневмонии. Авторы планируют продолжить исследование в данном направлении.

Литература

1. Николаева Л.И., Сапронов Г.В., Куприянов В.В. Роль интерферонов-лямбда в иммунной защите от гриппа // Инфекционные болезни. 2019. Т. 17 (1). С. 86–92.

2. Galani I.E., Triantafyllia V., Eleminiadou E.E., Koltsida O., Stavropoulos A., Manioudaki M., Thanos D., Doyle S.E., Kottenko S.V., Thanopoulou K., Andreakos E. Interferon- λ mediates non-redundant front-line antiviral protection against influenza virus infection without compromising host fitness // Immunity. 2017. Vol. 46 (5). P. 875–890.

3. Crotta S., Davidson S., Mahlakoiv T., Desmet C.J., Buckwalter M.R., Albert M.L., Staeheli P., Wack A. Type I and type III interferons drive redundant amplification loops to induce a transcriptional signature in influenza-infected airway epithelia // PloS Pathog. 2013. Vol. 9 (11). e1003773. P. 1–12.

4. Syedbasha M., Egli A. Interferon lambda: modulating immunity in infectious diseases // Front. Immunol. 2017. Vol. 8 (article 119). P. 1–13.

5. Zanoni I., Granucci F., Broggi A. Interferon (IFN)- λ takes the helm: immunomodulatory roles of type III IFNs // Front. Immunol. 2017. Vol. 8(article 1661). P. 1–8.

6. Honda M., Sakai A., Yamashita T., Nakamoto Y., Mizukoshi E., Sakai Y., Yamashita T., Nakamura M., Shirasaki T., Horimoto K., Tanaka Y., Tokunaga K., Mizokami M., Kaneko S., Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C // Gastroenterology. 2010. Vol. 139 (2). P. 499–509.

Сведения об авторах

Людмила Ивановна Николаева

д-р биол. наук.

рук. лаб., вед. науч. сотр.

Эл. почта: L.i.nikolaeva@mail.ru

Елена Ивановна Бурцева

д-р мед.наук

рук. лаб., вед. науч. сотр.

Эл. почта: Elena-burtseva@yandex.ru.

Евгения Андреевна Мукашева

науч. сотр.

Эл. почта: Mukasheva_evgeniya@mail.ru

Александра Георгиевна Росаткевич

мл. науч. сотр.

Эл. почта: rosatkevich@me.com

Александр Евгеньевич Гришечкин

науч. сотр.

Эл. почта: Grish-sx1@mail.ru.

Дмитрий Иванович Николаев

Information about authors

Lyudmila Ivanovna Nikolaeva

DSc in biology

E- mail: L.i.nikolaeva@mail.ru

Elena Ivanovna Burtseva

DSc in medicine

E- mail: Elena-burtseva@yandex.ru.

Evgeniya Andreyevna Mukasheva

researcher

E- mail: Mukasheva_evgeniya@mail.ru

Alexandra Georgievna Rosatkevich

Researcher

E- mail: rosatkevich@me.com

Alexander Evgenievich Grishechkin

Researcher

E- mail: Grish-sx1@mail.ru.

Dmitry Ivanovich Nikolaev

лаб.-исслед.

Эл. почта: Nico_87@inbox.ru.

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи

Георгий Витальевич Сапронов

канд. мед. наук

нач. центра инфекционных болезней.

Эл. почта: G_sapronov@mail.ru

Вероника Васильевна Дьяченко

врач

Эл. почта: doctorvv@mail.ru

ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой», Управление делами президента России, Москва

laboratory researcher

E-mail: Nico_87@inbox.ru.

N.F. Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation.

Georgy Vitalievich Sapronov

PhD in medicine

E-mail: G_sapronov@mail.ru

Veronika Vasilievna Dyachenko

Doctor

E-mail: doctorvv@mail.ru

Central Clinical Hospital, Presidential Affairs of Russian Federation, Moscow, Russian Federation.

УДК 575.174.015.3
ГРНТИ 34.23.41

¹Эрдман В.В., ¹Насибуллин Т.Р., ¹Туктарова И.А., ¹Тимашева Я.Р.,
¹Мустафина О.Е., ²Данилко К.В., ²Викторова Т.В., ³Магуа А.З.

