

Ежемесячный научный медицинский журнал

Интер–медикал

№4/ 2014

Редакционная коллегия:

Т.В. Аверин, докт. мед.наук, профессор (Волгоград)
С.К. Баклаков, канд. мед.наук (Москва)
Б.Д. Балавин, докт. мед.наук, профессор (Москва)
Ф.А. Вервин, докт. биол. наук, профессор (Москва)
Е.З. Веревкин, докт. тех. наук, профессор (Ростов)
С.Т. Герычев, докт. мед. наук,(Санкт_Петербург)
Н.Ю. Дороменко, докт. мед.наук, член-корр. РАМН (Новосибирск)
П.Р. Кравченко, докт. хим. наук, профессор (Ставрополь)
К.О. Левин, докт. мед.наук, академик РАН (Астана, Казахстан)
И.Т. Мирчук, докт. тех. наук, (Москва)
Н.У. Полежаев, докт. мед.наук, (Саратов)
В.Ш., Корчевикус профессор (Прага, Чехия)
Я.Д. Ковернан, докт. биол. наук, академик РАН (Москва)
А.Г. Зукен, канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)
В.П. Сергиев, докт. мед.наук, (Мюнхен, Германия)
М. Скурник, профессор (Хельсинки, Финляндия)

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.

Адрес редакции:

Алтуфьевское шоссе, дом 27 А, строение 9, 127106, а/я 341.
E-mail: info@inter-medical.ru ; <http://www.inter-medical.ru/>

Учредитель и издатель

Международное Научное Объединение "Inter-Medical"
Отпечатано в типографии Алтуфьевское шоссе, дом 27 А, строение 9, 127106, а/я 341
Тираж 1000 экз.



Ответственный редактор:

Т.В.Аверин, докт. мед.наук, профессор (Волгоград)

Международный редакционный совет:

С.К. Баклаков, канд. мед.наук (Москва)

Б.Д. Балавин, докт. мед.наук, профессор (Москва)

Ф.А. Вервин, докт. биол. наук, профессор (Москва)

Е.З. Веревкин, докт. тех. наук, профессор (Ростов)

С.Т. Герычев, докт. мед. наук,(Санкт_Петербург)

Н.Ю. Дороменко, докт. мед.наук, член-корр. РАМН (Новосибирск)

П.Р. Кравченко, докт. хим. наук, профессор (Ставрополь)

К.О. Левин, докт. мед.наук, академик РАН (Астана, Казахстан)

И.Т. Мирчук, докт. тех. наук, (Москва)

Н.У. Полежаев, докт. мед.наук, (Саратов)

В.Ш. Корчевикус профессор (Прага, Чехия)

Я.Д. Ковернан, докт. биол. наук, академик РАН (Москва)

А.Г. Зукен, канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)

В.П. Сергиев, докт. мед.наук, (Мюнхен, Германия)

М. Скурник, профессор (Хельсинки, Финляндия)

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

Художник: © Дмитрий Варенов

Верстка: © Андрей Каплинский

© Inter-Medical 2014

СОДЕРЖАНИЕ

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

<i>Чуева М. А., Малюжинская Н. В., Никифорова Е. М.</i>	4
<i>Чугунова Е.А., Степанова Д.Д.</i>	6
<i>Дунаевская Е.В.</i>	7
<i>Измайлов Е.П., Тихолоз Ю. Л., Панин П. В.</i>	11
<i>Малюжинская Н.В., Клиточенко Г.В., Тонконоженко Н.Л., Кривоножкина П.С.</i>	14
<i>И.Ф. Лабунец, И.А. Кузьмина, С.А.Таланов</i>	17
<i>И.О. Недавняя, Э.К. Иосифова</i>	22
<i>Ю.В. Орлов</i>	27
<i>Пигаваев А.А., Тумаков И.Ж., Яковлев С.Г.</i>	31
<i>Платова А.И., Мирошниченко И.И.</i>	32
<i>Н.В. Малюжинская, О.В. Полякова, А.А. Токарева, К.В. Кожевникова</i>	38
STEP UP 3-6	38

Ильясова С.И., Серебренникова Н.И.

:	41
---	----

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

<i>Делеган Я.А., Филонов А.Е.</i>	-
<i>GORDONIA,</i>	-
<i>(, .)</i>	45
<i>Горностаева Е.Е.</i>	49
<i>В.В. Григорьев, Т.А. Воронина, Т.Л. Гарибова, С.А. Литвинова</i>	51
<i>Крыльский Е. Д., Попова Т. Н., Кирилова Е. М.</i>	-
<i>Павличенко В.В., Протопопова М.В., Гамбург К.З., Войников В.К.</i>	55
<i>AtGA20ox1</i>	58
<i>Протопопова М.В., Павличенко В.В., Гнутиков А.А., Чепинога В.В.</i>	61
<i>А.С. Самсонова, Н.Г. Клишевич,</i>	63
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ	
<i>Н.В. Бородина, В.Н. Ковалев, А.А. Стремоухов</i>	68
<i>SALIX ALBA L</i>	68

Медицинские науки

Чуева М. А.¹, Малюжинская Н. В.², Никифорова Е. М.³

ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКО-ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЕ У ДЕТЕЙ

1

2

3

SUMMARY

To detect differences of clinical and endoscopic disorders of the upper gastrointestinal tract in children with chronic urticaria and without it we analyzed 55 patients. All children were divided into two groups: Group 1 - with the diagnosis of chronic gastritis and / or gastro (n = 29), group 2 - chronic gastritis and / or gastroduodenitis and chronic urticaria (n = 26). In all patients was collected Gastroenterological history, held fibrogastroduodenoscopy, evaluation of chronic urticaria on a scale UAS7. The analysis found that for children with allergopatolgiey most typical late abdominal pain, dyspeptic symptoms (disturbance of appetite, constipation, nausea and heartburn). In this embodiment hypertrophic revealed mucosal lesions of the gastrointestinal tract.

Keywords: chronic urticaria, clinical manifestations of diseases of the upper gastrointestinal tract.

Введение.

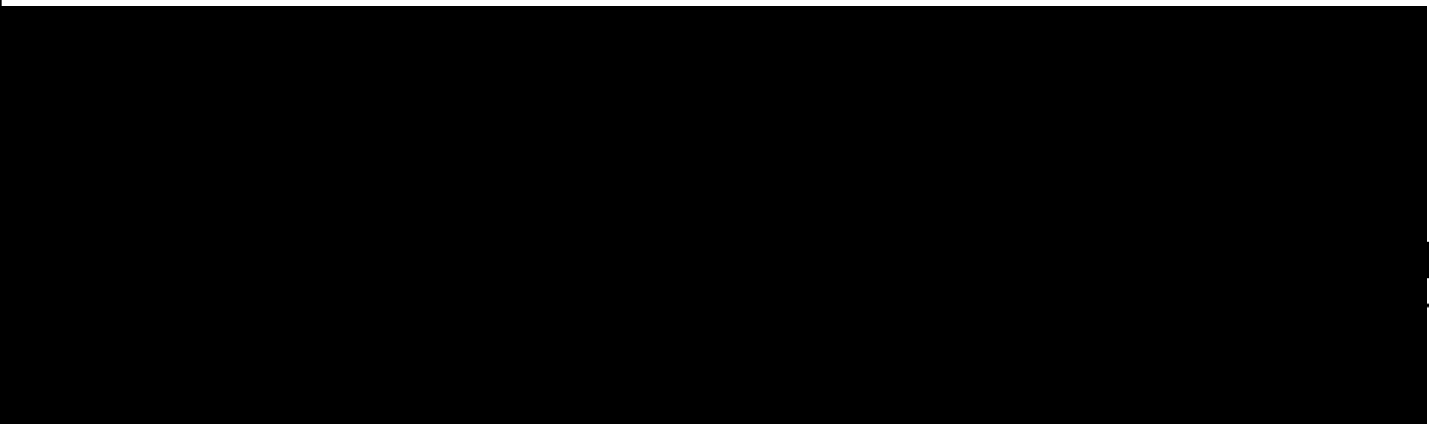
Хроническая крапивница занимает одно из важных мест среди аллергологических заболеваний детского возраста [3, 4]. Крапивница поражает почти 25% населения в разные периоды жизни. В детской популяции крапивница развивается в хроническое заболевание, что может значительно нарушать качество жизни. [5]. Многие авторы отмечают взаимосвязь поражения ЖКТ с проявлениями аллергодерматозов. [1, 2, 4]. При этом клинические проявления поражений ЖКТ варьируют в разной степени у детей с хронической крапивницей и без нее. [1, 2]

Материалы и методы.

Проводилось открытое простое сравнительное рандомизированное исследование, в которое было включено 55 детей 8-16 лет ($\sigma = \pm 2$ года 3 мес). Все пациенты были разделены на 2 группы. На момент включения в исследование у больных 1 группы (контрольной) был выставлен

диагноз хронический гастрит и гастродуоденит – 52,73% (n=29). Во 2 группу вошли дети с диагнозом хронический гастрит и/или гастродуоденит с хронической крапивницей – 47,27% (n=26).

Всем больным проведено инструментальное комплексное обследование, включающее фиброэзофагогастродуоденоскопию (ФЭГДС («Pentax FG-24V» (Япония)) с забором биопсийного материала слизистой оболочки желудка и 12-ти перстной кишки, взятого прицельно (3 фрагмента): антральный отдел, тело желудка и 12-ти перстная кишка. Все 3 фрагмента были использованы для гистологического исследования с окраской гематоксилином - эозином и по Giemsa (для идентификации *H. pylori*). Инфицированность *Helicobacter pylori* оценивалась при помощи дыхательного уреазного теста (ХЕЛИК (Россия)). Обследование проводилось всем детям впервые. До настоящего исследования эрадикационная терапия проводилась не ранее чем за 12 месяцев до обращения.



($n=29$), тогда как во 2 группе встречается гораздо реже и составляет 7,69% ($n=26$). Гипертрофическая форма поражения слизистой оболочки желудка и 12-ти перстной кишки у детей с хронической крапивницей и у детей контрольной группы примерно одинакова и составляет в 1 группе 20,69% ($n=29$), во 2 группе 23,1% ($n=26$).

Выводы.

1. Дети с хронической крапивницей и гастропатологией верхних отделов ЖКТ чаще подвержены позднему болевому синдрому, тогда как дети без отягощенного аллергологического фона – раннему, что может быть обусловлено нарушениями моторно-эвакуаторной функции и особенностями воспалительной реакции слизистой оболочки верхних отделов пищеварительного тракта на фоне аллергопатологии.
2. Диспепсические симптомы наиболее выражены у детей с хронической крапивницей, в отличие от детей без отягощенного аллергологического фона.
3. У детей разных групп варьирует глубина поражения слизистой оболочки верхних отделов пищеварительного тракта. Так у детей с хронической крапивницей чаще отмечается по-

ражение слизистой оболочки желудка в виде гипертрофического гастрита. В то же время субатрофическая форма чаще наблюдалась у детей без аллергопатологии.

Список литературы:

1. Козлова Н. Н. Влияние *Helicobacter pylori*-инфекции на структуру и клинику неспецифических дерматозов: автореф. диссертации канд. мед. наук. Российский университет дружбы народов, Москва, 2008 год.
2. Колхир П. В. Причины хронической крапивницы. Лечащий врач, Дерматовенерология, 2012, №10.
3. Птичкина О. И., Гигиенические и клинические аспекты *Helicobacter pylori* инфекции у детей: автореф. Диссертации канд. мед. наук. Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, 2009 год.
4. Loden M., Maibach H.I. Treatment of dry skin syndrome. Springer-Berlin. 2012. P. 591.
5. Zitelli KB, Cordoro KM. Evidence-based evaluation and management of chronic urticaria in children. *Pediatr Dermatol.* 2011 Nov-Dec; 28(6):629-39. doi:10.1111/j.1525-1470.2011.01518.x. Epub 2011 Oct 4.

Чугунова Елена Андреевна¹, Степанова Дарья Дмитриевна²

ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫЕ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ СЕРДЦА

1

2

Актуальность. Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в Российской Федерации и в мире. В 2000 г., по приблизительным подсчетам ВОЗ, рак был диагностирован у 11 млн. человек, от онкологических заболеваний в том же году умерли 7 млн. человек, общее число больных злокачественными опухолями любой локализации достигло 25 млн. человек. К 2030 г. прогнозируется рост заболеваемости раком в 3 раза, в Российской Фе-

дерации прогнозируется рост онкологической заболеваемости в 4,5 раза и рост смертности на 55%. [3].

У сердца, как и у любого другого органа нашего организма, тоже бывают опухоли [2]. Опухоли сердца очень редкое заболевание, но они имеют свое место среди всех заболеваний сердечно-сосудистой системы [1]. По статистике смертность от этого заболевания по миру находится на третьем месте.

Материалы и методы. Были проанализированы статистические данные лиц подвергавшихся лечению в Приволжском Федеральном округе за последние 3 года с 2009-2012г и в Уральском Федеральном округе за период с 1981-2007г. Основным методом диагностики опухолей сердца было ультразвуковая кардиография с биопсией ткани опухоли и последующим патогистологическим исследованием.

