



Научный фонд "Биолог"

Ежемесячный научный журнал

№ 4 / 2014

ISSN 2904-9520

Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)
Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов материалов. При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы публикуются в авторской редакции.

Международные индексы:



Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)

Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Художник: Вернандский Д.К.

Верстка: Артемьев З.Л.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

Научный фонд "Биолог"

Адрес: Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

Адрес электронной почты: office@biologyfond.ru

Адрес веб-сайта: <http://biologyfond.ru/>

Учредитель и издатель Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

СОДЕРЖАНИЕ

ЭКОЛОГИЯ (ПО ОТРАСЛЯМ)

*Раилкин А. И., Антоновская Л. И., Твердов А. И.,
Отвалко Ж. А., Коротков С. И., Фомин С. Е.*
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ СРЕД
И МАТЕРИАЛОВ 5

Жуковская А. Ф., Бельчева Н. Н.
УЧАСТИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТАЛЛОТИО-
НЕИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ В АНТИОКСИДАНТНОЙ
ЗАЩИТЕ КЛЕТОК ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *MIZUNORESTEN*
YESSOENSIS 9

МИКРОБИОЛОГИЯ

Сальникова Н. А., Израелян К.
ПРОТИВОСТАФИЛОКОККОВАЯ АКТИВНОСТЬ
НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *ARTEMISIA* L.
(*ASTERACEAE DUMORT.*), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ
НА ТЕРРИТОРИИ ДЕЛЬТЫ Р. ВОЛГА 13

*Сейтханова Б., Атымтайкызы А.,
Омарова Г., Курманбекова Ш.*
ЭНДОГЕННЫЕ ФОРМЫ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ
ИНФЕКЦИЙ СРЕДИ РОДИЛЬНИЦ
ИНОВОРОЖДЕННЫХ 16

ИММУНОЛОГИЯ

Дуросова П. А., Ильин М. В.
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ
И ПРОГРАММИРОВАННАЯ ГИБЕЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ
ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ 18

Шавшукова О. А., Хлызова Л. А.
ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙ-ЛЕРОВ ПРИ
ИНФИЦИРОВАНИИ АССОЦИАЦИЯМИ УСЛОВНО-ПАТО-
ГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ КРУПНОЙ
ПТИЦЕФАБРИКИ 20

БИОХИМИЯ

Иванов А. В.
ХРОМАТОФОКУСИРОВАНИЕ ИЗОФОРМ
ПЛАЗМИНОГЕНА С ПРИМЕНЕНИЕМ
ПРОСТЫХ ПОДВИЖНЫХ ФАЗ 23

Сяткин С. П., Гридина Н. Я., Болтина И. В.
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ
КЛЕТОК КРОВИ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА
РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ 26

ФИЗИОЛОГИЯ

Шаменко В. А.
МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕЙРОНОВ СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА
ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ
ПРЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ 29

РАДИОБИОЛОГИЯ

*Полякова К. И., Пхйьо М. У.,
Николаева В. В., Антропова И. Г.*
АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭСКУЛЕТИНА
И ЭСКУЛИНА 33

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Островская Л. А.

ВЫЯВЛЕНИЕ ЛАТЕНТНОГО ДЕФИЦИТА ВИТАМИНОВ
В12 И В9 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ
МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ
И МУТАЦИЕЙ V617F В ГЕНЕ JAK236

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА

Зелеев М. Х., Дианов В. М., Александрова Е. Л.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ
ФОСФАТИДИЛХОЛИНА
С КОНДЕНСИРОВАННЫМИ АЗОЛАМИ40

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

Уранова Н. А., Востриков В. М.

ДЕФИЦИТ ОЛИГОДЕНДРОГЛИИ И НАРУШЕНИЕ
МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ В НИЖНЕЙ
ТЕМЕННОЙ КОРЕ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ42

ЗООЛОГИЯ

Филатова Ю. Б.

ОЦЕНКА ВИДОВОГО СХОДСТВА ОРНИТОКОМПЛЕКСОВ
ИНДУСТРИАЛЬНОГО ГОРОДА (НА ПРИМЕРЕ ГОРОДА
СТЕРЛИТАМАКА, РЕСПУБЛИКА БАШКОРТОСТАН,
РОССИЯ)46

БИОФИЗИКА

Г.А. Кораблев, Н.Г. Петрова, Р.Г. Кораблев

ЭНТРОПИЙНЫЕ НОМОГРАММЫ В БИОФИЗИКЕ
И В ЭКОНОМИКЕ51

БИОТЕХНОЛОГИЯ (В ТОМ ЧИСЛЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ)

Черемных К. М.

БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ
ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ57

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ, ЭМБРИОЛОГИЯ

Разумов В. В., Бондарев О. И.

ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ
ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬ-НЫХ
ТРАНСФОРМАЦИЙ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)60

ЭКОЛОГИЯ (ПО ОТРАСЛЯМ)

*Раилкин А. И.¹, Антоновская Л. И.², Твердов А. И.³, Отвалко Ж. А.⁴,
Коротков С. И.⁵, Фомин С. Е.⁶*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ СРЕД И МАТЕРИАЛОВ

¹доктор биологических наук, заведующий лабораторией, Санкт-Петербургский Государственный Университет, г. Санкт-Петербург

²кандидат биологических наук, ассистент Белорусского государственного технологического университета, г. Минск,

³кандидат химических наук, заведующий лабораторией, НИИ синтетического каучука имени С. В. Лебедева, г. Санкт-Петербург

⁴кандидат химических наук, старший научный сотрудник, НИИ синтетического каучука имени С. В. Лебедева, г. Санкт-Петербург

⁵кандидат химических наук, старший научный сотрудник, НИИ синтетического каучука имени С. В. Лебедева, г. Санкт-Петербург

⁶научный сотрудник НИИ синтетического каучука имени С. В. Лебедева, г. Санкт-Петербург

USING OF MICROORGANISMS FOR TOXICITY ESTIMATION OF WATER AND MATERIALS

Railkin Aleksandr Ivanovich, Doctor of Sciences, Head of laboratory, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg

Antonovskaya Larissa Ivanovna, Candidate of Sciences, Assistant, Technological State University of Belorussia, Minsk

Tverdov Aleksandr Ivanovich, Candidate of Sciences, Head of laboratory, Institute of Synthetic Rubber, Saint-Petersburg

Otvalko Zhanna Anatolievna, Candidate of Sciences, Senior research worker, Institute of Synthetic Rubber, Saint-Petersburg

Korotkov Sergey Ivanovich, Candidate of Sciences, Senior research worker, Institute of Synthetic Rubber, Saint-Petersburg

Fomin Sergey Evgenievich, Research worker, Institute of Synthetic Rubber, Saint-Petersburg, Minsk

АННОТАЦИЯ

Рассмотрены проблемы оценки токсичности воды и материалов с использованием индикаторных видов и сообществ микроорганизмов. Обсуждены положительные и отрицательные стороны обоих подходов. Обоснованы преимущества экосистемного подхода. Трудности его использования для оценки токсичности водных сред и материалов связаны с тем, что в состав сообществ микроорганизмов входит много видов, причем, обладающих разной

чувствительностью к токсичным веществам. Поэтому трудно оценить интегральный ответ сообществ на токсичные вещества. Полученные данные показывают возможность и перспективность использования сообществ микроорганизмов для определения токсичности воды и материалов.

ABSTRACT

Problems of toxicity assessment of water and materials using indicator species and communities of microorganisms are considered. The positive and negative aspects of both approaches are discussed. The advantages of the ecosystem-based approach are substantiated. Some difficulties of its use for assessment of toxicity of water and materials are due to the fact that microbial communities include many species with different levels of sensitivity to toxic compounds. Thus, it is difficult to estimate the integral response of communities to toxicants. Our data demonstrate the possibility and prospects of using microbial communities for integral estimation of toxicity of water and materials.

Ключевые слова: индикаторные виды, сообщества микроорганизмов, оценка токсичности воды и материалов.

Keywords: indicator species, microbial communities, estimation of toxicity of water and materials.

Введение.

Эксплуатируемые в водной среде коммунальные, промышленные, аквакультурные, оборонные и

другие объекты находятся под постоянным прессом агрессивных водных микро- и макроорганизмов, которые являются источниками их биоповреждений, участвуя в процессах коррозии и обрастания [1-3]. В настоящее время проблема защиты этих объектов требует разработки новых подходов к исследованию и оценке биоповреждающих организмов и их воздействий, а также к созданию материалов, обладающих защитными свойствами против основных биологических объектов, причем акцент делается на разработку способов защиты, не губительных для водной среды и ее обитателей. В связи с этим особое значение имеет разработка подходов и методов диагностики чистоты воды и экологической безопасности эксплуатируемых в ней материалов.

Существуют два подхода для исследования токсичности воды и материалов, применяемых для защиты от биообрастаний и биоповреждений. Первый основан на применении для этого микроорганизмов и рачков [1-3]. Вторым, который пока недостаточно известен, предполагает использование для тех же целей не отдельных культур, а сообществ микроорганизмов, сформированных искусственно или выделенных из природы [3-4].

Практический интерес представляют вопросы защиты технических объектов от биоповреждения. Эксплуатируемые в морской среде суда, подводные лодки, навигационные и научные приборы, газо- и нефтедобывающие платформы на шельфе и другие объекты хозяйственной деятельности подвергаются биообрастанию и биоповреждению, а общий ежегодный экономический ущерб только от обрастания оценивается в 50 млрд долларов США [2].

Материал и методы.

В настоящем исследовании были использованы сообщества микроорганизмов Белого моря, культивируемые в течение нескольких лет в Морском аквариальном комплексе Санкт-Петербургского государственного университета. В их состав входят в основном бактерии, диатомовые водоросли и гетеротрофные жгутиконосцы, а также амебонидные организмы и инфузории. Соотношение основных групп микроорганизмов в проведенных экспериментах составляло бактерии: диатомовые водоросли: гетеротрофные жгутиконосцы около 500: 5: 0,2.

Получение сообществ с определенным видовым (групповым) составом и численностью было обеспечено на основе метода самосборки сообществ микроорганизмов [6, 7], что позволило также обеспечить необходимое количество повторностей опытов с ними [4]. Эксперименты с беломорскими сообще-

ствами микроорганизмов были выполнены при температуре около +10-12 °C на рассеянном свете в чашках Петри.

С использованием сообществ микроорганизмов изучали защитные свойства экспериментальных эпоксидно-каучуковых покрытий. Они были изготовлены по стандартным методикам, модифицированным для задач настоящего исследования [5]. Поскольку в наши задачи входила разработка покрытий с высокими физико-механическими и противокоррозионными свойствами, устойчивых к широкому диапазону температурных (климатических) условий, в настоящей работе представлены результаты испытаний покрытий. Изучение свойств синтезированных эпоксидно-каучуковых покрытий производилось в соответствии с ГОСТ РВ.20.39.304-98, что позволило оценить степень сохранения их основных физико-механических свойств после испытаний в морской среде и под влиянием микроорганизмов.

Другой задачей исследования было изучение влияния сульфатредуцирующих бактерий на ряд новых полимерных материалов. Соответствующие микроорганизмы, *Desulfovibrio* sp. LSL-1, были выделены из промывных вод оборудования ОАО «Мозырский нефтеперерабатывающий завод». Предварительно было установлено, что они имеют высокую биологическую активность, выделяя за 72 ч в питательной среде Ван-Дельдена в анаэробных условиях при температуре +30 °C до 3,5 мг/дм³ сероводорода.

Использована оригинальная методика с использованием культуры бактерий *Desulfovibrio* sp. LSL-1, которая позволила оценить степень защитного действия тестируемых полимерных покрытий по количеству сероводорода, выделяемого микроорганизмами. Меньшее количество сероводорода в культуральной жидкости соответствовало более выраженным антибактериальным свойствам полимеров. Регистрацию количества сероводорода проводили фотоколориметрически на основе цветной реакции образования метиленового синего. Для уменьшения влияния внешних условий на результаты испытаний и возможность сопоставления данных, полученных в разное время, был разработан относи-

тельный количественный параметр ($\bar{A}_{H_2S}$), который показывает, во сколько раз уменьшается интенсивность метаболизма сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) при инкубировании с образцом биозащищенного материала по сравнению с положительным контролем (разведенной в питательной среде накопи-

тельной культурой СРБ. Материал признавался бактериостойким в том случае, если параметр $\overline{A_{H_2S}}$ был равен или превышал 0,68.

Результаты.

Испытания образцов противообрастающих эпоксидно-каучуковых покрытий позволили охарактеризовать следующие их свойства:

- высокий уровень физико-механических характеристик: прочность и относительное удлинение при разрыве (25-35 МПа и 5-15 % соответственно); – стойкость к тепловому старению (нет падения прочностных характеристик при испытаниях в течение 72 часов при 100 °С);
- адгезию к нержавеющей стали, титану и алюминию, не более 1 балла;
- эластичность при изгибе не более 3 мм;
- прочность при ударе 40-50 см (по прибору У-1А);
- твердость покрытий 0,47 ÷ 0,62 отн. ед.;
- износостойкость по прибору ИС-1 при нагрузке 0,5 кг (12÷13)×103 двойных ходов/мм;
- высокий уровень диэлектрических характеристик: высокое электрическое сопротивление (электрическое сопротивление поверхности

покрытия относительно металлической пластины в нормальных климатических условиях не менее 40 МОм);

- высокую электрическую прочность (поверхность покрытия относительно металлической пластины в нормальных климатических условиях выдерживает без пробоя и перекрытия по поверхности в течение 1 мин при мощности испытательной установки не менее 0,5 кВ·А испытательное напряжение синусоидальной формы частоты 50 Гц с действующим значением 1,5 кВ);
- высокий уровень механо-климатических свойств: устойчивость к воздействию повышенной температуры среды (рабочая температура среды 35 °С, предельная температура 100 °С);
- устойчивость к воздействию пониженной температуры среды (рабочая температура среды минус 2 °С, предельная температура минус 50 °С);
- устойчивость при воздействии гидростатического давления (рабочее давление 6,0·106 Па, максимальное давление 8,0·106 Па);
- водопоглощение не более 2,5-3,5 %.

Результаты биологических испытаний противообрастающих свойств эпоксидно-каучуковых покрытий представлены в табл. 1.

Таблица 1

Наиболее эффективные противообрастающие эпоксидно-каучуковые покрытия (ЭКП) по данным испытаний в Морском аквариальном комплексе СПбГУ в 2014 г.

№ п/п	Эпоксидно-каучуковые покрытия с противообрастающими добавками	Защитный индекс	Диапазон защитного индекса	Характеристика защиты от обрастания
1	ЭКП-1 (с антиадгезивом)	0,97	0,9-1,0	На уровне промышленной судовой краски
2	Противообрастающая эмаль Trilux	0,95		
3	ЭКП-2 (с противокоррозионным веществом)	0,93		
4	ЭКП-3 (с антиадгезивом)	0,90		
5	ЭКП-4 (с антиадгезивом)	0,82	0,79-0,89	Весьма перспективны
6	ЭКП-5 (с репеллентом)	0,74	0,68-0,78	Перспективны
7	ЭКП-6 (с репеллентом)	0,68		

Достаточно высокими противообрастающими свойствами обладают эпоксидно-каучуковые покрытия, имеющие в своем составе противоадгезионные и репеллентно подобные вещества. Именно эти вещества, по данным ранее проведенных испытаний и литературных исследований, могут считаться экологически безопасными. Покрытие ЭКП-2, содержащее в своем составе противокоррозионное вещество,

обладает выраженным противообрастающим эффектом. Однако оно основано на его биоцидном действии.

Результаты испытания антибактериальных свойств коррозионностойких полимерных композиций (КПК1- КПК12) по отношению к бактерии *Desulfovibrio sp. LSL-1* представлены в табл. 2.

Таблица 2

Антибактериальные свойства образцов КПК по отношению
к сульфатредуцирующим бактериям *Desulfovibrio* sp. LSL-1

Образец	Концентрация сероводорода, мг/дм ³	$\bar{A}_{H_2S} \pm \delta$, отн. ед	Оценка бактериостойкости материала
КПК-1	2,52	0,26±0,02	Небактериостойкий
	2,43		
	2,48		
КПК-2	1,08	0,70±0,03	Бактериостойкий
	1,00		
	0,96		
КПК-3	0,50	0,85±0,04	Бактериостойкий
	0,56		
	0,44		
КПК-4	0,92	0,75±0,03	Бактериостойкий
	0,85		
	0,81		
КПК-5	0,67	0,81±0,02	Бактериостойкий
	0,63		
	0,59		
КПК-6	1,16	0,64±0,03	Небактериостойкий
	1,21		
	1,26		
КПК-7	1,62	0,54±0,03	Небактериостойкий
	1,51		
	1,54		
КПК-8	2,18	0,35±0,02	Небактериостойкий
	2,13		
	2,22		
КПК-9	0,25	0,93±0,03	Бактериостойкий
	0,20		
	0,31		
КПК-10	2,03	0,39±0,03	Небактериостойкий
	2,09		
	1,96		
КПК-11	1,45	0,57±0,03	Небактериостойкий
	1,36		
	1,49		
КПК-12	2,97	0,10±0,02	Небактериостойкий
	3,06		
	3,01		

Примечание: 1 - средняя концентрация сероводорода в контрольной пробе культуральной жидкости СРБ составила 3,35±0,12 мг/дм³; 2- δ – доверительный интервал.

Выводы

Как следует из представленного материала, немногим более 40 % образцов можно признать бактериостойкими. Наиболее важным результатом является то, что композиция КПК-9 удовлетворяет самым высоким требованиям бактериостойкости ($\bar{A}_{H_2S} \geq 0,90$)

и, таким образом, обладает выраженными биозащитными свойствами.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет сделать общий вывод о перспективности использования микроорганизмов для биоиспытаний противокоррозионных и противообрастающих

свойств полимерных покрытий. Целый ряд синтезированных и испытанных покрытий имеют хорошие перспективы для их дальнейшей разработки и, возможно, найдут применение для защиты от обрастания и коррозии.

Использование сообществ микроорганизмов является более перспективным по ряду причин. Во-первых, в их состав входит много видов и групп, имеющих разную чувствительность к токсическим и другим веществам противокоррозионных и противообрастающих покрытий. Поэтому на уровне сообществ можно увидеть интегральный ответ гидробионтов. Во-вторых, в сообществах также, как среди видовых культур бактерий, можно выделить индикаторные группы, валидность использования которых, безусловно, выше, чем отдельных видов. В настоящее время нами разрабатывается способ оценки интегрального ответа сообществ микро- и макроорганизмов обрастания на защитное действие покрытий.

Литература

1. Антоновская Л. И. 2013. Бактерии и их метаболиты – основа новых методов оценки антибактериальных свойств биозащищенных материалов. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Минск: 1-21.

2. Зевина Г. Б. 1994. Биология морского обрастания. М., Изд-во Моск. ун-та: 1-135.
3. Раилкин А. И. 2008. Колонизация твердых тел бентосными организмами. СПб, Изд-во С.-Петербург. ун-та: 1- 427.
4. Раилкин А. И., Раилкина О. Н. 2010. Самосборка и копирование сообществ микроперифитона как методический прием при биотестировании // Проблемы экологии: чтения памяти проф. М. М. Кожова. Тезисы докл. межд. науч. конф. и межд. школы для молодых спец. Иркутск, 20-25 сентября 2010 г. Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та: 459.
5. ТУ 2257-198-00151963-2013. Покрытие каучук-эпоксидное антиобрастающее защитное КЭЛТ-2.
6. Railkin. A. I. 1998. The pattern of recovery of disturbed microbial communities inhabiting hard substrates // *Hydrobiologia*. 385: 47-57.
7. Railkin. A. I. 2004. *Marine Biofouling: Colonization Processes and Defenses*. Boca Raton (Florida, USA), London, New York, Washington: CRC Press: 1-303.

Жуковская А. Ф.¹, Бельчева Н. Н.²

УЧАСТИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТАЛЛОТИОНЕИН-ПОДОБНЫХ БЕЛКОВ В АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЕ КЛЕТОК ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИМОРСКОГО ГРЕБЕШКА *MIZUHOPECTEN YESSOENSIS*

¹кандидат биологических наук, Тихоокеанский Океанологический институт
им. В.И. Ильичева, г. Владивосток

²кандидат биологических наук, Тихоокеанский Океанологический институт
им. В.И. Ильичева, г. Владивосток

The role of MT-like proteins against oxidative STRESS IN scallop Mizuhopecten yessoensis

Zhukovskaya Aviana Fayazovna, Candidate of Science,
Pacific Oceanological Institute V.I. Il'ichev
Vladivostok

Belcheva Nina Nikolaevna, Candidate of Science,
Pacific Oceanological Institute V.I. Il'ichev, Vladivostok
АННОТАЦИЯ

В работе была исследована роль высокомолекулярных металлотиионеин-подобных (MT-подобных) белков пищеварительной железы приморского

гребешка в антиоксидантной защите клеток. Из половозрелых особей приморского гребешка из зоны сильного антропогенного загрязнения, был выделен основной кадмий-связывающий белок, который относится к типу MT - подобных белков и имеет молекулярную массу 72 кДа. Была исследована антиоксидантная роль основного кадмий-связывающего белка, наличием у него таких функций ферментов антиоксидантной системы как каталаза, глутатион-редуктаза (Г-Р) и супероксиддисмутаза (СОД). Результаты исследования показали наличие в белке только СОД функции.

ABSTRACT

The antioxidant role of high molecular weight proteins from digestive gland of Primorye scallop Mizuhopecten yessoensis was studied. The major cadmium-binding protein was purified from digestive gland sexual mature individuals from pollution area. The explored protein can be applied to MT-like proteins and has molecular weight 72 kDa. Antioxidant function of Cd-binding proteins was ascribed to presence and level catalase, glutathione-reductase and superoxide dismutase functions for proteins studied. The results of this investigate have shown that major Cd-binding protein has only superoxide dismutase function and has antioxidant function consequently.

Ключевые слова: металлотионеины; кадмий-связывающие белки; антиоксидантная защита, гребешок, антиоксидантные ферменты

Keywords: metallothioneins; cadmium-binding proteins; antioxidant defense; scallop antioxidant enzymes

Введение

Для защиты клетки от токсичных металлов в живых организмах в процессе эволюции сформировалась система синтеза лигандов белковой природы таких, как металлотионеины (МТ) и родственные белки (МТ-подобные белки). Синтез этих белков индуцируется в ответ на поступление в клетку как жизненно-необходимых - Cu, Zn, так и токсичных - Cd, Hg металлов. МТ и МТ-подобные белки обнаружены, практически, во всех организмах от простейших до позвоночных (Petering and Fowler, 1986; Roesijadi, 1994). Наиболее интересными живыми объектами являются морские беспозвоночные, так как именно они, обитая в литоральной и сублиторальной зоне, испытывают на себе постоянно изменение солёности, температурного режима и других абиотических факторов вместе с антропогенной нагрузкой. Среди беспозвоночных, приморский гребешок *Mizuhopecten yessoensis* способен извлекать и концентрировать в мягких тканях кадмий, без какого-либо видимого патологического эффекта, даже из чистых вод, в которых концентрации этого металла не превышают допустимого фона (Evtushenko Z. S. et al., 1990). Такая особенность у *M. yessoensis* достигается благодаря хорошо развитому механизму адаптации к высоким концентрациям кадмия в окружающей среде. Этот адаптационный механизм представлен системой высокомолекулярных МТ-подобных белков 72 и 43 кДа (Zhukovskaya et al., 2012).

Кроме функции изоляции токсичного иона металла в организме морских беспозвоночных МТ и МТ-подобные белки выполняют функцию антиоксидантной защиты организма в ответ на стресс различной природы, повышая уровень МТ (Viango et al., 1988; Zapata-Vivenes E., and Nusetti O., 2007). Это

свойство обусловлено наличием в структуре МТ до 30% аминокислоты цистеин, что делает их функции схожими с глутатионом, только в случае с МТ, эти белки являются внутриклеточными "собирающими" свободных радикалов. Некоторыми исследователями обнаружено, что МТ в искусственных экспериментах способны поглощать гидроксильные радикалы и супероксиданион, а также брать на себя роль супероксиддисмутазы (Tama I., 1993).

В нашей работе исследована антиоксидантная функция основного МТ-подобного белка пищеварительной железы приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*. Проверено наличие у белка 72 кДа, как основного кадмий-связывающего белка, наличие каталазной, глутатион-редуктазной (Г-Р) и супероксиддисмутазной (СОД) функций.

Материал и методы

Для получения основного кадмий-связывающего белка пищеварительной железы приморского гребешка особи данного вида были отобраны из загрязненной акватории Амурского залива (Японское море) г. Владивостока вблизи нефтебазы (район 1-я речка) и устья реки, обогащенной неочищенными сточными водами.

Выделение и очистка кадмий-связывающего белка проводили согласно методике выделения классических МТ (Roesijadi et al., 1989; Tompson and Sutherland 1992). Пищеварительную железу приморского гребешка извлекали, затем ткань гомогенизировали в 0.02 М Трис-НCl буфере pH 8.5 в присутствии 1мМ PMSF и 10 мМ ДТТ. Полученный гомогенат, центрифугировали при 10 тыс. об. в мин. в течение 50 мин. В дальнейшем цитозоль подвергали термообработке (100 °C, 10 мин) для получения термостабильных белков. Фракцию термостабильных белков подвергали обработке органическим растворителем: 50 %-ным ацетоном в течение 2-х часов при -20 °C, а затем 80%-ным ацетоном при -20 °C в течение 12 часов. Полученные водорастворимые, термостабильные, устойчивые к органическому растворителю высокомолекулярные цитоплазматические белки разделяли с помощью гель-хроматографии на Superosa 12 с соблюдением условий и рекомендаций, разработанных для морских организмов (Pavicic et al., 1993). Белковые фракции элюировали 0.05 М Трис-НCl pH 7.0 со скоростью потока 0.4 мл/мин. Выход фракций регистрировали при λ 280 нм. Затем, полученные фракции, содержащие кадмий-связывающие белки, методом атомно-абсорбционной спектроскопии (Никаноров и др., 1985; Julshamn, Andersen, 1983) были проанализированы на содержание кадмия. В основном кадмий-связывающем белке были измерены каталазная (Regoli et al., 1995), глутатион-редуктазная (Regoli et al., 1995) и супероксиддисмутазная функции (Paoletti and Aldinuccio, 1986).

Результаты и Обсуждение

Основной кадмий-связывающий белок пищеварительной железы приморского гребешка

(Zhukovskaya et al., 2012) после гель-хроматографии был проанализирован на активность следующих антиоксидантных ферментов (АО): каталаза, глутатион-редуктаза и супероксиддисмутаза (Табл. 1).

Метод определения активности фермента каталазы (EC 1.11.1.6) основан на его способности разлагать перекись водорода. Кинетику распада перекиси водорода регистрировали при λ 240 нм. Результаты измерения каталазной активности не показали никакого наличия данной антиоксидантной активности в основном кадмий-связывающем белке пищеварительной железы приморского гребешка.

Метод определения активности GSH-редуктазы основан на способности фермента (EC 1.6.4.2) восстанавливать окисленную форму глутатиона с использованием молекул НАДФН. Результаты данного эксперимента также не показали наличие глутатион-редуктазной активности у основного кадмий-связывающего белка.

В основе метода определения супероксиддисмутазной активности (EC 1.15.1.1) лежит способность биологического образца ингибировать реакцию окисления NADH. Регистрация окисления NADH проводилась при λ 340 нм. Результаты данного исследования показали, что основной кадмий-

связывающий белок проявляет супероксиддисмутазную активность, которая составляет 200 единиц на мг белка. Таким образом, мы можем говорить о наличии антиоксидантной активности у исследуемого основного кадмий-связывающего МТ-подобного белка пищеварительной железы приморского гребешка.

В данных об активности антиоксидантных ферментов в морских беспозвоночных в основном проводят исследования на жаберной ткани и ткани пищеварительной железы. Однако работ на приморском гребешке достаточно мало. Так работа авторов Бельчева и др., 2014 была выполнена на жаберной ткани приморского гребешка, выловленного из экологически чистого района – бухта Северная. В исследовании показано, что у половозрелых особей *M. yessoensis* активность фермента каталаза, Г-Р и СОД регистрируются, однако значение СОД значительно ниже. Так же авторы инкубировали часть особей приморского гребешка с кадмием в концентрации 300 мкг/л в течение 4 суток с ежедневной сменой воды. Результаты эксперимента также подтверждают наличие активности у всех вышеуказанных ферментов, однако в условиях повышенного содержания кадмия показатели активности каталазы и Г-Р значительно снижались в среднем на 40-50 %, тогда как СОД снижается незначительно.