¹Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра РАН

²Башкирский государственный медицинский университет

³НИИ экспериментальной патологии и терапии АНА

ПОЛИМОРФИЗМ Q192R ГЕНА PON1: ЭТНИЧЕСКИЕ И ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ

Установлено различие в частотах аллелей полиморфного варианта Q192R гена PON1 между русскими и башкирами старческого возраста. Вероятно, этнически обусловленные пищевые и поведенческие привычки способны модифицировать эффект уровня активности параоксоназы 1, влияя тем самым на выживаемость.

Ключевые слова: продолжительность жизни, этническая принадлежность, антиоксидантная система, генетический полиморфизм, PON1

¹Erdman V.V., ¹Nasibullin T.R., ¹Tuktarova I.A., ¹Timasheva Ya.R.,
¹Mustafina O.E., ²Danilko K.V., ²Viktorova T.V., ³Matua A.Z.

¹Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa
Federal Research Center of the RAS

²Bashkir State Medical University

³Scientific-Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy
of Sciences of Abkhazia

Q192R POLYMORPHISM OF PON1 GENE: ETHNIC AND AGE ASPECTS

The difference in the alleles frequencies of the PON1 gene polymorphism Q192R between the aged Russian and the Bashkir was established. It is likely that ethnically determined food and behavioral habits can modify the effect of paraoxonase 1 activity level, thereby affecting survival.

Keywords: lifespan, ethnicity, antioxidant system, gene polymorphism, PON1

Введение. Продолжительность жизни (ПЖ) человека определяется сложным взаимодействием экзо- и эндогенных факторов, а также тем способом, с помощью которого человек осуществляет это взаимодействие. Влияние окружающей среды, психо-физиологическая и генетическая конституция, поведенческие шаблоны – эти и другие паттерны способны модулировать уровень метаболических процессов в организме, время манифестации той или иной патологии и, в конечном итоге, скорость старения организма.

Значимый эффект генетической детерминанты формирования возраст-ассоциированных заболеваний и старения подтверждается многочисленными исследованиями. Так, степень вовлеченности наследственности в развитие сердечно-сосудистых заболеваний определена приблизительно на уровне 23-57% [1, 2], продолжительности жизни – 20-30% от всех факторов [3].

Вариабельность в продолжительности жизни и в спектре распространенных заболеваний можно наблюдать между представителями разных этносов. Изучение экологических факторов, образа жизни, особенностей питания и других условий формирования фенотипа той или иной этнической группы, закрепленных на протяжении длительного времени, свидетельствует о

сложном приспособительном процессе эволюции генома в определенных климатогеографических и экологических условиях.

Важным паттерном, фигурирующим в каждом звене системы интеракций «окружающая среда – наследственность – возраст – этнос», является система антиоксидантной защиты, предотвращающая токсическое действие активных форм кислорода. Окислительный стресс индуцируется под влиянием факторов среды прооксидантной природы (поллютанты атмосферного воздуха, табачный дым возбудители инфекций, аллергены растительного и животного происхождения и др.). С возрастом происходит существенный сдвиг баланса между продукцией оксидантов и содержанием антиоксидантов. Наблюдается возрастзависимое снижение активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) и избыточная генерация активных форм кислорода (АФК). Таким образом, можно говорить о наличии этиопатогенетической связи АОС со старением. Гены ферментов АОС, будучи полиморфными по своей структуре, определяют индивидуальные особенности людей в отношении функционирования редокс-гомеостаза и его ответной реакции на окислительный стресс. Тем самым можно объяснить и выраженные различия в эффективности фармакотерапии у представителей отдельных этнических групп [4].

Одним из генов антиоксидантной защиты является *PONI* – ген параоксоназы 1. Параоксоназа 1 обладает широкой субстратной специфичностью и способна гидролизовать карбоксильные эфиры, карбаматы, органические фосфаты. В норме первичным субстратом для параоксоназы 1, циркулирующей в плазме крови в составе липопротеидов высокой плотности (ЛВП), являются окисленные липиды в составе липопротеидов низкой плотности (ЛНП) [5]. Тем самым, она оказывается вовлеченной в антиатерогенные и противовоспалительные процессы. С возрастом происходит снижение активности параоксоназы 1; это согласуется со сведениями о большей подверженности окислению ЛНП у лиц старшего возраста [6]. Также параоксоназа 1 играет важную роль в опосредованных цитохромом P450 реакциях, которые обеспечивают детоксикацию после экспозиции к фосфорорганическим веществам, принимает участие в метаболизме фармацевтических агентов, “защищая” при отравлениях, обусловленных хроническим влиянием ксенобиотиков [7].