Результаты. В ходе научной работы установлено, что в кардиологическом центре г. Челябинск за исследуемый период было прооперировано 116 пациентов с первичными новообразованиями сердца, в возрасте от 3 до 78 лет. Из них мужского пола было 30 (26%), а женского – 86 (74%). Диагностированы следующие локализации опухолей сердца: левое предсердие у 95 (81,7%), двухпредсердная в 9 (7,8%), правое предсердие – у 9 (7,8%), правый желудочек – у 1 (0,87%), левый желудочек – у 1 (0,87%), на клапане лёгочной артерии – у 1 (0,87%) пациента. По данным гистологического исследования выявлены следующие виды опухолей сердца: миксома у 105 (91,3%), мезенхимомы – у 3 (2,6%), липома – у 1 (0,87%), гамартома – у 1 (0,87%), рабдомиосаркома – у 3 (2,6%), фиброма – у 1 (0,87%), злокачественная гистиоцитома – у 1 (0,87%), веретенчатая саркома – у 1 (0,87%). В послеоперационном периоде погибли 3 (2,6%) больных. С основания кардиологического центра в г.Саратов 23 декабря 2009 г. по 2012г. с интересующей нас патологией прооперированно 53 человека, среди них 35 (67%) были женского и 18 (33%) мужского пола, в возрасте от 9 до 70 лет. Локализация: левое предсердие в 24 (45,3%) случаях, двухпредсердная в 5 (9,4%), правое предсердие – у 12 (24,3%), правый желудочек – у 6 (11,3%), левый желудочек – у 5 (9,4%), на клапане лёгочной артерии – у 1 (1,88%) пациента. По данным гистологического исследования выявлены следующие виды опухолей сердца: миксома у 34 (74,1%), липома – у 4 (8,6%) пациентов,

рабдомиосаркома – у 2 (4,7%), фиброма – у 1 (1,88%), злокачественная гистиоцитома – у 1 (1,88%). В послеоперационном периоде погибли 4 (9,3%) больных. В процессе хирургического вмешательства приходилось выполнять комбинированные операции: удаление опухоли; протезирование или шунтирование клапана и др. Причинами летальных исходов были: острая сердечная недостаточность, профузное желудочно-кишечное кровотечение из хронической язвы 12-ти перстной кишки, госпитальные осложнения (нестабильная гемодинамика или отек легких), фрагментация опухоли и др. По статистическим данным среди удаленных опухолей преобладает миксома.

Выводы.

1. Выявлено, что этой патологией чаще страдает женское население.
2. Наиболее частая локализация констатирована в левом предсердии.
3. Миксома доминировала среди всех гистологических типов новообразований сердца.
4. Наличие крупных межрегиональных центров оправдано не только большим количеством сложных пациентов, но и профилактикой смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Список литературы:

1. Абдуева Ф.М., Гарбар М.О., Усань Н.Ю., Шептун А.Н., Бояршин С.В., Гладченко А.Р. Миксома сердца: обзор литературы и клинические случаи //Украинский кардиологический журнал. 2013. № 1. С. 118-125.
2. Коноплева Л.Ф., Кушнир С.Л. Опухоли сердца. Возможности клинической диагностики //Сердце и сосуды. 2013. № 2 (42). С. 086-091.
3. Решина И.В., Калягин А.Н., Середина Н.Н. Consilium Medicum. 2010. Т. 12. №5. С. 110-113.

Дунаевская Е.В.

ВЛИЯНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ АРОМАСЕАНСОВ С ЭФИРНЫМ МАСЛОМ ЛАВАНДЫ НА АРТЕРИАЛЬНОЕ ДАВЛЕНИЕ И ПСИХО-ЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЮДЕЙ

-, 15- -

3.

INFLUENCE OF DURATION AROMATHERAPY WITH LAVENDER ESSENTIAL OIL AT BLOOD PRESSURE AND PSYCHO-EMOTIONAL STATE IN PEOPLE

Dunajevskaia E.V., Nikitsky Botanical Garden, dunajevskai_ev@mail.ru

Summary

*Aim of this work was to compare the effect of 10-, 15-, and 30-minute aromasessions with essential oil (EM), narrow-leaved lavender LU (*Lavandula angustifolia* Mill.) on blood pressure and psycho-emotional state of people. Studies were conducted on a group of volunteers from 34 people aged 33 to 50 years. Aromasessions performed in one day at the same time. In the composition of the oil linalool - 37.36% and linalyl acetate - 26.75%, the concentration of EM LU room atmosphere - 1 mg / m³.*

*Aromatherapy with essential oil of lavender *angustifolia* decreased blood pressure and had the sedation effect in people. The biggest rise was observed at psychoemotional 15-minute session. The greatest sedative and hypotensive effect elicited in the 30-minute session. When the 10-minute sessions of hypotensive effect was less pronounced and significantly decreased vigor the group members.*

Keywords: lavender essential oil, blood pressure, psycho-emotional state.

Введение. Издавна известно благоприятное влияние аромата лаванды на организм человека. И в Древнем мире, и в Средневековье лаванду применяли как средство от заразных болезней, от мигрени, для заживления ран и ожогов. До сих пор лаванда и её препараты широко используются в медицине, в парфюмерии, в странах Средиземноморья - в кулинарии [1].

Влияние эфирного масла (ЭМ) лаванды узколистной (*Lavandula angustifolia* Mill.) на сердечнососудистую и нервную систему человека достаточно хорошо изучено. Выявлены умеренное гипотензивное и седативное действие ЭМ лаванды [2, 3]. Часто это масло применяют для улучшения настроения [6]. Именно поэтому мы использовали ЭМ лаванды узколистной (ЛУ) в своих исследованиях.

Целью работы является сравнение влияния аромасеансов различной длительности с ЭМ ЛУ на артериальное давление и психоэмоциональное состояние людей.

Объекты и методы исследования

Исследования проведены летом 2013 г. у группы добровольцев из 34 человек в возрасте от 33 до 50 лет, оздоравливающихся в Фитоцентре НБС-ННЦ. Предварительно всем участникам

группы проводили обонятельную и кожную пробу, во избежание аллергических реакций [4].

Аромасеансы проводились по одному в день, в специально оборудованном помещении, в одно и то же время, с ЭМ в составе которого доминируют линалоол – 37,36% и линалилацетат – 26,75% [7]. Масло изготовлено в лаборатории лекарственных растений Никитского ботанического сада из экологически чистого сырья. Концентрация ЭМ ЛУ в атмосфере помещения составляла 1 мг/м³. Перед процедурами и после них измеряли систолическое (АДС) и диастолическое (АДД) артериальное давление (АД) всегда одними и теми же поверенными тонометрами. Для оценки влияния на психоэмоциональное состояние проводили тестирование САН [5]. Полученные данные обработаны в стандартной статистической программе Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

По нашим данным (рис. 1), даже разовый 10 минутный аромасеанс с ЭМ ЛУ снижает диастолическое давление (АДД). В нашем случае, для группы людей 33-50 лет, в среднем, на 4 единицы. Систолическое давление (АДС) практически не изменилось. Надо отметить, что это был первый аромасеанс на 3-й день пребывания людей в Фитоцентре.

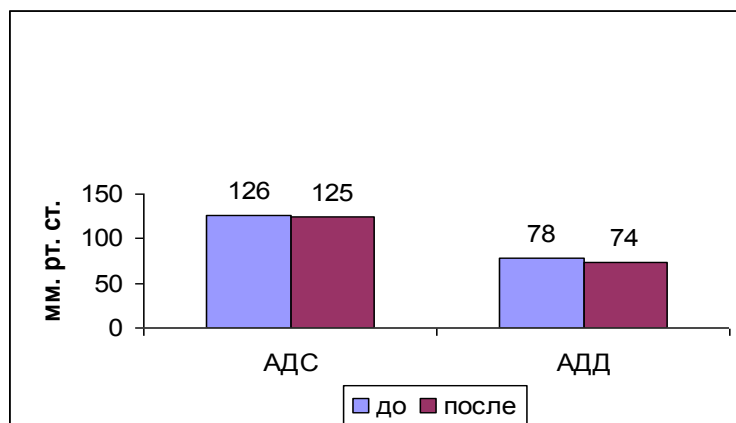


Рис. 1. Влияние разового 10 минутного аромасеанса с ЭМ ЛУ на артериальное давление людей 33-50 лет.

На психоэмоциональное состояние нашей группы разовый 10 минутный сеанс с ЭМ ЛУ повлиял, в целом, расслабляюще. По данным теста САН (рис.2), в среднем по группе, на 10 баллов улучшилось общее состояние, на 5 баллов самочувствие, настроение осталось на том же уровне. Увеличение расслабленности на 5 баллов и снижение работоспособности 10 баллов, внимания – на 5 баллов, бодрости – на 25 баллов, подтверждает седативное воздействие ЭМ ЛУ.

После 10 минутного сеанса все участники группы отметили, что аромасеанс им понравился, побочных реакций (головная боль, кашель и т.д.) в нашей группе не наблюдалось.

Далее, после 2 выходных дней, проводилась серия аромасеансов: 1-й сеанс 15 минут, потом 4 сеанса по 10 минут и заключительный сеанс – 30 минут.

При 15-минутном сеансе в нашей группе наблюдалось (рис. 3) увеличение систолического давления, в среднем, на 2 единицы, и снижение диастолического давления, в среднем, на 4 единицы.

При этом, по данным теста САН (рис. 4), в среднем по нашей группе, общее состояние улучшилось на 27 баллов, самочувствие – на 20 баллов, настроение – на 13 баллов, работоспособность – на 40 баллов. При этом, расслабленность увеличилась на 13 баллов, бодрость уменьшилась на 6 баллов, внимание – на 7 баллов.

После 15 минутного сеанса все участники группы субъективно отметили значительное улучшение физического и эмоционального состояния. Побочных реакций (головная боль, кашель и т.д.) в нашей группе не было.

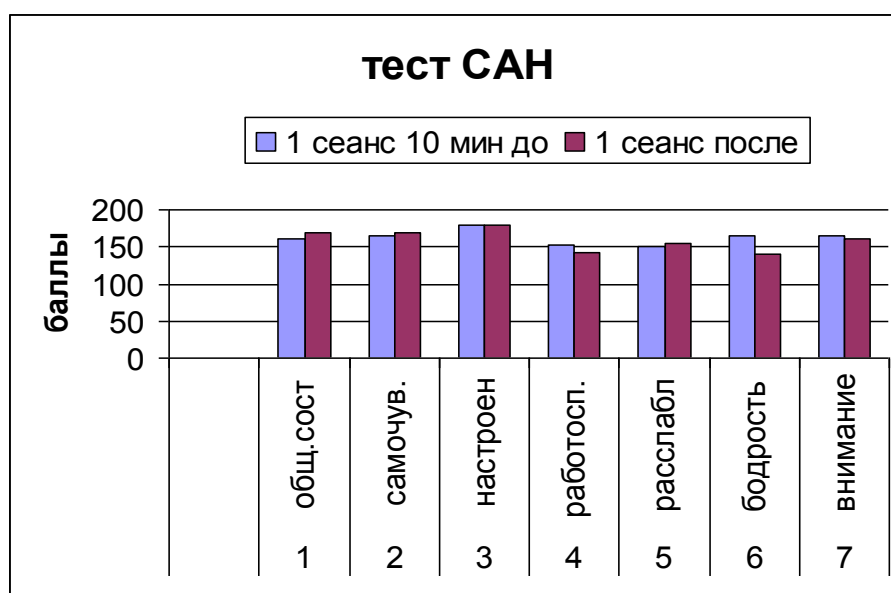


Рис. 2. Влияние разового 10 минутного аромасеанса с ЭМ ЛУ на психоэмоциональное состояние людей 33-50 лет.

При 30- минутном сеансе в нашей группе наблюдалось (рис. 3) заметное снижение давления: АДС – в среднем, на 7 единиц, АДД – в среднем, на 6 единиц. То есть, при такой дли-

тельности воздействия четко проявился гипотензивный эффект ЭМ ЛУ. На психоэмоциональное состояние нашей группы 30 минутный сеанс с ЭМ ЛУ повлиял, в среднем, успокаивающе (рис. 4).

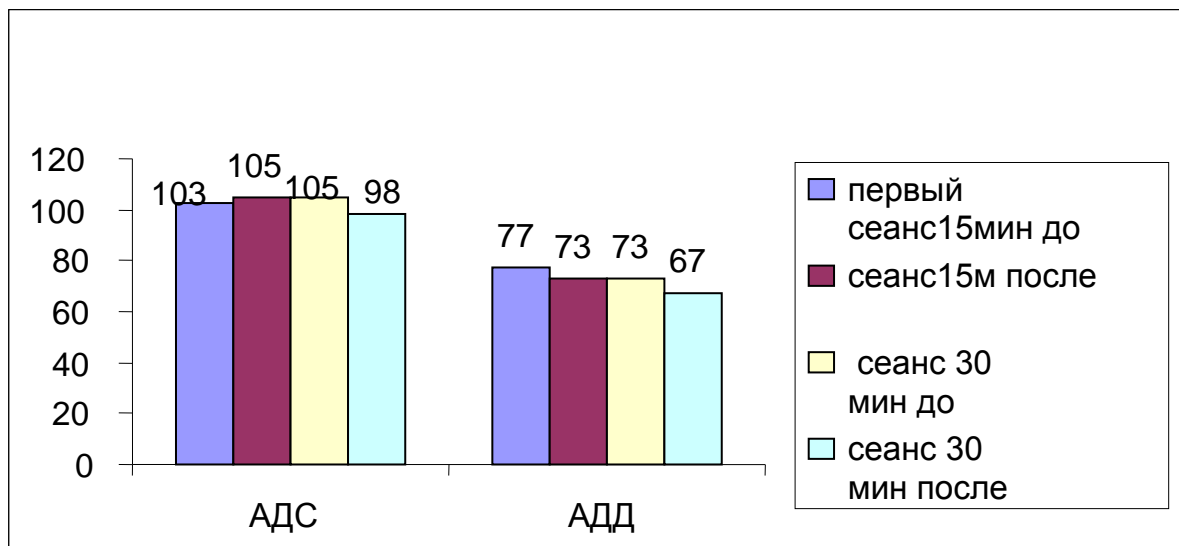


Рис. 3. Влияние 15-ти и 30-ти минутных аромасеансов с ЭМ ЛУ на артериальное давление людей 33-50 лет.