Таблица 1

Сравнение активности ферментов антиоксидантной системы в пищеварительной железе приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* из места с активной антропогенной нагрузкой – Первая речка и из экологически чистого места – бухта Северная (Истомина, 2012).

Район	Ткань	АО ферменты		
		Каталаза (мкМоль/мг белка)	Г-Р (мкмоль/мг белка)	СОД (ед. акт/мг белка)
Первая речка	Пищеварительная железа (белок 72 кДа)	–	–	200
Б. Северная	Пищеварительная железа	60	22	90

В литературе так же показано, что в целом показатели антиоксидантных ферментов в жаберной ткани отличаются от показателей в ткани пищеварительной железы. Так у мидии Грея *Crenomytilus grayanus* (Belcheva et al., 2011) разница между значениями СОД в жабрах и печени составляет в 2,5 раза в сторону увеличения показателей в клетках пищеварительной железы у мидий из чистой зоны обитания. Для загрязненной акватории активность СОД в жабрах незначительно выше, чем в печени.

В зарубежных исследованиях на мидии *Mytilus galloprovincialis* авторы (Viarengo et al., 1999) показали, что у мидий аккумулированный кадмий связывается с МТ, которые при нетоксичной дозе кадмия

обладают свойствами антиоксиданта. В нашем исследовании у приморского гребешка из зоны антропогенной нагрузки аккумулированный кадмий составляет от 7 до 10 мкг кадмия на мг белка, полученного после многоэтапного фракционирования, тогда как для чистых районов это значение составляет около 0,5 – 0,8 мкг кадмия на мг белка (Жуковская А.Ф., Бельчева Н. Н., Челомин В. П. 2011). Поэтому исследуемый высокомолекулярный МТ-подобный кадмий-связывающий белок приморского гребешка связывая, токсичную для других организмов, дозу кадмия обладает функцией антиоксиданта.

Таким образом, помимо классических МТ и МТ моллюсков, у которых антиоксидантная функция

является общепризнанной, исследуемый МТ-подобный белок 72 кДа так же выполняет функцию защиты клетки от кислородных радикалов.

Список литературы

1. Бельчева Н. Н., Кудряшова Ю. В., Истомина А. А., Чижова Т. Л. 2014. Возрастное изменение реакций антиоксидантных ферментов в жабрах приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis* на окислительный стресс. Вопросы рыболовства. 15(3): 306-313.
2. Жуковская А.Ф., Бельчева Н.Н., Челомин В.П. 2011. Идентификация и частичная характеристика двух высокомолекулярных кадмий-связывающих белков приморского гребешка *Mizuhopecten yessoensis*. Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. 3: 36-42.
3. Истомина А. А. Реакция антиоксидантной системы у массовых видов моллюсков залива Петра Великого в условиях дефицита кислорода и действия ионов Cu^{2+} / автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Дальневосточный федеральный университет. Владивосток, 2012.
4. Никаноров А. М., Жулидов А. В., Покаржевский А. Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресных экосистемах. - Л.: Гидрометеиздат. 1985
5. Belcheva N.N., Zhukovskaya A.F., Dovzhenko N.V., Chelomin V.P., Zakhartsev M.V., Kavun V.Y. 2011. Anthropogenic pollution stress stimulates oxidative stress in soft tissues of mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker 1853). Ocean Science Journal. 46(2): 85-94.
6. Evtushenko Z.S., Lukynova O.N., Belcheva N.N. 1990. Cadmium bioaccumulation in organs of the scallop *Mizuhopecten yessoensis* Mar. Biol. 104: 247-250.
7. Julshamn K., Andersen K.-J. 1983. Subcellular distribution of major and minor elements in unexposed mollusks in western Norway-I. The distribution and binding of cadmium, zinc and copper in the liver and the digestive system of the oyster *Ostrea edulis*. Comp. Biochem. Physiol. 75A: 9-12.
8. Paoletti F., Aldinuccioni D., Mocali A., Carparrini A. 1986. A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase in tissue extracts. Anal. Biochem. 154: 526-541.
9. Pavicic J., Raspor P., Martincic D. 1993. Quantitative determination of metallothionein-like proteins in mussels. Methodological approach and field evaluation. Marine Biology. 115: 435-444.
10. Petering D. H., Fowler B. A. 1986. Discussion summary. Role of metallothionein and related proteins in metal metabolism and toxicity: problems and perspectives. Environ. Health Perspect. 65: 217-224.
11. Regoli F., Principato G. 1995. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. Aquat. Toxicol. 31: 143-164.
12. Roesijadi G. 1994. Metallothionein induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. Environ. Health Perspect. 02: 1-96.
13. Roesijadi G., Kielland S. L., Klerks P. 1989. Purification and properties of novel molluscan metallothioneins. Archiv. Biochem. Biophys. 273: 403-413.
14. Tamai I. 1993. Tolerance of *Theora fragilis* (Bivalvia: Semelidae) to low concentrations of dissolved oxygen. Nippon Suisan Gakkaishi. 59(4): 615-620.
15. Thompson J.A.J., Sutherland A.E. 1992. A comparison of methods for sample clean-up prior to quantification of metal-binding proteins. Comp. Biochem. Physiol. 102(4B): 769-772.
16. Viarengo A., Burlando B., Cavaletto M. 1999. Role of metallothionein against stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. American journal of Physiology – regulatory Integrative and comparative physiology. 1612-1618.
17. Viarengo A., Pertica M., Canesi L., Biasi F., Cecchini G., Orunesu M. 1988. Effects of heavy metals on lipid peroxidation in mussel tissues. Mar. Environ. Res. 24: 355-359.
18. Zapata-Vivenes E., and Nusetti O. 2007. Protection of glycolytic enzymes by metallothioneins from oxidative damage in the digestive gland of green lipped mussel *Perna viridis*. Journal of Shellfish Research. 26(2): 335-344.
19. Zhukovskaya A.F., Belcheva N.N., Slobodskova V.S., Chelomin V.P. 2012. Metallothionein-like proteins induced by cadmium stress in the scallop *Mizuhopecten yessoensis*. Ocean Science Journal. 47(3): 189-195.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Сальникова Н. А.¹, Израелян К.²

ПРОТИВОСТАФИЛОКОККОВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *ARTEMISIA* L. (ASTERACEAE DUMORT.), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ДЕЛЬТЫ Р. ВОЛГА

¹кандидат биологических наук, доцент, ГБОУ ВПО Астраханский государственный, медицинский университет, г. Астрахань

²студент 5 курса фармацевтического факультета, ГБОУ ВПО Астраханский государственный, медицинский университет, г. Астрахань

ANTISTAPHYLOCOCCUS ACTIVITY of SOME PLANTS of the GENUS *ARTEMISIA* L. (ASTERACEAE DUMORT.), GROWING ON the TERRITORY of the DELTA VOLGA

Salnikova Natalya, candidate of science, assistant professor of, Astrakhan state medical University, Astrakhan
Israelian Karina, student of the 5th course of pharmaceutical faculty, Astrakhan state medical University, Astrakhan

АННОТАЦИЯ

Изучены растения рода Полынь, произрастающие на территории дельты Волги. Применялся метод прямой диффузии и бумажных дисков. Выявлена противостафилококковая активность некоторых представителей рода *Artemisia*. Выраженной противостафилококковой активностью обладают водные вытяжки *A. arenaria* Полынь песчаная и *A. lerchiana* Полынь Лерха, которые сопоставимы по степени чувствительности с контрольным антибиотиком гентамицином.

ABSTRACT

Studied plants of the genus *Artemisia* growing in the area of the Volga Delta. The method used was direct diffusion and paper discs. Identified protivostoyaschej activity of some representatives of the genus *Artemisia*. Expressed protivostaphylococcus activity have water extract of *Artemisia arenaria* and *A. lerchiana*, which is comparable in sensitivity with the control antibiotic gentamicin.

Ключевые слова: антибактериальная активность, полынь, метод прямой диффузии, метод бумажных дисков.

Keywords: antibacterial activity, wormwood, the method of direct diffusion method paper discs.

Род *Artemisia* L. один из самых крупных в семействе сложноцветных. По оценкам разных авторов

он насчитывает от 400 до 550 видов, распространенных практически по всему Северному полушарию, многие из них характеризуются сильной изменчивостью. Особое значение всестороннему изучению данной группы придает тот факт, что многие виды рода играют важную роль в растительных сообществах [2, с. 1] и используются человеком в медицинской практике. Многие виды полыней проявляют протистоцидную, акарицидную, ларвицидную, антифунгальную, антибактериальную, противовоспалительную, противоязвенную, антивирусную активность.

На территории Астраханской области, в долине Нижней Волги произрастает порядка 13 видов растений рода *Artemisia*: *A. abrotanum*, *A. arenaria*, *A. austriaca*, *A. campestris*, *A. lerchiana*, *A. marschalliana*, *A. nitrosa*, *A. pauciflora*, *A. pontica*, *A. santonica*, *A. scoparia*, *A. taurica*, *A. vulgaris* [4, с. 116-117].

На антибиотическую активность нами были исследованы 4 вида растений рода Полынь.

A. arenaria – Полынь песчаная. Мн. 50-100 см выс. – Повсеместно, особенно на песках. Химические компоненты: алициклические соединения, моно- и сесквитерпеноиды, тритерпеноиды, стероиды, производные бензола, фенилпропаноиды, флавоноиды [3, с. 117].

A. lerchiana – Полынь Лерха. Пкч. 10-50 см выс. – По склонам бэровских бугров, на обвалованных участках. Химические компоненты: алициклические соединения, моно- и сесквитерпеноиды, фенилпропаноиды, флавоноиды, алифатические углеводороды, спирты, жирные кислоты, эфирное масло [5, с. 78].

A. pauciflora – Полынь малоцветковая. Пкч. 10-25 см выс. – На солончаках, на обвалованных засоленных участках. Химические компоненты: моно- и сесквитерпеноиды [1, с. 20].

A. santonica – Полынь сантонинная. Мн. 15-90 см выс. – На засоленных лугах, солончаках. Химические компоненты: алициклические соединения, моно- и сесквитерпеноиды, производные бензола, фенилпропаноиды, флавоноиды, алифатические спирты, жирные кислоты, эфирное масло [5, с. 89].

Из предложенных растений готовили водные извлечения, общая технология которых регламентировалась статьей ГФ XI изд. «Настои и отвары». Технологическая схема получения водных извлечений состояла из следующих стадий:

1. измельчение и просеивание растительного сырья,
2. настаивание сырья с рассчитанным количеством воды на кипящей водяной бане,
3. охлаждение,
4. фильтрование через двойной слой марли и отжим сырья,
5. измерение объема,
6. контроль качества.

Перечисленные материалы исследовались на противомикробную активность в отношении культивируемых штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из зева больного воспалением верхних дыхательных путей.

Для выявления морфологических признаков микроорганизмов готовили фиксированные препараты согласно методам микроскопического исследования. Исследования проводили на универсальной среде – мясопептонном агаре МПА.

Оценка антимикробной активности водных извлечений растений полыни проводилась согласно методическим материалам по степени подавления роста культуры на поверхности питательной среды, засеянной смесью микробных клеток в водной суспензии (300-500 тыс. клеток в 1 мл). Чистую культуру *Staphylococcus aureus* со скошенного агара снимали бактериальной петлей, разводили в 1 мл физиологического раствора и производили посев на поверхность МПА в чашке Петри. Определение чувствительности *Staphylococcus aureus* к растительным экстрактам осуществляли методом прямой диффузии в питательную среду и методом бумажных дисков.

Чашки Петри с культурами выдерживали в термостате при температуре 37°C в течение 17-18 часов, после чего проводили оценку активности через каждые 24 часа в течение 6-7 суток путем измерения диаметра зоны задержки роста (ДЗР) микроорганизмов вокруг цилиндров и дисков, включая их диаметр.

По результатам ДЗР проводили оценку резистентности исследуемых штаммов *Staphylococcus aureus* по четырем категориям: устойчивые, малочувствительные, чувствительные, высокочувствительные:

- До 10 мм - устойчивые,
 - От 11 до 15 мм - малочувствительные,
 - От 15 до 25 мм - чувствительные,
 - Более 25 мм – высокочувствительные.
- Контролем послужил коммерческий антибиотик – гентамицин, спирт этиловый.

Из данных таблицы 1 видно, что исследуемые водные вытяжки растительного сырья полыней обладают избирательной антимикробной активностью. Наибольшей активностью по отношению к испытуемым штаммам *St. aureus* обладает *A. arenaria* (ДЗР=35,0±0,4), следующим по активности идет экстракт *A. lerchiana* (ДЗР=32,5±1,2). *St. aureus* оказался чувствительным к *A. pauciflora* (ДЗР=25,1±0,2) и *A. santonica* (ДЗР=20,5±1,2). Из приведенных в таблице данных видно, что действующие вещества *Artemisia* по своей активности сравнимы со значениями контрольного антибиотика - гентамицина и превосходят значения спирта 40%-го.

Результаты динамики бактериостатического действия растительных экстрактов в разведениях (метод бумажных дисков) приведены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, *A. arenaria* в разведении 1:10 снижает свою активность (ДЗР=20,0±0,5), а в разведении 1:100 противомикробная активность повышается (ДЗР=25,2±0,8). Экстракт *A. lerchiana* по мере разведения несколько снижает ингибирующую активность от высокочувствительной (ДЗР=32,5±1,2) до малочувствительной степени (ДЗР=10,5±0,9), а экстракт *A. santonica* снижает активность в два раза в разведении 1:10 (ДЗР=10,2±0,5) и не проявляет таковую в разведении 1:100 (ДЗР=0).

Таким образом, выраженной противостафилококковой активностью обладают водные вытяжки *A. arenaria* Полынь песчаная, *A. lerchiana* Полынь Лерха, которые сопоставимы по степени чувствительности с контрольным антибиотиком гентамицином.

Таблица 1

Антимикробная активность водных вытяжек растений р. *Artemisia*
(метод прямой диффузии)

Растения	St. aureus	
	Диаметр зоны задержки роста (в мм)	Степень чувствительности
<i>A. arenaria</i>	35,0±0,4	в/ч
<i>A. lerchiana</i>	32,5±1,2	в/ч
<i>A. pauciflora</i>	25,1±0,2	ч
<i>A. santonica</i>	20,5±1,2	ч
Гентамицин	42,0±1,4	в/ч
Спирт 40%	10±0,01	у

Таблица 2

Противомикробная активность растительных экстрактов в разведениях по отношению к штамму
Staphylococcus aureus (методом бумажных дисков)

Разведения Растения	Цельный	1:10	1:100	Степень чувств.
	ДЗР в мм (x± m)			
<i>A. arenaria</i>	35,0±0,4	20,0±0,5	25,2±0,8	в/ч-ч
<i>A. lerchiana</i>	32,5±1,2	11,2±1,2	10,5±0,9	в/ч-м/ч
<i>A. pauciflora</i>	25,1±0,2	15,1±0,1	7,5±0,5	ч-у
<i>A. santonica</i>	20,5±1,2	10,2±0,5	0	ч-у
Гентамицин	42,0±1,4	22,5±0,1	10,0±0,1	в/ч-м/ч

Список литературы

1. Березовская Т.П. 1978. Хемотаксономия полыней Южной Сибири: Автореф. дис. ...д-ра биол. наук. Новосибирск. – 32 с.
2. Безр А.С. 2005. Сравнительное биоморфологическое исследование восточноевропейских представителей рода *Artemisia* L. (Asteraceae Dumort): Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Москва. – 20 с.
3. Великородов А.В., Морозова Л.В., Пилипенко В.Н., Ковалев И.Б. 2011. Химический состав эфирного масла четырех эндемичных видов полыни Астраханской области// Химия растит. сырья. 4: 115-120.
4. Лосев Г.А., Лактионов А.П., Афанасьев В.Е., Леумменс Х. 2008. Флора долины нижней

Волги (в границах Волго-Ахтубинской поймы и дельты Волги). Аннотированный список дикорастущих растений. Астрахань: Изд-во «Чилим». 220 с.

5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения. Их компонентный состав и биологическая активность. 2012. Т. 5. Семейство Asteraceae / Отв. Ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 317 с.

Сейтханова Б.¹, Атымтайкызы А.², Омарова Г.³, Курманбекова Ш.⁴

ЭНДОГЕННЫЕ ФОРМЫ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ СРЕДИ РОДИЛЬНИЦ И НОВОРОЖДЕННЫХ

¹д.м.н, и.о.проф. кафедры биохимии биологии и микробиологии, Южно-Казахстанская Государственная Фармацевтическая академия.

²К.б.н и.о.доцента кафедры биохимии биологии и микробиологии, Южно-Казахстанская Государственная Фармацевтическая академия.

³Старший преподаватель кафедры биохимии биологии и микробиологии

⁴Южно-Казахстанская Государственная Фармацевтическая академия, Старший преподаватель кафедры биохимии биологии и микробиологии

АННОТАЦИЯ

В статье рассмотрена возможность использования результатов микробиологического исследования родовых путей для определения типа инфицирования новорожденного (эндогенное или экзогенное). Результат бактериологического исследования родовых путей в рамках микробиологического мониторинга позволяет своевременно прогнозировать развитие эндогенных форм гнойно-септических инфекций среди родильниц и новорожденных с учетом их этиологии.

ANNOTATION

The article is devoted to the possibility of using the results of the microbiological examination of the birth canal to determine the type of infection of the newborn (endogenous or exogenous). The result of bacteriological examination of the birth canal as part of microbiological monitoring allows to predict the development of endogenous forms of septic infections among women in childbirth and newborns with regard to their etiology.

Keywords: purulent-septic infection, habitat, microflora of the birth canal, S. Agalactiae.

Введение. На современном этапе развития медицины, несмотря на колоссальные достижения в области лечебно-диагностических технологий стационарного лечения и родовспоможения, проблема гнойно-септических инфекций (ГСИ) в акушерских стационарах до сих пор остается одной из актуальных, приобретая все большую социальную и экономическую значимость. Именно в родовспомогательных учреждениях регистрируется наиболее высокий уровень заболеваемости и летальности [1,2,3]. Одним из приоритетных направлений по снижению гнойно-септической заболеваемости среди родильниц и новорожденных является эффективная организация системы эпидемиологического надзора. [4,5].

Как известно, при эпидемиологической диагностике заболеваемости внутрибольничными ГСИ в акушерском стационаре это чрезвычайно важно. В

настоящее время в учреждениях родовспоможения в качестве одного из диагностических тестов по дифференциации типа инфицирования используется метод бактериологического исследования мазков с заушной складки новорожденного, микрофлора которой, как принято считать, в течение 3-5 дней соответствует материнской [6].

С целью данного исследования является выбор биологического материала, наиболее полно отражающего микробный состав биотопов родильниц и новорожденных в послеродовой период (на 3-и сутки после родов), у 30 женщин из пар, сформированных по принципу «мать-дитя», изучена микрофлора отделяемого влагалища в динамике беременности и родов, содержимого кишечника и мочи, у 30 новорожденных – мазков с заушной складки в родах и на 3-и сутки после родов.

Материалы и методы. Нами была предпринята попытка рассмотреть возможность использования результатов микробиологического исследования родовых путей для определения типа инфицирования новорожденного (эндогенное или экзогенное).

Проведенные нами исследования по изучению микрофлоры рожениц (отделяемое влагалища, моча, содержимое кишечника), родильниц (родовые пути) и новорожденных (мазок с заушной складки в родах и на 3-и сутки после родов) в ходе динамического наблюдения показали, что из 26 микроорганизмов, выделенных с заушной складки 30 новорожденных в родах, только 21,4±4,3% совпали по виду и фенотипическим свойствам со штаммами, выделенными от его матери из влагалища, мочи или кишечника. Из 74 микроорганизмов с заушной складки этих же детей на третьи сутки после родов - только 23,8±4,5% штаммов. В месте с тем 94,6±% микроорганизмов (61 из 65), встречающихся в родовых путях родильниц, были сопоставимы с микроорганизмами, выделенными у рожениц (из вагины, мочи или кишечника) по видовому признаку, антибиотикограмме и фенотипическим свойствам. В целом сопоставимость

микрофлоры перечисленных биологических материалов матери с микрофлорой родовых путей составила $82,4 \pm 4,4\%$, с микрофлорой заушной складки новорожденного в родах $-17,6 \pm 3,9\%$, на 3-й день жизни ребенка – $25,3 \pm 4,6\%$.

Достоверные отличия в составе микрофлоры родовых путей (согласно родовой принадлежности выделенных штаммов) относительно микрофлоры вагинальных мазков, мочи или кишечника родильницы были выявлены только у *Candida* spp. ($1,1 \pm 1,1\%$ против $15,4 \pm 3,8\%$, $p < 0,01$)

Вместе с тем состав материнской флоры и заушной складки новорожденного в родах отличался уже по 4 представителям различных родов и семейств (*Escherichia* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Candida* spp.), а на 3-и сутки после родов – по 6 (*Escherichia* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Gardnerella* spp., *Lactobacillus* spp., *Candida* spp.).

Результаты и их обсуждения. Таким образом, в ходе исследований было установлено, что микрофлора заушной складки новорожденного в родах и после родов лишь частично (на $17,6-25,3\%$) отражает микрофлору матери, что ставит под сомнение и саму методику прогнозирования эндогенных ГСИ у новорожденных с помощью изучения микрофлоры их заушной складки. Учитывая, что наибольшую сопоставимость с материнской флорой имеет микрофлора родовых путей, мы изучили возможность прогнозирования ГСИ среди новорожденных на группе детей, родовые пути матери которых были колонизированы стрептококком группы В (*S. agalactiae*), так как по данным [7] этот микроорганизм, вызывая тяжелые гнойно-септические осложнения у детей в раннем послеродовом периоде, характеризуется только эндогенным типом инфицирования. Как показали исследования, все выделенные из родовых путей матери штаммы *S. agalactiae* обусловили у новорожденных ГСИ в форме «омфалита» и сочетания двух клинических форм «омфалит-конъюнктивит». При этом сопоставимость микрофлоры родовых путей матери (представленной *S. agalactiae*) с микрофлорой новорожденных составила $100,0\%$.

Известно, что гнойно-септическую заболеваемость в акушерском стационаре определяют не только микроорганизмы, колонизирующие биотопы родильниц

(эндогенная микрофлора). На показатели заболеваемости существенное влияние оказывают внутрибольничные штаммы (эковары), характеризующиеся высоким эпидемическим потенциалом (экзогенная микрофлора). Относительный риск развития ГСИ среди родильниц составил $1,01$, у новорожденных — $0,77$. Относительный риск возникновения ГСИ у родильниц, послед которых был колонизирован вирулентными штаммами, составил $1,4$ (атрибутивный — $0,28$), у их новорожденных — $1,0$.

Выводы. Таким образом, бактериологическое исследование родовых путей в рамках микробиологического мониторинга позволяет своевременно прогнозировать развитие эндогенных форм гнойно-септических инфекций среди родильниц и новорожденных с учетом их этиологии.

Литература

1. Захарова Ю.А. Оценка иммунного статуса родильниц и новорожденных при микробной колонизации условно-патогенной флорой // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2008. № 4. С. 47-53.
2. Белов Б.С. Современные аспекты А-стрептококковых инфекций // Инфекции и антимикробная терапия. – 2001. – Т. 3. – №4. – С.49-54.
3. Ulett, A. N. Mabbett // J. Bacteriol. 2008. - V. 190(3). - P. 1054-1063.
4. Page, M.G. Extended-spectrum beta-lactamases: structure and kinetic mechanism / M.G. Page // ClinMicrobiol Infect. 2008. - V.14. -P.63-74.
5. Canton, R. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe / R. Canton // ClinMicrobiol Infect. 2008. №14. P.144-153.
6. Pennisi E. Bacteria are picky about their homes on human skin. Science, 2008.- 320, P. 1001;
7. Захарова Ю.А., А.М. Николаева, И.В. Фельдблюм
8. Ведущие факторы риска развития внутрибольничных гнойно-септических инфекций в акушерских стационарах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2007, 6, 72-75

ИММУНОЛОГИЯ

Дуросова П. А.¹, Ильин М. В.²

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ И ПРОГРАММИРОВАННАЯ ГИБЕЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИИ

¹врач, Государственное бюджетное учреждения здравоохранения Ярославской области «Областная клиническая больница», г. Ярославль

²Доктор медицинских наук, доцент, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ярославский государственный медицинский университет" Министерства, здравоохранения Российской Федерации, г. Ярославль

FUNCTIONAL HETEROGENEITY AND THE APOPTOSIS OF NEUTROPHILS AT SYSTEMIC SCLEROSIS
Durosova Polina, Physician, Yaroslavl Regional Clinical Hospital,

Ilyin Michael, Doctor of Medical Sciences, Associate professor, Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl

АННОТАЦИЯ

Цель. Изучение функциональной активности (ФА) и апоптоза нейтрофилов (Нф) у больных системной склеродермией (ССД) в зависимости от возраста пациентов, формы, длительности и характера течения заболевания.

Методы. ФА Нф исследовали хемилюминесцентным методом, состояние апоптоза Нф - стрептавидин-биотиновым методом.

Результаты. Выявлена гетерогенность показателей ФА и апоптоза Нф у больных ССД.

Выводы. У больных ССД наблюдается феномен функциональной неоднородности Нф. Изменение показателей ФА и апоптоза Нф зависит от возраста, формы, длительности и характера течения заболевания.

Ключевые слова: системная склеродермия; функциональная активность; апоптоз; нейтрофилы.

ABSTRACT

Background. Study of the functional activity (FA) and neutrophil (Nf) apoptosis in patients with systemic sclerosis (SSc) depending on age of patients, kind, duration and course of the disease.

Methods. FA of Nf was studied by chemiluminescence method, level of apoptosis by streptavidin-biotin method.

Result. Heterogeneity of FA indicators and Nf apoptosis in patients with SSc is revealed.

Conclusion. In patients with SSc is observed phenomenon of functional heterogeneity Nf. Change of FA

indicators and Nf apoptosis depends on age of patients, kind, duration and course of the disease.

Keywords: systemic sclerosis; functional activity; apoptosis; neutrophils.

Системная склеродермия (ССД) является прогрессирующим полисиндромным заболеванием, в основе которого лежит поражение соединительной ткани с преобладанием фиброза и сосудистых патологических изменений, сопровождающихся характерными изменениями кожи, опорно-двигательного аппарата, внутренних органов и распространенными вазоспастическими нарушениями. В экспериментах на лабораторных животных было показано, что персистенция фиброза при ССД не зависит от текущего нейтрофильного воспаления. Однако поражение сосудистой стенки, в котором принимают участие нейтрофилы, является важным фактором локального и общего патогенеза ССД, при котором наблюдаются пролиферация и деструкция эндотелия, утолщение и гиперплазия интимы, фибриноидные изменения и склероз сосудистой стенки [1, с. 56].

В настоящее время имеются доказательства существования различных подмножеств нейтрофилов, экспрессирующих на своей поверхности специфические молекулярные маркеры, хотя подробности их функционального потенциала до сих пор не выяснены [3, с. 1543]. Очевидно, функциональная неоднородность нейтрофилов определяется разной степенью экспрессии одинаковых рецепторов и играет важную роль в развитии патологического процесса.

Целью работы являлось исследование состояния кислородзависимого метаболизма и апоптоза нейтрофилов у больных системной склеродермией (ССД) и анализ изменения их функциональной активности (ФА) в зависимости от возраста пациентов, формы, длительности и характера течения заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 28 женщин, больных ССД в возрасте от 18 до 72 лет (в среднем $45,5 \pm 16,2$ лет), длительностью заболевания $8,63 \pm 5,21$ года (от 1 до 26 лет). В контрольную группу включены 11 женщин в возрасте от 18 до 53 лет (в среднем $34,2 \pm 9,7$ года). Диффузная форма заболевания выявлена в 11 (39,2%), лимитированная – в 17 (60,8%) случаях. Течение заболевания носило преимущественно хронический характер – 23 (82,1%), и соответствовало второй стадии патологического процесса. Выделение нейтрофилов периферической крови проводили на двойном градиенте плотности фиколла-урографина. Функциональную активность нейтрофилов исследовали хемилюминесцентным методом. Для определения уровня апоптоза использовали стрептавидин-биотиновый метод.