Аллельные варианты Q192R полиморфного локуса rs662 гена *PONI* соотносятся со способностью ЛВП оказывать защитное действие в отношении окислительной модификации ЛНП: более эффективны ЛВП у лиц, гомозиготных по аллелю *PONI**Q, чем у лиц, гомозиготных по аллелю *PONI**R [8].

Результаты ассоциативных исследований полиморфного локуса rs662 гена *PONI* с заболеваниями и ПЖ показали связь с ишемическим инсультом [11], сахарным диабетом второго типа [10], остеосаркомой [11], сердечной недостаточностью и инфарктом миокарда [12], долголетием [13, 14].

Цель данного исследования заключалась в изучении этноспецифических и возрастзависимых особенностей распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу rs662 гена *PONI* у русских, башкир и татар, проживающих в Республике Башкортостан (РБ).

Материалы и методы. В группу исследования было включено 912 человек в возрасте от 22 до 96 лет, не родственных между собой и принадлежащих к разным этническим группам, проживающим на территории РБ – русских (191 человек), татар (521 человек) и башкир (200 человек). От всех участников исследования было получено информированное добровольное согласие на использование биологического материала в планируемом исследовании. Лица каждой этнической группы были подразделены на две возрастные группы – зрелую (22-55 лет) и старческую (70-96 лет).

Образцы ДНК были получены путем фенольно-хлороформной экстракции из 8 мл цельной венозной крови [15]. Генотипирование было проведено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом в соответствии с условиями, приведенными в работе [16]. Фрагменты ДНК были разделены электрофоретическим методом в 7% полиакриламидном геле. Гель был окрашен в 1% растворе этидия бромистого и визуализирован в проходящем ультрафиолетовом свете на гель-документирующей системе (Vilber-Lourmat, Франция).

Статистический анализ полученных данных был выполнен с использованием пакета программного обеспечения SPSS V. 13.0. Соответствие эмпирически полученного распределения частот генотипов теоретически ожидаемому, а также попарное сравнение этнических групп по частотам аллелей и генотипов было оценено по уравнению Харди-Вайнберга с применением

компьютерной программы R x C (Rows x Columns) [17]. Частоты аллелей и генотипов в разных этнических и возрастных группах сравнивались попарно с помощью точного двустороннего критерия Фишера (Statistica for Windows V. 6.0); при показателе $P < 0,05$ различия считались статистически значимыми.

Результаты и обсуждение. Эмпирическое распределение частот генотипов в каждой из трех этнических групп соответствует распределению, теоретически ожидаемому по уравнению Харди-Вайнберга ($P > 0,05$).

У русских и башкир выявлены межэтнические различия в характере распространения частот генотипов ($\chi^2 = 6,651$, $P = 0,034$); обусловлено это существенно более низкой частотой генотипа *PONI*Q/*Q* у башкир по сравнению с таковой у русских (40,59% против 57,58%, $P = 0,023$) и более высокой частотой генотипа *PONI*Q/*R* также у башкир в сравнении с русскими (54,46% против 36,36%, $P = 0,011$). Частоты аллелей *PONI*Q* и *PONI*R* в старческой группе башкир составили 67,82% и 32,18%, в старческой группе русских – 75,76% и 24,24%, соответственно ($P = 0,013$). Распределение частот аллелей и генотипов в этнической группе татар схоже с таковым в группе русских ($\chi^2 = 4,563$, $P = 0,105$) и башкир ($\chi^2 = 1,909$, $P = 0,406$).

Что касается возрастзависимых изменений в частотах аллелей и генотипов, ни в одной из исследованных в данной работе групп их не удалось обнаружить.

Таким образом, при анализе результатов исследования с учетом возраста и этнической принадлежности нами было выявлено, что этнические башкиры в возрасте от 70 до 96 лет отличаются по распределению частот генотипов и аллелей по полиморфному локусу rs662 гена *PONI* от соответствующей по возрасту группы русских.