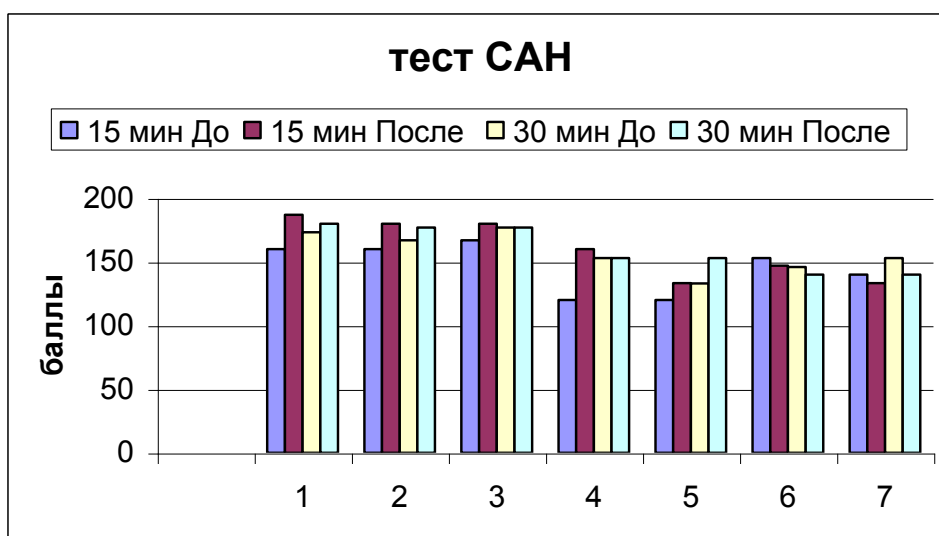


Рис. 4. Влияние 15-ти и 30-ти минутных аромасеансов с ЭМ ЛУ на психоэмоциональное состояние людей 33-50 лет.

1	2	3	4	5	6	7
общее состояние	самочувствие.	настроение	работоспособность	расслабленность	бодрость	внимание

По данным теста САН (рис. 4), в среднем по нашей группе, общее состояние и самочувствие улучшились незначительно – на 7 и 10 баллов соответственно. Настроение и работоспособность остались на прежнем уровне.

При этом, расслабленность увеличилась на 20 баллов, бодрость уменьшилась на 6 баллов, внимание – на 13 баллов.

После 30 минутного сеанса многие участники группы субъективно отметили сонливость.

Было несколько случаев побочных реакций: 1 - головная боль, 1 – кашель, 5 человек уснули.

Выводы

После сеансов ароматерапии с эфирным маслом лаванды узколистной у пациентов отмечено снижение артериального давления и седативный эффект.

- наибольший психоэмоциональный подъем наблюдался при 15-ти минутном сеансе;
- наибольший седативный и гипотензивный эффект выявился при 30-ти минутном сеансе;
- при 10-ти минутном сеансе гипотензивное воздействие было выражено слабо, и значительно снизилась бодрость участников группы.

Литература

1. Войткевич С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. – М.: Пищевая промышленность, 1999. – 284 с.
2. Ковальов В.М., Павлій О.І., Сакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. – Харків: « Прапор», 2000. – 704 с.
3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник. / Під ред. А.М. Гродзинського. – К.: Голов. ред. УРЕ., 1990. – 544 с.
4. Мак-Гилвери К., Рид Дж. Основы ароматерапии / Пер. с англ. к.м.н. Ю.Г. Сандалова. – М.: Росмэн, 1997. – 96 с.
5. Основы психологии: Практикум. / Ред.-сост. Л.Д. Столяренко. – Ростов-на-Дону: Фенікс, 2002. – 704 с.
6. Тихомиров А.А., Говорун М.И. Действие эфирных масел на нервную систему человека и животных // «Ароматкоррекция психофизического состояния человека» 3-я международная научно-практическая конференция, Ялта 4-7 июня 2013г. – с. – 4- 21.
7. Эфиромасличные и пряно-ароматические растения / Либусь О.К., Работягов В.Д., Кутько С.П., Хлыпенко Л.А. – Херсон: Айлант, 2004. – 272 с.

Измайлов Е.П. (2), Тихолоз Ю. Л. (1,2), Панин П. В. (1)

ОБОСНОВАНИЕ РАННИХ СРОКОВ НАЛОЖЕНИЯ ТРАХЕОСТОМЫ БОЛЬНЫМ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ

JUSTIFICATION OF EARLY TERMS OF IMPOSING OF THE TRACHEOSTOMY BY PATIENTS WITH THE SEVERE CRANIOCEREBRAL INJURY

Izmaylov E.P. (2), Tikholoz Yu. L. (1,2) Panin P.V.. (1) GBUZ SGKB No. 1 by N. I. Pirogov of the lake Samara (1), SEI VPO "SAMGMU Minzdrava Rossii, department of anesthesiology, resuscitation and emergency medical service of IPO (2).

Summary.

Treatment of 106 patients with a severe brain injury. 39 patients are carried out (36,8%) victims the combined trauma was noted. On classification ASA at 55 (51,9%) patients the fourth class of weight of a state, at 51 (48,1%) the fifth took place. The coma of 2 degrees is determined by a scale of Glasgow at 69 (65,09%) victims; at 37 (34, 91%) a coma of 3 degrees. In the first group at 79 victims imposed a tracheostoma on our way (The patent of Russian Federation No. 2409326 on 20-th January in 2011) within the first 3 days after a trauma, in the second at 27 patients - during later period. In the first group the bronchial complications decreased by 19% and mortality decreased by 16,1%.

Keywords: severe brain injury, a

(34, 91%)

Актуальность исследования. При тяжелой черепно-мозговой травме (ТЧМТ) летальность доходит до 60% и связана с нарушением структур головного мозга, повреждением внутренних органов, гипоксией и бронхолегочными осложнениями [3, 4, 7, 9, 12, 14, 18]. При развитии острой дыхательной недостаточности с нарушением функции внешнего дыхания своевременный перевод пострадавших на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), начиная с догоспитального этапа, приводит к уменьшению летальности в 1,5 раза [10, 11, 17]. На этапе стационарного лечения, несмотря на проведение интенсивного лечения в условиях реанимации, у большинства пострадавших сохраняются стойкие дыхательные расстройства, которые диктуют необходимость проведения продленной ИВЛ. При этом у 15 - 34% пострадавших при проведении продленной ИВЛ развиваются бронхолегочные осложнения [1, 3, 4, 10, 14, 15]. Одним из способов профилактики бронхолегочных осложнений является наложение трахеостомы, которую по данным многих авторов следует накладывать в первые 5 дней после травмы

[7, 9, 12, 13, 16, 18].

Цель исследования – оценка эффективности раннего наложения трахеостомы больным с ТЧМТ.

Материал и методы исследования. Проведено лечение 106 больных с ТЧМТ, поступивших в экстренном порядке через $2,3 \pm 1,45$ часов после травмы. Мужчин было 90 (84,9%), женщин – 16 (15,1%). Возраст больных колебался от 19 до 83 лет. До 35 лет было 30 пациентов, от 35 до 60 – 54, старше 60 – 22. У 67 (63,2%) больных была изолированная ТЧМТ, у 39 (36,8%) – сочетанная травма с повреждениями груди (30,2%), костей скелета (11,3%), органов брюшной полости (6,6%). Тяжесть состояния оценивали по классификации ASA [1]: у 55 (51,9%) больных имел место четвертый класс тяжести, у 51 (48,1%) – пятый. Степень выраженности мозговой комы оценивали по шкале Глазго для определения степени угнетения сознания [8, 18]: у 69 (65,09%) больных – кома 2 степени; у 37 (34,91%) пациентов – кома 3 степени.

Обследование и лечение больных проводили в соответствии со стандартами оказания экстренной помощи пациентам нейрохирургического профиля. Всем пострадавшим производилась компьютерная томография и рентгенография костей черепа в прямой и боковой проекциях. В диагностике повреждений органов брюшной полости наиболее часто использовали

данные клинической картины и ультразвукового исследования, а у 36 (34%) пациентов в брюшную полость был введен шарящий катетер по общепринятой методике. Диагностика патологии органов грудной клетки основывалась на данных клинической картины, рентгенографии груди, ультразвукового исследования плевральных полостей и данных диагностических плевральных пункций, причем у 22 (20,7%) больных произведено дренирование плевральных полостей по Бюлау в связи с обнаруженным гемотораксом или пневмотораксом. С ушибом головного мозга тяжелой степени было 45 (42,5%) больных, с внутричерепными гематомами – 61 (57,5%) пациент, которым производилась резекционная трепанация черепа в первые сутки после травмы. Показания к наложению трахеостомы определялись стойким нарушением функции внешнего дыхания в течение 1- 3 суток после операции. Больным накладывали нижнюю трахеостому по разработанному нами способу [6], сущностью которого явилось применение крестообразного доступа на передней стенке трахеи с пересечением одного трахеального кольца в промежутке между 3 и 4 кольцами трахеи. Образованная в результате такого разреза конфигурация раны в виде четырех лепестков позволяет уменьшить размеры апертуры на передней стенке трахеи, способствует более плотному прилеганию краев раны к трахеостомической канюле, обеспечивает быстрое заживление после удаления канюли и не вызывает стеноза трахеи в отдаленные сроки после операции. При наложении трахеостомы использовали одноразовые трахеостомические трубки от №7,5 до № 8,5. Осложнений, связанных с наложением трахеостомы, в ближайшие и отдаленные сроки после операции не наблюдали. Наложение трахеостомы проводили в операционной, в положении больного на функциональной реанимационной кровати, без перекладывания на операционный стол. Премедикацию осуществляли путем введения атропина. Трахеостомию выполняли у интубированных больных под общей внутривенной анестезией с ИВЛ в режиме умеренной гипервентиляции. Повышенная подача кислорода во вдыхаемой смеси обеспечивала профилактику гипоксемии. Анестезиологическое пособие проводили в разных комбинациях с использованием фентанила, тиопентала натрия, реланиума, оксибутирата натрия, что обеспечивало совершенную защиту от ноцицептивных раздражений и избыточных нейровегетативных реакций. При наложении трахеостомы прово-

дился мониторинг сердечно-сосудистой деятельности (пульсоксиметрия и контроль артериального давления). Интубационную трубку удаляли после того, как была налажена эффективная вентиляция через трахеостомическую трубку и осуществлен аускультативный контроль.

В зависимости от сроков выполнения трахеостомии больные были разделены на 2 группы. В первой группе трахеостому накладывали в течение 3 суток после травмы, во второй – в более поздний период. По характеру повреждений, тяжести состояния, возрасту и сопутствующим заболеваниям группы больных были сопоставимы.

Результаты исследования. Результаты лечения больных оценивали по летальным исходам и по клиническим признакам развития гнойных бронхолегочных осложнений. В первой группе из 79 больных умерло 40 (50,6%), летальные исходы возникали от отека и вклинения головного мозга, причем у 17 (21,5%) пострадавших этой группы отмечались гнойные бронхолегочные осложнения. Из 27 пациентов второй группы умерло 17 (66,7%), гнойные бронхолегочные осложнения отмечались у 7 (40,5%) больных.

Таким образом, проведение продленной ИВЛ и трахеостомы, наложенная по разработанному нами способу больным с ТЧМТ в течение 3 суток после операции, позволили улучшить результаты лечения: на 19% уменьшить развитие гнойных бронхолегочных осложнений и на 16,1% снизить летальные исходы.

Список литературы:

1. Бараш Г. Клиническая анестезиология / Г. Бараш, Б. Куллен, Р. Стэлтонг. – М.: Медицинская литература, 2004. - С.232-238.
2. Гуманенко Е.К. Политравма / Е.К. Гуманенко, В. К. Козлов – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. – 608 с.
3. Зильбер А. П. Дыхательная недостаточность: руководство для врачей/ А. П. Зильбер – М.: Медицина, 1989. – 512 с.
4. Кассиль В.Л. Искусственная и вспомогательная вентиляция легких / В.Л. Кассиль, М. А. Выжигина, Г. С. Лескин – М.: Медицина, 2004. – 480 с.
5. Крылов В. В. Нейрореанимация: практическое руководство/ В. В. Крылов, С. С. Петриков – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 176 с.
6. Патент РФ на способ изобретения № 2409326 « Апертура передней стенки трахеи» (авт. Измайлов Е.П., Тихолоз Ю. Л., Нагога А. Г. и др., 2011 г.)
7. Попова Л.М. Нейрореаниматология / Л.М. Попова. – М.: Медицина, 1983. - С.8-11; 239-242.
8. Соколов В. А. Множественные и сочетанные травмы / В.А. Соколов. –М.: ГЭОТАР – Медиа, 2006. - С.10-24.
9. Угрюмов В. М. Тяжелая закрытая травма черепа и головного мозга / В. М. Угрюмов. – М.: Медицина, 1974. - гл. 1-14.
10. Фокин М. С. Трахеостомия у нейрохирургических больных / М.С. Фокин К.М. Горшков, А.С. Горячев и др. – М., 2004. - С.4-26.
11. Царенко С.В. Нейрореаниматология и интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / С.В. Царенко. – М.: Медицина. - 2006. - С.216 - 257; 309
12. Хулуца Г. Я. Краткое руководство по неврологии для врачей / Г.Я. Хулуца, Ю. Г. Шанько. - Минск, 2008. - 236 с.
13. Dubin J. Tracheostomie. Editons Techniques/J. Dubin // Encycl. med. Chir. Tete et cou.- 2005. – V.46 – P.430.
14. Griffiths J. Systematic review and meta-analysis of studies of the timing of tracheostomy in adult patients undergoing artificial ventilation / J. Griffiths et al. // BMJ. -2005. - May 28. – P.330-1243.
15. Hazard P. Comparative clinical trial of standard operative tracheostomy with percutaneous tracheostomy / P. Hazard, C. Jones, J. Benitone // Care Med. - 1991. - V.19. - P.1018 -1024.
16. Plummer A.L. Consensus conference on artificial airways in patients requiring mechanical ventilation / A.L. Plummer, D.R. Gracey // Chest. - 1989. - V.96. - P.178 -180.
17. Summors A.C. Notes in neuroanaesthesia and Critical Care / A.C. Summors, A.C. Gupta // Grinwich Medical Media LTD. - 2008. - P.204.
18. Teasdale G. M. Head injury /G. M Teasdale// Department of Neurosurgery Institute of Neurological Sciences, Southern General Hospital, Glasgow, Scotland, 1995. - P.526-53

Малюжинская Н.В.¹, Клиточенко Г.В.², Тонконоженко Н.Л.³, Кривоножкина П.С.⁴

ВОЗРАСТЗАВИСИМАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ БИОПОТЕНЦИАЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ДЕТЕЙ С ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

1

2

3

4

AGE-RELATED VARIABILITY OF BIOPOTENTIALS OF THE BRAIN IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY
Maluzhinskaia Natalia,
Klitochenko Grigori,
Tonkonozhenko Nelli,
State Medical University
Krivonozhkina Polina,
University

Abstract

In this paper, we study the basic rhythms of bioelectrical activity in children with cerebral palsy compared with healthy children of the same age to assess the degree of functional maturation of the nervous tissue and predisposition to epileptiform disorders, depending on age.