Результаты

Больные ССД были разделены на три подгруппы в зависимости от уровня кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, отражающего их функциональную неоднородность. Группа с высоким уровнем ФА нейтрофилов в анализ не включалась ввиду ее малочисленности ($n=4$).

У больных с низким уровнем функциональной активности нейтрофилов наблюдалось значительное увеличение резервного потенциала клеток (КА ХЛл) в сравнении с показателями контроля ($7,3 (1,2; 17,7) > 1,06 (0,74; 2,25)$, $p < 0,05$). У больных со средним уровнем функциональной активности клеток регистрируется повышение продукции активных форм кислорода, по данным сХЛл, по сравнению с контролем ($3,8 (1,2; 7,2) > 1,15 (0,5; 1,8)$, $p < 0,05$). Очевидно, что в группах наблюдения определялась статистически значимая дифференциация показателей, характеризующих продукцию свободных форм кислорода (сХЛл и сХЛн), а так же резерва продукции супероксид-аниона (КА ХЛн).

Установлено, что у пациентов в возрасте менее 45 лет функциональный резерв клеток, по данным КА ХЛл ($10,0 (2,0; 12,9) > 0,45 (0,07; 3,63)$; $p = 0,014$) достоверно выше в группе с низким уровнем функциональной активности нейтрофилов в сравнении с группой больных, нейтрофилы которых обладали средним уровнем активности.

У пациентов в возрасте старше 45 лет, так же как в группе больных моложе 45 лет, наблюдается статистически значимое увеличение резервного потенциала нейтрофилов с низкой ФА в сравнении с группой со средней ФА нейтрофилов, по данным КА ХЛл ($4,8 (3,3; 11,1) > 1,8 (0,57; 2,7)$; $p = 0,04$). Напротив, в группе с низкой ФА нейтрофилов отмечается

статистически значимое уменьшение продукции супероксид аниона в сравнении с группой со средней активностью нейтрофилов, по данным сХЛн ($0,25 (0,1; 0,45) < 1,7 (0,7; 3,0)$; $p = 0,017$).

При межгрупповом статистическом анализе у пациентов с низкой ФА нейтрофилов и лимитированной формой заболевания было выявлено статистически значимое увеличение потенциала продукции активных форм кислорода в сравнении с группой больных со средней степенью активности нейтрофилов и лимитированной формой заболевания, по данным КА ХЛл ($7,9 (2,0; 12,9) > 1,8 (0,07; 2,7)$; $p = 0,024$), соответственно. У пациентов с диффузной формой ССД при межгрупповом статистическом анализе достоверных различий выявлено не было.

В группе больных ССД при длительности заболевания, превышающей 10 лет, наблюдается значительное снижение функциональной активности и резервных возможностей нейтрофильных гранулоцитов, по сравнению с группой пациентов, в которой продолжительность болезни ограничивается 5-10 годами. При длительности заболевания менее 5 лет выявляется более выраженное снижение количества клеток, демонстрирующих склонность к спонтанному апоптозу [2, с. 229].

При межгрупповом статистическом анализе у пациентов с низкой степенью активности нейтрофилов выявились достоверные различия в виде увеличения резерва продукции активных форм кислорода нейтрофилами у пациентов с длительностью заболевания от 5-10 лет в сравнении с больными с длительностью заболевания более 10 лет ($3,6 (0,11; 0,5) < 1,15 (0,85; 1,5)$; $p = 0,042$).

Пациенты со средней степенью активности нейтрофилов и длительностью заболевания от 5 до 10 лет демонстрируют статистически значимое увеличение резерва продукции супероксид аниона в сравнении с группой больных со средней степенью активности и длительностью заболевания менее 5 лет, по данным КАХЛн ($0,31 (0,11; 0,5) < 0,81 (0,67; 1,14)$; $p = 0,03$).

У больных хронической ССД с низкой ФА нейтрофилов наблюдается уменьшение показателя продукции супероксид-аниона нейтрофилами, по данным сХЛн по сравнению с группой больных, нейтрофилы которых демонстрируют средний уровень функциональной активности клеток ($0,3 (0,1; 0,9) < 1,65 (0,5; 2,2)$; $p = 0,007$), соответственно. И, наоборот, резервный потенциал образования активных форм кислорода выше в группе с низким уровнем

нем активности нейтрофилов, чем со средней степенью, по данным КА ХЛлл (9,0 (2,0; 12,0) > 1,48 (0,33; 3,2); $p = 0,013$).

Выводы

У больных ССД наблюдается феномен функциональной неоднородности нейтрофилов. Изменение показателей функциональной активности и апоптоза нейтрофилов находится в зависимости от возраста, формы, длительности и характера течения заболевания.

Список литературы

1. Ильин, М.В. Изменение показателей окислительного стресса и апоптоза нейтрофилов при диффузной и лимитированной формах систем-

ной склеродермии / М.В. Ильин, П.А. Мальцева, В.А. Романов, О.А. Хрусталева // Цитокины и воспаление. – 2011. - №3. – С.56 – 59.

2. Ильин, М. В. Взаимосвязь показателей функциональной активности нейтрофилов у больных системной красной волчанкой и системной склеродермией / М. В. Ильин, В. В. Чмырь, О. А. Хрусталева, В. А. Романов // Иммунология. – 2008. - Т. 29. - № 4. - С. 229 – 231.
3. Donnelly, S. Impaired recognition of apoptotic neutrophils by the C1q/calreticulin and CD91 pathway in systemic lupus erythematosus / S. Donnelly, W. Roake, S. Brown, P. Young, H. Naik, P. Wordsworth, D. A. Isenberg, K. B. Reid, P. Eggleston // Arthritis Rheum. – 2006. - May; 54(5): 1543-56.

Шавшукова О. А.¹, Хлызова Л. А.²

ИЗМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ АССОЦИАЦИЯМИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ КРУПНОЙ ПТИЦЕФАБРИКИ.

¹аспирант, Пермский Государственный Медицинский Университет им.ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь

²аспирант, Пермский Государственный Медицинский Университет им.ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь

CHANGES IN IMMUNOLOGICAL BLOOD INDICES OF BROILER CHICKENS INFECTED WITH OPPORTUNISTIC PATHOGEN MICROORGANISM ASSOCIATIONS IN CONDITIONS OF LARGE POULTRY FACTORY

Shavshukova Olga Anatolievna, graduate student, Perm State University of Medicine named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

Khlyzova Lyaisan Alfredovna, graduate student, Perm State University of Medicine named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

АННОТАЦИЯ

Цель - изучить активность фагоцитоза клеток крови и содержание Ig Y у цыплят-бройлеров при инфицировании их условно-патогенной микрофлорой (УПМ). Микробиологически определен состав микрофлоры, активность фагоцитов крови по методу В.М.Бермана, С.М.Славской и содержание Ig Y методом радиальной иммунодиффузии. У здоровых птиц выявили постепенное нарастание активности фагоцитов (ИАФ) и содержания Ig Y. У ослабленных бройлеров имеются резкие колебания ИАФ на фоне более низкого уровня Ig Y. Установленная обратная зависимость между этими показателями свидетельствует о прогрессирующем инфекционном процессе.

ABSTRACT

The objective was to study the blood cell phagocytosis activity and IgY content in broiler chickens infected with opportunistic pathogenic microflora (OPM). Microflora composition, blood phagocyte activity by V.M. Berman, S.M. Slavskaya method and IgY content by radial immunodiffusion method were determined microbiologically. In healthy chickens, gradual growth of phagocyte activity – phagocyte activity index (PAI) and IgY content were detected. Weakened broilers had sharp fluctuations of PAI against the background of lower IgY level. The revealed inverse dependence between these indices indicated progressive infectious process.

Ключевые слова. Фагоцитоз, иммуноглобулины, условно-патогенная микрофлора, цыплята – бройлеры.

Key words. Phagocytosis, immunoglobulins, opportunistic pathogenic microflora, broiler chickens.

Введение

Для сохранности поголовья цыплят - бройлеров и получения высококачественной продукции в птицеводческих хозяйствах проводят ряд мероприятий, предусмотренных технологией выращивания и ветеринарно-санитарными правилами. Эффективность мероприятий, направленных на обеспечение

биологической безопасности поголовья от генетически чужеродных агентов (в т.ч. условно - патогенных микроорганизмов, УПМ), во многом зависит от функционирования иммунной системы организма цыплят, на которую оказывают воздействия разнообразные иммунодепрессивные факторы. В последнем случае нередко происходит контаминация внутренних органов УПМ, что может являться причиной существенного падежа птиц, особенно молодняка [1,с.22; 2,с.10-11]. Большую роль в поддержании неспецифической защиты организма от чужеродных агентов играют фагоцитирующие клетки. Именно фагоцитоз является изначально пусковым механизмом в элиминации микроорганизмов. Одновременно с этим, между гуморальными и клеточными факторами иммунитета существует тесное взаимодействие. В частности, эффективность фагоцитоза у птиц определяется участием Ig Y (Ig G) в опсонизации патогенов и инактивации его фагоцитами [6,с.216-227].

Многokrратно используемые при выращивании птиц препараты для вакцинации способны вызывать иммунодепрессию, обусловленную частичной дeлимфатизацией и атрофией лимфоидной ткани в органах иммунной системы [2,с.10; 4,с.246-247]. Развивается гаммаглобулинемия - иммунодефицитное состояние, вызванное не в последнюю очередь нарушением образования плазмoцитов [1,с.26]. В то же время, вопросы, касающиеся динамической оценки взаимосвязи фагоцитарного звена иммунитета и уровня иммуноглобулинов у птиц при инфицировании ассоциациями УПМ в условиях промышленного производства, остаются малоизученными.

Цель исследования - изучить в динамике показатели фагоцитарной активности гетерофилов и моноцитов крови и уровни сывороточного Ig Y (Ig G) у цыплят-бройлеров различных возрастных групп при контаминации их органов и тканей ассоциациями УПМ.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 210 цыплятах-бройлерах кросса «ROSS- 308» возрастом 7, 14, 28 и 42 дня, содержащихся в условиях крупной птицефабрики (ПФ) Пермского края. Было выделено три группы: здоровые цыплята без клинических признаков заболевания и отсутствия высева УПМ из внутренних органов (1-ая группа); относительно здоровые - без клинических признаков заболевания, но с наличием УПМ во внутренних органах (2-ая группа) и ослабленные птицы с массивным высевом УПМ из внутренних органов (3-я группа). Критерием включения в эти группы служил факт выявления условно-патогенных микроорганизмов в форме ассоциаций *E.coli*, *Streptococcus* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp.. Контаминацию органов УПМ выявляли общепринятыми микробиологическими методами.

Все цыплята содержались в одинаковых условиях с проведением утвержденной на предприятии

схемы лечебно-профилактических мероприятий. У птиц забиралась кровь и различные внутренние органы в условиях ветеринарного блока ПФ.

Фагоцитарную активность псевдооозинофилов и моноцитов крови птиц соответствующих возрастных групп исследовали по отношению к грамположительному тест-микробу *St.aureus* по методу В.М.Бермана и С.М.Славской (1982) [5]. Определяли индекс активности фагоцитов (ИАФ) - отношение суммы объектов, поглощенных высокоактивными фагоцитами (3 и более объектов) к сумме объектов, поглощенных малоактивными фагоцитами (1-2 объекта).

Содержание Ig Y (IgG) в сыворотке крови цыплят определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965) в модификации Л.С. Колабской (1980). Метод основан на измерении диаметра кольца преципитации в результате взаимодействия смеси агара с антисывороткой к Ig Y (IgG) и антигена испытуемой сыворотки крови цыплят, внесенной в лунки агаровой пластинки [5,с.28-29].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непарного t-критерия Стьюдента. Наличие связи между показателями определяли с помощью коэффициента линейной корреляции Пирсона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. С целью выявления отличий между опытными и контрольной группами применяли однофакторный дисперсионный анализ [3,с.276-278,322].

Результаты исследований

Содержание Ig Y в сыворотке крови у 7- дневных цыплят всех групп имело близкое значение и определялось в пределах $2,49 \pm 0,09$ мг/мл. ИАФ при этом имел значение $1,16 \pm 0,15$. С возрастом у здоровых птиц происходит постепенное нарастание индекса активности фагоцитов (ИАФ до $4,92 \pm 0,33$ - к 42 суткам) и содержания иммуноглобулина ($4,61 \pm 0,09$ мг/мл - к 42 суткам). Начиная с 4- недельного возраста и до забоя, на фоне увеличения содержания иммуноглобулинов, ИАФ растет незначительно (на 0,25).

У инфицированных, но клинически здоровых птиц, в течение всех сроков исследования отмечали достоверно более высокую активность фагоцитирующих клеток, по сравнению со здоровыми птицами. ИАФ постепенно возрастал с $4,86 \pm 0,32$ у 7- дневных птиц до $10,95 \pm 0,44$ к 42- м суткам. Содержание Ig Y, по сравнению со здоровыми птицами, также постепенно увеличивалось и к концу срока наблюдения оно было выше на $1,73$ мг/мл ($p \leq 0,05$). При этом выявлена прямая коррелятивная связь средней силы между ИАФ и уровнем Ig Y во всех изучаемых возрастных группах этих птиц.

У ослабленных цыплят также происходит рост уровня Ig Y во все наблюдаемые сроки. Однако, к 4- недельному возрасту данный показатель составил лишь $2,68 \pm 0,05$ мг/мл, что достоверно ниже ($p \leq 0,01$) в сравнении с другими двумя группами. Эта

тенденция сохраняется до конца срока выращивания птиц. На фоне более низкого уровня Ig Y у этих бройлеров регистрируются резкие колебания ИАФ в течение всего исследуемого периода. Необходимо отметить, что даже минимальные значения ИАФ ($5,51 \pm 0,57$ у 28-дневных цыплят) превосходят максимальные - в группе здоровых. Очевидно, при относительно высоких значениях ИАФ у таких птиц перерабатывающая способность фагоцитов остается низ-

кой. Этому способствует недостаточно высокое содержание Ig Y, не обеспечивающего необходимого уровня опсонизации патогена и его фагоцитоза.

К 6-недельному сроку была установлена достоверная обратная сильная коррелятивная связь между ИАФ и уровнем Ig Y ($r = -0,79$; $p \leq 0,01$). Возможно, значительное снижение гуморального иммунного ответа и неэффективность фагоцитоза является причиной выживания микроорганизмов в фагоцитирующих клетках, способствуя генерализации инфекционного процесса.

Таблица 1

ИАФ крови и содержание сывороточного IgY у цыплят-бройлеров различных возрастных групп

Возраст	ИАФ			IgY (мг/мл)		
	Здоровые	Больные	инфицир.УПМ	здоровые	Больные	инфицир.УПМ
1 нед.	$1,16 \pm 0,15 \alpha$	$3,26 \pm 0,31 \gamma$	$4,86 \pm 0,32 \alpha\gamma$	$2,49 \pm 0,09 \beta$	$2,23 \pm 0,08 \beta\gamma$	$2,48 \pm 0,08 \gamma$
2 нед.	$2,27 \pm 0,21 * \alpha\beta$	$13,67 \pm 1,45 * \beta\gamma$	$8,57 \pm 0,59 * \alpha\gamma$	$2,81 \pm 0,10 ** \beta$	$2,51 \pm 0,08 \beta$	$2,76 \pm 0,11$
4 нед.	$4,67 \pm 0,51 * \alpha$	$5,51 \pm 0,57 * \gamma$	$9,99 \pm 0,32 \alpha\gamma$	$3,76 \pm 0,42 * \beta$	$2,68 \pm 0,05 \beta\gamma$	$3,53 \pm 0,20 ** \gamma$
6 нед.	$4,92 \pm 0,33 \alpha\beta$	$12,69 \pm 0,83 ** \beta\gamma$	$10,95 \pm 0,44 \alpha$	$4,61 \pm 0,09 \alpha\beta$	$3,39 \pm 0,16 ** \beta\gamma$	$5,44 \pm 0,39 ** \alpha\gamma$

Примечание: * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$ - статистически значимые различия между показателями в динамике внутри группы

α - статистически значимые различия между показателями 1(здоровые) и 2(инфицированные УПМ) группами птиц, $p < 0,05$

β - статистически значимые различия между показателями 1(здоровые) и 3(больные) группами птиц, $p < 0,05$

γ - статистически значимые различия между показателями 2(инфицированные УПМ) и 3(больные) группами птиц, $p < 0,05$.

Выводы

1. У клинически здоровых, но инфицированных цыплят-бройлеров выявляется прямая коррелятивная связь между фагоцитарной активностью псевдоэозинофилов и моноцитов, и содержанием Yg Y. Это свидетельствует о достаточно высокой степени реактивности иммунной системы, обеспечивающей выживание птиц в условиях инфицирования УПМ.
2. У ослабленных птиц наблюдается обратная зависимость между факторами специфической и неспецифической защиты организма, что является одной из причин прогрессирующего инфекционного процесса у них.

Список литературы

1. Беляева С.Н., Безбородов Н.В. 2009. Адапционно-иммунологические процессы в организме цыплят-бройлеров после применения

иммуномодулятора тимогена. Ветеринарная медицина. 3: 22-27.

2. Егоров И.А. 2007. Иммунитет бройлеров современных кроссов. Птицеводство. 12: 10-11.
3. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. 2006. Прикладная медицинская статистика. СПб.: 432.
4. Коляков Я.Е. 1990 Ветеринарная иммунология. М.: 512.
5. Садовников Н.В., Придыбайло Н.Д., Верещак Н.А., Заслонов А.С. 2009. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов. Екатеринбург – СПб.: 83.
6. Alberts B. et al. 2007. Molecular Biology of the cell, 5th edition. New York: Garland Science.: 1725.

БИОХИМИЯ

Иванов А. В.

ХРОМАТОФОКУСИРОВАНИЕ ИЗОФОРМ ПЛАЗМИНОГЕНА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОСТЫХ ПОДВИЖНЫХ ФАЗ

доктор химических наук, доцент, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Химический факультет; г. Москва

CHROMATOFOCUSING OF PLASMINOGEN ISOFORMS USING SIMPLE MOBILE PHASES

Ivanov Alexander V., Doctor of Science, associate professor, M.V.Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department; Moscow

АННОТАЦИЯ

Оптимизация профиля градиента pH в хроматофокусировании достигнута за счет выбора ионной силы стартового раствора и элюента. Впервые показана применимость простых подвижных фаз для создания квазилинейного градиента pH на анионообменном сорбенте при хроматофокусировании изоформ плазминогенов.

ABSTRACT

Optimization of pH gradient profile in chromatofocusing is achieved by choice of ionic strength of a start buffer and an eluent. The applicability of simple mobile phases for quasi-linear pH gradient formation on anion-exchanger during chromatofocusing of plasminogen isoforms.

Ключевые слова: хроматофокусирование, изоформы плазминогена, плазмин, однокомпонентный элюент, квазилинейный градиент pH.

Key words: chromatofocusing, plasminogen isoforms, plasmin, single-component eluent, quasi-linear pH gradient.

Состояние вопроса. Разделение хроматографическими методами биполярных макромолекул, например, белков, с близкими значениями изоэлектрических точек (pI) представляет непростую задачу. Такая задача разделения или препаративного выделения фракции чаще всего возникает в случае существования биполярного соединения в двух изоформах, например, при разделении плазминогенов. Плазмин (фибринолизин) – гликопротеин человека, фермент класса гидролаз или сериновых протеаз, вызывающий распад различных белков. Среди свойств плазмина наиболее существенно, что он катализирует гидролиз фибринов и тем самым препятствует образованию сгустков крови при ее свертывании [3, с. 158-160]. Плазмин способствует рассасыванию

тромбов, угрожающих закупоркой кровеносных сосудов. На основе плазмина в НИИ медицинской экологии (МНИИМЭ) планировалось разработать лекарственный препарат для лечения при тромбофлебите, тромбозе коронарных сосудов и при подобных заболеваниях, сопровождающихся образованием тромбов вследствие внутрисосудистого выпадения сгустков фибрина. В офтальмологии препарат на основе плазмина мог бы применяться при обильных кровоизлияниях в переднюю камеру глаза и т.д. В плазме крови плазмин содержится в виде профермента – плазминогена, вырабатываемого печенью и имеющего две изоформы – Glu- и Lys-, отличающиеся молекулярной массой (90 кДа и 83 кДа, соответственно). Концевая цепь менее плотной, активной (т.н. "открытой") конформации содержит лизин (профибринолизин), а неактивной изоформы – глутамин; активная форма Lys-плазминоген имеет более высокое сродство к фибрину и значительно быстрее продуцирует плазмин в плазме крови [3, 9]. Изоэлектрические точки активной и неактивной изоформ плазминогена лежат в узком интервале pH (5,82 и 5,66, соответственно) [9]. Ионообменная хроматография в режиме изократического элюирования, когда все параметры элюента сохраняются на протяжении хроматографического процесса, не позволяет достичь количественного разделения изоформ с такими близкими величинами pI. Для разделения биполярных макромолекул, особенно – изоформ одного соединения, предложено использовать режим градиентного элюирования – с увеличением ионной силы или величины pH элюента по определенному закону в процессе хроматографирования [4, с.285-336; 7, с.126-165]. Элюирование с градиентом ионной силы (увеличение ионной силы до 0,1-0,2) приводит к денатурированию плазминогенов, что неприемлемо при выделении активного профибринолизина для лекарственных препаратов. Градиенты pH в ионообменной хроматографии формируют до хроматографической колонки, смешивая несколько буферных растворов с отличающейся кислотностью, и тогда pH подвижной фазы меняется в пределах 2-2,5 ед. линейно, либо создают ступенчатый градиент в более широком диапазоне pH, последовательно пропуская через колонку подвижные фазы при различных pH.

Наряду с такими преимуществами, как увеличение разрешающей способности хроматографической системы и повышение нагрузочной емкости ионообменной колонки, у внешнего способа формирования градиентов pH есть недостатки – необходимость использования более сложного оборудования (градиентных многоканальных насосов, камер-смесителей с компьютерным управлением), что существенно повышает стоимость анализа. Кроме того, при внешнем ступенчатом градиенте возможно появление на хроматограмме ложных пиков, соответствующих скачкообразному изменению pH подвижной фазы и затрудняющих интерпретацию результатов. В обоих случаях требуется продолжительная регенерация хроматографической колонки после завершения градиента [4, 7]. Таким образом, задача разделения активной и неактивной форм плазминогена остается актуальной для биохимиков и медиков.

Метод хроматофокусирования (ХФ), основанный на формировании линейного градиента pH непосредственно в слое ионообменного сорбента внутри хроматографической колонки, лишен названных недостатков [1; 6, с.120-126; 7]. Линейный градиент pH в ХФ создается за счет буферирующей способности сорбента, предварительно уравновешенного стартовым раствором, и за счет свойств полиамфолитных полибуферных подвижных фаз, т.н. "полибуферов". ХФ сейчас широко применяют для разделения, препаративного выделения и очистки белков, олигопептидов, некоторых лекарственных препаратов и других биологически важных макромолекул биполярного строения [6, 7]. В качестве "буферирующих" сорбентов для формирования градиента с нисходящим pH используют слабоосновные анионообменники, содержащие первичные и вторичные аминогруппы. В ХФ не требуется дополнительное хроматографическое оборудование для смешивания подвижных фаз, достаточно изократического. За счет перевода всех функциональных групп сорбента в активную форму при более высоких pH достигается высокая нагрузочная ёмкость (что позволяет всю хроматографическую колонку предварительно насытить разделяемыми компонентами, т.е. проводить концентрирование веществ и их последующее разделение на одной колонке, что редко достижимо в других вариантах хроматографии). Внутренние градиенты можно создавать в более широком интервале, чем доколониальные – до 4-5 и более ед. pH при высокой воспроизводимости ($sr \sim 0,02$). Для метода характерен фокусирующий эффект: зоны разделяемых компонентов не размываются по мере продвижения по колонке, а наоборот, сужаются, и пики на хроматограмме получаются узкими и симметричными [5, 7]. Приведены сведения о разделении белков, изоэлектрические точки которых отличаются менее чем на 0,1-0,2 ед. pH, при этом ширина хроматографических пиков составляет 0,02 - 0,1 ед. pH [1, 5, 7].

Основное ограничение ХФ связано с высокой стоимостью и низкой устойчивостью к биodeградации синтетических полиамфолитов, применяемых в качестве буферных элюентов. Ранее мы показали, что полибуферные полиамфолитные элюенты для ХФ можно успешно заменить более простыми элюентами, содержащими не более одного-двух активных компонентов, если учитывать влияние ионной силы подвижных фаз на протолитические свойства ионогенных групп сорбента [1, 2, 8]. За счет создания ионной силы в стартовом растворе или элюенте (или в обеих подвижных фазах) можно формировать более протяженные, практически линейные градиенты pH. Преимущества простых элюентов для ХФ в анионо- и катионообменных системах подробно представлены в статьях [1, 2, 8]. Целесообразно проверить возможности таких элюентов для решения актуальной задачи – разделения изоформ плазминогена методом ХФ.

Формирование градиента pH простым элюентом. В качестве сорбента выбрали Tetren-SiO₂ (7,5 мкм) на основе кремнезема Силасорб Si-600 с привитыми группами тетраэтиленпентамина. Сорбент Tetren-SiO₂ полифункциональный и полиэлектролитный, что способствует формированию более плавного внутреннего градиента pH [2]. Использовали стальную (250x4,6 мм) и полимерную (50x4,6 мм) колонки для ВЭЖХ. В качестве стартовых растворов использовали 25 мМ раствор Трис-H₂C₂O₄ (pH 7,5); в качестве элюента – 2 мМ раствор H₂C₂O₄. Ионную силу стартового раствора и элюента создавали добавлением рассчитанного количества 4 М раствора NaCl. Скорость подвижных фаз составляла 1 мл/мин. Кислотность элюата контролировали в проточной микроячейке с помощью цифрового pH-метра "TOA Electronics HM-20S" (Япония) с комбинированным электродом GST-5211C. Разделение изоформ плазминогена детектировали спектрофотометрическим детектором "MicroUvis 20" ("Carlo Erba Instruments", США) при 280 нм. Лиофилизованная смесь изоформ плазминогена, полученная вытяжкой из плазмы крови, любезно предоставлена сотрудниками МНИИМЭ.

При добавлении сильного электролита в подвижные фазы следует избегать ионной силы выше 0,1 из-за возможного свертывания разделяемых белков, а также из-за появления участка градиента с аномально высоким значением pH [8]. Если ионная сила элюента в 5-10 раз ниже ионной силы стартового раствора, градиент становится линейным в диапазоне pH до 2-2,5 единиц – даже при использовании однокомпонентного элюента, а участки с аномальным увеличением pH (т.е. выше значения pH стартового раствора) исчезают.

Для лучшего выявления эффектов градиент pH создавали в колонке 250x4,6 мм. При использовании однокомпонентного элюента на основе 2 мМ H₂C₂O₄ (собственная ионная сила элюента $\sim 0,001$) и

стартового раствора Трис- $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ с ионной силой 0,02 (NaCl) получили градиент, линейный в диапазоне pH от 7,4 до 5,2 (рис. 1, кривая 1). В диапазоне 5,2 – 3,1 снижение pH происходит более резко. Полученный градиент можно назвать квазилинейным, т.е. состоящим из двух или нескольких линейных участков, плавно соединенных между собой [6, 8].

Дальнейшее повышение ионной силы стартового раствора до 0,1 уже практически не изменяет профиль градиента. Таким образом, ионная сила стартового раствора является средством оптимизации градиента pH. Изменение ионной силы подвижных фаз для оптимизации профиля градиента pH в хроматофокусировании применено впервые.