Для понимания природы найденных ассоциаций полиморфного локуса rs662 гена *PONI* с этнической принадлежностью и возрастом важны следующие факты. Параоксоназа 1 в плазме крови циркулирует в составе ЛВП и участвует в угнетении окислительной модификации ЛНП. Как полагают, у носителей аллеля *PONI*R* такое свойство фермента проявляется в меньшей мере, чем у носителей аллеля *PONI*Q* [8]. Изменение активности параоксоназы 1 рассматривают как один из этиологических факторов ССЗ [18]. Пониженная активность параоксоназы 1 является независимым фактором риска инфаркта и других коронарных событий. Активность фермента уменьшается при накоплении перекисей липидов, под влиянием курения, вследствие богатой холестерином диеты, а прием витаминов-антиоксидантов или употребление богатых антиоксидантами продуктов, умеренное потребление алкоголя, регулярные физические упражнения повышают его активность [19]. А так как в популяциях разных народов активность фермента значительно варьирует, можно говорить о разнице в генотипе по данному полиморфному сайту как об адаптационном генетическом механизме.

Что же касается чувствительности к токсическим агентам, аллель *PONI*R* ассоциирован с повышенным уровнем активности параоксоназы 1 по отношению к параоксону как субстрату [20]. Возможно, что в преклонном возрасте, когда имеет место нарушение метаболизма ксенобиотиков печенью и, как следствие, организм более, чем в молодом и зрелом возрасте, подвержен негативному влиянию токсичных продуктов, образующихся в результате обмена веществ, носительство аллеля *PONI*R* может оказаться более выигрышным.

Можно полагать, что аллель *PONI*R* важен для достижения преклонного возраста, однако данная закономерность обнаружена лишь в группе башкир. Особенности распределения частот генотипов по полиморфному локусу rs662 гена *PONI* у русских и башкир в старческом возрасте свидетельствуют о существенной гетерогенности этих двух этнических групп. Это может иметь значение для оценки межпопуляционных различий по отягощенности генотипами риска возраст-ассоциированных заболеваний, что принципиально при медико-генетическом консультировании и для развития фармакогенетики. С другой стороны, установленные различия могут быть следствием влияния эпигенетических факторов, активизированных в результате этноспецифики пищевого поведения.

Заключение. Авторы считают, что в данной работе новыми являются следующие положения и результаты. Впервые проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу rs662 гена *PONI* в трех этнических группах лиц разного возраста, проживающих на территории РБ. У русских и башкир найдены этноспецифические и возрастассоциированные особенности в полиморфной структуре гена параоксоназы 1. Возможно, исторически сложившиеся в определенных эколого-географических условиях и закрепленные традиционно-культурными нормами пищевые и поведенческие привычки способны моди-

фицировать эффект уровня активности фермента, влияя на развитие заболеваний, ассоциированных с возрастом и, в конечном счете, на выживаемость. Знание межпопуляционных различий важно учитывать при фармакотерапии и медико-генетическом консультировании.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и АНА в рамках научного проекта № 19-54-40007.