Keywords: bioelectrical activity of the nervous tissue, cerebral palsy

Цель

Проследить динамику развития биоэлектрической активности головного мозга при детском церебральном параличе у детей с сохраненным интеллектом в сравнении с аналогичной возрастной динамикой здоровых детей города Волгограда.

Purpose

Follow the dynamics of brain activity in children with cerebral palsy with intact intellect as compared with the same age dynamics of healthy children in the city of Volgograd.

Введение

Одним из наиболее распространенных методов неинвазивного исследования функциональной активности головного мозга является анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ). При детском церебральном параличе (ДЦП) отмечаются изменения в головном мозге, которые могут проявляться на ЭЭГ в виде очагов эпилептического и неэпилептического характера [2, с37].

Материалы и методы исследования

Электроэнцефалография проводилась в группах детей, страдающих детским церебральным параличом, с сохраненным интеллектом. С учётом различной степени зрелости корково-подкорковых структур дети были разделены на подгруппы по возрасту: 6-8 лет (младший школьный возраст), 12-14 лет (пубертатный возраст). С целью проведения сравнительного достоверного анализа были отобраны здоровые дети для формирования контрольной группы. С целью проведения сравнительного достоверного анализа были отобраны здоровые дети для формирования контрольной группы.

Materials and methods

Electroencephalography was performed in groups of children with cerebral palsy, with preserved intelligence. Taking into account, the different degrees of maturity cortico-subcortical structures of the children were divided into groups by age: 6-8 years old (primary school age), 12-14 years of age (puberty). In order to conduct a comparative

analysis of the fair have been selected for the formation of healthy children in the control group.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе данных ЭЭГ-обследования в группе 6-8 лет у детей с поражением ЦНС отмечаются относительно равные значения амплитуды α -ритма (среднее значение амплитуды 74.3 мкВ у больных детей, 79.3 мкВ у здоровых), небольшое - на 14% - повышение индекса α -ритма (88.7% у больных, 77.7% у здоровых); значительное (на 42%) повышение амплитуды β -ритма (50 мкВ у больных детей, 35.2 мкВ у здоровых) и на 371% увеличение индекса β -ритма (67% у больных, 14% у здоровых); резко выраженное повышение на 122% амплитуды δ -ритма (125 мкВ у больных, 56.1 мкВ у здоровых) и на 158% индекса δ -ритма (59% у больных детей и 22.8% у здоровых); повышение на 126% амплитуды θ -ритма (137.3 мкВ у больных, 60.6 мкВ у здоровых) и на 191% индекса θ -ритма (63% у больных, 21.6% у здоровых).

В норме у здоровых детей, как видно по данным контрольной группы, к 6-8 годам с активным развитием нервной системы практически завершается процесс постепенного вытеснения медленных ритмов более быстрыми колебаниями типа α , поэтапно формируется β - ритм, активность патологических δ - и θ - волн неуклонно снижается и не превышает значений α - ритма [3 с12,14 с186-188]. По сравнению с группой здоровых детей, у пациентов с поражением ЦНС активность β - ритма превышает возрастную норму, а активность δ - и θ -ритмов резко повышена, значительно превосходя показатели основного α -ритма в 1.7 и в 1.8 раза соответственно. Отсутствие физиологической динамики роста быстрых волн, преобладание патологических медленных волн говорит о функциональной незрелости нервной ткани в этот период на фоне выраженных структурных нарушений головного мозга, возникших в процессе онтогенеза у детей с ДЦП [12 с371-372]. Наличие высоких показателей медленноволновой активности дизэнцефальностволовых структур коррелирует с клиническими данными о высокой частоте эпилептиформных расстройств [4 с100-101,8 с280-281].

В группе 9-11 лет у детей с поражением ЦНС отмечается резкое - на 50% или в 1.5 раза - повышение амплитуды α - ритма (107.5 мкВ у больных детей, 71.9 мкВ у здоровых), умеренно выраженное - на 30% - повышение индекса α - ритма (88.7% у больных, 68% у здоровых); резко выраженное - на 36% - повышение амплитуды β -

ритма (64.2 мкВ у больных детей, 36.5 мкВ у здоровых) и на 371% увеличение индекса β -ритма (65% у больных, 13.8% у здоровых); резко выраженное повышение на 154% амплитуды δ -ритма (123.75 мкВ у больных, 48.7 мкВ у здоровых) и на 239% увеличение индекса δ -ритма (57% у больных детей и 16.8% у здоровых); повышение на 118% амплитуды θ -ритма (109.75 мкВ у больных, 50.2 мкВ у здоровых) и на 243% увеличение индекса θ -ритма (44.7% у больных, 13% у здоровых).

Препубертатный период 9-11 лет характеризуется появлением у детей нейроэндокринных перестроек, что, безусловно, отражается и на функциональном состоянии головного мозга [5 с43-45]. В норме после 9 лет доминирующим на ЭЭГ становится α - ритм, и более медленные колебания со временем уменьшаются, а затем практически исчезают. Но даже появление на ЭЭГ групп δ - или θ - колебаний, не превышающих по амплитуде фоновой α - активности и не имеющих регулярного или локального характера, не может рассматриваться как патология [6 с354-356]. Вышеописанные нейроэлектрофизиологические особенности функционирования нервной ткани в период 9-11 лет подтверждаются вышеуказанными показателями контрольной группы (здоровые дети). В группе детей с перинатальным поражением ЦНС наблюдается резкое преобладание основного α -ритма (на 50% больше чем в норме), β -ритма (на 30% больше чем в норме), наличие патологических δ - и θ - волн, амплитуда и индекс которых значительно превышает показатели α -ритма, что может свидетельствовать о выраженном снижении порога судорожной готовности и склонности к учащению и утяжелению эпилептиформных приступов в данный возрастной период [13 с333-334]. Таким образом, в подгруппе детей с детским церебральным параличом соответствующего возраста выявляется парадоксальный всплеск активности всех изучаемых в данной работе ритмов ЭЭГ, причем показатели амплитуды α - активности находятся в пограничной зоне, уровни амплитуд δ - и θ - ритмов, также как и в подгруппе 6-8 лет, значительно превышают уровень α -волн [12 с372, 14 с186-187]. Клинически данные изменения могут проявляться учащением частоты и интенсивности эпилептиформных расстройств, появлением полиморфности характера эпилептиформных приступов, нарушением памяти, внимания, познавательной-перцептивной деятельности, утратой приобретённых навыков [9 с26].

В группе 12-14 лет у детей с поражением ЦНС по сравнению со здоровыми детьми того же

возраста выявляются чуть более низкие – на 14% - значения амплитуды α - ритма (59.5 мкВ у больных детей, 69.5 мкВ у здоровых) и равные значения индекса α -ритма (70.25% у больных, 72.9% у здоровых); сохраняется выраженное - на 36% - повышение амплитуды β -ритма (52.75 мкВ у больных детей, 34.1 мкВ у здоровых) и на 371% увеличение индекса β -ритма (60.75% у больных, 15.3% у здоровых); умеренное повышение на 154% амплитуды δ -ритма (50.75 мкВ у больных, 39.8 мкВ у здоровых) и на 239% практически равные значения индекса δ -ритма (17% у больных детей и 12% у здоровых); умеренное повышение на 118% амплитуды θ - ритма (60.75 мкВ у больных, 40.1 мкВ у здоровых) и на 243% увеличение индекса θ - ритма (18.5% у больных, 12% у здоровых).

В норме в пубертатном периоде (12-14 лет) наблюдается резкое усиление работы нейроэндокринной системы, причём её функционирование носит скачкообразный характер, находясь в корреляционной связи с уровнем гормонов в крови [7, с270]. Согласно результатам исследования электрической активности мозга у здоровых детей в данной возрастной группе, имеем следующие показатели: очевидное преобладание амплитуды и индекса α - ритма, приблизительно равные значения β -, δ -, θ -ритмов, причём амплитуды последних двух не превышают уровень α - активности. У детей 12-14 лет с поражением ЦНС в форме ДЦП наблюдаются парадоксальные изменения: несмотря на то, что дети такого возраста находятся в активном пубертатном периоде с бурными гормональными процессами, электроэнцефалограмма приобретает вид «уплощённой кривой», где наблюдается приблизительно равнозначность амплитуд всех ритмов, отсутствует ожидаемая доминантность α – ритма, показатели δ - и θ - волновой активности сохраняются на значительно более высоком уровне, чем у здоровых детей [15, с17-18]. Такие дети склонны к проявлению эпилептиформных расстройств, при этом нередко клиническая картина данных нарушений меняется (продолжительность и частота приступов, отсутствие тонической/клонической фаз, иногда возникновение очаговой симптоматики в постиктальный период [10, с76, 11, с13-14].

При анализе данных ЭЭГ-обследования в группе 6-8 лет у детей с поражением ЦНС отмечаются относительно равные значения амплитуды α -ритма (среднее значение 74.3 мкВ у больных детей, 79.3 мкВ у здоровых); значительное - на 42% - повышение амплитуды β -ритма (50 мкВ

у больных детей, 35.2 мкВ у здоровых); резко выраженное повышение на 122% амплитуды δ -ритма (125 мкВ у больных, 56.1 мкВ у здоровых); повышение на 126% амплитуды θ -ритма (137.3 мкВ у больных, 60.6 мкВ у здоровых).

По сравнению с группой здоровых детей, у пациентов с поражением ЦНС отсутствует физиологическая динамика роста быстрых волн, преобладают патологические медленные волны [1, с28].

В группе 12-14 лет у детей с поражением ЦНС по сравнению со здоровыми детьми того же возраста выявляются чуть более низкие – на 14% - значения амплитуды α - ритма (59.5 мкВ у больных детей, 69.5 мкВ у здоровых); сохраняется выраженное - на 36% - повышение амплитуды β -ритма (52.75 мкВ у больных детей, 34.1 мкВ у здоровых); умеренное повышение на 154% амплитуды δ -ритма (50.75 мкВ у больных, 39.8 мкВ у здоровых); умеренное повышение на 118% амплитуды θ - ритма (60.75 мкВ у больных, 40.1 мкВ у здоровых).

У детей 12-14 лет с поражением ЦНС в форме ДЦП наблюдаются парадоксальные изменения: отсутствует ожидаемая доминантность α – ритма, показатели δ - и θ - волновой активности сохраняются на значительно более высоком уровне, чем у здоровых детей [1 с56,2 с37].

Выводы

Общей закономерностью развития мозга детей с ДЦП является выраженное преобладание медленноволновой активности, которое наиболее заметно в возрастном периоде 6-8 лет, что говорит о функциональной незрелости нервной ткани в этот период на фоне выраженных структурных нарушений головного мозга, возникших в процессе онтогенеза у детей с ДЦП, что соответствует клиническим данным о высокой вероятности развития и частоте эпилептиформных приступов. Наиболее благоприятным с точки зрения нейрофизиологических данных, является возраст 12-14 лет, когда сохраняется сниженный порог судорожной готовности, отмечается склонность к редким эпилептиформным расстройствам, при этом нередко клиническая картина приступов меняется (продолжительность и частота приступов, отсутствие тонической/клонической фаз, иногда возникновение очаговой симптоматики в постиктальный период). Полученные данные могут позволить наиболее рационально составить план реабилитационных мероприятий детей с ДЦП.

Conclusions

General pattern of brain development of children with cerebral palsy is marked predominance of slow-wave activity, which is most noticeable in the age period of 6-8 years, indicating that the functional immaturity of the nervous tissue in this period, with pronounced structural abnormalities of the brain that occur during ontogeny in children with cerebral palsy, which corresponds to the clinical data of the high probability of development and frequency epipristupov. The most favorable in terms of neurophysiological data is the age of 12-14 years, when storing a reduced seizure threshold, there is a tendency to epileptiform rare disorders, with clinical seizures often changes (duration and frequency of attacks, the lack of tonic / clonic phase, sometimes the appearance of focal symptoms in the postictal period). The data obtained may allow the most rational way to make a plan of rehabilitation of children with cerebral palsy.