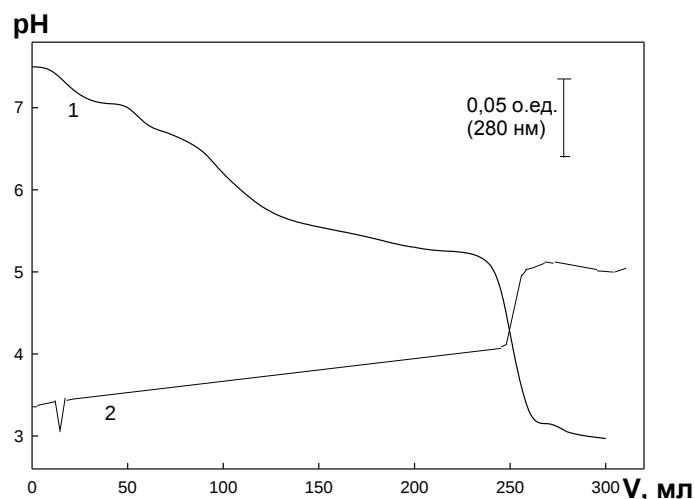


Рис. 1. Профиль внутреннего градиента pH (1) и базовая линия при УФ-детектировании (2).

Колонка: 250×4,6 мм.

Разделение плазминогенов. Квазилинейный градиент pH, сформированный простым элюентом в сочетании с правильным выбором ионной силы, применили для разделения смеси изоформ плазминогенов. Состав элюата контролировали фотометрически при 280 нм, поскольку разделяемые белки имеют максимумы светопоглощения в УФ-области спектра. Оптическая плотность элюата меняется незначительно (рис. 1, кривая 2).

На базовой линии наблюдали один отрицательный пик, связанный с полным вытеснением стартового раствора из колонки. Подъем базовой линии соответствует более резкому снижению pH в области 5,2 – 3,1, но это не должно мешать детектированию плазминогенов, изоэлектрические точки которых лежат выше pH 5,0. Формирование линейного участка градиента внутри колонки 250×4,6 мм в данных условиях занимает около трех часов, в связи с чем для разделения перешли к более короткой хроматографической колонке (50×4,6 мм). Формирование pH в аналогичных условиях занимает менее 40 мин, что вполне приемлемо для аналитического хроматофокусирования, при этом подъем базовой линии сглаживается.

Хроматограмма образца смеси плазминогенов представлена на рис. 2. Лиофилизированный образец

смеси растворяли в дистиллированной воде непосредственно перед хроматографированием. Несмотря на относительно резкое снижение pH от 7,5 до 5,4, Glu- и Lys-изоформы плазминогена удалось разделить в соответствии с их изоэлектрическими точками. Пики разделены до участка базовой линии, их разрешение при этом составляет 1,65. Хроматографические пики изоформ симметричны и имеют практически одинаковую ширину, что подтверждает фокусирующий эффект. Третий пик на хроматограмме связан с присутствием в образце остатков плазмينا после лиофилизации плазмы крови, а также частичным переходом активного Lys-плазминогена в плазмин (обозначен на рисунке "Plas"). Значения pH, соответствующие максимумам пиков плазминогенов, варьировались в пределах не более 0,03-0,05 ед. pH, для плазмина – не более 0,05-0,08 ед. Разделение Glu- и Lys-плазминогена на колонке 50×4,6 мм происходит за 20 мин, для полного элюирования компонентов образца требуется около 40 мин. Непродолжительная ступень на профиле градиента в области pH 5,2-5,1, вероятно, объясняется буферным действием белков как полиамфолитов. Выбранные хроматографические условия можно применять и для препаративного выделения Lys-плазминогена из смеси изоформ.

Таким образом, показана возможность применения простых элюентов в сочетании с высокой ионной силой стартового раствора для создания квази-

линейного градиента pH и разделения изоформ плазминогенов методом хроматофокусирования на анионообменном сорбенте.

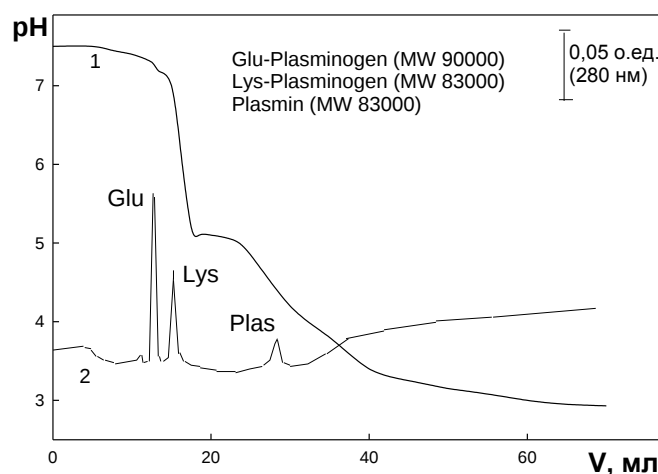


Рис. 2. Хроматофокусирование изоформ плазминогена: 1 - профиль внутреннего градиента pH, 2 - хроматограмма. Колонка: 50x4,6 мм; объем пробы 20 мкл. УФ-детектирование при 280 нм.

Список литературы

1. Вакштейн М.С., Иванов А.В. 2007. Простые элюенты для формирования восходящих градиентов pH в хроматофокусировании биполярных соединений. Журн. аналит. химии. 11 (62): 1155-1162.
2. Иванов А.В. 2014. Применение аминокислот для хроматофокусирования ионов металлов на кремнеземе, модифицированном тетраэтиленпентамином. Журн. физич. химии. 9 (88): 1435-1439.
3. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2003.
4. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985.
5. Andersen T., Pepaj M., Trones R., Lundanes E., Greibrokk T. 2004. Isoelectric point separation of proteins by capillary pH-gradient ion-exchange chromatography. J. Chromatogr. A. 1025: 217-226.
6. Frey D.D., Narahari C.R., Bates R.C. Chromatofocusing. In book: "Encyclopedia of Life Sciences". McMillan Publisher, 2001.
7. Ion Exchange Chromatography and Chromatofocusing: Principles and Methods. Uppsala: Amersham Biosciences, 2004.
8. Vakstein M.S., Nesterenko P.N., Ivanov A.V., Tessman A.B. 2006. Single-component eluents for quasi-linear pH gradients in weak cation exchange columns. J. Liq. Chrom. & Related Techn. 4 (29): P.485-489.
9. Waisman D.M. Plasminogen: structure, activation, and regulation. Springer, 2003.

Сяткин С. П.¹, Гридина Н. Я.², Болтина И. В.³

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ КЛЕТОК КРОВИ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ГЛИОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ.

¹доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов, г. Москва
кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией

²экспериментальной нейрохирургии, ГУ "Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова
НАМН Украины", г. Киев

³кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории мутагенеза
ГП "Институт экогигиены и токсикологии им. Л.И.Медведя", г. Киев

INFLUENCE of NMDA-RECEPTORS INHIBITORS of BLOOD CELLS ON CYTOGENETIC INDEXES AT CEREBRUM GLIOMAS with DIFFERENT DEGREE of MALIGNANTNESS.

Syatkin Sergey Pavlovich, doctor of biological sciences, professor, Peoples' friendship university of Russia, Moscow

Gridina Nina Jakovlevna, candidate of medical sciences, leading research worker, headmaster of the laboratory of experimental neuro-surgery, GU "Institute of neuro-surgery the name of academic A.P.Rodoman of HAMH of Ukraine", Kyiv

Boltina Irene Vladimirovna, candidate of biological sciences, senior staff scientist of laboratory of mutagenesis of GU "Institute of ecology and toxicology the name of L.I.Bear", Kyiv

АННОТАЦИЯ

Исследовали влияние ингибитора NMDA-рецепторов – кетамина и ингибитора кальциевых каналов верапамила на цитогенетические показатели у больных с глиомами головного мозга различной степени злокачественности. Проводили культивирование лимфоцитов, приготовление препаратов хромосом лимфоцитов периферической крови, отбор метафазных пластинок для цитогенетического анализа, классификации и учёта aberrаций хромосом. Результаты данных исследований свидетельствуют о возможности стабилизации генома лимфоцитов периферической крови под воздействием препаратов верапамила и кетамина при глиомах различной степени злокачественности в условиях in vitro.

ABSTRACT

Influence of NMDA-receptor inhibitor - ketamine and of calcium channels inhibitor such as verapamilum on cytogenetic indexes for patients with the cerebrum gliomas with different degree of malignancy has been investigated. Cultivation of lymphocytes, preparation of lymphocytes chromosomes samples of peripheral blood, selection of metaphase plates for a cytogenetic analysis, classification and account of chromosomes aberrations were conducted. The results of these researches testify to possibility to stabilizing of peripheral blood lymphocytes genome under influence of verapamilum and ketamine at the gliomas with different degree of malignancy in vitro.

Ключевые слова: глиома, верапамил, кетамин, хромосомные aberrации

Keywords: gliomas, verapamilum, ketamine, chromosomes aberrations

Эксайтотоксичность - пусковой механизм некротической и апоптотической нейрональной смерти при многих неврологических нарушениях,

таких как травма, инсульт, нейродегенеративные заболевания и опухоли ЦНС. Глиомы головного мозга характеризуются некротизацией тканей. Это, в свою очередь, способствует активации асептического воспалительного процесса и состояния ишемии. Лишенные кислорода нервные клетки продуцируют высокий уровень глутамата, который стимулирует рецепторы N-метил-D-аспартата (NMDA) и способствует гибели нейрональных клеток. В настоящее время считается, что поступление ионов Ca^{2+} внутрь клетки через каналы NMDA-рецепторов является ключевым событием в реализации токсических эффектов глутамата [4, с. 43]. Образуется замкнутый цикл, поддерживающий длительный воспалительный процесс в опухолевом очаге [5, с. 95], который, в свою очередь, способствует усилению опухолевого роста или появлению рецидивов глиом. Возможность контролировать активность NMDA-рецепторов находится в фокусе нейронаук, при этом актуальными являются исследования механизма действия ингибиторов NMDA-рецепторов клеточных мембран на показатели стабильности клеточного генома.

Цель работы состояла в исследовании влияния ингибитора NMDA-рецепторов – кетамина и ингибитора кальциевых каналов верапамила на цитогенетические показатели у больных с глиомами головного мозга различной степени злокачественности.

Материалы и методы исследования. Исследования показателей стабильности генома (aberrации хромосом, анеуплоидия, полиплоидия, мультиаберрантные клетки) проведены на периферической крови 37 больных с глиомами II, III и IV степенях злокачественности (анаплазии). Как известно, глиомы головного мозга со временем прогрессируют и одновременно с увеличением степени анаплазии превращаются в высоко злокачественные опухоли. Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов хромосом лимфоцитов периферической крови было проведено стандартным полумикрометодом с модификациями [2, с. 1284]. Отбор метафазных пластинок для цитогенетического анализа, классификация и учёт aberrаций хромосом были общепринятыми [3, с. 333]. При подсчёте количества анеуплоидных клеток учитывали метафазы гипоплоидные – от 29 до 42 хромосом и гиперплоидные – более 49 хромосом. Проводили модификацию метода in vitro 0,25%-ным раствором верапамила гидрохлорида (в разведении 1:1000) и раствором кетамина (50 мг/мл) в таком же разведении. Все рабочие растворы готовили непосредственно перед культивированием и вносили по 10 мкл каждого препарата в культуру

лимфоцитов периферической крови. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента [1, с. 4885].

Результаты исследований и их обсуждение. Исследования *in vitro* показали, что блокатор медленных кальциевых L-каналов верапамил достоверно способствует снижению частоты аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови больных с глиомами II-IV степеней злокачественности (ст. зл.). Статистически достоверное снижение количества анеуплоидных клеток при действии препаратов верапамила и кетамина наблюдается в культуре лимфоцитов периферической крови больных с глиомами III-IV ст. зл. Под действием верапамила на лимфоциты крови больных с глиомами достоверно снижается также количество полиплоидных (при III-IV ст. зл.) и мультиаберрантных клеток (при II-IV ст. зл.).

Результаты данных исследований свидетельствуют о возможности стабилизации генома лимфоцитов периферической крови под воздействием препаратов верапамила и кетамина при глиомах различной степени злокачественности в условиях *in vitro*. Как известно, верапамил обладает противоопухолевым действием, в зависимости от его концентрации, на опухоли различного генеза, в том числе и головного мозга. Некоторые блокаторы ионотропных рецепторов также являются противоопухолевыми агентами. Следовательно, способность препарата стабилизировать клеточный геном лимфоцитов периферической крови может свидетельствовать о его

противоопухолевом действии, которое следует в дальнейшем подтверждать в общепринятых тест-системах.

Литература

1. Афифи А., Эйзен С. Статистический анализ. Подход с использованием ЭВМ. - М.: Мир. 1982. – 488 с.
2. Кузнецов А.И., Кружалов А.И., Илюшенко В.Г., и др. Возрастно-половая зависимость спонтанной частоты хромосомных аберраций и аберрантных клеток в лимфоцитах периферической крови // Генетика. - 1980. – 16, № 7. - С. 1284 – 1293.
3. Hungerford D.A. Leucocytes cultured from small inoculate of whole blood and preparation metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Techn. – 1965. – 40 – P. 333-338.
4. Savaskan N.E., Seufert S., Hauke J., Tränkle C., Eyüpoglu I.Y., Hahnen E. Dissection of mitogenic and neurodegenerative actions of cystine and glutamate in malignant gliomas // Oncogene.- 2011.-V. 30.-PP.- 43-53.
5. Schwartzburd P.M. Chronic inflammation as inductor of pro-cancer microenvironment: Pathogenesis of dysregulated feedback control // Cancer & Metastasis Reviews.-2003.-V.22.- P.95-102.

ФИЗИОЛОГИЯ

Шаменко В. А.

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ПЕРЫВИСТОЙ ГИПОКСИИ

Ассистент, Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье

THE MORPHO-HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF NEURONS OF SUPRAOPTIC NUCLEUS OF THE RAT HYPOTHALAMUS UNDER INTERMITTENT HYPOXIA

Shamenko Vadim, assistant of Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye

АННОТАЦИЯ

Исследованы особенности морфогистохимической организации нейронов супраоптического ядра гипоталамуса у крыс в норме и при действии прерывистой гипоксии, которую моделировали в барокамере 6-часовым пребыванием животных на высоте 6000 м на протяжении 15 дней. Морфометрический и гистохимический анализ нейронов проводили после окраски гистологических срезов мозга на РНК. Установлено, что гипоксия приводит к умеренным дистрофическим изменениям в нейронах в виде набухания клеток и отёку цитоплазмы, пикнозу ядра, конденсации хроматина и снижением концентрации РНК. Полученные изменения морфогистохимической организации нейронов свидетельствовали о формировании дисрегуляторной патологии в супраоптическом ядре.

ABSTRACT

The features of the morpho-histochemical organization of neurons of supraoptic nucleus of the hypothalamus in rats under normal conditions and under the influence of intermittent hypoxia. Hypoxia was simulated in a pressure chamber: animals stayed at an altitude of 6000 m 6 hours daily for 15 days. Morphometric and histochemical analysis of neurons was performed after RNA staining of histological sections of brain. It is established that hypoxia leads to mild dystrophic changes in the neurons that manifests as cell swelling and edema of the cytoplasm, nucleus pyknosis, chromatin condensation and a decrease of RNA concentration. The resulting changes in the morpho-histochemical organization of neurons evidenced about formation of deregulatory pathology in the supraoptic nucleus.

Ключевые слова: гипоталамус; супраоптическое ядро; гипоксия.

Keywords: hypothalamus; supraoptic nucleus; hypoxia.

Одним из важных звеньев нейроэндокринной системы гипоталамуса являются супраоптические ядра (СОЯ), нейроны которых синтезируют вазопрессин и окситоцин, транспортируют их в нейрогипофиз и далее в кровоток [10, 13]. Вазопрессин СОЯ участвует не только в регуляции водно-солевого обмена, но и участвует в обеспечении нейроэндокринного ответа на различные виды стресса – иммобилизационный, травматический, эмоциональный, болевой, гипоксический, метаболический и стрессы иной этиологии [3, 7, 10, 13]. Одним из наиболее распространенных патологических воздействий на организм является действие гипоксии, в том числе как внешнего фактора. В то же время, многодневное влияние дозированной экзогенной гипоксии приводит к активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, как у животных, так и у человека, и сопровождается изменением функциональной активности гипоталамических пептидергических нейронов [1, 2, 8]. При этом режим интервальных гипоксических воздействий повышает адаптивные свойства организма и приводят к повышению его устойчивости ко многим патогенным факторам среды: острой гипоксии, гипоксии, токсического действия высокого давления кислорода, гипокинезии, воздействия высокой температуры и глубокого охлаждения, ионизирующего излучения, физической нагрузки [4, 14]. Между тем, вопрос участия вазопрессинергической системы гипоталамуса в центральных механизмах адаптации к гипоксической гипоксии рассматривается лишь в единичных работах [1, 2, 9] и, по данным фундаментального исследования L.Xi и T.V.Serebrovskaya [14], практически не изучено.

Целью настоящего исследования было установить особенности морфогистохимической организации нейронов СОЯ у крыс в норме и при действии

прерывистой гипоксии.

Материал и методы:

Исследование проведено на 20 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 220-250 г. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс в вентилируемой барокамере с постепенным повышением высоты с 1000 м до 6000 м с 1-го по 6-й дни эксперимента (по 1000 м в день), и последующим пребыванием на высоте 6000 м ($pO_2=9,8\%$) до 15-го дня исследований. Мозг контрольных (интактных) и экспериментальных животных извлекали после одномоментной декапитации, фиксировали в жидкости Карнуа и после стандартной гистологической обработки заливали в парафин. Серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 7 мкм депарафинировали, регидрировали и в течение 48 часов окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону для определения содержания нуклеиновых кислот, преимущественно РНК [5]. Изображение, получаемое на микроскопе Axioskop (Zeiss, Германия) с помощью видеокамеры COHU-4922 (COHU Inc., США) вводили в компьютерную систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Германия) и оцифровывали по денситометрической шкале с 256 градациями серого цвета. В интерактивном режиме создавали маски для нейронов и их ядер, на основании которых в автоматическом режиме с помощью пакета прикладных

программ VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия) проводился анализ изображения. Анализировали не менее 100 клеток в каждой серии исследований, для которых определяли морфометрические параметры нейронов – площадь и эквивалентный диаметр клеток, их ядер, ядрышек и цитоплазмы, а также денситометрические характеристики – оптическая плотность (в условных единицах оптической плотности – Еоп) ядер, ядрышек и цитоплазмы клеток, которые были обусловлены уровнем накопления РНК. Экспериментальные данные обрабатывали пакетом прикладных и статистических программ VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия). Для оценки достоверности различий в группах применяли t-критерий Стьюдента.

Результаты:

Нейроны СОЯ у интактных животных относятся к крупноклеточным нейронам гипоталамуса, наряду с нейронами паравентрикулярного ядра, и характеризовались чёткими контурами цитоплазматической и ядерной мембраны (рис. 1А). Ядра клеток содержали мелкие зёрна хроматина, диффузно распределённого по нуклеоплазме и чётко дифференцированное ядрышко. Цитоплазма нейронов составляла $61,4\pm 0,8\%$ от площади перикариона нейронов, а ядро занимало $38,6\pm 0,8\%$ площади клетки и отличалось на $12,8\%$ более высокой концентрацией РНК, по сравнению с цитоплазмой (табл. 1).

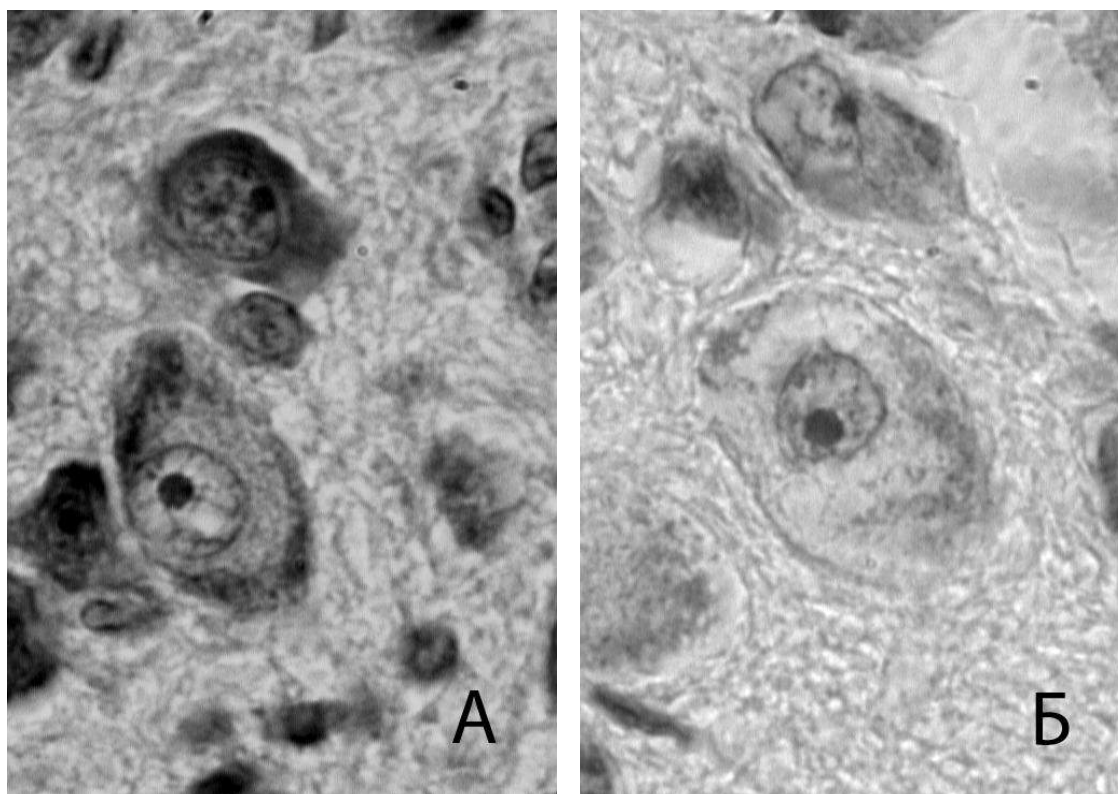


Рисунок 1. Нейроны супраоптического ядра гипоталамуса в норме (А) и после действия прерывистой гипоксии (Б). Объектив 100х.

Таблица 1

Морфогистохимические характеристики нейронов СОЯ ($M \pm m$)

Параметры нейронов	Контроль, (n=122)		Гипоксические тренировки, (n=119)	
	Площадь, мкм ²	Концентрация РНК, Еоп	Площадь, мкм ²	Концентрация РНК, Еоп
Перикарион	176,70±4,27	-	195,52±5,54 *	-
Цитоплазма	110,53±3,79	0,188±0,008	140,24±5,19 *	0,059±0,003 *
Ядро	66,17±1,09	0,211±0,007	55,27±1,08 *	0,091±0,003 *
Ядрышко	2,52±0,23	0,772±0,011	4,92±0,10 *	0,153±0,003 *

Примечание: * - достоверность отличий по сравнению с контролем ($p < 0,01$).

Ядрышко нейронов СОЯ занимало $1,6 \pm 0,2$ % площади клетки и характеризовалось наиболее высокой концентрацией РНК. По периферии нейронов СОЯ располагались глиальные клетки, которые характеризовались значительно меньшими размерами ядер, не содержали ядрышек, и имели слабо окрашенную цитоплазму.

Действие прерывистой гипоксии приводило к изменению гистологической структуры нейронов СОЯ. В клетках отмечался разной степени выраженности пикноз ядра, которое уменьшалось в размерах, характеризовалось неровными фестончатыми контурами и содержало глыбки хроматина с признаками конденсации. В результате площадь ядра снижалась на 16,5 % по сравнению с контролем, а концентрация в нём РНК – на 57,2 %. При этом на фоне увеличения площади ядрышек нейронов в 2,34 раза концентрация РНК в них снижалась в 5 раз. Цитоплазма нейронов бледно окрашивалась, что обусловлено распадом базофильного вещества и свидетельствовала о резком уменьшении содержания протеинов цитоплазмы и РНК, концентрация которой снижалась в 3,2 раза (рис. 1.Б, табл. 1). Распространенный протеолиз белков сопровождался набуханием клеток с увеличением площади цитоплазмы нейронов на 26,9 %. В целом, прерывистая гипоксия приводила к хроматолическим изменениям и протеолизу белков в цитоплазме, и сопровождалось набуханием клеток с увеличением площади цитоплазмы нейронов на 26,9 % и к увеличению площади перикариона клеток на 10,7 %.

Полученные данные демонстрируют, что 15-дневный цикл прерывистой гипоксии приводит к умеренным дистрофическим изменениям в нейронах

СОЯ. Известно, что одним из основных нейрогормонов СОЯ является вазопрессин [10, 13], который играет важное значение в активации гипофизарно-адреноренальной системы в ответ на стресс [6, 7, 11, 12]. Вместе с тем, характер выявленных изменений морфофункционального состояния СОЯ в ответ на прерывистую гипоксию не предполагает усиления синтеза данного нейрогормона на фоне существенного уменьшения концентрации РНК в нейронах. Очевидно, что возможными причинами подобной реакции крупноклеточных нейронов СОЯ по нашему мнению может быть преимущественное вовлечение вазопрессина СОЯ в регуляцию артериального давления и водно-солевого обмена, направленные на формирование гипертензивной реакции и гиперволемии в ответ на стресс. Однако, применяемый нами режим гипоксических воздействий оказывает адаптирующее влияние на организм и приводит к снижению высоких цифр артериального давления у гипертензивных крыс линии SHR и пациентов с артериальной гипертонией [6, 14]. В этой связи можно предположить, что прерывистая гипоксия, которая приводит к гипертрофии мелкоклеточных гипоталамических нейронов, синтезирующих кортикотропин-рилизинг гормон [4, 8], иначе действует на вазопрессинергические нейроны СОЯ, приводя к формированию дисрегуляторной патологии в функционировании данной структуры.

Выводы:

Прерывистая гипоксия приводит к дистрофическим изменениям в нейронах супраоптического ядра гипоталамуса, пикнозу ядер нейроцитов, гипергидратации цитоплазмы и снижению в клетках концентрации РНК.

Список литературы

1. Абрамов А.В. 1998. Влияние интервальных гипоксических тренировок на функциональное состояние пептидергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и нейронов ствола мозга крыс. Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 84 (3): 173-181.
2. Абрамов А.В., Колесник Ю.М. 1992. Влияние гипоксии на функциональное состояние нейросекреторной системы гипоталамуса крыс // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 78 (7): 21-27.
3. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. 2003. Нейроиммunoэндокринология гипоталамуса. М.: Медицина: 168 с.
4. Караш Ю.М., Стрелков Р.Б., Чижев Ф.Я. 1988. Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации. М.: Медицина: 352 с.
5. Пирс Э. 1962. Гистохимия. М.: Изд-во ин. лит.: 962 с.
6. Calabrò R.S., Italiano D., Ferrara D., Mondello S., Conti-Nibali V., Salviera C., Bramanti P. 2012. The hypothalamic-neurohypophyseal system: current and future treatment of vasopressin and oxytocin related disorders. Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov. 6 (3): 235-250.
7. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. 2005. Endocrinology of the stress response. Ann. Rev. Physiol. 67: 259-284.
8. Kolesnik Y.M., Kadzharyan E.V., Abramov A.V. 2014. Effect of Intermittent Hypoxia Trainings on the Functional State of Corticotropin releasing hormone- and β -Endorphin-Synthesizing Neurons of the Rat Paraventricular Nucleus of Hypothalamus. Intern. J. Physiol. and Pathophysiology. 5 (3): 1-7.
9. Lin A.M.Y. 2009. Hypoxic preconditioning protects against oxidative injury in the central nervous system. Intermittent Hypoxia: From molecular mechanisms to clinical applications. Nova Sci. Publ. Inc. N.-Y.: 313-328.
10. Silverman A.-J., Zimmerman E.A. 1983. Magnocellular neurosecretory system. Ann. Rev. Neurosci. 6: 357-380.
11. Stoop R. 2012. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. Neuron. 4; 76 (1): 142-159.
12. Stratakis C.A., Chrousos G.P. 1995. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. Ann. N.-Y. Acad. Sci. 29; 771: 1-18.
13. Swanson L.W., Sawchenko P.E. 1983. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. Ann. Rev. Neurosci. 6: 269-324.
14. Xi L., Serebrovskaya T.V. 2009. Intermittent Hypoxia: From molecular mechanisms to clinical applications. Nova Sci. Publ. Inc. N.-Y.: 615 p.