Литература

1. Zdravkovic S., Wienke A., Pedersen N. L. et al. Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins // *Journal of internal medicine*. 2002. V. 252. No. 3. P. 247–254.
2. Nikray M., Goel A., Won H. H. et al. A comprehensive 1000 Genomes–based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease // *Nature genetics*. 2015. V. 47. N. 10. P. 1121.
3. Perls T.T., Wilmoth J., Levenson R. et al. Life-long sustained mortality advantage of siblings of centenarians // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002. V. 99. N. 12. P. 8442–8447.
4. Holmes M.V., Shah T., Vickery C. et al. Fulfilling the promise of personalized medicine? Systematic review and field synopsis of pharmacogenetic studies // *PLoS One*. 2009. V. 4. N. 12. P. e7960.
5. Mackness M., Mackness B., Durrington P. et al. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins // *Curr. Opin. Lipidol.* 1996. V. 7. P. 69–76.
6. Seres I., Paragh G., Deschene E. et al. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging // *Exp. Gerontol.* 2004. V. 39. P. 59–66.
7. La Du B., Aviram M., Billecke S. et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases // *Chemico-Biological Interactions*. 1999. V. 119. P. 379–388.
8. Mackness B., Mackness M., Arrol S. et al. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification // *FEBS Lett.* 1998. V. 423. P. 57–60.
9. Mahrooz A., Alizadeh A., Gohari G. The salt stimulation property of serum paraoxonase (PON1) could be a valuable factor in evaluating the enzyme status in ischemic stroke: the role of activity-determined PON1 192Q/R phenotypes // *Journal of the neurological sciences*. 2014. V. 338. №. 1-2. P. 197-202.
10. Gorshunskaya M.Y., Karachentsev Y.I., Atramentova L.A. et al. Q192R polymorphism of PON-1 gene in type 2 diabetes patients // *Cytology and Genetics*. 2011. V. 45. No. 1. P. 38–40.
11. Ergen A., Kilicoglu O., Ozger H. et al. Paraoxonase 1 192 and 55 polymorphisms in osteosarcoma // *Molecular biology reports*. 2011. V. 38. No. 6. P. 4181–4184.
12. Ellidag H.Y., Aydin O., Eren E. et al. Phenotype distribution of the paraoxonase gene in patients with cardiac disease // *Archives of medical science: AMS*. 2017. V. 13. No. 4. P. 820.
13. Rea I., McKeown P., McMaster D. et al. Paraoxonase polymorphisms PON1 192 and 55 and longevity in Italian centenarians and Irish nonagenarians. A pooled analysis // *Experimental Gerontology*. 2004. V.39. P. 629–635.
14. Bonafe M., Marchegiani F., Cardelli M. et al. Genetic analysis of paraoxonase (PON1) locus reveals an increased frequency of Arg192 allele in centenarians // *Eur. J. Hum. Genet.* 2002. V.10. P. 292–296.
15. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. *Molecular cloning: A Laboratory Manual* // Cold Spring Harbor Laboratory press. 1989.
16. Aynaciogly A., Kepekci Y. The human paraoxonase Gln-Arg 192 (Q/R) polymorphism in Turkish patients with coronary artery disease // *Int. J. of Cardiology*. 2000. V. 74. P. 33–37.
17. Roff P., Bentzen P. The statistical analysis of DNA polymorphism chi 2 and problem of small samples // *Mol. Biol. Evol.* 1989. V. 6. P. 539–545
18. Durrington P., Mackness B., Mackness M. Paraoxonase and atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. V. 21. P. 473–480.
19. Van der Gaag M., Van Tol A., Scheek L. et al. Daily moderate alcohol consumption increases serum paraoxonase activity: a diet-controlled, randomized intervention study in middle-aged men // *Atherosclerosis*. 1999. V. 147. P. 405–410.
20. Davies H., Richter R., Keifer M. et al. The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin // *Nat Genet.* 1996. V. 14. P. 334–336.

Сведения об авторах

Вера Викторовна Эрдман

канд. биол. наук
научн. сотр.

Эл. почта: danivera@mail.ru

Тимур Русланович Насибуллин

канд. биол. наук
старш. научн. сотр.

Эл. почта: nasibullintr@yandex.ru

Ильсияр Авхатовна Туктарова

канд. биол. наук
старш. научн. сотр.

Эл. почта: iltuk@mail.ru

Янина Римовна Тимашева

канд. биол. наук
научн. сотр.

Эл. почта: ianina_t@mail.ru

Ольга Евгеньевна Мустафина

докт. биол. наук, проф.
зав. лаб.

Эл. почта: anmareg@mail.ru

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального
исследовательского центра РАН
Россия, Уфа

Ксения Владимировна Данилко

канд. биол. наук
доцент

Эл. почта: kse-danilko@yandex.ru

Татьяна Викторовна Викторова

докт. мед. наук, проф.
зав. каф.

Эл. почта: t_vict@mail.ru

Башкирский государственный медицинский университет
Россия, Уфа

Алиса Зауровна Матуа

канд. биол. наук
доцент

Эл. почта: azmatua76@mail.ru

Научно-исследовательский институт эксперименталь-
ной патологии и терапии АНА
Абхазия, Сухум

Information about authors

Vera Viktorovna Erdman

Ph.D.
research scientist

E- mail: danivera@mail.ru

Timur Ruslanovich Nasibullin

Ph.D.
senior research scientist

E- mail: nasibullintr@yandex.ru

Ilsiar Avkhatovna Tuktarova

Ph.D.
senior research scientist

E- mail: iltuk@mail.ru

Yanina Rimovna Timasheva

Ph.D.
research scientist

E- mail: ianina_t@mail.ru

Olga Evgenevna Mustafina

DSc, professor
head of the lab.

E- mail: anmareg@mail.ru

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Fed-
eral Research Center of the RAS
Russia, Ufa

Ksenia Vladimirovna Danilko

Ph.D.
senior research scientist

E- mail: kse-danilko@yandex.ru

Tatiana Viktorovna Viktorova

DSc
professor

E- mail: t_vict@mail.ru

Bashkir State Medical University
Russia, Ufa

Alisa Zauravna Matua

Ph.D.
senior research scientist

E- mail: azmatua76@mail.ru

Scientific-Research Institute of Experimental Pathology
and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia
Abkhazia, Sukhumi