Литература:

1. Королева Н.В., Колесников С.И., Воробьев С.В. «Электроэнцефалографический атлас эпилепсий и эпилептических синдромов у детей». ГЭОТАР-Медиа, Москва, 2011.
2. Клиточенко Г.В., Тонконоженко Н.Л., Долецкий А.Н. Неэпилептические судорожные состояния у детей // Лекарственный вестник. – 2011. - №3 (43), Т.6.– С.37.
3. Клиточенко Г.В. Формирование деятельности корково-подкорковых структур головного мозга у детей, механизмы развития функциональных отклонений и их коррекция: Дисс. ...д-ра мед. наук / Волгоград. гос. мед. ун-т. - Волгоград, 2010.
4. Соколовская И.Э. «Особенности ЭЭГ детского возраста». Нейрофизиологические исследования в клинике, под ред. Г.А. Щекутьева. Антидор, Москва, 2001. С 100-101.
5. Клаучек С.В., Клиточенко Г.В. Особенности биоэлектрической активности головного мозга детей в возрасте 1-3 лет с различными формами последствий перинатальных поражений ЦНС / Журнал неврологии и психиатрии им. А.А.Корсакова, №4 2006 г. – с.43-45.
6. Зенков Л.Р. «Клиническая электроэнцефалография» (с элементами эпилептологии). Изд-во ТРТУ, Таганрог, 1996г, с.354-356.
7. Зенков Л.Р., Мельничук П.В. «Центральные механизмы афферентации у человека». Медицина, Москва, 2000г, с270.
8. Зислина Н.Н., Тюков В.Л. «Возрастные сдвиги частного спектра электроэнцефалограммы у детей 3-8 лет». Журнал ВНД, 1998г, Т18,№2, с.280-283.
9. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. «Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных». МедПресс-Информ, Москва, 2006, с.26.
10. Клиточенко Г.В., Тонконоженко Н.Л. Детская электроэнцефалография: Методическое пособие / Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2011. – 76 с.
11. Розенбаум П., Панет Н., Левитон Дж., Голдстейн М., Бах М. (2007а). Доклад «Определение и Классификация ДЦП». Приложение к журналу «Развитие Медицины и Детской Неврологии», 49:13-14, апрель 2006 года.
12. Карлссон М., Хагберг Дж, Олссон И. «Клинические и этиологических аспекты эпилепсии у детей с церебральным параличом». Dev Med Child Neurol, 2003, 45:371-372.
13. Томас П., Гентон П., Джеллис Ф. «Эпилептические синдромы в младенчестве, в детском и во взрослом возрасте». 3е издание/Eds.:J.Roger et al., Eastleigh, 2002.p333-334.
14. Вестмореленд Б.Ф., Стокард Дж. «ЭЭГ у младенцев и детей дошкольного возраста». Amer/J/EEG Technol, 1999,p186-188.
15. Хозер В. «Пароксизмальные состояния: возраст-зависимые изменения». Epilepsia, 1992, №4, p 17-18.

И.Ф. Лабунец¹, И.А. Кузьмина¹, С.А.Таланов²

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА У ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМИ МОДЕЛЯМИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

2

3

6-

-2

*Summary**Functional state of thymic endocrine function in animal models of neurodegenerative disorders**I. Labunets, I. Kuzminova, S.Talanov**Aim: to study the endocrine function of thymus in animal models of hemiparkinsonism and multiple sclerosis.**Materials and methods. Hemiparkinsonism was modeled in adult rats by stereotaxic introduction of 6-hydroxydopamine into the left ascending forebrain bundle. The degree of one-sided injury of substantia nigra dopaminergic neurons was assessed in apomorphine test. Multiple sclerosis was modeled in adult mice by everyday treatment by cuprizone during 4 weeks. Endocrine function of thymus was assessed by blood level thymulin.**Results: It was established that in 1,5 month after the treatment of neurotoxin in experimental rats with absence of motor activity in apomorphine test the blood level of thymulin was decreased in 1,5-2 times comparing to control animals (after the false surgery), and in 8 times ($p < 0,05$) in rats with vigorous malfunctions in motor activity. Mice who were fed with the cuprizone had considerably higher blood level of thymuline comparing to control animals.**Conclusions: In the neurodegenerative diseases endocrine function of thymus changes. Type of the changes of gland function depends on the kind, intensity and the period of the development of pathological process. These results can be useful in the designing of the pathogenetic approaches for the therapy of the neurodegenerative disorders.**Key words: hemiparkinsonism, 6-hydroxydopamine, multiple sclerosis, cuprizone, thymulin.*

Введение. В настоящее время доказана роль гибели нейронов в патогенезе как острых (инсульт, травма и т.д.), так и хронических (болезнь Паркинсона, БП, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз, РС, и т.д.) нейродегенеративных заболеваний [1]. Разработка подходов к нейропротекции заболеваний требует углубленного изучения их патогенеза. В связи с этим представляется

важным выяснение уровней и механизмов развития внутрисистемных нарушений функций иммунной системы, которые формируются при нейродегенеративных заболеваниях, с применением адекватных экспериментальных моделей [8,12].

Цель работы. Исследовать эндокринную функцию тимуса у животных с моделями гемипаркинсонизма и РС.

Материалы и методы. При моделировании у животных гемипаркинсонизма использовали нейротоксин 6-гидроксидофамин (6-ГОДА). Показано, что 6-ГОДА является важным эндогенным патогенетическим фактором развития БП, который селективно повреждает дофаминергические нейроны черной субстанции среднего мозга с развитием их апоптоза [7]. С этой целью крысам популяции Вистар в возрасте 3-4 мес ($n = 12$) стереотаксически вводили в левый восходящий пучок переднего мозга 8,0 мкг 6-ГОДА, растворенного в 4,0 мкл физиологического раствора, с добавлением 0,1 %-го раствора аскорбиновой кислоты как стабилизатора, который тормозит окисление 6-ГОДА. Все указанные манипуляции проводили под нембуталовым наркозом (внутрибрюшинно, 50 мг/кг "Sigma", США). Контрольной группе крыс (ложнооперированные, $n = 6$) стереотаксически вводили 4,0 мкл 0,1%-го раствора аскорбиновой кислоты. Была также обследована группа интактных животных ($n = 6$).

Через неделю после стереотаксической инъекции 6-ГОДА у крыс по двигательной активности определяли степень односторонней дегенерации дофаминергических нейронов черной субстанции [14]. Для этого крысам внутрибрюшинно вводили агонист дофаминовых рецепторов апоморфин (0,5 мг/кг, "Sigma", США) и оценивали ротационные движения (обороты в минуту) в направлении, противоположном стороне введения нейротоксина. Интенсивность таких движений служила индикатором степени односторонней дегенерации нигростриатной дофаминергической системы. По нашим данным, отсутствие поведенческой асимметрии в апоморфиновом тесте (0 оборотов в минуту) соответствовало повреждению около 44 % дофаминсинтезирующих нейронов, а наличие интенсивных циркуляторных движений (более шести оборотов в минуту) свидетельствовало о повреждении около 97 % таких нейронов [14]. Исследования проводили через 1,5 мес после моделирования оперативного вмешательства.

Модель РС получали на мышях с помощью нейротоксина купризон. В настоящее время токсическая купризоновая модель широко используется для изучения патогенеза этого заболевания, наряду с такой общепризнанной моделью как экспериментальный аллергический энцефаломиелит [10]. Купризон [бис(циклогексанон)-оксалидгидразон] – это медный хелатор, который у животных (мышь разных линий, крысы популяции Вистар) при пероральном введении проявляет выборочное токсическое действие на зрелые

олигодендроциты, которые продуцируют миелин [4,10]. Как результат, у мышей, принимавших нейротоксин, развивается демиелинизация головного и спинного мозга с нарушением двигательной активности. Кроме того, по нашим данным, у мышей после приема купризона нарушается структура нейронов центральной нервной системы (ЦНС) [неопубликованные данные]. При купризоновой модели проявления пораженный ЦНС у животных имеют черты, подобные РС человека [10].

В данной работе мыши-самки линий 129/Sv в возрасте 3-7 мес ($n = 10$) и C57Bl/6 в возрасте 3-4 мес ($n = 6$) получали ежедневно с пищей купризон (Sigma-Aldrich, Германия) из расчета 0,2 % от суточного корма. Мышей исследовали после завершения четырехнедельного приема препарата. Контрольные группы мышей ($n = 14$) находились на обычном рационе вивария.

Биологический материал для исследований брали у животных в утренние часы под эфирным наркозом. Все работы с экспериментальными животными проводили с соблюдением «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и другой научной целью» [3].

Эндокринную функцию тимуса оценивали по содержанию в сыворотке крови тимулина или тимического сывороточного фактора, который является истинным и высокоактивным гормоном железы [5]. Метод основан на восстановлении чувствительности спонтанных розеткообразующих клеток селезенки тимэктомированных мышей к азатиоприну. Сыворотку животных пропускали через ультрафильтр CF-25 фирмы "Amicon" (США) для удаления высокомолекулярного ингибитора тимулина. Результаты выражали в виде \log_2 титра гормона. Результаты статистически обрабатывали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение.

БП – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, при котором массовая гибель дофаминергических нейронов компактной части черной субстанции среднего мозга приводит к дефициту дофамина в стриатуме и развитию характерных двигательных расстройств [14,15]. Патогенетические механизмы нейродегенерации при БП включают усиление оксидативного стресса, нейровоспаление с активацией микроглии, глутаматергическую эксайтотоксичность и дисфункцию митохондрий.

Вместе с тем, появляется все больше весомых доказательств относительно значения в повреждении дофаминергических нейронов инфильтрации мозга активированными периферическими иммунными клетками (Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, макрофаги) [1]. Эти клетки, наряду с микроглией головного мозга, синтезируют такие провоспалительные цитокины как туморнекротический фактор (ТНФ)-альфа, интерферон (ИФН)-гамма, интерлейкин (ИЛ) 1-бета, хемокины, а также освобождают активные формы кислорода и азота.

Как известно, дифференцировка Т-лимфоцитов в центральном органе иммунной системы тимусе, их миграция на периферию и проявление функциональной активности происходят под действием гормонов железы, в частности ти-

мулина [11]. Тимулин влияет также на функционирование В-лимфоцитов, макрофагов, проявляет противовоспалительное действие, уменьшая уровень провоспалительных цитокинов (ТНФ-альфа, ИЛ1-бета) и усиливая выработку цитокинов с противовоспалительным действием (ИЛ-6) [11].

Как нами установлено, уровень тимулина в крови ложнооперированных крыс существенно ниже, чем у интактных животных, что может быть объяснено реакцией железы на оперативное вмешательство (табл.1). Если у подопытных крыс с отсутствием двигательной асимметрии в апоморфиновом тесте уровень гормона уменьшается в 1,5-2 раза относительно ложнооперированных животных, то у крыс с интенсивными двигательными нарушениями значения показателя становятся меньше уже в 8 раз ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1

Уровень тимулина в крови крыс с моделью гемипаркинсонизма, M+m

Экспериментальная группа животных	\log_2 титра гормона
интактные	5,8+0,3 (6)
ложнооперированные	3,8+0,6* (6)
опытные с отсутствием двигательной асимметрии в апоморфиновом тесте	3,0+0,5* (6)
опытные с наличием двигательной асимметрии в апоморфиновом тесте	0,8+0,3*,**# (6)

#

Итак, у крыс с моделью гемипаркинсонизма степень угнетения эндокринной функции тимуса сопряжена с выраженностью повреждения дофаминергических нейронов черной субстанции среднего мозга. Известно, что дофамин является одним из важных нейромедиаторов ЦНС, который влияет не только на двигательную активность, но и функциональное состояние эндокринных желез и клеток иммунной системы [8]. Поскольку дофамин не проникает через гематоэнцефалический барьер, возможны следующие механизмы взаимосвязи изменений его уровня в мозге и функций иммунной системы при БП: 1) нарушение количественных соотношений дофамина с другими нейромедиаторами с иммуномодулирующими свойствами; 2) влияние дофамина на синтез гормонов передней доли гипофиза, которые, в свою очередь, способны модулировать функциональные свойства лимфоцитов [8]. В физиологических и патологических условиях подобные механизмы влияния дофамина на иммунную систему могут реализоваться

и на уровне тимуса, в клетках которого есть рецепторы для дофамина и гормонов гипофиза [6,11]. Не исключена возможность связи угнетения эндокринной функции тимуса у крыс с гемипаркинсонизмом с изменением мелатонинообразующей функции эпифиза, которая находится под контролем симпатической нервной системы. По нашим предварительным данным, мелатонин повышает уровень тимического гормона в крови крыс с гемипаркинсонизмом.

В свою очередь, известно о влиянии продуктов иммунной системы на дофамин головного мозга [8]. Так, показана способность ИЛ-2 и ИЛ-6 стимулировать *in vitro* освобождение нейронами дофамина дозо-зависимым способом. Поскольку снижение клеточных иммунных реакций, синтеза ИЛ-2 и ИЛ-6 при паркинсонизме [8] сопряжено с дисфункцией тимуса, можно полагать, что существенное снижение уровня тимулина в крови опытных животных с выраженным повреждением дофаминергических нейронов является важным патогенетическим звеном иммунных нарушений.

Установлено, что для РС, наряду с апоптозом олигодендроцитов, демиелинизацией аксонов нейронов и гибелью последних, характерна также активация микроглии головного мозга с усилением продукции провоспалительных цитокинов (ТНФ-альфа, ИФН-гамма) [2,13]. В головном мозге мышей с купризоновой моделью РС накапливаются Т-лимфоциты [9]. Поскольку для РС как мультифакторного заболевания имеют значения не только экзогенные (персистирующая вирусная инфекция, экологические и климатические факторы), но и эндогенные факторы (наследственная

склонность, аутоимунные и гормональные, особенно стероидные нарушения, стрессовые влияния) [10], исследование возможного вовлечения тимуса во влияние купризона на морфофункциональные изменения ЦНС мы проводили на мышцах разных линий. Известно, что в организме тимус регулирует иммунные реакции, взаимодействуя при этом с органами нейроэндокринной системы [6].