РАДИОБИОЛОГИЯ

Полякова К. И.¹, Пхью М. У.², Николаева В. В.³, Антропова И. Г.⁴

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭСКУЛЕТИНА И ЭСКУЛИНА

¹Студент 5 –го курса кафедры химии высоких энергий и радиоэкологии, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва

²аспирант 3-го обучения кафедры химии высоких энергий и радиоэкологии, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва

³аспирант 1-го года обучения кафедры химии высоких энергий и радиоэкологии, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва

⁴кандидат химических наук, доцент, Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, г. Москва

ANTI-RADICAL ACTIVITY OF ESCULETIN AND ESKULIN

Polyakova Kristina Igorevna, Student of the 5th course of кафедра chemistry of high energy and radioecology, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow
Phyo Myint OO, graduate student of 3 years of training of кафедра chemistry of high energy and radioecology, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow
Nikolaeva Valentina Viktorovna, graduate student of 1 years of training of кафедра chemistry of high energy and radioecology, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow

Antropova Irene Gennadevna, Candidate of Science, assistant professor of, Mendeleev University of Chemical Technology, Moscow

АННОТАЦИЯ

Хроматографическое исследование радиолиза агликона и гликозида на примере эскулетина и эскулина в спиртовых растворах для определения антирадикальной активности. Показано влияние ионов цинка на антирадикальную активность исследуемых соединений.

ABSTRACT

Chromatographic investigation of a radiolysis of an aglikon and glycoside on the example of an esculetin and an esculin in spirit solutions for determination of anti-radical activity. Influence of ions of zinc on anti-radical activity of the studied connections is shown.

Ключевые слова: эскулетин, эскулин, радиолиз, свободный радикал, хроматография;

Keywords: esculetin, esculin, radiolysis, free radical, chromatography.

Известно, что свободные радикалы, образующиеся при воздействии ионизирующих излучений на

организм, нарушении биохимических процессов, играют ключевую роль в возникновении и развитии многих заболеваний. Такое негативное действие свободных радикалов на биосистемы связывают с процессами разрушения и повреждения биологически важных молекул [1].

Среди природных соединений [2], способных ингибировать такого рода процессы, все более широкое применение находят кумарины и кумаринпроизводные. Особое внимание так же стоит уделить выделенным в незначительном количестве кумаринам в форме гликозидов, ярким примером которых является исследуемый эскулин, относящийся к группе оксикумаринов. К сожалению в настоящее время изучению протекторных свойств эскулина и эскулетина посвящено мало работ.

Таким образом, с помощью химии высоких энергий можем генерировать свободные радикалы и следить за изменениями их концентраций с помощью современных физико-химических методов исследования [3, 4] для изучения радиационно-химических превращений соединений, формулы которых представлены ниже:

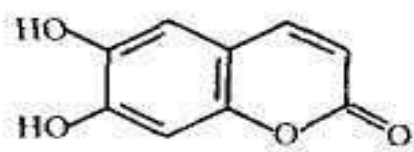
Для достижения поставленной цели предстояло решить ряд следующих задач: определить антирадикальную активность эскулина и эскулетина в реакции с углеродцентрированным радикалом, который образуется при воздействии излучения на спиртовые растворы; определить влияние ионов цинка на радиолиз эскулина и эскулетина.

Измерения проводились с помощью оборудования кафедры химии высоких энергий: хроматограф Waters Acquity UPLC/MS, USA. Условия хроматографирования: элюенты: А – вода, В – ацетонитрил. Режим изократического элюирования: 3% В.

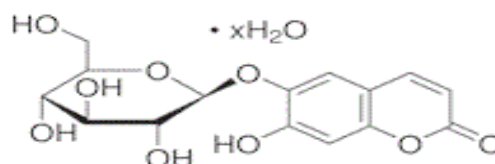
Расход элюента – 300 мкл/мин. Объём вводимой пробы 1-10 мкл.

Облучение проведено в РХТУ имени Д.И. Менделеева с использованием РХМ-γ-20 (C0-60).

Мощность поглощённой дозы по дозиметру Фрикке равна 0.08 Гр/с.



эскулетин (Esc)



эскулин (Esc-Gl)

Рассмотрим хроматографическое исследование радиолиза деаэрированного раствора с 5%-ным содержанием этанола эскулина и эскулетина. К облучённым образцам в объёме 500 мкл приливали 100 мкл динитрофенилгидразином (ДНФГ) в ацетонит-

риле и 100 мкл ортофосфорной кислоты (1:7). В реакции ацетальдегида с ДНФГ образуются гидразон ацетальдегида, концентрацию которого регистрируем хроматографически. На хроматограмме представлены пики эскулина (Esc-Gl), динитрофенилгидрози́на (ДНФГ) и ацетальдегида (гидразон-АА).

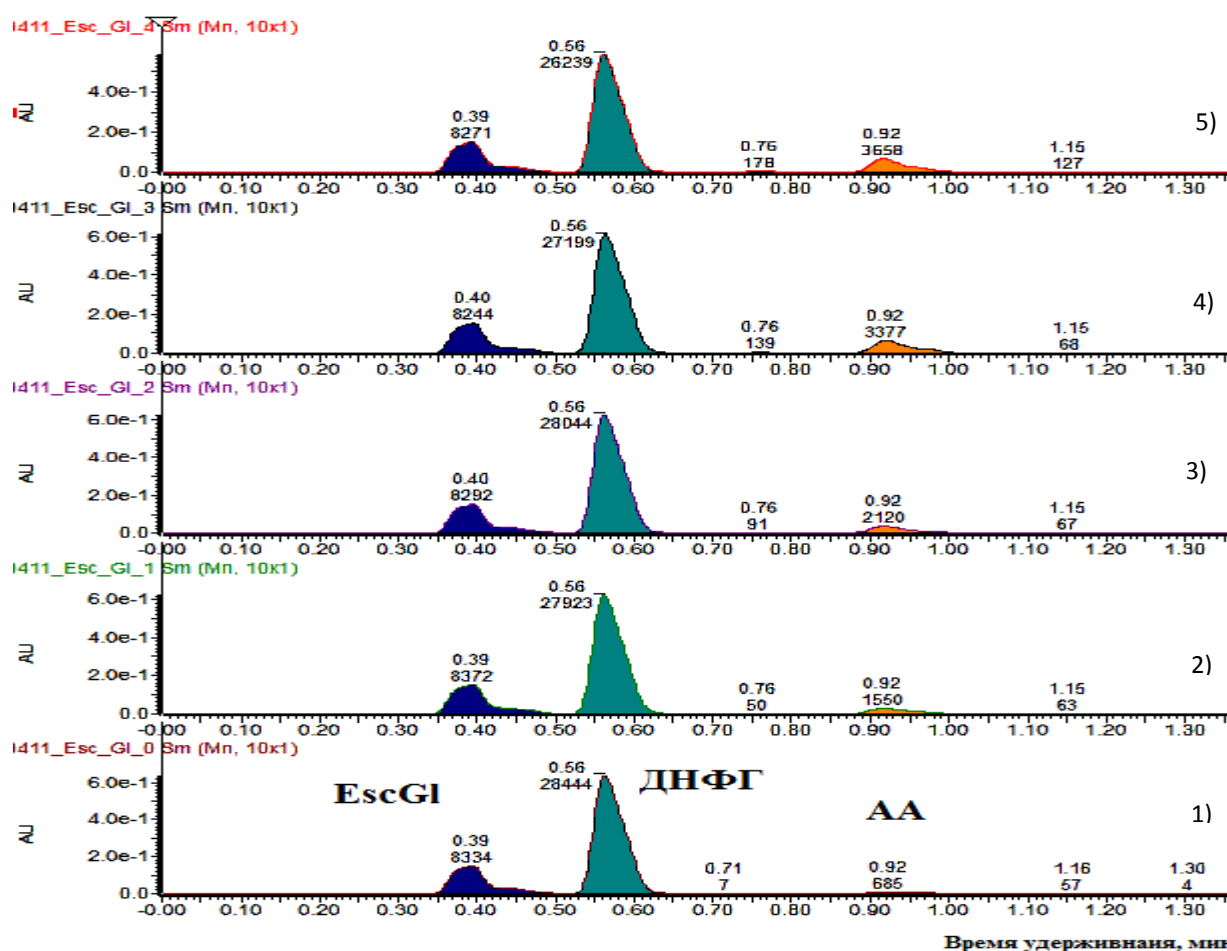


Рисунок 1. Хроматограммы спиртового раствора эскулина 1мМ в реакции с ДНФГ от дозы (Гр): 1 – 0, 2 – 26, 3 – 51, 4 – 76.5, 5 – 102.

Анализируя полученную хроматограмму (рис. 1) зарегистрировано, что с ростом дозы облучения идет накопление продукта с временем удерживания 0,92 мин. Так как данным продуктом является ацетальдегид, то делаем вывод о том, что исследуемые

соединения акцептируют углеродцентрированные радикалы.

Также был проведён анализ по влиянию ионов цинка на выходы ацетальдегида в спирте, эскулетине и эскулине. Для этого были взяты 6 исследуемых систем следующего состава, который представлен в

таблице 1, хроматографически в пострадиационный период следили за выходом ацетальдегида. В таб-

лице 1 представлены значения радиационно-химических выходов ацетальдегида для анализируемых систем.

Таблица 1

Состав исследуемых систем и экспериментальные значения концентраций гидразона ацетальдегида (АА) и рассчитанные значения радиационно-химических выходов (РХВ) ацетальдегида.

Система	Состав	Концентрация АА×105, моль/л	РХВ (АА), молек./100 эВ
1	Этанол	2,6	2,45
2	Этанол +Zn	3	2,80
3	Esc	2,66	2,51
4	Esc-Gl	7,1	0,67
5	Esc-Zn	4,1	3,90
6	Esc-Gl-Zn	1,8	1,73

При воздействии ионизирующего излучения на данные системы в присутствии ионов Zn^{2+} наблюдаем увеличение как концентрации, так и радиационно-химического выхода АА. В результате чего делаем вывод о том, что этанольные растворы с ионами цинка менее устойчивы к действию излучения, чем спиртовые растворы этих же систем в отсутствие ионов металлов.

На основе проделанных экспериментов, можем сделать следующие выводы:

показано, что эскулетин проявляет более высокую антирадикальную активность, чем эскулин. Введение ионов цинка (II) приводит к увеличению радиационно-химического выхода ацетальдегида и, следовательно, к увеличению акцепторных свойств эскулина и эскулетина.

Литература

1. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. М.: «Наука», 1984
2. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А. Окислительный стресс. Антиоксиданты и прооксиданты. М.: Слово, 2006. – 556 с.
3. М. Отто. Современные методы аналитической химии. - Т.1. - 2003 г.
4. Ревина А.А., Ларионов О.Г., Кочетова М.В., Зими́на Г.М., Золотаревский Г.И., Эль-Регистан Г.И. Спектрофотометрические и хроматографические исследования продуктов радиационного окисления водных растворов 3,5-дигидрокситолуола // Химия высоких энергий, 2004. - Т. 38. - № 3. - С. 176-182.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА

Островская Л. А.

ВЫЯВЛЕНИЕ ЛАТЕНТНОГО ДЕФИЦИТА ВИТАМИНОВ B12 И B9 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И МУТАЦИЕЙ V617F В ГЕНЕ JAK2

студент 4 курса, Сибирский Федеральный Университет, Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии, г.Красноярск

DETECTION OF LATENT DEFICIT OF VITAMIN B12 AND B9 IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS AND V617F MUTATION IN JAK2 GENE

Ostrovskaya Ludmila Alekseevna, 4th year student, Siberian Federal University, Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Krasnoyarsk

АННОТАЦИЯ

Цель: Выявление дефицита витаминов B12 и B9 у больных ХМПЗ.

Методы: Полиморфизм V617F в гене JAK2 определялся методом пиросеквенирования. Определение концентрации витаминов B12 и B9 проводилось при помощи микробиологического теста в микропланшетном формате.

Результаты: Распространенность полиморфизма V617F гена JAK2 среди пациентов с подозрением на ХМПЗ: 55% - мутация, 45% - норма.

Среди общей выборки (40 человек) обнаружено 2 пациента с наличием дефицита витамина B12 и 3 – с дефицитом фолиевой кислоты.

Выводы: Необходима коррекция диеты с целью исключения риска возникновения анемии и тромбозов.

ABSTRACT

Purpose: Identify the deficiency of vitamins B12 and B9 in patients with CMPD.

Methods: Polymorphisms in the gene JAK2 V617F was determined by pyrosequencing. Determination of the concentration of vitamins B12 and B9 was performed using a microbiological test in microplate format.

Results: The prevalence of gene JAK2 V617F polymorphism among patients with suspected CMPD: 55% - mutation, 45 % - the norm.

Among the total sample (40 people) found 2 patients with the presence of vitamin B12 deficiency and 3 - with folic acid deficiency.

Conclusion: the need for correction of diet in order to avoid the risk of anemia and thrombosis.

Ключевые слова: ХМПЗ, витамин B12, фолиевая кислота

Keywords: CMPD, vitamin B12, folic acid

Бешеный темп жизни современного человека зачастую приводит к множественным нарушениям здоровья, в том числе к гипо- и авитаминозам. К примеру, по данным на 2009 год гиповитаминоз зарегистрирован более чем у 75% россиян [1, с.80-87]. Проблема авитаминоза является наиболее актуальной для определенного рода больных. К такого рода больным относятся больные ХМПЗ (хроническими миелопролиферативными заболеваниями), страдающие от повышенной пролиферации клеток миелоидного ростка. [3, с.552–561] Несмотря на выраженную миелопролиферацию и гиперпродукцию эритроцитов у пациентов могут возникать анемические состояния, вызванные нехваткой витаминов в связи с их бурным потреблением на интенсивный синтез ДНК и пролиферацию клеток эритроидного ростка [2].

Целью данной работы явилось выявление скрытого дефицита витаминов B12 и B9 путем определения их концентрации в сыворотке крови больных ХМПЗ.

Объектом исследования служила геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов цельной крови.

Для выделения ДНК использовалась венозная кровь, забранная из локтевой вены с помощью закрытой вакуумной системы Vacuette в количестве 4,5 мл. В качестве антикоагулянта использовался раствор ЭДТА. Полученные образцы ДНК хранились в отдельных пробирках типа Eppendorf при -200С.

Объектом для определения концентрации витамина B12 и витамина B9 служила сыворотка

крови. Забор крови осуществлялся из локтевой вены с помощью закрытой вакуумной системы Vacuette с активатором свертывания. После забора кровь была центрифугирована, сыворотка отделена, полученные образцы хранились в отдельных пробирках типа Eppendorf при -200С.

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови проводилось с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» («Амлисенс», Россия).

Определение наличия полиморфизма V617F в гене JAK2 проводилось при помощи системы генетического анализа PyroMark (Qiagen, Германия), основанной на методе пиросеквенирования.

Определение концентрации витамина B12 в сыворотке цельной крови методом проводилось при помощи ID-Vit® Vitamin B12 (микробиологического

теста в микропланшетном формате) («Immunodiagnostik», Germany).

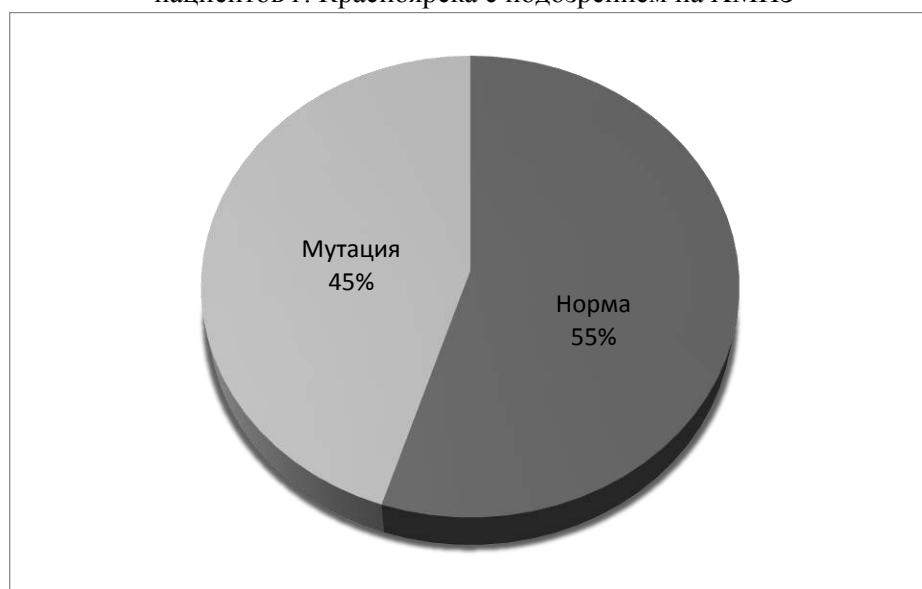
Определение концентрации фолиевой кислоты в сыворотке цельной крови методом проводилось при помощи ID-Vit® Folic acid (микробиологического теста в микропланшетном формате) («Immundiagnostik», Germany).

В ходе исследования было проанализировано 40 образцов крови и сыворотки пациентов с подозрением на ХМПЗ. Средний возраст пациентов – 51 год.

В ходе работы была определена распространенность полиморфизма V617F гена JAK2 среди пациентов г. Красноярска с подозрением на ХМПЗ.

Полученные данные представлены на диаграмме 1.

Диаграмма 1 - Распространенность полиморфизма V617F гена JAK2 среди пациентов г. Красноярска с подозрением на ХМПЗ



В ходе работы была определена распространенность концентраций витамина B12 в крови пациентов с ХМПЗ г. Красноярска.

Полученные данные представлены в таблице.

Концентрация витамина B12 в крови взрослого человека в норме составляет 25-500 нг/л, таким образом, исходя из таблицы, приведенной выше, концентрация витамина B12 в крови большинства пациентов находится в пределах нормы. Однако обнаружены два пациента с дефицитом витамина (в таблице выделены красным).

В ходе работы была определена распространенность концентраций витамина B9 (фолиевой кислоты) в крови пациентов с ХМПЗ г. Красноярска.

Полученные данные представлены в таблице.

Концентрация фолиевой кислоты в крови взрослого человека в норме составляет 3-24 мг/л, таким образом, исходя из таблицы, приведенной выше, концентрация фолиевой кислоты в крови большинства пациентов находится в пределах нормы. Однако обнаружены три пациента с дефицитом витамина (в таблице выделены красным).

Вывод: Среди общей выборки пациентов в количестве 40 человек обнаружено 2 пациента с наличием дефицита витамина B12 и 3 пациента с дефицитом фолиевой кислоты. Необходима коррекция диеты с целью исключения риска возникновения анемии и тромбозов.

Таблица 1

Концентрация Витамина В12 в сыворотке крови пациентов с наличием и отсутствием полиморфизма V617F в гене JAK2

№ пробы	V617F JAK2	[Vit B12], нг/л	№ пробы	V617F JAK2	[Vit B12], нг/л
1	N	48,76	21	N	42
2	M	59,02	22	N	38,69
3	M	12,68	23	M	31,22
4	N	58,46	24	N	50,09
5	N	59,96	25	N	57,18
6	N	52,37	26	N	47,16
7	M	61,29	27	N	34,02
8	M	42,82	28	M	58,09
9	M	53,42	29	M	50,49
10	M	43,05	30	M	47,56
11	N	47,16	31	M	54,77
12	M	36,81	32	M	48,36
13	M	3,36; 4,53	33	N	44,93
14	N	47,09; 48,54	34	M	41,22
15	N	48,09	35	N	50,72
16	N	42	36	N	48,31
17	N	66,27	37	N	48,91
18	N	45,09	38	N	55,53
19	N	47,09; 47,93	39	M	61,31
20	M	52,02	40	M	62,52

Таблица 2

Концентрация Витамина В9 (фолиевой кислоты) в сыворотке крови пациентов с наличием и отсутствием полиморфизма V617F в гене JAK2

№ пробы	V617F JAK2	[Vit B9], мкг/л	№ пробы	V617F JAK2	[Vit B9], мкг/л
1	N	3	21	N	25,71
2	M	2,25	22	N	23,79
3	M	4,5	23	M	15,17
4	N	5,25	24	N	14,14
5	N	4,5	25	N	18,31
6	N	3,75	26	N	20,46
7	M	2,25	27	N	15,97
8	M	2,25	28	M	18,83
9	M	4,5	29	M	6,65
10	M	1,5	30	M	12,83
11	N	24,75	31	M	25,29
12	M	17,25	32	N	16,81
13	M	6,7	33	M	14,14
14	N	13,5	34	N	22,34
15	N	19,43	35	N	29,59
16	N	23,55	36	N	29,45
17	N	19,9	37	N	34,04
18	N	29,22	38	M	30,11
19	N	13,72	39	M	29,41
20	M	17,33	40	M	27,67

Литература

1. Анисимова Н. В., Сахарова И. Н. 2009. Эффективность использования витаминominеральных комплексов в рационе питания детей и подростков. Известия Пензенского государственного педагогического университета им. В.Г. Белинского. 18: 80-87.
2. Сисла Б. 2011. Руководство по лабораторной гематологии; пер. с англ. под общ. ред. А.И.Воробьева. Практическая медицина.
3. Воробьев А. И. 2009 Рациональная фармакотерапия заболеваний системы крови. Руководство для практикующих врачей. 552–561

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА

Зелеев М. Х.¹, Дианов В. М.², Александрова Е. Л.³

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА С КОНДЕНСИРОВАННЫМИ АЗОЛАМИ

¹кандидат физико-математических наук, доцент, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

²доктор фармацевтических наук, профессор, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

³ассистент, Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

THE RESEARCH OF THE COMPLEXATION OF PHOSPHATIDYLCHOLINE WITH CONDENSED AZ- OLES

Zeleev Marat Khasanovich, Candidate of physical-mat. sciences, associate professor, Bashkir State Medical University, Ufa

Dianov Valerij Mikhailovich, Doktor of pharmaceutical sciences, associate professor, Bashkir State Medical University, Ufa

Alexandrova Elena Leonidovna, assistant, Bashkir State Medical University, Ufa

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты исследования комплексообразования фосфатидилхолина с конденсированными азолами методами ядерного магнитного резонанса и квантовой химии. Показано образование комплексов посредством π -системы электронов.

ABSTRACT

The results of the research of the complexation of phosphatidylcholine with condensed azoles are presented by nuclear magnetic resonance and quantum chemistry. The formation of complexes are showed by π -electron system.

Ключевые слова: комплексообразование, конденсированные азолы, фосфатидилхолин

Keywords: complexation, condensed azoles, phosphatidylcholine

В проявлении эффекта биологически активных веществ важную роль играет возможность их доставки к «месту действия». Важнейшим условием для такого поступления является их способность проникать через клеточные мембраны, состоящие из фосфолипидного бислоя. Липиды мембран состоят из лецитина - фосфатидилхолина, который облегчает

транспорт питательных и химических веществ в клетки и из них.

При исследовании действия пиразола, пиридина и их некоторых производных на клеточные фосфолипиды было показано образование комплекса между азолами и третичной аминогруппой фосфатидилхолина за счет взаимодействия π -системы электронов гетероциклических колец с полярной головкой фосфатидилхолина. Также было высказано предположение о том, что такой тип взаимодействия является вполне возможным и для других гетероциклических соединений [1, 2].

Методом молекулярной механики нами выполнены квантовохимические расчеты и ЯМР ³¹P спектроскопия с целью установления механизма молекулярного взаимодействия конденсированных производных азолов с фосфолипидами клеточных мембран.

Квантовохимические расчеты выполнены полуэмпирическим методом MNDO с предварительной оптимизацией геометрии MM+ программного пакета HyperChem. Построение проводилось путем попеременного варьирования двугранных углов от 0 до 360 градусов.

Анализ квантовохимических расчетов - энергия комплексообразования, электронная плотность, геометрические параметры взаимодействующих молекул показывает, что из рассмотренного ряда наиболее выраженное комплексообразование наблюдается у четвертичных солей тиазолобензимидазола и дигидроимидазотиазола.

При анализе распределения зарядов на атомах холиновой группы фосфатидилхолина, в точке минимума энергии, обнаружено перераспределение заряда, которое сопровождается переносом части заряда с атома фосфора.

Проведен анализ электронного строения взаимодействующих молекул. В точке минимума энергии на атомах N[1], C[2], C[3], C[4] холиновой группы наблюдается существенное изменение электронной заселенности нижней свободной орбитали. На атомах O[13], O[14] фосфатной группы фосфатидилхолина выявлено значительное изменение электронной заселенности верхней занятой орбитали. Существенные изменения электронного строения наблюдаются на атомах производных тиазолобензимидазола и дигидроимидазотиазола, которые наиболее близко расположены к атомам полярной группы фосфатидилхолина.

Экспериментально, методом спектроскопии ЯМР ^{31}P , исследован комплекс фосфатидилхолина с производными тиазолобензимидазола и дигидроимидазотиазола.

В ходе эксперимента концентрация фосфатидилхолина в D_2O поддерживалась намного выше критической концентрации мицеллообразования, так как при использовании больших концентраций фосфатидилхолина сигналы ЯМР уширяются вследствие образования мицелл и точность определения химического сдвига снижается. Одновременно возникает препятствие для доступа химического соединения к точкам связывания, оказывающимся внутри мицелл.

Необходимость использования низкой концентрации исследуемых соединений обуславливается также его способностью формировать цепочные

структуры посредством водородных связей. Испытуемые соединения растворяли в D_2O при незначительном нагревании. В спектре наблюдается химический сдвиг спектральной линии ^{31}P фосфатидилхолина, относительно его начального положения, в сторону слабого поля. Сдвиг спектральной линии ^{31}P фосфатидилхолина, относительно его начального положения, в сторону слабого поля указывает на снятие экранирования с атома фосфора, что согласуется с расчетными данными.

Таким образом, показано, что при комплексообразовании с некоторыми конденсированными азотами, в фосфатной группе холиновой части фосфатидилхолина возникает изменение заряда и изменение характера спектра ЯМР на ядрах ^{31}P . Формирующийся комплекс образован посредством π -системы электронов гетероциклов с переносом заряда на атом фосфора фосфатидилхолина.

Список литературы

1. Ремизов, А. В. Взаимодействие фосфолипидов и пиразола / А. В. Ремизов, М. В. Алпарова, Р. С. Насибуллин // Биол. мембраны. - 1991. - Т. 8, № 4. - С. 419-422.
2. Взаимодействие пиридина с клеточным фосфатидилхолином в D_2O / Р. С. Насибуллин, М. Х. Зелеев, Л. В. Спирихин, Д. И. Косарева // Биополимеры и клетка. - 1998. - Т. 14, № 5. - С. 21-27.

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

Уранова Н. А.¹, Востриков В. М.²

ДЕФИЦИТ ОЛИГОДЕНДРОГЛИИ И НАРУШЕНИЕ МЕЖПОЛУШАРНОЙ АСИММЕТРИИ В НИЖНЕЙ ТЕМЕННОЙ КОРЕ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

¹Доктор медицинских наук, заведующая лабораторией, Научный центр психического здоровья, г. Москва

²Доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Научный центр психического здоровья, г. Москва

DEFICIT OF OLIGODENDROGLIA AND DISRUPTION OF HEMISPHERIC ASYMMETRY IN THE INFERIOR PARIETAL CORTEX IN SCHIZOPHRENIA

Uranova Natalya, Doctor of Medical Sciences, head of laboratory, Mental Health Research Center, Moscow

Vostrikov Victor, Doctor of Medical Sciences, Mental Health Research Center, Moscow

АННОТАЦИЯ

Цель. Шизофрения характеризуется выраженным дефицитом олигодендроцитов в префронтальной коре. Нейровизуализационные исследования выявили изменения белого вещества и межполушарной асимметрии в нижней теменной коре (НТК) при шизофрении. Мы предположили, что эти изменения могут быть связаны с дефицитом олигодендроцитов. Целью исследования было оценить численную плотность (Nv) олигодендроцитов в НТК при шизофрении и в контроле.