Как видно из данных табл.2, уровень тимулина в крови мышей существенно повышается после завершения четырехнедельного приема купризона. Если у мышей линии 129/Sv его значения увеличиваются в 4 раза, то у мышей линии C57Bl/6 – в 8 раз.

Таблица 2

Влияние купризона на уровень тимулина (\log_2) в крови мышей разных линий, M+m

Экспериментальная группа мышей	Мыши линии 129/Sv	Мыши линии C57Bl/6
контроль	4,8+0,4 (8)	4,5+0,8 (6)
прием купризона в течение 4-х недель	6,3+0,4* (10)	7,5+0,8* (6)

Биологический смысл активации эндокринной функции тимуса у мышей, принимавших купризон, во многом еще не ясен. Как установлено, в головном мозге мышей уже в первые дни приема нейротоксина на фоне повреждения зрелых олигодендроцитов начинают развиваться события, направленные на ремиелинизацию, а именно: повышение пролиферации предшественников олигодендроцитов и их миграции в зону повреждения, усиление экспрессии противовоспалительных цитокинов [10]. Одними из факторов, активирующих эти процессы, являются гормоны половых желез и щитовидной железы, к которым есть рецепторы в секреторном компоненте тимуса [6,10]. Не исключено, что тимулин, как гормон с противовоспалительным механизмом действия, участвует в процессах, уменьшающих демиелинизацию и стимулирующих ремиелинизацию. Может быть важным влияние тимулина и на субпопуляционный состав Т-лимфоцитов, инфильтрующих головной мозг мышей, принимавших купризон [9]. Поэтому оценка возможности активации функции тимуса у мышей в ранние сроки приема купризона будет предметом наших дальнейших исследований. Необходимо отметить, что особенности иммунонейроэндокринных взаимодействий у мышей разных линий и пола могут иметь значение для

разной чувствительности животных к купризону, которую отмечают исследователи [10].

Заключение. Таким образом, эндокринная функция тимуса изменяется у животных с экспериментальными моделями нейродегенеративных заболеваний (гемипаркинсонизм, РС). На характер изменений уровня тимулина в крови влияет вид патологического процесса, его выраженность и сроки развития. Особенности внутрииммунных взаимодействий с участием тимуса, как и его взаимоотношений с нейроэндокринной системой, следует принимать во внимание при разработке подходов к терапии нейродегенеративных заболеваний.

Литература

1. Абдурасулова И.Н., Клименко В.М. Роль иммунных и глиальных клеток в процессах нейродегенерации. Мед.академ.журнал. 2011; 11(1):12-29.
2. Пивнева Т.А. Механизмы демиелинизации при рассеянном склерозе. Нейрофизиология. 2009; 41(5):429-37.
3. Этическая экспертиза биомедицинских исследований. Практические рекомендации. Под общ. ред. Ю. Б. Белоусова. М.; 2005. 156 с.
4. Acs P., Kalman B. Pathogenesis of mGtip,

- cuprizone model. *Methods Mol Biol.* 2012; 900:403-31.
5. Bach J.F, Dardenne M, Bach M.A. Demonstration of a circulation thymic hormone in mouse and man. *Transplant Proc.* 1973; 1(1):99-101.
 6. Barnard A., Layton D., Hince M., Sakkal S., Bernard C., Chidgey A., Boyd R. Impact of the neuroendocrine system on thymus and bone marrow function. *Neuroimmunomodulation.* 2008; 15(1):7-18.
 7. Bove J., Perier C. Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2012; 211:55-76.
 8. Hritcu L. Neurotransmitters and immunity: 1. Dopamine. *Analele stiintifice ale Universitatii "Alexandree Ioan Cuza".* 2007; т. VIII:107-13.
 9. Kang Z., Liu L., Spangler R., Spear Ch., Wang Ch., Gulen M.F., Veenstra M., Ouyang W., Ransohoff R.M., Li X. Il-17-induced Act 1-mediated signaling is critical for cuprizone-induced demyelination. *J. Neuroscience.* 2012; 32(4):8284-92.
 10. Kipp M1., Clarner T., Dang J., Copray S., Beyer C. The cuprizone animal model: new insights into an old story. *Acta Neuropathol.* 2009; 118(6):723-36.
 11. Lunin S.M., Novoselova E.G. Thymus hormones as a prospective anti-inflammatory agents. *Expert Opin Ther Targets.* 2010; 14(8):775-86.
 12. Maguire-Zeiss K.A., Federoff H.J. Future directions for immune modulation in neurodegenerative disorders: focus on Parkinson's disease. *J Neural Transm.* 2010; 117(8):1019-25.
 13. Pasquini L.A1., Calatayud C.A., Bertone Uña A.L., Millet V., Pasquini J.M., Soto E.F. The neurotoxic effect of cuprizone on oligodendrocytes depends on the presence of pro-inflammatory cytokines secreted by microglia. *Neurochem Res.* 2007; 32(2):279-92.
 14. Talanov S.A., Oleshko N.N., Tkachenko M.N., Sagach V.F. Pharmacoprotective influences on different links of the mechanism underlying 6-hydroxydopamine-induced degeneration of nigro-striatal dopaminergic neurons. *Neurophysiology.* 2006; 38(2):150-56.
 15. Taylor J.M., Main B.S., Crack P.J. Neuroinflammation and oxidative stress: conspirators in the pathology of Parkinson's disease. *Neurochem Int.* 2013; 62(5):803-19.

И.О. Недавняя¹, Э.К. Иосифова²

**ЛИМФОМА ХОДЖКИНА: ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ФАКТОРЫ РИСКА
(ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Abstract: This review presents data on the incidence of Hodgkin lymphoma (HL). The incidence rates are used from population-based cancer registries of the International Agency for Research on Cancer, also there is the information about the standardized by world rates, and age-adjusted incidence rates of Hodgkin's lymphoma in the Russian Federation.

The influence of age, sex, place of residence on the risk of developing this disease is discussed in the review. Some studies present the results of the possible effects of behavioral risk factors such as smoking, alcohol consumption at an increased risk of Hodgkin's lymphoma.

The epidemiology of HL provides consistent evidence of a disease with complex pathogenesis and the presence of various factors in the etiology of HL as a whole and its various histological characteristics, as illustrated by the distinctive patterns of its incidence rates by age, race/ethnicity, sex, economic level, and tumor characteristics.

Key words: Hodgkin lymphoma, incidence, risk factors

Лимфома Ходжкина (ЛХ) является одной из наиболее курабельных форм злокачественных опухолей. На сегодняшний день более чем 80% всех пациентов могут быть излечены с использованием современных методов полиохимиотерапии и лучевой терапии. В связи с этим данное заболевание находится в фокусе пристального научного наблюдения и клинического интереса [6]. Кроме высокой вероятности излечения, доказанной в середине прошлого века и ставшей в связи с этим образцом для других онкологических заболеваний, интерес к ЛХ вызывался еще и тем, что многие десятилетия ЛХ являлась практически единственным онкологическим заболеванием, при котором не было известно происхождение опухолевых клеток [2]. Длительное время исследователи высказывали различные версии о туберкулезном, воспалительном, опухолевом, вирусном происхождении болезни [1]. И только в середине прошлого века были получены данные, что ЛХ является следствием злокачественной трансформации В-лимфоцитов герминального центра фолликулов лимфатического узла [2], что доказало злокачественную природу заболевания.

Лимфома Ходжкина сравнительно редкое заболевание, в структуре онкологической заболеваемости занимает около 1%. Тем не менее, высокий научный интерес вызван гетерогенностью клинических проявлений при наличии нескольких гистологических вариантов болезни, а также нехарактерно высокой заболеваемостью среди лиц юного и молодого возраста [15]. В середине 20 века проводились эпидемиологические исследования распространения ЛХ с целью приблизить понимание этиологии и патогенеза ЛХ [6]. Выявленное различие эпидемиологических характеристик в популяции показывало комплексность факторов и причин в этиологии и патогенезе ЛХ и результаты этих исследований помогли разъяснить некоторые аспекты этиологии ЛХ.

Согласно указаниям эпидемиологов, необходимо анализировать особенности распространения отдельных форм онкологических заболеваний в различных странах мира, выяснять влия-

ние географических, временных, половых и этнических факторов, а также социальных привычек и других агентов внешней среды, оказывающих модифицирующее воздействие на процесс канцерогенеза [4].

Международное агентство по исследованию онкологических заболеваний (The International Agency for Research on Cancer), входящее в структуру ВОЗ, используя данные канцер-регистров многих стран мира, к 2013 г. опубликовало справочное издание «Рак на пяти континентах», охватывающее сведения о заболеваемости злокачественными новообразованиями в период с 2003 по 2007 гг. Данный справочник содержит информацию, основанную на данных 186 канцер-регистров, расположенных в 57 странах мира, и дает характеристику заболеваемости населения численностью около 500 млн. человек [13].

При изучении особенностей распространения ЛХ, согласно данному изданию, обращают на себя внимание территориальные различия распространения заболевания. Показатели заболеваемости колебались в пределах от 0,1 до 5,0⁰/0000 в популяции мужчин и от 0,1 до 6,6/0000 – женщин. Наибольшая заболеваемость отмечена среди мужчин в Португалии, Италии, Испании, среди женщин – в Италии, Франции. Наименьшие показатели у мужчин и у женщин – в Китае, Японии, Корее [13].

Согласно данным другого популяционного канцер-регистра Globocan, в 2012 г. уровень заболеваемости по миру составил 1,1 у мужчин и 0,7 у женщин на 100 тысяч человек [11]. Сравнивая заболеваемость в странах с различным уровнем социально-экономического развития обращает на себя внимание следующее: заболеваемость была выше в более развитых странах и гораздо меньше в менее развитых странах (2,3 и 0,6 на 100 тысяч населения соответственно) [11], такие же данные приведены в результатах другого эпидемиологического исследования [12], в котором выявлено, что уровень заболеваемости варьировал в пределах 2,3 -1,9 на 100000 человек в более развитых странах до 1-0,5 в менее развитых странах.

Как показал анализ данных о заболеваемости злокачественными новообразованиями населения территорий РФ, в 2012 г. было зарегистрировано 3220 случаев ЛХ. В структуре онкологической заболеваемости доля ЛХ незначительна и составила в 2012 г. 0,6%. В структуре онкогематологической заболеваемости мужского населения доля ЛХ составила 12,7%, женского населения – 13,7% и заняла второе место после неходжкинских лимфом [3].

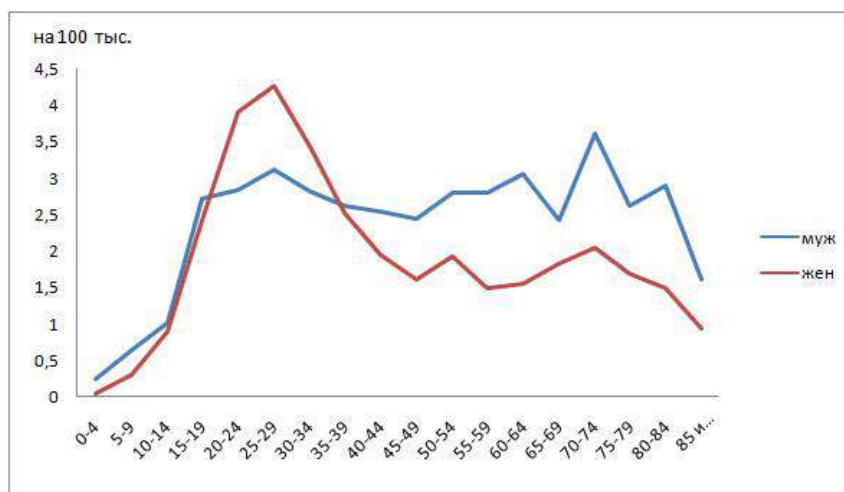
Сравнивая показатели заболеваемости по территории РФ, было выявлено, что распределение ее оказалось также достаточно неравномерным. Наиболее низкий уровень заболеваемости отмечался в Северо-Кавказском федеральном округе (1,62 на 100 тысяч населения), а высокий в Южном и Сибирском федеральных округах (2,3 и 2,0 на 100 тысяч населения соответственно) [3].

К территориям повышенного риска можно отнести: Псковская область (4,4±0,8), Волгоградская область (3,3±0,3), Ханты-Мансийский авто-

номный округ (2,8±0,4). К территориям пониженного риска можно отнести республики Бурятия и Саха (1,1±0,3), Северная Осетия (0,8±0,3) [3].

повозрастная структура, а именно формирование первого пика заболеваемости в молодом возрасте, второго в пожилом [20,23].

На рисунке представлена возрастная заболеваемость населения РФ в 2012 г. У мужчин заболеваемость с возрастом растет, в возрастной группе 25-29 лет формируется пик заболеваемости, затем происходит ее стабилизация, в 60-64 года формируется наибольший уровень с последующим снижением показателей. У женщин самая высокая заболеваемость приходится также на возраст 25-29 лет с последующим снижением и формированием плато и небольшим подъемом в 70-74 года.



Повозрастная заболеваемость на 100 тысяч населения РФ в 2012 г.

Около половины всех больных ЛХ (40%) заболели в возрасте 20-34 года. Мужчины болели чаще женщин в детском возрасте и старше 40 лет, а в группе 20-39 лет, наоборот, женщины заболели несколько чаще [3].

а некоторых административных территориях возрастная кривая также имела свои особенности. Так, у мужчин наибольшее число заболеваний в Республике Алтай развивалось старше 80 лет, в Бурятии же имел место посте-

пенный подъем заболеваемости ЛХ с формированием пика в 70-79 лет, в Республике Саха пик приходился на 55-59 лет, в Новосибирской, Амурской областях, республиках Хакасии и Тыва – на 60-64 года. У женщин в Республике Алтай, Тюменской области наибольшая заболеваемость ЛХ встречалась в возрастной группе 70-79 лет, в Кемеровской и Сахалинской областях – 15-19 лет, в Томской, Читинской, Магаданская областях и Республике Саха – 65-69 лет, в республике Бурятия – 60-64 года [5].

У больных 55 лет и старше не отмечено связи с существующей вирусной инфекцией и социально-экономическими факторами [2,17,18, 20].

Таким образом, разнообразие климато-географических, социально-экономических и этно-национальных характеристик формирует своеобразную ситуацию распределения ЛХ по различным регионам.

В литературе, посвященной проблеме опухолей системы крови и, ЛХ в частности, рассматривается целый ряд факторов риска, однако, только немногие хорошо изучены.

Факторы риска, связанные с образом жизни, профессией практически неизвестны. Проводилось ряд исследований по изучению влияния иммунодепрессии на возникновение ЛХ [7,8]. В результате показано, что риск ЛХ повышается у пациентов с первичным иммунодефицитом, а также после трансплантации костного мозга и ВИЧ инфекции. Так, согласно данным риск заболеть ЛХ у ВИЧ инфицированных больных выше в 11,5 раз [6].

В 2002 г. проведенные исследования показали взаимосвязь курения и повышения риска развития ЛХ [6], и особенно это касалось развития смешанно-клеточного варианта ЛХ. Последующие проведенные исследования подтверждают эту взаимосвязь, в отсутствие риска развития ЛХ с другими гистологическими вариантами [9,19,24,25,26].

В литературе имеются сведения о проводимых работах по изучению влияния употребления алкоголя на риск развитие ЛХ. Оказалось, что умеренное потребление алкоголя было связано с уменьшенным риском развития заболевания [9,14,24], результаты других исследований сообщают об отсутствии какой-либо взаимосвязи употребления алкоголя и риска развития ЛХ

[21,26]. Кроме того, проводились исследования, касающиеся взаимосвязи уровня физического развития и риска развития заболевания. Обнаружено, что пациенты с ЛХ имеют более высокую массу тела и рост, чем население в контрольных группах, что также не исключает роль социально-экономического развития [22], хотя в других исследованиях такой взаимосвязи не обнаружено [27].

Таким образом, проведенные эпидемиологические исследования по выявлению закономерностей распространения ЛХ показывают различный риск развития заболевания в зависимости от возраста, расы/этнической принадлежности, пола, а также уровня экономического положения в стране, выявлена взаимосвязи повышенного риска заболевания в молодом возрасте с инфицированностью Эпштейн-Бар вирусом. Остается еще много нерешенных вопросов по взаимодействию влияния средовых факторов на развитие болезни, и также возникновения того или иного гистологического варианта ЛХ, поэтому для изучения и определения роли вклада факторов риска необходимо проводить продолжать проводить эпидемиологические исследования, охватывающие большие группы пациентов.

Список литературы:

1. Демина Е. А. Лимфома Ходжкина: от Томаса Ходжкина до наших дней. Клиническая онкогематология. Том 1 № 2 2008 114-118
2. Ильин Н.В., Виноградова Ю.Н., Николаева Е.Н., Акимов А.А., Шендерова И.А., Иванова Е.И., Смирнова Е.В., Крицкая А.В., Червяков А.М., Костеников Н.А., Тлостанова М.С. Лимфомы. СПб: ФГУ «РНЦРХТ», 2010. – 272 с.
3. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). Под редакцией., Москва, 2014.
4. Мерабишвили В.М. Онкологическая служба Санкт-Петербурга в 2001 г. СПб.: Изд-во НИИХ СПбГУ, 2002. – 98 с.
5. Недавняя И.О. Эпидемиологические особенности заболеваемости гемобластозами в регионе Сибири и Дальнего Востока. Дис. Канд. Мед.наук - Томск- 2003 -167 с
6. Andreas Engert, Sandra J., editors. *Horning Hematologic Malignancies: Hodgkin Lymphoma. A Comprehensive Update on Diagnostics and Clinics*, 2009. 381 p.

7. Berenguer J., Miralles P., Ribera J.M., Rubio R., Valencia E., Mahillo B., Pintado V., Palacios R., Montes M.L., Téllez M.J., La Cruz J., Torre-Cisneros J., Rodríguez-Arondo F., Sepúlveda M.A., Gutiérrez F., Peralta G., Boix V. Characteristics and outcome of AIDS-related Hodgkin lymphoma before and after the introduction of highly active antiretroviral therapy. *JAIDS*. 2008;47(4):422–8.
8. Biggar R.J., Jaffe E.S., Goedert J.J., Chaturvedi A., Pfeiffer R., Engels E.A. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood*. 2006;108(12):3786–91.
9. Besson H., Brennan P., Becker N., De Sanjosé S., Nieters A., Font R., Maynadié M., Foretova L., Cocco P.L., Staines A., Vornanen M., Boffetta P. Tobacco smoking, alcohol drinking and Hodgkin's lymphoma: a European multi-centre case-control study (EPILYMPH). *Br J Cancer*. 2006;95(3):378–84.
10. Correa P, O'Connor GT. Epidemiologic patterns of Hodgkin's disease. *Int J Cancer*. 1971;8(2):192–201.
11. Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin DM., Forman D., Bray F. Incidence/mortality data. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on day/month/year.
12. Ferlay J, Bray F, Pisani P, et al. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. In: IARC CancerBase No 5 version 20. Lyon: IARC Press; 2004.
13. Forman D., Bray F., Brewster D.H., GombeMbalawa C., Kohler B., Piñeros M., Steliarova-Foucher E., Swaminathan R. and Ferlay J., eds (2013) Cancer Incidence in Five Continents, Vol. X (electronic version) Lyon, IARC. <http://ci5.iarc.fr> last accessed on [date].
14. Gorini G., Stagnaro E., Fontana V., Miligi L., Ramazzotti V., Amadori D., Rodella S., Tumino R., Crosignani P., Vindigni C., Fontana A., Vineis P., Seniori Costantini A. Alcohol consumption and risk of Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma: a multicentre case-control study. *Ann Oncol*. 2007;18(1):143–8.
15. Homer MJ, Ries LAG, Krapcho M, et al., editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2009.
16. Hjalgrim H, Seow A, Rostgaard K, et al. Changing patterns of Hodgkin lymphoma incidence in Singapore. *Int J Cancer*. 2008;123(3):716–9.
17. Hjalgrim H. On the aetiology of Hodgkin lymphoma. *Dan Med J*. 2012 Jul;59(7):B4485.
18. Jarrett R.F. Risk factors for Hodgkin's lymphoma by EBV status and significance of detection of EBV genomes in serum of patients with EBV-associated Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2003;44 Suppl 3:S27-32.
19. Kamper-Jørgensen M., Rostgaard K., Glaser S.L., Zahm S.H., Cozen W., Smedby K.E., Sanjosé S., Chang E.T., Zheng T., La Vecchia C., Serraino D., Monnereau A., Kane E.V., Miligi L., Vineis P., Spinelli J.J., McLaughlin J.R., Pahwa P., Dosman J.A., Vornanen M., Foretova L., Maynadié M., Staines A., Becker N., Nieters A., Brennan P., Boffetta P., Cocco P., Hjalgrim H. Cigarette smoking and risk of Hodgkin lymphoma and its subtypes: a pooled analysis from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). *Ann Oncol*. 2013;24(9):2245-55
20. Koh Y.W., Kang H.J., Yoon D.H., Suh C., Kim J.E., Kim C.W., Huh J. Changing trend of Epstein-Barr virus association in Hodgkin lymphoma in the Republic of Korea. *Ann Hematol*. 2013 Dec; 92(12).
21. Klatsky A.L., Li Y., Baer D., Armstrong M.A., Udaltsova N., Friedman G.D. Alcohol consumption and risk of hematologic malignancies. *Ann Epidemiol*. 2009;19(10):746–53.
22. Keegan T.H., Glaser S.L., Clarke C.A. Body size, physical activity and risk of Hodgkin lymphoma in women. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 2006;15:1095–101.
23. Macfarlane G, Evstifeeva T, Boyle P, et al. International patterns in the occurrence of Hodgkin's disease in children and young adult males. *Int J Cancer*. 1995;61(2):165–9.
24. Nieters A., Deeg B., Becker N. Tobacco and alcohol consumption and risk of lymphoma: results of a populationbased case-control

- study in Germany. *Int J Cancer*. 2006; 118(2):422–30.
25. Sergentanis T.N., Kanavidis P., Michelakos T., Petridou E.T. Cigarette smoking and risk of lymphoma in adults: a comprehensive meta-analysis on Hodgkin and non-Hodgkin disease. *Eur J Cancer Prev*. 2013 Mar; 22(2):131-50.
26. Willett E.V., O'Connor S., Smith A.G., Poman E. Does smoking or alcohol modify the risk of Epstein-Barr Virus-positive or -negative Hodgkin lymphoma? *Epidemiology*. 2007;18(1): 130–6.
27. Willett E.V., Roman E. Obesity and the risk of Hodgkin lymphoma (United Kingdom). *Cancer Causes Control*. 2006;17:1103–6.

Ю.В. Орлов

РОЛЬ ДИСМИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ В ФОРМИРОВАНИИ АКУШЕРСКОЙ ПАТОЛОГИИ У БЕРЕМЕННЫХ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ

Purpose: assessment of feature of a course of pregnancy, labors, the perinatal period in the conditions of influence of adverse factors of environment in the region with the increased ecological intensity.

Methods: studying of the social and obstetric anamnesis, somatic status, course of the real pregnancy and labors; clinics and biochemical blood analyses of pregnant women and newborns, according to indications and demands of medico-economic standards.

Results: together with the standard clinics-laboratory researches indicators of the maintenance of trace substances serve in biological substrates of pregnant women as the indicator of an ecological situation and are criterion of probability of development of complications of a course of pregnancy, labors, the perinatal period and allow to allocate groups of risk on obstetric pathology.

Keywords: ecology, multifunctional system mother-fetus, microelement homeostasis, anthropogenous environmental pollution.

В прошлом XX веке цивилизация впервые столкнулась с глобальными и ошеломляющими переменами. Всего лишь одно поколение людей наблюдало невероятный взлёт научно-технического прогресса и, в свою очередь, негативное отношение к природе и её богатствам. В.И. Вернадский в 1940 году говорил: «Общество становится в биосфере единственным в своём роде агентом, могущество которого растёт с ходом времени с всё увеличивающейся быстротой... Оно становится всё более независимым от других форм жизни и эволюционирует к новому жизненному проявлению». Мог ли он предполагать, что буквально через несколько десятилетий самая консервативная из научных дисциплин – медицина –

вынуждена будет обратить внимание на проблемы взаимоотношений между человеком и окружающей средой. Принимать срочные и, главное, действенные меры по предотвращению отрицательных влияний продуктов жизнедеятельности человека на его организм. Так возникла специальная научная дисциплина «Экология человека», которая, являясь достаточно молодой, берётся решать поставленные задачи.

Мы знаем, что любое направление научных знаний берёт своё начало из глубины веков. Великий врач древности Гиппократ (ок. 460-370 гг. до н.э.) не только описал влияние факторов внешней среды на здоровье человека, но и определил различия данных влияний на народы, жившие на

европейском, азиатском и африканском берегах Средиземного моря. В его выводах мы видим чёткие доказательства того, что окружающие факторы внешней среды и образ жизни человека оказывают непосредственное влияние на формирование его телесных (конституция) и духовных (темперамент) свойств.

Так постепенно сформировалось понятие об экологии (от греч. *oikos* – дом и *logos* – наука) как науке об отношениях растительных и животных организмов и их сообществ друг с другом и с окружающей их средой. Другими словами, о доме, непосредственными жителями которого являются люди, и всеми факторами, воздействующими на них как извне, так и внутри него.

Таким своего рода биологическим домом является организм женщины с главным предназначением её – сохранением и продолжением рода. Вот почему внимание специалистов нацелено на охрану такой тонкой сферы, как репродуктивная. Слово «репродукция» происходит от латинского *re...* – вновь, повтор и *produco* – произвожу; воспроизведение организмами себе подобных.

Ещё недавно проблемы влияния «экологии» на репродукцию и в целом на весь организм человека практически не существовало. Но сегодня в условиях техногенного загрязнения окружающей среды воздействие неблагоприятных факторов выходит на одно из первых мест. Стойкое загрязнение воздуха, воды, почвы не может не отразиться на организме человека и не затронуть наиболее уязвимую из сфер жизнедеятельности – репродуктивную сферу.

Показано, что в условиях загрязнения окружающей среды нормальное течение беременности и родов имеет место лишь у 20% женщин, у большинства же выявляются различные патологические состояния.

Формируется порочный круг, при котором загрязнение окружающей среды усугубляет течение беременности и родов, что в свою очередь приводит к рождению более ослабленного поколения детей. На них тот же уровень загрязнения окружающей среды оказывает более неблагоприятное воздействие, чем на предыдущие поколения, не подвергавшиеся аналогичным влияниям.

После оплодотворения, с момента формирования так называемой функциональной системы мать-плод (ФСМП), женщины сами становятся средой обитания для другого организма, то есть экосистемой более высокого уровня. Поэтому исследование экологии ФСМП представ-

ляет одну из важнейших и в то же время наименее разработанных сторон проблемы экологии человека. Речь идёт не об обычном типе взаимодействия – «окружающая среда – организм человека», а о более сложном типе – окружающая среда 1 – беременная как окружающая среда 2 – плод.