Метод. Проведено морфометрическое исследование НТК (слой 3 поля 39 из обоих полушарий и подлежащее к слою 6 белое вещество) у мужчин больных шизофренией и нормальных контролей на коллекции срезов аутопсийного мозга Медицинского научно-исследовательского института Стенли (США) (24 случаев контроля, 24 случаев шизофрении). На срезах, окрашенных по методу Ниссля, стереологическим методом оптического диссектора определяли Nv олигодендроцитов.

Результат. Выявлено снижение Nv олигодендроцитов (-15%, $p < 0,05$) при шизофрении по сравнению с контролем. Найденные в контрольной группе межполушарные различия в Nv олигодендроцитов отсутствуют в группе шизофрении. Изменений в белом веществе не выявлено.

Выводы. Снижение Nv олигодендроцитов и нарушение межполушарной асимметрии в НТК при шизофрении могут быть включены в структурную

основу психопатологических изменений при шизофрении.

ABSTRACT

Background. Deficit of oligodendrocytes has been consistently reported in schizophrenia. Neuroimaging studies detected changes in the white matter and in hemispheric asymmetry in the inferior parietal cortex (IPC) in schizophrenia. We hypothesized that these changes might be partly associated with the deficit of oligodendrocytes. The aim of the study was to estimate the numerical density (Nv) of oligodendrocytes in the IPC in the schizophrenia and control groups.

Methods. We performed morphometric study of the IPC using postmortem schizophrenia and control males (layer 3 of BA 39 from both hemispheres and in the white matter adjacent to layer 6) obtained from the Stanley Medical Research Institute (USA) section collection (24 schizophrenia cases and 24 normal control cases). The Nv of oligodendrocytes was estimated in Nissl-stained sections by stereological optical dissector method.

Results. We found reduction in the Nv of oligodendrocytes (-15%, $p < 0,05$) in the schizophrenia group as compared to the control group. The Nv of oligodendrocytes in schizophrenia did not show leftward lateralization in contrast to normal control group where hemispheric asymmetry was found. There was no significant group difference in the Nv of oligodendrocytes in the white matter.

Conclusion. Reduction in the Nv of oligodendrocytes and disruption of hemispheric asymmetry might be the structural basis of psychopathology in schizophrenia.

Ключевые слова: олигодендроцит, межполушарная асимметрия, нижняя теменная кора, морфометрия, шизофрения

Keywords: oligodendrocyte, hemispheric asymmetry, inferior parietal cortex, morphometry, schizophrenia

Анатомические и функциональные нарушения межнейрональных связей и, как следствие, нарушение передачи сигналов между различными областями мозга при шизофрении рассматриваются как центральное звено в патогенезе болезни (1,2). Нейробиологическим субстратом этих изменений могут быть нарушенные процессы миелинизации и связанные с ними процессы пролиферации и созревания олигодендроцитов. О важной роли олигодендроцитов в патогенезе шизофрении свидетельствуют результаты морфологических исследований (3,4), исследований экспрессии генов (5) в аутопсийном мозге и нейровизуализационных исследований (6). Нейропсихологические нарушения, обнаруживаемые у больных шизофренией, могут быть связаны с изменениями в НТК (7,8). В состав НТК входит поле 39, которое принимает участие в переработке и осознанном восприятии соматосенсорной информации, формировании в сознании трёхмерной модели тела (9). НТК является наиболее латерализованной областью коры мозга, в которой выявлены функциональная и анатомическая асимметрии (10). Исследования,

выполненные методами нейровизуализации, выявили изменения в белом веществе НТК при шизофрении (11). Однако связь нарушений олигодендроцитов с межполушарной асимметрией остается малоизученной. Мы предположили, что существующая в норме межполушарная асимметрия в НТК изменяется при шизофрении, и провели морфометрическое исследование Nv олигодендроцитов в правом и левом полушарии в НТК (поле 39), а именно в слое 3 и белом веществе, подлежащем к слою 6, при шизофрении по сравнению с нормальным контролем.

Была исследована НТК от больных шизофренией в сравнении контролем на коллекции аутопсийного мозга Медицинского научно-исследовательского института Стенли (США), состоящей из 24 случаев контроля и 24 случаев шизофрении. Демографические характеристики групп представлены в таблице 1. Образцы аутопсийного мозга для каждого случая в виде отобранной по методу систематического случайного отбора серии из 10 парафиновых 10 мкм срезов, содержащих поле 39, окрашенных кризоловым фиолетовым.

Таблица 1

Демографические данные.

	Контроль (n=24)	Шизофрения (n=24)
Возраст (годы)	44.3±9.3	39.8±10.7
Полушария (П, Л)	10П/14Л	10П/14Л
Посмертный интервал (час.)	24.4±10.8	29.1±11.6
Время фиксации (мес.)	64.7 (22–90) Л 50.4 (21–83) П	60.1 (19–91) Л 51.3 (24–88) П

Срезы исследовали в световом микроскопе Carl Zeiss Axio Imager M1, изображения обрабатывали при помощи программы AxioVision. Поле 39 НТК и подслои слоя 3 (а, b и c) идентифицировали по цитоархитектоническим критериям (12). Nv олигодендроцитов в единице объема ткани определяли стереологическим методом оптического диссектора (13). Олигодендроциты подсчитывали в 10 оптических диссекторах на одном срезе. Таким образом подсчет был проведен в 100 диссекторах для каждого подслоя слоя 3 и в 100 диссекторах для подлежащего белого вещества для каждого случая. Nv олигодендроцитов выражали как число клеток в 0,001мм³. Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6,0.

Средние значения и влияние диагноза на Nv олигодендроцитов в подслоях слоя 3 поля 39 и в белом веществе, подлежащем к слою 6, в сравниваемых группах приведены в таблице 2.

Снижение (-15%) Nv олигодендроцитов выявлено в каждом из подслоев поля 39 при шизофрении по сравнению с контролем. Однако Nv олигодендроцитов не различалась между исследуемыми группами в подлежащем белом веществе. Также выявлены межполушарные различия в Nv олигодендроцитов в слое 3 ($F \geq 7.95$, $p < 0.01$ для каждого подслоя). Nv олигодендроцитов в контрольной группе была повышена в левом полушарии по сравнению с правым в слоях 3b и 3c (22%, $p < 0.03$) и не отличалась в 3a (17%, $p < 0.07$).

Не найдено влияния на Nv олигодендроцитов возраста, постмортального интервала, времени фиксации в формалине.

Таблица 2

Влияние диагноза на Nv олигодендроцитов поля 39 (слой 3 и подлежащее к слою 6 белое вещество).

Слои	Контроль $\pm$ SD (n=24)	Шизофрения $\pm$ SD (n=24)	F(1,44)	p
Поле 39				
3a	126.95 $\pm$ 28.0	109.83 $\pm$ 32.3	4.24	0.045
3b	139.66 $\pm$ 33.4	118.59 $\pm$ 34.6	4.79	0.034
3c	152.01 $\pm$ 35.1	130.2 $\pm$ 42.8	4.11	0.049
Белое вещество	412.64 $\pm$ 69.3	392.6 $\pm$ 47.7	1.36	0.24

Таблица 3

Nv олигодендроцитов в подслоях поля 39 левого и правого полушария.

Подслои	Контроль			Шизофрения		
	Левое полушарие (n=14)	Правое полушарие (n=10)	p	Левое полушарие (n=14)	Правое полушарие (n=10)	p
3a	136.6 $\pm$ 28.5	113.4 $\pm$ 22.2	0.07	119.8 $\pm$ 36.4	95.9 $\pm$ 19.6	0.06
3b	153.3 $\pm$ 31.3	120.5 $\pm$ 27.2	0.02	128.1 $\pm$ 41.1	105.3 $\pm$ 16.7	0.1
3c	166.9 $\pm$ 29.0	131.2 $\pm$ 33.3	0.03	143.2 $\pm$ 51.7	112.0 $\pm$ 13.8	0.53

В настоящем исследовании выявлено снижение на 15% Nv олигодендроцитов в подслоях слоя 3 поля 39 при шизофрении по сравнению с контролем. Эти наблюдения подтверждают и расширяют результаты наших предыдущих исследований о снижении на 25% Nv олигодендроцитов в слое 6 поля 9 и поля 10 префронтальной коры при шизофрении (4). Полученные результаты также согласуются с данными о снижении численной плотности олигодендроцитов в слое 3 поля 9 в префронтальной коре при шизофрении (3).

Обнаруженное нами снижение Nv олигодендроцитов в поле 39 НТК при шизофрении согласуется с исследованиями, выполненными методами нейровизуализации, в которых показано уменьшение объемов серого и белого вещества поля 39, снижение объема кровотока и уровня метаболизма глюкозы у больных шизофренией (14). Эти находки позволяют предположить, что дефицит олигодендроцитов в НТК может быть связан с психопатологией шизофрении. Наше исследование показало, что межполушарные различия в численной плотности олигодендроцитов, выявленные в слое 3 в контрольной группе, отсутствуют в группе шизофрении. Эти результаты согласуются с данными нейровизуализационных исследований (15), показавших, что в норме в НТК существует функциональная асимметрия (Л>П), которая снижается при шизофрении. Дальнейшие исследования роли олигодендроцитов в развитии когнитивных нарушений при шизофрении необходимы

для выработки новой стратегии для лечения этого заболевания.

Исследование выполнено при поддержке Медицинского научно-исследовательского института Стенли (США).

Литература

1. Friston KJ, Frith CD. Schizophrenia: a disconnection syndrome? 1995. Clin Neurosci. 3:89–97.
2. Bullmore ET, Frangou S, Murray RM. The dysplastic net hypothesis: an integration of developmental and dysconnectivity theories of schizophrenia. 1997. Schizophr Res. 28:143–56.
3. Hof PR, Haroutunian V, Friedrich VL, Byne W, Buitron C, Perl DP, Davis KL. 2003. Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. Biol Psychiatr. 53:1075–1085.
4. Uranova NA, Vostrikov VM, Vikhreva OV, Zimina IS, Kolomeets NS, Orlovskaya DD. 2007. The role of oligodendrocyte pathology in schizophrenia. Int J Neuropsychopharmacol. 10:537–545.
5. Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, Wayland M, Freeman T, Jones PB, Starkey M, Webster MJ, Yolken RH, Bahn S. 2003. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. Lancet. 362:798–805.
6. Kubicki M, Shenton ME, Salisbury DF, Hirayasu Y, Kasai K, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW.

- Voxel-based morphometric analysis of gray matter in first episode schizophrenia. 2002. *Neuroimage*. 17:1711-1719.
7. Kaplan RD, Szechtman H, Franco S, Szechtman B, Nahmias C, Garnett ES, List S, Cleghorn JM. 1993. Three clinical syndromes of schizophrenia in untreated subjects: relation to brain glucose activity measured by positron emission tomography (PET). *Schizophr Res*. 11:47-54.
8. Petrides M, Pandya DN. Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. 1984. *J Comp Neurol*. 228:105-116.
9. Torrey EF. Schizophrenia and the inferior parietal lobule. 2007. *Schizophr Res*. 97:215-225
10. Niznikiewicz M, Donnino R, McCarley RW, Nestor PG, Iosifescu DV, O'Donnell B, Levitt J, Shenton ME. 2000. Abnormal angular gyrus asymmetry in schizophrenia. *Am J Psychiatr*. 157:428-437.
11. Olabi B, Ellison-Wright I, McIntosh AM, Wood SJ, Bullmore E, Lawrie SM. 2011. Are there progressive brain changes in schizophrenia? A meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies. *Biol Psychiatr*. 70:88-96.
12. Саркисов СА, Филимонов ИИ, Преображенская НС. (ред.) Цитоархитектоника коры большого мозга человека. М., 1949, 448 с.
13. Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Neilsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ. The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. 1988. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand*. V.96: p.857-881.
14. Zhou SY, Suzuki M, Takahashi T, Hagino H, Kawasaki Y, Matsui M, Seto H, Kurachi M. Parietal lobe volume deficits in schizophrenia spectrum disorders. 2007. *Schizophr Res*. 89:35-48.
15. Frederikse M, Lu A, Aylward E, Barta P, Sharma T, Pearlson G. 2000. Sex differences in inferior parietal lobule volume in schizophrenia. *Am J Psychiatr*. 157:422-427.

ЗООЛОГИЯ

Филатова Ю. Б.

ОЦЕНКА ВИДОВОГО СХОДСТВА ОРНИТОКОМПЛЕКСОВ ИНДУСТРИАЛЬНОГО ГОРОДА (НА ПРИМЕРЕ ГОРОДА СТЕРЛИТАМАКА, РЕСПУБЛИКА БАШКОРТОСТАН, РОССИЯ)

Стерлитамакский Филиал Башкирского Государственного Университета, г. Стерлитамак

ASSESSMENT OF SPECIES SIMILARITY ORNITHO-COMPLEXES INDUSTRIAL CITY (ON THE EXAMPLE OF THE CITY OF STERLITAMAK, REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN, RUSSIA)

Filatova Yuliya, Sterlitamak Branch Of Bashkir State University, the city of Sterlitamak

АННОТАЦИЯ

Цель: провести анализ пространственно-видового состава орнитокомплексов на территории города Стерлитамака. Метод: коэффициент видового сходства Жаккара. Вывод: оценка пространственно-видовой структуры орнитокомплексов позволяет организовать фаунистический контроль в промышленном городе.

ABSTRACT

Objective: to analyze the spatial and species composition of ornithocomplexes in the city of Sterlitamak. Method: coefficient of species similarity jacquard. Conclusion: evaluation of spatial-specific patterns of ornithocomplexes allows you to organize faunal control in an industrial city.

Ключевые слова: пространственно-видовая структура, орнитокомплексы.

Keywords: spatial-specific structure, ornithocomplexes.

В связи с сильным антропогенным прессом на окружающую среду происходит заметное снижение видового богатства фауны на урбанизированных территориях. Этому посвящено большое количество научных публикаций. В результате постоянно усиливающегося антропогенного и техногенного воздействия в городах (особенно крупных, к каким относятся и Стерлитамак) в значительной мере изменяются атмосфера, растительный и животный мир, гидросфера и климат, а это влечет за собой необходимость контроля состояния окружающей среды.

В рамках геосистемного мониторинга одним из важнейших направлений является организация оперативного слежения за состоянием биосферы в целом, и в частности популяций животных, в том числе птиц.

Одним из перспективных направлений организации контроля за орнитокомплексами городов является изучение пространственно-видовой структуры населения птиц, так как подобные исследования позволят оценить общий характер ее территориальных изменений, которые отражают специфику влияния среды на распределение орнитофауны в целом. Кроме этого, изучение орнитокомплексов в городах позволит определить критерии для организации фаунистического (в данном случае орнитологического) контроля. Как известно в городских местообитаниях численность и распределение птиц зависит от типа застройки, площади и фрагментации растительности и количества антропогенных кормов. Преобразованные же в результате хозяйственной деятельности человека биотопы заселяет небольшое число видов, способных выжить в этих условиях.

Цель наших исследований – провести анализ пространственно-видового состава орнитокомплексов и определить критерии для организации и проведения орнитологического контроля на территории города Стерлитамака. Наблюдения проводились маршрутным методом с мая по август 2014 г. в 5 районах: 1 – окрестности ОАО «Каустик», 2 – центр города «Парк Победы», 3 – «Берёзовая роща», 4 – окрестности «Старого кладбища», 5 – пойма реки Ольховка (детский сад № 93). За этот период зарегистрировано 50 видов птиц, относящихся к 10 отрядам, 23 семействам, 40 родам (табл. 1), что составляет около 23 % от общего числа видов птиц в Республике Башкортостан.

Таблица 1

Пространственно-видовой состав орнитокомплексов города Стерлитамака
(весенне-летний период 2014 года)

Отряд, семейство, род, вид	Районы исследований				
	1	2	3	4	5
Отряд Гусеобразные (Anseriformes)					
Семейство Утиные (Anatidae)					
Подсемейство Утиные (Anatinae)					
Род Утки (Anas)					
Кряква обыкновенная (Anas platyrhynchos)					+
Род Чирки (Querquedula)					
Чирок-трескунок (Querquedula querquedula)					+
Отряд Соколообразные (Falconiformes)					
Семейство Ястребиные (Accipitridae)					
Род Коршуны (Milvus)					
Коршун чёрный (Milvus korschun)				+	
Отряд Ржанкообразные (Charadriiformes)					
Семейство Ржанковые (Charadriidae)					
Подсемейство Улиты (Tringinae)					
Род Перевозчики (Actitis)					
Перевозчик (Actitis hypoleucos)				+	+
Отряд Чайкообразные (Lariformes)					
Семейство Чайковые (Laridae)					
Подсемейство Чайки (Larinae)					
Род Настоящие Чайки (Larus)					
Чайка речная (Larus ridibundus)					+
Подсемейство Крачки (Sterninae)					
Род Крачки (Sterna)					
Крачка обыкновенная (Sterna hirundo)					+
Отряд Голубеобразные (Columbiformes)					
Семейство Голубиные (Columbidae)					
Род Голуби (Columba)					
Голубь сизый (Columba livia)	+	+			
Род Горлицы (Streptopelia)					
Горлица кольчатая (Streptopelia decaocto)				+	
Отряд Сovoобразные (Strigiformes)					
Семейство Совиные (Strigidae)					
Род Неясыти (Strix)					
Неясыть обыкновенная (Strix aluco)			+		
Отряд Стрижеобразные (Apodiformes)					
Семейство Стрижиные (Apodidae)					
Род Стрижи (Apus)					
Стриж чёрный (Apus apus)	+	+	+		+
Отряд Дятлообразные (Piciformes)					
Семейство Дятловые (Picidae)					
Род Чёрные дятлы (Желны) (Dryocopus)					
Дятел чёрный (Dryocopus martius)				+	+
Род Зеленых дятлов (Picus linnaeus)					
Дятел седоголовый (Picus canus)		+	+		
Род Пёстрые дятлы (Dendrocopos)					

Отряд, семейство, род, вид	Районы исследований				
	1	2	3	4	5
Пёстрый дятел большой (<i>Dendrocopos major</i>)				+	+
Отряд Кукушкообразные (<i>Cuculiformes</i>)					
Семейство Кукушковые (<i>Cuculidae</i>)					
Род Кукушки (<i>Cuculus</i>)					
Кукушка обыкновенная (<i>Cuculus canorus</i>)	+			+	+
Отряд Ракшеобразные (<i>Coraciiformes</i>)					
Семейство Зимородковые (<i>Alcedinidae</i>)					
Род Голубые зимородки (<i>Alcedo</i>)					
Зимородок обыкновенный (<i>Alcedo atthis</i>)					+
Отряд Воробьинообразные (<i>Passeriformes</i>)					
Семейство Ласточковые (<i>Hirundinidae</i>)					
Род Городские ласточки (<i>Delichon</i>)					
Ласточка городская (<i>Delichon urbica</i>)					+
Род Деревенские ласточки (<i>Hirundo</i>)					
Ласточка деревенская (<i>Hirundo rustica</i>)					+
Семейство Трясогузковые (<i>Motacillidae</i>)					
Род Трясогузки (<i>Motacilla</i>)					
Трясогузка белая (<i>Motacilla alba</i>)	+				+
Трясогузка жёлтая (<i>Motacilla flavia</i>)				+	+
Род Коньки (<i>Anthus</i>)					
Конёк лесной (<i>Anthus trivialis</i>)					+
Семейство Вороновые (<i>Corvidae</i>)					
Род Вороны (<i>Corvus</i>)					
Ворона серая (<i>Corvus cornix</i>)	+	+	+	+	+
Ворона черная (<i>Corvus coron</i>)		+			+
Грач (<i>Corvus frugilegus</i>)	+	+	+	+	+
Род Галка (<i>Corvus</i>)					
Галка (<i>Corvus monedula</i>)	+		+	+	+
Род Сороки (<i>Pica</i>)					
Сорока (<i>Pica pica</i>)	+		+	+	+
Семейство Поползневые (<i>Sittidae</i>)					
Род Поползни (<i>Sitta</i>)					
Поползень обыкновенный (<i>Sitta europaea</i>)				+	+
Семейство Синицевые (<i>Paridae</i>)					
Род Синицы (<i>Parus</i>)					
Синица-московка (<i>Parus ater</i>)	+			+	+
Синица большая (<i>Parus major</i>)	+	+	+	+	+
Семейство Мухоловковые (<i>Muscicapidae</i>)					
Род Мухоловки (<i>Ficedula</i>)					
Мухоловка серая (<i>Muscicapa striata</i>)	+		+	+	+
Семейство Дроздовые (<i>Turdidae</i>)					
Род Варакушки (<i>Cyanosylvia</i>)					
Варакушка (<i>Cyanosylvia svecica</i>)	+		+	+	+
Род соловьи (<i>Luscinia</i>)					
Соловей обыкновенный (<i>Luscinia luscinia</i>)	+	+		+	+
Род Зарянки (<i>Erithacus</i>)					
Зарянка (<i>Erithacus rubecula</i>)	+	+	+	+	+
Род Горихвостки (<i>Phoenicurus</i>)					
Горихвостка обыкновенная (<i>Phoenicurus phoenicurus</i>)	+	+	+	+	+

Отряд, семейство, род, вид	Районы исследований				
	1	2	3	4	5
Род Дрозды (<i>Turdus</i>)					
Дрозд певчий (<i>Turdus philomelos</i>)	+			+	+
Дрозд-рябинник (<i>Turdus pilaris</i>)		+		+	+
Деряба (<i>Turdus viscivorus</i>)			+	+	+
Дрозд-белобровик (<i>Turdus iliacus</i>)			+	+	+
Семейство Славковые (<i>Sylviidae</i>)					
Род Славки (<i>Sylvia</i>)					
Славка серая (<i>Sylvia communis</i>)				+	
Славка садовая (<i>Sylvia borin</i>)		+		+	+
Род Пеночки (<i>Phylloscopus</i>)					
Пеночка-весничка (<i>Phylloscopus trochilus</i>)	+	+	+	+	+
Род Камышевки (<i>Acrocephalus</i>)					
Камышовка садовая (<i>Acrocephalus dumetorum</i>)				+	+
Семейство Иволговые (<i>Oriolidae</i>)					
Род Иволги (<i>Oriolus</i>)					
Иволга обыкновенная (<i>Oriolus oriolus</i>)					+
Семейство Скворцовые (<i>Sturnidae</i>)					
Род (<i>Sturnus</i>)					
Скворец обыкновенный (<i>Sturnus vulgaris</i>)			+	+	+
Семейство Овсянковые (<i>Emberizidae</i>)					
Род Настоящие овсянки (<i>Emberiza</i>)					
Овсянка обыкновенная (<i>Emberiza citronella</i>)				+	+
Семейство Вьюрковые (<i>Fringillidae</i>)					
Род Щеглы (<i>Carduelis</i>)					
Щегол (<i>Carduelis carduelis</i>)		+	+	+	+
Род Зеленушки (<i>Chloris</i>)					
Зеленушка обыкновенная (<i>Chloris chloris</i>)		+	+	+	+
Род Чиж (<i>Spinus</i>)					
Чиж (<i>Spinus spinus</i>)				+	+
Род Зяблики (<i>Fringilla</i>)					
Зяблик (<i>Fringilla coelebs</i>)	+	+	+	+	+
Семейство Ткачиковые (<i>Ploceidae</i>)					
Род Настоящие воробьи (<i>Passer</i>)					
Воробей полевой (<i>Passeridae montanus</i>)	+		+	+	+
Воробей домовый (<i>Passer domesticus</i>)	+	+	+	+	+
Всего	20	17	20	35	25

При изучении орнитокомплекса в окрестности ОАО «Каустик» было зарегистрировано 17 видов, относящихся к 9 семействам: Голубиные (*Columbidae*), Стрижиные (*Apodidae*), Кукушковые (*Cuculidae*), Трясогузковые (*Motacillidae*), Вороновые (*Corvidae*), Синицевые (*Paridae*), Мухоловковые (*Muscicapidae*), Дроздовые (*Turdidae*), Ткачиковые (*Ploceidae*) (рис. 1).

В центре города «Парк Победы» было зарегистрировано 14 видов птиц из 8 семейств: Голубиные (*Columbidae*), Стрижиные (*Apodidae*), Дятловые (*Picidae*), Вороновые (*Corvidae*), Синицевые

(*Paridae*), Дроздовые (*Turdidae*), Вьюрковые (*Fringillidae*), Ткачиковые (*Ploceidae*).

При наблюдении орнитофауны на участке «Берёзовая роща» зарегистрировано 20 видов из 10 семейств: Совиные (*Strigidae*), Стрижиные (*Apodidae*), Дятловые (*Picidae*), Вороновые (*Corvidae*), Синицевые (*Paridae*), Мухоловковые (*Muscicapidae*), Дроздовые (*Turdidae*), Скворцовые (*Sturnidae*), Вьюрковые (*Fringillidae*), Ткачиковые (*Ploceidae*).

Орнитофауна в окрестности «Старого кладбища» состоит из 28 видов птиц, принадлежащих к

15 семействам: Ястребиные (Accipitridae), Ржанковые (Charadriidae), Голубиные (Columbidae), Дятловые (Picidae), Кукушковые (Cuculidae), Трясогузковые (Motacillidae), Вороновые (Corvidae), Поползневые (Sittidae), Синицевые (Paridae), Дроздовые (Turdidae), Славковые (Sylviidae), Скворцовые (Sturnidae), Овсянковые (Emberizidae), Вьюрковые (Fringillidae), Ткачиковые (Ploceidae).

В орнитокомплексе поймы реки Ольховка (детский сад № 93) было зарегистрировано 25 вида птиц, принадлежащих к 17 семействам: Утиные (Anatidae), Ржанковые (Charadriidae), Чайковые (Laridae), Стрижиные (Apodidae), Дятловые (Picidae), Кукушковые (Cuculidae), Зимородковые (Alcedinidae), Ласточковые (Hirundinidae), Трясогузковые (Motacillidae), Поползневые (Sittidae), Синицевые (Paridae), Дроздовые (Turdidae), Славковые

(Sylviidae), Иволговые (Oriolidae), Овсянковые (Emberizidae), Вьюрковые (Fringillidae), Ткачиковые (Ploceidae).

Оценка индекса видовой плотности орнитофауны в обследованных районах города Sterлитамака показала, что на участке № 1 индекс видовой плотности на 1 м² составляет 0,017, на участке № 2 – 0,028, на участке № 3 – 0,02, на участке № 4 – 0,028, а на участке № 5 – 0,025.

Вычисления индекса нумерического видового богатства в обследованных районах города Sterлитамака показали, что он на 1-м участке равен 0,19, на 2-м – 0,24, на 3-м – 0,37, на 4-м – 0,42, а на 5-м – 0,36.

При сравнении пространственно-видовой структуры орнитокомплексов города Sterлитамака мы применили коэффициент Жаккара (см. рис 1).

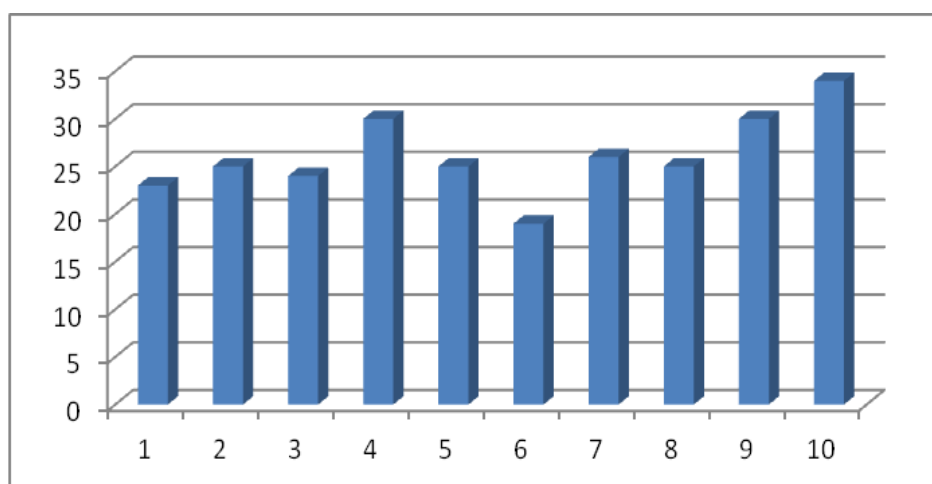


Рисунок 1. Коэффициенты сходства (по Жаккару) видового состава орнитофауны г. Sterлитамака (1 – районы 1 и 2; 2 – районы 1 и 3; 3 – районы 1 и 4; 4 – районы 1 и 5; 5 – районы 2 и 3; 6 – районы 2 и 4; 7 – районы 2 и 5; 8 – районы 3 и 4; 9 – районы 3 и 5; 10 – районы 4 и 5)

Эколого-географическая характеристика орнитокомплексов г. Sterлитамака показала, что наименьшим видовым сходством обладают районы 2 и 4, где коэффициент Жаккара составляет 19%; наибольшим сходством видового состава орнитофауны обладают районы 1 и 5 (30%) и 4 и 5 (34%).

Таким образом, применение методов оценки пространственно-видовой структуры орнитокомплексов позволяет организовать фаунистический контроль в промышленном городе.

БИОФИЗИКА

Г.А. Кораблев*, Н.Г. Петрова**, Р.Г. Кораблев*

ЭНТРОПИЙНЫЕ НОМОГРАММЫ В БИОФИЗИКЕ И В ЭКОНОМИКЕ

* Ижевская Государственная Сельскохозяйственная Академия.

** Агентство Информатизации и связи УР.

АННОТАЦИЯ

Аналогично представлениям термодинамики о статистической энтропии использовано понятие энтропии пространственно-энергетических взаимодействий.

Получена номограмма для оценки энтропии различных процессов.

Обсуждается многоплановость проявлений энтропии, в том числе – в биофизических процессах и в экономике.

Ключевые слова: энтропия, номограмма, пространственно-энергетический параметр, биофизические процессы, бизнес.

1. Введение

Понятие энтропии возникло на основе второго закона термодинамики и представлений о приведенном количестве теплоты.

В статистической термодинамике энтропия изолированной и находящейся в равновесии системы равна логарифму вероятности нахождения ее в определенном макросостоянии:

$$S = k \ln W, (1)$$

где W – число доступных состояний системы или степень вырождения микросостояний; k – постоянная Больцмана.

$$\text{Или: } W = e^{S/k} (2)$$

Эти соотношения являются общими утверждениями, имеющими макроскопический характер, не содержат никаких ссылок на элементы структур рассматриваемых систем и полностью не зависят от микроскопических моделей [1].

Поэтому применение и рассмотрение этих законов может иметь большое число следствий, которые наиболее плодотворно используются статистической термодинамикой.

Природа стремится от состояний менее вероятных к состояниям более вероятным. Так наиболее вероятным является равномерное распределение молекул по всему объему. С макрофизической точки зрения эти процессы заключаются в выравнивании

плотности, температуры, давления и химических потенциалов, а основной характеристикой процесса является термодинамическая вероятность – W .

В реальных процессах в изолированной системе рост энтропии неизбежен – в системе нарастает беспорядок, хаос, идет понижение качества внутренней энергии.

Термодинамическая вероятность равна числу микросостояний, отвечающих данному макросостоянию.

Поскольку степень вырождения системы никак не связана с физическими особенностями систем, статистическое понятие энтропии может иметь и другие применения и проявления (кроме статистической термодинамики).

«Ясно, что из двух совершенно разных по своему физическому содержанию систем энтропия может быть одинаковой, если у них число возможных микросостояний, отвечающих одному макропараметру (неважно, какой это параметр) совпадают. Именно поэтому понятие энтропии можно использовать в самых разнообразных областях. Возрастающая самоорганизация человеческого общества ... приводит к возрастанию энтропии и беспорядка в окружающей среде, что выражается в частности к появлению громадного числа рассеянных по Земле свалок» [2].

В данном исследовании делается попытка применения понятия энтропии к оценке степени пространственно-энергетических взаимодействий с использованием их графической зависимости и в других областях.

2. Энтропийная номограмма степени пространственно-энергетических взаимодействий

На основе модифицированного уравнения Лагранжа для относительного движения двух взаимодействующих материальных точек было введено представление о пространственно энергетическом параметре (Р-параметре), который является комплексной характеристикой важнейших атомных ве-

личин, ответственной за межатомные взаимодействия и имеющий прямую связь с электронной плотностью в атоме [3].

В качестве основной количественной характеристики структурных взаимодействий в конденсированных средах использовалась величина относительной разности Р-параметров взаимодействующих

атомов-компонентов – коэффициент α структурного взаимодействия:

$$\alpha = \frac{P_1 - P_2}{(P_1 + P_2)/2} 100\% \quad (3)$$

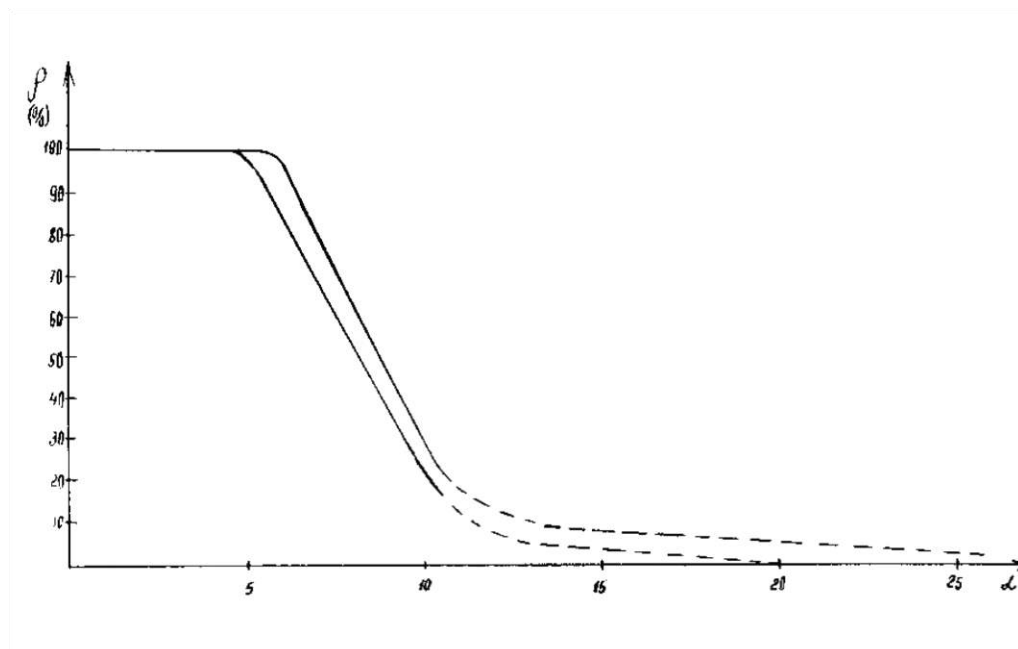


Рис. 1. Номограмма зависимости степени структурных взаимодействий (ρ) от коэффициента α

Применяя надёжные экспериментальные данные, была получена номограмма зависимости степени структурных взаимодействий (ρ) от коэффициента α , единая для широкого класса структур (рис.1). Данный подход дал возможность оценить степень и направление структурных взаимодействий процессов фазообразования, изоморфизма и растворимости в многочисленных системах, в том числе в молекулярных.

Такая номограмма может быть представлена [3] и в виде логарифмической зависимости:

$$\alpha = \beta (\ln \rho)^{-1}, \quad (4)$$

где коэффициент β – постоянная величина для данного класса структур. От среднего значения величина β структурно может изменяться в основном только в пределах $\pm 5\%$. Таким образом, величина α обратно пропорциональна логарифму степени структурных взаимодействий и поэтому может характеризоваться как энтропия пространственно-энергетических взаимодействий атомно-молекулярных структур.

Действительно, чем больше ρ , тем более вероятно образование стабильных упорядоченных структур (например, образование твердых растворов), то есть тем меньше энтропия процесса. Но тем меньше и коэффициент α .

Уравнение (4) не имеет полной аналогии с уравнением (1) Больцмана, так как в данном случае сравниваются не абсолютные, а только относительные значения соответствующих характеристик взаимодействующих структур, которые могут выражаться в процентах. И это касается не только коэффициента α , но и сравнительной оценки степени структурных взаимодействий (ρ), например – процент содержания атомов данного элемента в твердом растворе относительно общего числа атомов.

Поэтому в уравнении (4) коэффициент $k = 1$.

Вывод: относительная разность пространственно-энергетических параметров взаимодействующих структур может быть количественной характеристикой энтропии взаимодействия: $\alpha \equiv S$.

3. Энтропийная номограмма поверхностно-диффузионных процессов

В качестве примера, рассмотрим процесс карбонизации и формирования наноструктур при взаимодействиях в гелях поливинилового спирта и металлической фазы в виде оксидов или хлоридов меди. На первом этапе образуются малые кластеры неорганической фазы, окруженные углеродосодержащей фазой. В этот период основной характер атомно-молекулярных взаимодействий должен оцениваться через относительную разность Р-параметров, рассчитанных через радиусы ионов меди и ковалентные радиусы атомов углерода.

В следующем основном периоде карбонизации идет образование металлической фазы непосредственно на поверхности образующихся полимерных структур.

С этого времени начинается процесс формирования бинарной матрицы наносистемы $C \rightarrow Cu$.

Были вычислены значения зависимости степени структурных взаимодействий от коэффициента

ента α , то есть $\rho_2 = f\left(\frac{1}{\alpha_2}\right)$ - кривая 2, представленная на рис. 2. Здесь приведена так же графическая зависимость степени образования нанопленок (ω) от времени процесса по данным [4] – кривая №1 и ранее полученная номограмма энтропии в виде $\rho_1 = f\left(\frac{1}{\alpha_1}\right)$ - кривая 3.

Анализ всех полученных графических зависимостей показывает почти полное графическое совпадение всех трех графиков: $\omega = f(t)$, $\rho_1 = f\left(\frac{1}{\alpha_1}\right)$, $\rho_2 = f\left(\frac{1}{\alpha_2}\right)$ с небольшими отклонениями в начале и в конце процесса. Таким образом, скорость карбонизации, как и функции многих других физико-химических структурных взаимодействий, могут непосредственно оцениваться через значения рассчитанных величин коэффициента α и энтропийную номограмму.

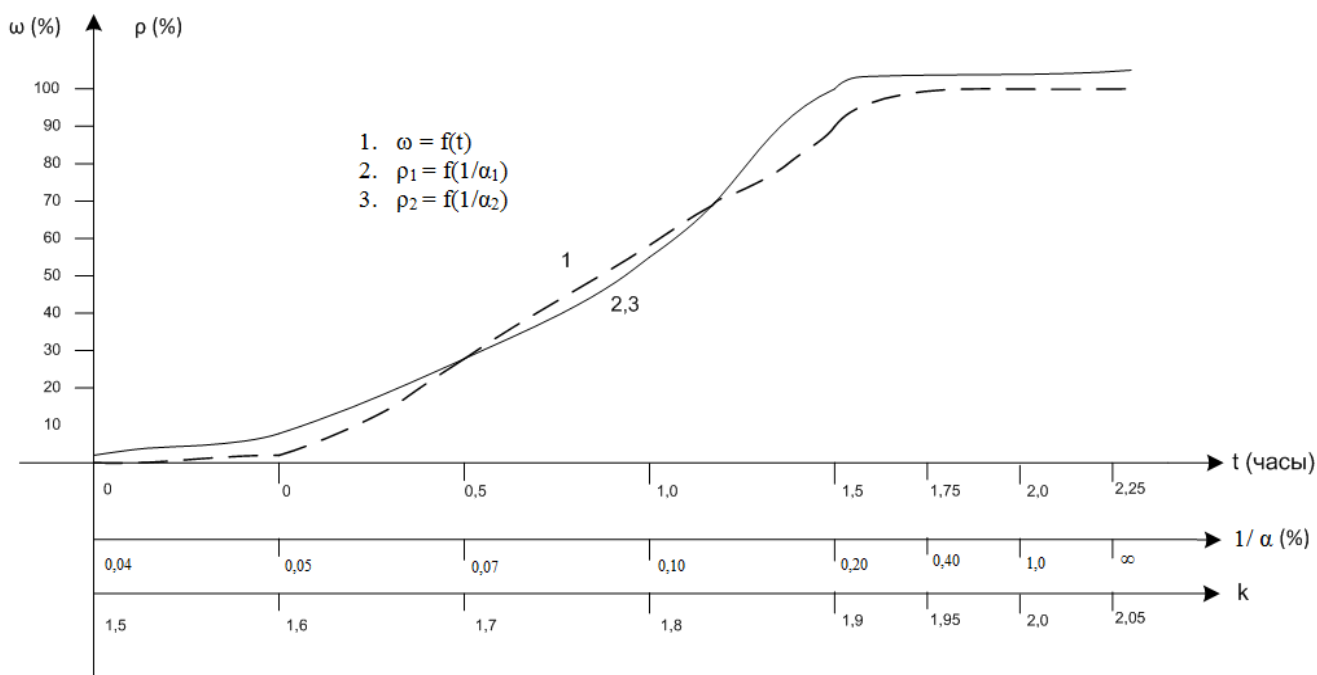


Рис. 2 - Зависимость скорости карбонизации от коэффициента α

4. Номограммы биофизических процессов

1) О кинетике ферментативных процессов

«Необходимым этапом ферментативного катализа является образование фермент-субстратного комплекса ... При этом, к молекуле фермента может присоединиться n молекул субстрата» [5, стр. 58].

Для ферментов со стехиометрическим коэффициентом n , отличным от единицы вид графической зависимости скорости наработки продукта реакции (μ) в зависимости от концентрации субстрата (c) имеет [5] сигмоидный характер с характерной точкой перегиба (рис. 3)

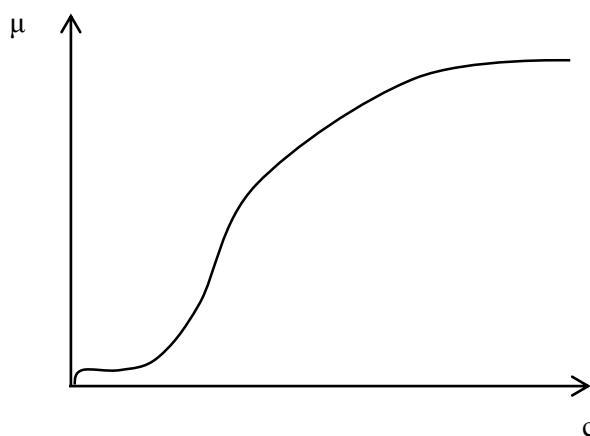


Рис. 3 – Зависимость скорости ферментативной реакции (μ) от концентрации субстрата (c)

Из рисунка 3 видно, что эта кривая повторяет в целом характер энтропийной номограммы на рис. 2.

Аналогичный вид имеет график зависимости скорости электронного транспорта в биоструктурах от времени диффузии ионов [5, стр. 278].

И в методике оценки ферментативных взаимодействий (аналогично ранее использованной в 3 параграфе методики для поверхностно-диффузионных процессов) применяется эффективное число взаимодействующих молекул, которое больше 1.

В методологии Р-параметра фермент имеет ограниченное изоморфное сходство с молекулами субстрата и не образует с ним стабильного соединения, но при этом возможна такая ограниченная перестройка химических связей, которая будет «настроена» на получение конечного продукта.

2) Зависимость биофизических критериев от их частотных характеристик

а) Прохождение переменного тока через живые ткани характеризуется дисперсионной кривой электропроводности – это графическая зависимость полного сопротивления ткани (z -импеданс) от логарифма частоты переменного тока ($\log \omega$). В норме такая кривая, на которой по оси ординат откладывается импеданс, а по оси абсцисс – $\log \omega$, формально полностью соответствует энтропийной номограмме (рис. 1).

б) Флуктуации проводимости биомембран (обусловленные случайными процессами) «имеют вид кривой Лоренца» [6, стр. 99]. В этом графике спектральная плотность флуктуаций (ρ) откладывается на оси ординат, а функция логарифма частоты ($\log \omega$) – на оси абсцисс.

Вид такой кривой так же соответствует энтропийной номограмме на рисунке 1.

5. Энтропийные критерии в бизнесе и в природе

Основные свойства системы свободного рынка, обеспечивающие ее экономические преимущества это: 1) эффективная конкуренция и 2) максимальная личная заинтересованность каждого сотрудника.

Но на различных уровнях концентрации экономики эти первопричинные особенности функционируют и проявляют себя по-разному. Наибольшая их эффективность соответствует малому бизнесу, когда число членов организации минимально, более четкая личная заинтересованность и активная конкурентная борьба за выживание. По мере укрупнения предприятий и производств, с увеличением численности персонала роль каждого из них постепенно снижается, уменьшается конкурентная борьба, так как появляются новые возможности для согласованных действий разных бизнес-структур. Идет снижение качества экономических отношений в бизнесе, т.е. возрастание энтропии. Более всего такой процесс характерен в моноструктурах на крупнейших предприятиях большого бизнеса (синдикаты и картели).

Понятие термодинамической вероятности как числа микросостояний, отвечающих данному макросостоянию можно модифицировать применительно к процессам экономических взаимоотношений, которые напрямую зависят от параметров бизнес-структур.

За макросостояние системы можно принять данную отдельную бизнес-структуру, а за число микросостояний – число ее сотрудников (N), которое есть число доступных наиболее вероятных состояний данной бизнес-структуры. Таким образом, предполагается, что такое число сотрудников бизнес-структуры является аналогом термодинамической вероятности применительно к процессам экономических взаимоотношений в бизнесе.

Поэтому можно принять, что общая энтропия качества бизнеса состоит из двух энтропий, характеризующих: 1) уменьшение эффективности конкуренции (S_1) и

2) уменьшение личной заинтересованности каждого сотрудника (S_2), то есть: $S = S_1 + S_2$. Величина S_1 пропорциональна числу работников предприятия: $S \sim N$, а величина S_2 имеет сложную зависимость не только от числа работников предприятия, но и от эффективности самого управления им. Она обратно пропорциональна персональной заинтересованности каждого сотрудника. Поэтому можно принять, что $S_2 = 1/\gamma$, где γ – коэффициент личной заинтересованности каждого сотрудника.

По аналогии с уравнением Больцмана (1) получаем:

$$S = (S_1 + S_2) \sim \left[\ln N + \ln \left(\frac{1}{\gamma} \right) \right] \sim \ln \left(\frac{N}{\gamma} \right)$$

$$\text{или } S = k \ln \left(\frac{N}{\gamma} \right),$$

где k – коэффициент пропорциональности;

Здесь N показывает во сколько раз данная бизнес-структура больше эталонной структуры малого

бизнеса, при которой $N = 1$, то есть эта величина не имеет наименования.

Для нетермодинамических систем принимаем $k = 1$. Поэтому:

$$S = \ln \left(\frac{N}{\gamma} \right) \quad (5)$$

В табл. 1 приведены примерные расчеты бизнес-энтропии по уравнению (5) для трех основных уровней бизнеса: малого, среднего и крупного. При этом предполагалось, что число N соответствует некоторому среднему значению из наиболее вероятных величин.

При расчете коэффициента личной заинтересованности γ учитывалось, что он может меняться от 1 (один сотрудник работает только сам на себя) до нуля (0), если такой работник как бесправный раб, и для наиболее крупных предприятий принималось $\gamma = 0,1 - 0,01$.

Несмотря на вполне приближенную точность таких усредненных расчетов, можно сделать достаточно достоверный вывод о том, что энтропия бизнеса с укрупнением его структур резко возрастает при переходе именно от среднего к крупному бизнесу, так как снижается качество бизнес-процессов.

Таблица 1

Рост энтропии по мере укрупнения бизнеса

Параметры структур	Бизнес		
	Малый	Средний	Крупный
$N_1 - N_2$	10 – 50	100 – 1000	10000 – 100000
γ	0,9 – 0,8	0,6 – 0,4	0,1 – 0,01
S	2,408 – 4,135	5,116 – 7,824	11,513 – 16,118
$\langle S \rangle$	3,271	6,470	13,816

В термодинамике считается, что неконтролируемый рост энтропии ведет к прекращению всяких макроизменений в системах, то есть к их гибели. Поэтому актуальной является задача поисков методов снижения неконтролируемого роста энтропии в крупном бизнесе. При этом такие критические цифры энтропии относятся в основном именно к крупному бизнесу. Простое сокращение численности его сотрудников не может дать реального результата уменьшения энтропии. Так сокращение числа работников на 10% дает уменьшение у них энтропии только на 0,6% и это при общих негативных явлениях безработицы, которая неизбежно сопровождает такой процесс.

Поэтому для таких сверхмоноструктур, не контролируемых ни государством, ни обществом для

уменьшения энтропии бизнеса более реален путь де-монополизации без оптимизации (то есть без сокращения общего числа сотрудников).

Сравнение номограммы (рис. 1) с данными таблицы 1 показывает аддитивность численных величин энтропии бизнеса (S) со значениями коэффициента пространственно-энергетических взаимодействий (α), то есть $S = \alpha$.

Вывод:

Понятие энтропии имеет многоплановое проявление в физико-химических, экономических, и других природных процессах, что подтверждают их номограммы.

Литература

1. Ф. Рейф. Статистическая физика. М.: Наука, 1972, 352 с.

2. Л.А. Грибов, Н.И. Прокофьева. Основы физики. М.: Высшая школа, 1992, 430 с.
3. Korablev G.A. Spatial-Energy Principles of Complex Structures Formation//Brill Academic Publishers and VSP, Netherlands, 2005, 426pp. (Monograph).
4. Кодолов В.И., Хохряков Н.В., Тринеева В.В., Благодатских И.И. Активность наноструктур и проявление ее в нанореакторах полимерных матриц и в активных средах//Химическая физика и мезоскопия, 2008. Т. 10. №4. с. 448-460.
5. Рубин А.Б. Биофизика. Кн.1. Теоретическая биофизика. М.:В.ш., 1987, 319 с.
6. Рубин А.Б. Биофизика. Кн.2. Биофизика клеточных процессов. М.:В.ш., 1987, 303 с.

БИОТЕХНОЛОГИЯ (В ТОМ ЧИСЛЕ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ)

Черемных К. М.

БИОКАТАЛИТИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДЕГИДРОАБИЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Аспирант, Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральское отделение Российской Академии, Наук, Инженер, Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь

BIOKATALYTIC OXIDATION OF DEHYDROABIETIC ACID

Cheremnikh Kseniya, PhD student, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Engineer, Perm State University, Perm

АННОТАЦИЯ

Проведен скрининг культур из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов на способность к биодеструкции и биотрансформации экотоксичной дегидроабиетиновой кислоты. Отобраны штаммы, способные деградировать более 90 % субстрата, и штаммы, катализирующие окисление дегидроабиетиновой кислоты с образованием биоактивного 15-гидроксипроизводного. Наибольшее образование 15-гидроксидегидроабиетиновой кислоты наблюдалось при использовании штамма *Rhodococcus erythropolis* 267 и добавлении в среду культивирования в качестве дополнительного источника углерода 0.08 об. % *n*-гексадекана.

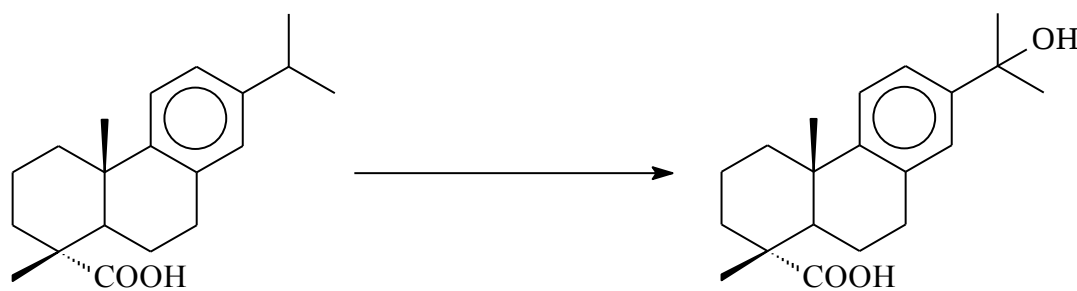
ABSTRACT

Screening of cultures from Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms able to biotransform and biodegrade ecotoxic dehydroabietic acid was carried out. Strains capable to biodegradation of more than 90 % of substrate were selected, as well as strains with oxidative activity toward dehydroabietic acid with the formation of biologically active 15-hydroxy derivative. The highest rate of 15-hydroxy-dehydroabietic acid formation was obtained by using *R. erythropolis* 267 strain and addition of 0.08 vol. % *n*-hexadecane to the culture medium.

Ключевые слова: дегидроабиетиновая кислота; биодегградация; биотрансформация; 15-гидроксидегидроабиетиновая кислота.

Keywords: dehydroabietic acid; biodegradation; biotransformation; 15-hydroxydehydroabietic acid.

Введение. Значительная доля экотоксичных веществ жидких отходов целлюлозно-бумажной промышленности (ЦБК) представлена смоляными кислотами. Смоляные кислоты – это трициклические дитерпеноиды, экстрактивные компоненты живиц из древесины хвойных пород деревьев (сосна, ель, пихта), содержание которых составляет 0,2–0,8 % от общей массы древесины [2]. В процессе химического и механического воздействия на древесину при получении целлюлозы смоляные кислоты высвобождаются и в составе сточных вод попадают в окружающую среду. При попадании в открытые экосистемы данные вещества аккумулируются и оказывают токсическое воздействие на живые организмы [3]. В качестве экологически безопасного и эффективного способа снижения содержания смоляных кислот в стоках ЦБК признаны биотехнологические методы с использованием микроорганизмов. При этом перспективным является не только поиск технологий утилизации смоляных кислот, но и получение на их основе новых биологически активных соединений. В последнее время накапливается все больше сведений о биотехнологическом потенциале актинобактерий, обладающих способностью ассимилировать труднодоступные полициклические субстраты. Ранее с использованием генофонда Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов показана способность актинобактерий к трансформации смоляных кислот (рис. 1), в частности, дегидроабиетиновой кислоты в соответствующее 15-гидроксипроизводное – перспективный интермедиат в синтезе противовирусных агентов [4].



Дегидроабиетиновая кислота

15-Гидроксидегидроабиетиновая кислота

Рисунок 1. Процесс биотрансформации дегидроабиетиновой кислоты актинобактериями

Материалы и методы. В работе использовали 89 штаммов актинобактерий, относящихся к видам *Dietzia maris*, *Gordonia rubripertincta*, *G. terrae*, *Rhodococcus ruber*, *R. erythropolis* из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним ИЭГМ, номер во Всемирной федерации коллекций культур 768, www.iegm.ru/iegmcol). Актинобактерии выращивали в минеральной среде К [1] с добавлением 0,02–0,5 об.% н-гексадекана и 0,5 г/л дегидроабиетиновой кислоты, растворенной в 5 мл этанола. Терпеновый субстрат вносили через 48 ч роста культуры. Трансформирующую активность бактерий оценивали через 7 сут после добавления субстрата. Качественный

и количественный состав продуктов биотрансформации определяли методами тонкослойной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, предварительно проводили метилирование проб триметилселлидiazометаном.

Результаты и их обсуждения. В результате проведенных исследований отобрано 8 штаммов, способных к эффективной (более 50%) деградации дегидроабиетиновой кислоты (рис. 2). При этом наиболее высокий уровень биодеструкции (свыше 90%) наблюдается при использовании клеток *D. maris* ИЭГМ 55T, *G. rubripertincta* ИЭГМ 104 и ИЭГМ 107.

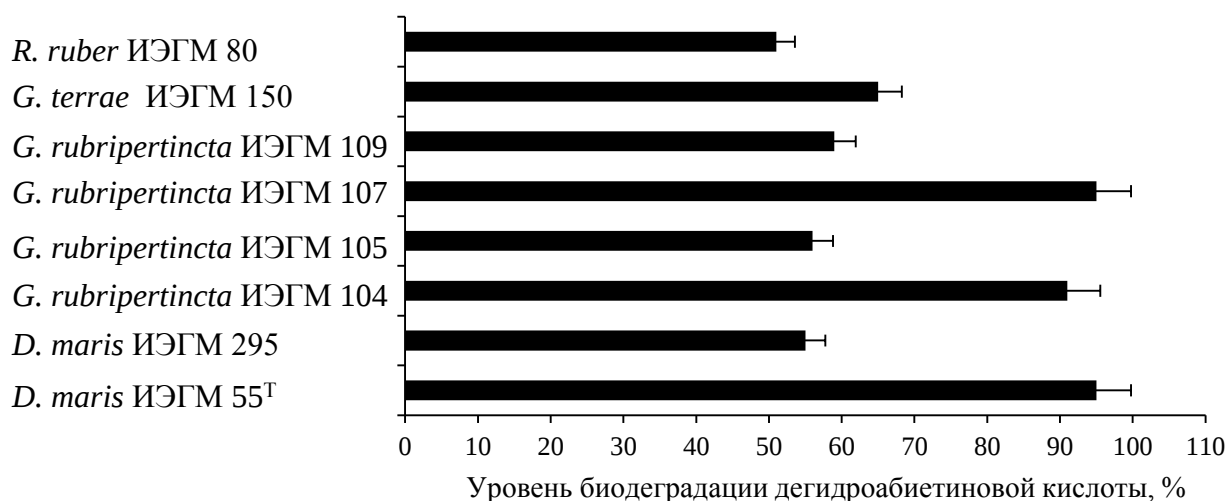


Рисунок 2. Биодегградация (%) дегидроабиетиновой кислоты клетками актинобактерий

Среди исследованных культур также отобрано 4 штамма-трансформатора, проявляющих в отношении исследуемого субстрата окислительную активность с образованием 15-гидроксипроизводного. Как видно из представленного графика (рис. 3), наиболее эффективное (22 %) образование целевой 15-гидроксидегидроабиетиновой кислоты наблюдается при использовании клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 267. Данный штамм использовали в дальнейших экспериментах.

Исследована зависимость образования 15-гидроксидегидроабиетиновой кислоты от концентрации н-гексадекана в среде культивирования *R. erythropolis* ИЭГМ 267. Установлено, что при повышении концентрации гексадекана от 0,02 до 0,08 об.% уровень образования целевого продукта увеличивается от 11 до 33 %.

Дальнейшее повышение концентрации гексадекана в среде приводит к снижению трансформиру-

ющей активности *R. erythropolis* ИЭГМ 267. В присутствии более 0,2 об. % гексадекана продукт в среде культивирования не регистрируется.

Заключение. В результате проведенных исследований отобраны штаммы-биодеструкторы, спо-

собные деградировать более 90% экотоксичной дегидроабетиновой кислоты. Показана возможность использования актинобактерий в качестве эффективных катализаторов в процессе биоокисления данного субстрата с образованием 15 β -гидроксидегидроабетиновой кислоты.

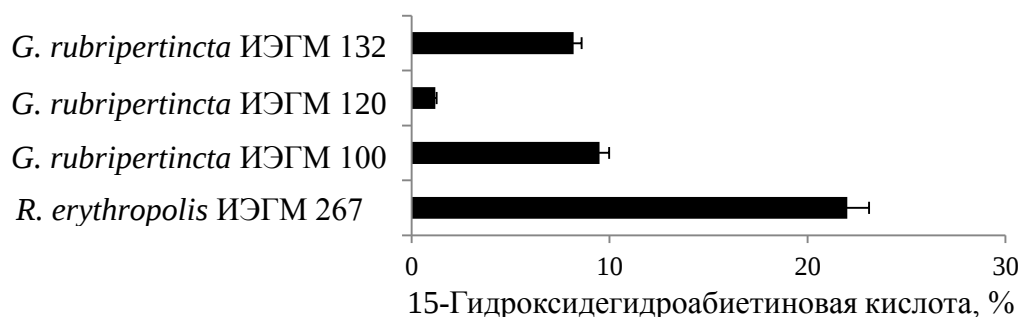


Рисунок 3. Биотрансформация дегидроабетиновой кислоты актинобактериями

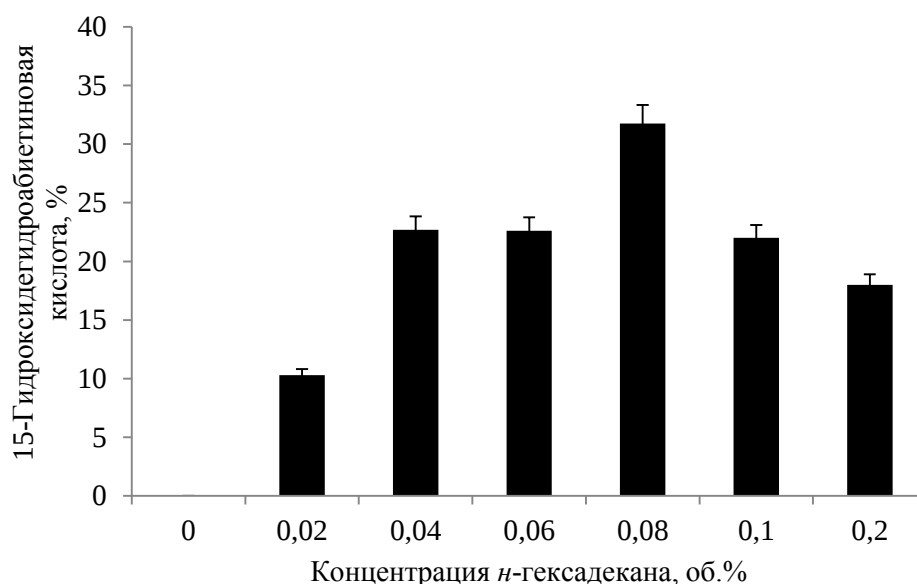


Рисунок 4. Биотрансформация дегидроабетиновой кислоты клетками *R. erythropolis* 267 в присутствии n-гексадекана (об. %).

Список литературы

1. Каталог штаммов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов. Под ред. И.Б. Ившиной. 1994. М.: Наука, 163 с.
2. Liss N., Bicho A., Saddler N. 1997. Microbiology and biodegradation of resin acids in pulp mill effluents: a minireview. Can. J. Microbial. 75: 599-611.
3. Leppanen H., Oikari A. 1991. Occurrence of retene and resin acids in sediments and fish bile from a lake receiving pulp and paper mill effluents. Environ. Toxicol. Chem. 18: 1498-1505.
4. Vorob'ev A.V., Grishko V.V., Ivshina I.B., Shmidt E.N., Pokrovskii L.M., Kuyukina M.S., Tolstikov G.A. 2001. Microbial transformations of diterpene acids. Mendelev Comm. 11(2): 72-73.

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ, ЭМБРИОЛОГИЯ

Разумов В. В.¹, Бондарев О. И.²

ПУЛЬМОНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ ТРАНСФОРМАЦИЙ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

¹док. мед. наук, профессор ГБОУ ДПО "Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей" МЗ России, заведующий кафедрой профпатологии, г. Новокузнецк

²канд. мед. наук, ГБОУ ДПО "Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей" МЗ России, ассистент кафедры патанатомии и судебной медицины, г. Новокузнецк

PULMONARY MANIFESTATIONS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITIONS (ANALYTICAL REVIEW)

Rasumov Vladimir Valentinovich? Doc. Med. Sci., professor of "Novokuznetsk, State Institute of Physicians Advanced Training" of the Russian Federation, department of occupational medicine, Novokuznetsk

Bondarev Oleg Ivanovich, Cand. Med. Sci. of "Novokuznetsk, State Institute of Physicians Advanced Training" of the Russian Federation, department of pathology, Novokuznetsk

АННОТАЦИЯ

В статье анализируется соотношение эпителиально-мезенхимальной трансформации с общей патологией и выдвигается предположение дискуссионного характера о возможности трактовки лёгочной оссификации, остеохондропластической трахеобронхопатии, первичной лёгочной гипертензии, пневмокониоза и идиопатического лёгочного фиброза как единой группы заболеваний, имеющих общие гистогенетические корни в виде мезенхимальных клеток, образующихся в процессе эпителиально-мезенхимальной трансформации, остеогенные, хондрогенные, фиброгенные и миогенные линии которых приводят к различным нозологическим формам.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальная трансформация; легочная оссификация; остеохондропластическая трахеобронхопатия; пневмокониоз; идиопатический лёгочный фиброз; первичная легочная гипертензия.

Abstract: the article analyzes the relationship of epithelial-mesenchymal transitions of pathology and suggested of debateable interpretations of pulmonary ossification, tracheobronchopathia osteochondroplastica, primary pulmonary hypertension, pneuconiosis and idiopathic pulmonary fibrosis as a single group of diseases that share hystogenetically roots in the form of mesenchymal cells generated in the process of epithelial-mes-

enchymal transition, osteogenetic, chondrogenetic, fibrogenetic and myogenetic lines which lead to different nosological forms.

Key words: epithelial-mesenchymal transition; pulmonary ossification; tracheobronchopathia osteochondroplastica; pneumoconiosis; idiopathic pulmonary fibrosis; primary pulmonary hypertension.

Представления об эпителиально- (или эндотелиально) - мезенхимальной трансформации (ЭМТ) как новой парадигмы патологии всё глубже и глубже проникают в медицину [21, 33, 40], хотя и разделяются далеко не всеми исследователями [6, 7]. Тем не менее, с точки зрения этой концепции трактуется развитие нефросклероза [18, 25, 31, 36, 37], рассматривается природа интерстициальных заболеваний лёгких [9, 10, 19, 23, 32, 42], объясняется причинность инвазивности онкологического процесса [4, 5], сброшен ореол таинственности с прогрессирующей оссифицирующей фибродисплазии [22, 26, 28] и гетеротопических оссификаций мягких тканей у обездвиженных больных [30, 35, 38], изучается кардио- и атеросклероз [1, 11, 14, 20]

Концепции ЭМТ зародилась и сформировалась в биологии развития (resp. – эмбриологии) как объяснение механизмом цито- гисто- и органогенезов в течение эмбрионального развития почти всех многоклеточных животных. Понятие эпителиальности в биологии не тождественно содержанию этого понятия в медицине. Клетки ещё однослойной бластулы рассматриваются уже как эпителиальные по критерию большой плотности расположения, тесных межклеточных контактов; отсутствия миграционной способности; свойственной им полярности и наличию специфических для них клеточных маркёров. Специализация и дифференцировка клеток не является критерием эпителиальности. Формирование зародышевых листков и последующий морфогенез

возможны лишь при появлении у клеток миграционной способности, их разобщения, что достигается процессом ЭМТ. В ходе этого процесса эпителиальные клетки меняют свой фенотип на мезенхимальный, превращаются в мезенхимальные клетки, которым свойственна миграционная способность; одиночность расположения; веретенообразность формы; отсутствие полярности; способность образовывать внеклеточный матрикс, являющегося одним из способов участия мезенхимы в межклеточных взаимодействиях. Большинство тканей и органов в эмбриональном развитии проходит многократную смену процессов эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) и обратного процесса мезенхимально-эпителиальной трансформации (МЭТ) [27, 34, 39, 40], обеспечивающихся попеременным включением одних и выключением других генетических программ развития. Мезенхимальные клетки являются гистогенетическим предшественником клеточных линий (дифференцированных) фибро- хондро- миогенной и адипогенной направленности, также имеющих специфические для них маркеры.

Несколько обстоятельств способствовали проникновению идеи ЭМТ из биологии развития в медицину. Одним из них является представление о принципиальной тождественности физиологических и патологических процессов, уходящих своими корнями к воззрениям К. Бернара и Р. Вирхова. Корифеи отечественной медицины того же времени заложили в неё презумпцию "компенсаторности", то есть трактовки патологических процессов как способа приспособления, выживания организма, при котором физиологические процессы трансформируются в патологические в силу изменившихся условий их реализации.

Вторым обстоятельством являются клинические представления о неоднородности фиброзирующих процессов в органах, о развитии их склероза без очевидных проявлений воспаления. Наиболее демонстративно это проявилось в пульмонологии, в которой уже в XIX веке пневмосклероз и силикоз были вынесены за рамки банального постпневмонического склероза и сохранили нозологическую самостоятельность в течение всего XX века, несмотря на многочисленные терминологические и нозологические перипетии. Нозологическая экзотичность пневмокониозов рядом исследователей подчеркивалась трактовкой его как "склерозирующего мезенхиматоза" [29]. Пульмонология, но не профпатология, включает пневмокониозы в группу интерстициальных заболеваний лёгких, у которых сущность процесса связывается с развитием лёгочного фиброза, нередко относящегося к идиопатическому.

Третьим обстоятельством является раскрепощение методологии мышления от пут различного идеологического содержания. Отечественная биология до середины 70 годов сдержанно относилась к представлениям о возможности дедифференцировки высокоспециализированных тканей. "... под дедифференцировкой можно понимать лишь некоторое снижение уровня дифференцированности, снятие при определенных условиях некоторых морфологических и функциональных проявлений дифференциации, но не потерю тканевой специфичности (детерминации) и не "возврат" к первоначальному раннеэмбриональному "индифферентному состоянию"; ... развитие не может пойти вспять и вернуться к уже пройденному этапу; ... даже в пределах обширной, сборной группы эпителиальных тканей у позвоночных не бывает взаимопревращений кожного и кишечного эпителиев или кишечного и целомического эпителиев, то есть взаимопревращений тканей. Тем более следует считать окончательно ушедшими в область прошлого представления о превращениях эпителиев в соединительную ткань и обратно, ведущее начало ещё от Вирхова" [8].

Прогресс науки в области понимания молекулярных механизмов регуляции ЭМТ привел к кардинальному пересмотру представлений о специализации клеток, их дифференцировке, трансдетерминации, трансдифференцировке и метоплазии. В настоящее время доказано, что дифференцировка является обратимым процессом, генетическая программа любой клетки любого уровня дифференцировки и специализации доступна перепрограммированию. Нобелевская премия 2012 года по физиологии или медицине была вручена Д. Гёрдону и С. Яманаке за "открытие возможности перепрограммирования дифференцированных клеток в плюрипотентные". Причем, "нобелевские" работы Д. Гёрдена относятся к 1962 году! Физиологические и патогенетические каскады, определяющие вектор клеточной дифференциации клеток и состоящие из про- и противовоспалительных, ростовых факторов, факторов миграции, рецепторов к ним, молекул адгезии и сигнальной трансдукции (Src, Ras, Smad, PI3K, Smurf1, NFkB, MAPK и др.), активирующих и ингибирующих регуляторов трансляции (Twist, ZEB1, ZEB2, Lef-1, Rho, SIP1, Snail/Slug, Sox4 и др.), оказались путями, по которым лежащие на поверхности "причины" – нозологии, различные состояния или условия микроокружения (воспаление, гипоксия, оксидативный стресс, облучения, активные формы кислорода и проч.) – получают доступ к геному, репрессируя одни и экспрессируя другие его участки, тем самым приводя не

только к гистогенетически детерминированному развитию клеток, но и к изменению их гистогенетических фенотипов.

Реверсия фенотипа эпителиальных клеток возвращает их к мезенхимальному фенотипу клеток своих гистогенетических предшественников с присущей им способностью к синтезу коллагена, внеклеточного матрикса, появлению сократительной и миграционной способности. ЭМТ может быть отслежена при обычной световой микроскопии по исчезновению полярности клеток, изменению их внешнего вида, затрудняющих отличие их от фибробластов, выявлению у них миграционной способности. Иммуногистохимически и иммуноферментативно у реверсируемых эпителиальных клеток начинают обнаруживаться маркёры, свойственные мезенхимальным клеткам: виментин – белок промежуточных филаментов, типичный для всех клеток мезенхимального происхождения, немышечный актин, десмин, α -гладкомышечный актин, фибронектин, а также коллаген III типа и кислые гликозаминогликаны, указывающих на менее зрелый характер соединительной ткани.

Экстраполяция концепции ЭМТ из биологии развития в область общей патологии расширила диапазон представлений о патогенезе. До неё возникшие у взрослой особи патологические феномены с признаками эмбриональности списывались на сохранившиеся в организме эмбриональные элементы, как например, в теории J. F. Cohnheim о развитии опухолей из зародышевых зачатков. Представления об имеющемся в организме мезенхимальном резерве, сохранности камбиальных элементов высказывались многими гистологами, начиная с А.А. Максимова. Изучение стволовых клеток показало, что к разыгрывающимся во взрослом состоянии цито- и гистогенетическим морфогенетическим метаморфозам могут быть причастны, помимо органных резидентных стволовых клеток, пришлые стволовые клетки костного мозга ("стромальные механоциты" по А.Я. Фриденштейну). Морфофункциональная гетерогенность фибробластов, объясняемая существованием нескольких гистогенетических линий, объединённых общим термином "популяция фибробластов" [2], расширила круг претендентов на промежуточные и конечные клетки эпителиальной (или эндотелиальной) трансформации вплоть до мезенхимальных клеток [27, 36]. Таким образом, концепция ЭМТ допускает развитие гистогенетических пертурбации, помимо двумя вышеперечисленными возможностями, трансформацией местного фенотипа специализированных эпителиальных клеток в мезенхимальные.

До недавнего времени концепцией ЭМТ объясняли происхождения преимущество лёгочного и почечного склерозов, фокусируюсь на трансформации эпителиальных клеток в клетки фибропластической направленности. Однако плюригистологическое потенциальное мезенхимальных клеток допускают в случае патологии развитие в финале ЭМТ или ЭндМТ не только фиброзной, но и костной, хрящевой, мышечной или жировой тканей. Именно с позиций этих представлений трактуются в последнее время гетеротопические оссификации мягких тканей у обездвиженных больных и при прогрессирующей оссифицирующей фибродисплазии. Собственными исследованиями было обнаружено развитие феномена ЭМТ при кониотическом пневмосклерозе у шахтёра [3] и при лёгочной оссификации (гетеротопической оссификации лёгких) [13], относящейся к редким заболеваниям неуточнённого патогенеза [12, 16, 17]. Поэтому имеются основания предполагать, что считающаяся тоже редкой остеохондропластическая трахеобронхопатия [15, 41] является также своеобразным проявлением ЭМТ. И, наконец, ассоциация первичной лёгочной гипертензии с повышенной экспрессией костных морфогенетических белков [24] – морфогенетических сигнальных молекул развития не только костной и хрящевой тканей, но и многих органов – допускает трактовку этой патологии тоже как формы ЭМТ, уклонившейся в сторону развития миогенного дифферона.

Лёгочная оссификация и хондроостеопластическая трахеобронхопатия вкупе с первичной лёгочной гипертензией, пневмокониозами и идиопатическими лёгочными фиброзами заслуживают не "кунсткамерного" внимания как просто казуистические случаи из практики, не укладывающиеся в существующие классификации нозологий, а как состояния, имеющие, скорее всего, единые гистогенетические корни.

Список литературы

1. Бобрышев Ю. В., Карагодин В.П., Ковалевская Ж.И. др. Клеточные механизмы атеросклероза: врожденный иммунитет и воспаление // Фундаментальные науки и практика. – 2010. – Т. 1. – № 4. – С.140–148.
2. Бозо И.Я., Деев Р.И., Пинаев Г.П. Фибробласт – специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимального происхождения? // Цитология. – 2010. – Т. 52. – № 2. – С. 99-109.
3. Бондарев О.И., Разумов В.В. К проблеме трактовки сущности пневмокониоза и возможных путей её решения // Медицина труда и промышленная экология. – 2014. – № 10. – С. 43-48.

4. Василенко И.В., Кондратюк Р.Б., Кудряшов А.Г. и др. Особенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раках различной локализации и гистологического строения // Экспериментальные исследования, онкоморфология, онкоиммунология (Украина). – 2012. – Т.5. – № 1.
5. Васильев Ю.М. Перестройки молекулярной морфологии эпителиальных и соединительнотканых клеток в нормальных морфогенезах и при канцерогенезе // Биохимия. – 2008. – Т. 73. – № 5. – С. 656-660.
6. Данилов Р. К. Учение о камбиальности тканей как о гистогенетической основе познания механизмов раневого процесса // Вопросы морфологии XXI века. – 2010. – 34-39.
7. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В. и др. Стволовые и прогениторные клетки в патогенезе пневмофиброза // Патогенез. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 36-51.
8. Кнорре А.Г. Эмбриональный гистогенез (морфологические очерки). – Л.: Медицина, 1971. – 432 с.
9. Коган Е.А., Тьонг Ф.В., Демура С.А. Молекулярные основы формирования вариантов идиопатического фиброзирующего альвеолита // Арх. патол. 2009. – Т. 71. – № 1. – С. 12-18.
10. Моногарова Н.Е., Василенко И.В. Роль эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) в патогенезе идиопатического фиброзирующего альвеолита (обычной интерстициальной пневмонии) // Патология (Украина). – 2010. – Т. 7. – № 1. – С. 80-83.
11. Надаль-Гинард К. На пути к пониманию многого... и достижению еще большего // Новая медицина тысячелетия – 2007. – № 2/3. – С. 10-11.
12. Постникова Л.Б. Башенко М.А., Коротаева Л.А. и др. Редкий случай диффузной оссификации лёгких // Пульмонология. – 2014. – № 1. – С. 116-119.
13. Разумов В.В., Бондарев О.И. К взаимоотношениям лёгочной оссификации, эпителиально-мезенхимальной трансформации и пневмокониоза (аналитический обзор и собственное наблюдение) // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. – Белгород: ИП Петрова М.Г., 2014. – Ч. II. – С. 44-53.
14. Шехонин Б.В., Тарарак Э.М., Сироткин В.Н. и др. Атеросклеротические бляшки и рестенозы в сонной артерии после каротидной эндартерэктомии. Фенотипическая характеристика гладкомышечных клеток. Кардиология. – 2000. – № 6. – С. 43–45.
15. Abu-Hijleh M., Lee D., Braman S.S. Tracheobronchopathia osteochondroplastica: a rare large airway disorder // Lung – 2008. – Vol. 186. – P. 353–359.
16. Bai P., Sun Y.C., Chen D.N. et al. Idiopathic diffuse pulmonary ossification: a case report and review of the literature // Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. – 2009. – Vol. 32. – № 8. – P. 588-592.
17. Crisosto C.F. Diffuse pulmonary ossification associated with idiopathic pulmonary fibrosis // Archivos de Bronconeumol. – 2004. – Vol. 40. – P. 595-598.
18. Fan J.M., Ng Y.Y., Hill P.A. et al. Transforming growth factor beta regulates tubular epithelial-myofibroblasts transdifferentiation in vitro // Kidney Int. – 1999. – Vol. 56. – № 4. – P. 1455-1467.
19. Hashimoto N., Phan S.H., Imaizumi K. et al. Endothelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2010. – Vol. 43. – P. 161-172.
20. Kalinina N, Agrotis A, Antropova Y et al. Smad expression in human atherosclerotic lesions: evidence for impaired TGF-beta/Smad signaling in smooth muscle cells of fibrofatty lesions // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2004. – Vol. 24. – № 8. – P. 1391–1396.
21. Kalluri R. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis / R. Kalluri, E.G. Neilson // J Clin Invest. – 2003. – Vol. 112. – P. 1776-1784.
22. Kaplan F.S., Shen Q., Lounev V. et al. Skeletal metamorphosis in fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) // J. Bone Miner. Metab. – 2008. – № 26. – P. 521-530.
23. Kim K.K., Kugler M.C., Wolters P.J. et al. Alveolar epithelial cell mesenchymal transition develops in vivo during pulmonary fibrosis and is regulated by the extracellular matrix // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103. – № 35. – P. 13180-13185.
24. Lane K.B., Machado R.D., Pauculo M.W. et al. Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension // Nat. Genet. – 2000. – Vol. 26. – P. 81–84.
25. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: Pathologic significance, molecular mechanisms and therapeutic intervention // J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – Vol. 25. – P. 1-12.
26. Lounev V.Y., Ramachandran R., Wosczyzna M.N. et al. Identification of progenitor cells that contribute to heterotopic skeletogenesis // J. Bone Joint. Surg. Am. – 2009. – № 91. – P. 652–663.
27. Medici D., Kalluri R. Endothelial-mesenchymal transition and its contribution to

- the emergence of stem cell phenotype // *Semin. Cancer Biol.* – 2012. – Vol. 22. – № 5-6. – P. 379-84.
28. Medici D., Olsen B.R. The role of endothelial-mesenchymal transition in heterotopic ossification // *J. Bone Miner. Res.* – 2012. – Vol. 27. – № 8. – P. 1619-1622.
29. Mosinger M., Fiorentini H., Gros A et al. La silicose experimentale du chien // *Arch. malad. profess.* – 1961. – Vol. 22. – № 1-2. – P. 5-39.
30. Nelson E.R., Wong V.W., Krebsbach P.H. et al. Heterotopic ossification following burn injury: the role of stem cells // *J. Burn. Care. Res.* – 2012. – Vol. 33. – № 4. – P. 463-470.
31. Ng Y.Y., Huang T.P., Yang W.C. Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int.* – 1998. – Vol. 54. – P. 864-876.
32. Peros-Golubicic T., Tekavec-Trkanjec J. Diffuse pulmonary ossification: An unusual interstitial lung disease // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2008. – № 14. – P. 488-492.
33. Piera-Velazquez S. Role of endothelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders / S. Piera-Velazquez, Z. Li, S.A. Jimenez // *Am J Pathol.* – 2011. – Vol. 179. – № 3. – P. 1074-80.
34. Radisky D.C. Epithelial-mesenchymal transition // *Journal of Cell Science.* – 2005. – Vol. 118. – P. 4325-4326.
35. Reznik J.E., Biros E., Marshall R et al. Prevalence and risk-factors of neurogenic heterotopic ossification in traumatic spinal cord and traumatic brain injured patients admitted to specialised units in Australia // *J. Muscl. & Neur. Interactions.* – 2014. – Vol. 14. – № 1. – P. 19-28.
36. Strutz F., Müller G.A. Renal fibrosis and the origin of the renal fibroblast // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2006. – Vol. 21. – № 12. – P. 3368-3370.
37. Strutz F. The role of FGF-2 in renal fibrogenesis // *Front. Biosci. (Schol. Ed).* – 2009. – Vol. 1 (Jun). – № 1. – P. 125-131.
38. Suda R.K., Billings P.C., Egan K.P. et al. Circulating osteogenic precursor cells in heterotopic bone formation // *Stem Cells.* – 2009. – № 27. – P. 2209-2219.
39. Susienka M.J., Medici D. Vascular endothelium as a novel source of stem cells for bioengineering // *Biomatter.* – 2013. – Vol. 3. – e24647-1-4.
40. Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y., Nieto M.A. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease // *Cell.* – 2009. – Vol. 139. – P. 871-890.
41. Toth C. Tracheopathia osteoplastica. A 100-year-old mystery // *Pathologie.* – 2012. – Vol. 33. – № 2. – P. 129-134.
42. Willis B.C., duBois R.M., Borok Z. Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2006. – № 3. – P. 377-382.

НАУЧНЫЙ ФОНД "БИОЛОГ"

Ежемесячный научный журнал

№ 4 / 2014

Сергеев Евгений Викторович - **редактор, к.б.н.** (Россия)
Точинов Василий Игоревич - **помощник редактор** (Россия)

Редакционный совет

- Абдель Маджид Али Амир (Казахстан)
- Бобров Борис Павлович (Украина)
- Волков Станислав Анатольевич (Россия)
- Мушеев Эдуард Вячеславович (Россия)
- Ронжин Дмитрий Владимирович (Россия)
- Хегай Сергей Игоревич (Молдова)
- Чиревко Станислав Владимирович (Казахстан)
- Чен Марина Алексеевна (Россия)
- Бочкарев Артем Сергеевич (Россия)
- Дейнека Наталья Игоревна (Россия)
- Зверев Алексей Юрьевич (Украина)
- Кан Александр Николаевич (Молдова)
- Кидяева Арина Игоревна (Казахстан)
- Коночкин Артем Игоревич (Казахстан)
- Маркеев Анатолий Федорович (Россия)

Художник: Вернандский Д.К.

Верстка: Артемьев З.Л.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций.

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных
в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением
авторов материалов. При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы
публикуются в авторской редакции.

Научный фонд "Биолог"

Адрес: Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046

Адрес электронной почты: office@biologyfond.ru

Адрес веб-сайта: <http://biologyfond.ru/>

Учредитель и издатель Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

Отпечатано в типографии Санкт-Петербург, улица Братьев Радченко, 15, 197046