По данным института общей генетики РАН, действие на людей и окружающую среду химических и физических факторов может вести к угрозе существования биологически полноценного населения. Специалисты считают, что заболевания, обусловленные генетическими нарушениями, затрагивают до 10% населения России. Речь идёт о таких видах патологии как бесплодие, внутриутробная смерть, пороки развития, являющиеся причиной гибели в первые дни и годы жизни.

В связи с этим является актуальной оценка частоты патологии, возникающей до и во время беременности и родов, в районах с напряжённой или критической экологической ситуацией. Причинами таких патологических состояний в данном случае могут быть как дефицит жизненно необходимых веществ, так и избыток эссенциальных микроэлементов. Безусловно решающим в развитии дисмикроэлементозов является воздействие химических токсикантов на организм матери, загрязняющих окружающую среду.

До последнего времени при изучении взаимодействия витаминов, макро- и микроэлементов, участвующих в метаболизме организма беременной, специалисты справедливо выделяли избыток или недостаток определённого микроэлемента, поддерживающего гемостаз системы мать-плод. Но на современном этапе всё более часто исследователи при изучении неблагоприятных экзогенных факторов на организм человека опираются на сложнейшее взаимодействие комплекса макро- и микроэлементов, определяющих баланс экологического состояния организма беременной и плода.

В последнее время специалисты постоянно обращаются к научным исследованиям влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на организм женщин, которое приводит к нарушению физиологического состояния репродуктивной функции как наиболее уязвимой к такого рода воздействиям. Большая роль в нарушении репродукции у женщин отводится антропогенному загрязнению биосферы.

Очевидно, что влияние на репродуктивную сферу женщин является многофакторным. Нема-



Они являются второй по порядку метаболической активности тканью после костного мозга. Среди преимуществ волос как биохимического индикатора и материала для анализа следует отметить следующие: простота отбора и хранения материала; высокие по сравнению с другими биосубстратами (кровь, моча) концентрации микроэлементов; сочетание в волосах экскреторной и аккумулирующей функций, что даёт возможность ретроспективного анализа и прогноза микроэлементного баланса во времени.

В результате исследования было выявлено, что течение беременности, родов и перинатального периода в условиях устойчивой экологической напряжённости характеризуется тенденцией к росту частоты анемий беременных, гестоза, угрозы прерывания беременности, преждевременных родов, ЗВУР плода, желтухи новорождённых, развития крупного плода. Отмечена достоверно значимая зависимость угрозы прерывания беременности и гипоксии плода – от неблагоприятных условий проживания ($P < 0,03$); крупного плода – от условий проживания ($P < 0,04$) и профессиональной вредности матери ($P < 0,02$); ЗВУР плода – от длительности проживания в условиях экологического неблагополучия и особенностей питания ($P < 0,02$); преждевременных родов – от питания ($P < 0,001$).

При нарушении баланса микроэлементов во время беременности отмечено более частое развитие таких осложнений, как угроза прерывания беременности, преждевременное отхождение околоплодных вод, гестоз, анемия. Изменение баланса микроэлементов при этом характеризуется повышением содержания эссенциальных элементов Pb ($P < 0,01$), Cd ($P < 0,01$), Cu ($P < 0,05$), Co ($P < 0,02$), и уменьшением концентраций Zn ($P < 0,05$) в волосах беременных. При ЗВУР и гипоксии плода, появлении желтухи у новорождённого, наличии крупного плода отмечено уменьшение концентраций Zn ($P < 0,04$) и Cu ($P < 0,01$) при повышенном содержании Co ($P < 0,01$), Ni ($P < 0,05$), Cd ($P < 0,01$) в волосах беременных.

Выводы: проведённые исследования свидетельствуют о том, что вместе с общепринятыми клинико-лабораторными исследованиями показатели содержания микроэлементов в биологических субстратах беременных служат индикатором экологической ситуации и являются критерием вероятности развития осложнений течения беременности, родов, перинатального периода и позволяют выделить группы риска по акушерской патологии.

В условиях региона с высокой антропогенной нагрузкой беременные нуждаются в исключении и профилактике поступления техногенных продуктов в организм, проведении своевременной детоксикации и коррекции микроэлементного дисбаланса. Назначение эссенциальных макро- и микроэлементов в определённых дозах, с целью выведения вредных веществ, позволяет корректировать химический состав организма беременной и поддерживает естественный гомеостаз в системе мать-плод. Данные препараты должны быть рекомендованы строго по назначению врача, имеющего на руках результаты показателей микроэлементного обмена организма беременной. Включение в комплексную терапию естественных биостимуляторов, а также препаратов фитотерапии и витаминов, оказывающих общеукрепляющее действие как во время, так и до наступления запланированной беременности, также способствует нормализации микроэлементного баланса и является профилактикой осложнений течения беременности, родов, перинатального периода.

1.

2.

3.

4.

5.

6.

2007.

7.

- -12.

2005.

8. 2005.
12.
2003. -
- 9.
10. 115
- 13.
11. 14.
- 2010.

Пизаваев А.А.¹, Тумаков И.Ж.², Яковлев Сергей Георгиевич³

РАХИТ У ДЕТЕЙ ДО ГОДА В ЧУВАШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ (ВОПРОСЫ ЭПИДЕМИОЛГОГИИ)

¹

²

³

;

;

Актуальность. Проблема недостаточности витамина D у детей раннего возраста является архиважной для России, поскольку большая часть территории расположена выше 42-й географической широты [6, 7]. Между южными и северными регионами нашей страны имеются значительные различия в географическом расположении, длительности светового дня и продолжительности холодного периода года [2]. В ноябре 2013 г. стартовало многоцентровое, проспективное, когортное, фармакоэпидемиологическое исследование, целью которого является оценка обеспеченности витамином D детского населения младшей возрастной группы (до 3 лет) в Российской Федерации и реальной практики фармакотерапии/профилактики рахита и недостаточности витамина D. Изучение распространенности недостаточности витамина D у детей различных регионов России позволит разработать научно обоснованные современные рекомендации для педиатров по ее предупреждению и своевременной коррекции [1, 3].

Среди болезней, связанных с нарушением обмена веществ, особую роль занимает нарушение фосфорно-кальциевого обмена (рахит). Для детей первого года жизни особую опасность

представляют такие грозные осложнения рахита, как застойная пневмония и нарушение ритма и проводимости сердечной мышцы, в результате нарушения поступления кальция в мышечную ткань. Кроме этого отсутствие профилактики и лечения рахита в детском возрасте приводит к необратимой деформации опорно-двигательного аппарата, которое проявляется в виде деформации грудной клетки (грудь сапожника, килевидная, ладьевидная, воронкообразная); краниотабес: деформация черепа (квадратный, седловидный, рахитическая брахицефалия, "олимпийский" лоб); деформации таза: плоскоррахитический и кососмещенный [5, 9]. Таким образом, в работах отечественных ученых отчетливо показано, что среди детей, находящихся на искусственном вскармливании, такие алиментарно-зависимые состояния, как рахит, гипотрофия, функциональные расстройства кишечника диагностируются в 1,3 раза, а анемия - в 1,7 раза чаще, чем в популяции [4, 8].

Цель исследования. Изучить эпидемиологию заболеваемости рахитом у детей до года и степень тяжести проявлений заболевания в Чувашской республике.

Материалы и методы исследования.

Исследовались амбулаторные карты больных, клинические истории болезни 2205 детей, страдающих рахитом за период с 2009 по 2013 год. Сведения о количестве детей в возрасте до года получали из официальных источников\

Результаты исследования. В ходе научного исследования была диагностирована следующая эпидемиологическая ситуация по рахиту. Так в 2009 году рахит диагностирован у 297 детей до года, в 2010 году – у 485 респондентов, в 2011 году – у 549 человек, в 2012 году – у 461 человек, а в 2013 году – у 413 человек. Полученные данные мы подвергли стандартизации и рассчитали заболеваемость рахитом у детей до года на 1000 всех детей в г. Чебоксары этого возраста. В результате установлено, что заболеваемость рахитом у детей до года в 2009 году составила 2,3%. В последующие годы отмечалась четкая тенденция к возрастанию заболеваемости. Так, в 2010 году заболеваемость составила 3,8%. Пик выявления данной патологии приходится на 2011 год и составил 4,0%. С 2012 года наблюдается снижение заболеваемости рахитом до 3,3%, а на 2013 год уже составляет 2,8%.

Заключение. Таким образом, по результатам научного изыскания можно сделать констатировать, что с 2012 года наблюдается четкая тенденция к снижению заболеваемости рахитом у детей до года. Скорее всего, это связано с тем, что проводимые скрининговые мероприятия направленные на своевременное выявление больных с начальными признаками рахита, нашли отражение в своевременной профилактике и лечении этой патологии.

Список литературы:

1. Захарова И.Н., Яблочкова С.В., Дмитриева

Ю.А. Известные и неизвестные эффекты витамина D. Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (2): 20-25.

2. Недостаточность витамина d у детей раннего возраста в россии (результаты многоцентрового исследования - зима 2013-2014 гг.) //Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2014. Т. 93. № 2. С. 75-80.
3. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes //Am. J. Clin. Nutr. 2006. №84. P. 18-28.
4. Borodulina T.V., Sannikova N.Ye., Malyamova L.N. Innovations in nutrition as risk-decreasing factor of alimentary-dependent diseases in infants //Вопросы современной педиатрии. 2011. Т. 10. № 4. С. 111-114.
5. Cranney A, Horsley T, O'Donnell S, et al. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health //Evid. Rep. Technol. Assess. 2007. №158. P. 1-235.
6. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health //Mayo Clin. Proc. 2006. №81(3). P. 353-373.
7. Holick MF. Vitamin D deficiency //N. Engl. J. Med. 2007. №357. P. 266-281.
8. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application //Ann. Epidemiol. 2009. №19 (2). P. 73-78.
9. Munns C, Zacharin MR, Rodda CP, et al. Prevention and treatment of infant and childhood vitamin D deficiency in Australia and New Zealand: a consensus statement //MJA. 2006. №185. P. 268-272.

Платова А.И.¹, Мирошниченко И.И.¹

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ЛЕТРОЗОЛА

1-

POPULATION PHARMACOKINETIC ANALYSIS OF LETROZOLE.

Platova A.I.¹, Miroshnichenko I.I.¹, 1- The Mental Health Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences

Abstract.

Population pharmacokinetics (PK) studies usually suppose to include in analysis drug concentration data from many patients. In the context of this approach possibility to study different demographic or physiological factors (age, race, smoking, renal or hepatic function etc., for instance) that exert influence on PK [2; 4; 9].

Development and active application of new mathematical techniques into biomedical researches sector determined to reveal the population PK patterns on relatively small or not too heterogeneous samples, i.e. samples with limited heterogeneity in range of individual characteristics.

So, at first nonlinear mixed effects models (NLME) creating and then SAEM algorithm (stochastic approximation algorithm for maximum-likelihood estimation) allow to reveal and to predict the patterns of course of drug depending on presence or degree of manifestation of individual characteristics (covariates). Moreover, there are not necessary for many number of observations.

Scope of the research included population PK study of letrozole in women in post-climacteric period. Population PK approach (Monolix v.4.2.2.) was used for data after single dosing of brand or generic drugs of letrozole.

Letrozole pharmacokinetics optimal characterized by two-compartmental model with one-order absorption and elimination.

Volume of distribution central compartment (V₁) exhibited a direct correlation with body mass index (BMI) so means possible decrease antitumor efficacy of letrozole in patients with increased BMI.

as direct dependence of intercompartmental clearance (Q) from plasma peptide levels may be of interest to further researches.

PK of the compared drugs was independent from factor "brand-generic" by results of NLME analysis.

Key words: population pharmacokinetics, letrozole, NLME, SAEM.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 32 женщины в возрасте от 45 до 55 лет в постклимактерическом периоде. Разрешение (№ 677) на проведение клинического исследования было получено от Департамента государственного регулирования обращения лекарственных средств было получено 31 января 2012 г.

Индивидуальные характеристики (ковариаты) участников исследования, собранные во

время скрининга перед началом исследования включали: общий анализ крови, биохимический анализ крови и демографические показатели (возраст, масса, рост).

Отбор крови (по 5 мл) проводили через 0,33; 0,66; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 12; 24; 48; 72; 96; 120; 144; 168 и 216 часов после приема летрозола в дозе 2,5 мг.

Количественное определение летрозола в плазме крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [3] на жидкостном хроматографе Agilent 1200 Series LC, совмещенном с квадрупольным масс-спектрометром Agilent 6410-2K Triple Quad (США). Условия хроматографического анализа: стационарная фаза - колонка «Zorbax Bonus-RP» фирмы Agilent (100x2.1 мм; 3.5 мкм); элюент - смесь метанола и 0,2% раствора муравьиной кислоты в воде (70/30, по объему); скорость элюирования - 0,3 мл/мин; объем пробы, вводимой в аналитическую систему - 5 мкл; температура термостата колонки - 20°C, температура термостата инжектора - 15°C. Времена удерживания составляли 2,10±0,02 мин для летрозола и 1,31±0,03 для внутреннего стандарта (оланзапин). Детектирование проводилось при положительной электро-спрей-ионизации, в режиме мониторинга множественных реакций с переходами 286,1→217,1 и 313,0→256,0 для летрозола и оланзапина, соответственно. Для извлечения препаратов из матрицы биообразцов использовали твердофазную экстракцию на патронах SOLA-RP (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Нижний предел количественного определения составлял 0,25 нг/мл при отношении сигнал/шум, равном 11,72.

Для проведения популяционного моделирования использовалась программа Monolix v.4.2 (Lixoft, Франция).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

основывается на сравнении качества соответствия разных моделей для одного набора данных с помощью информационных критериев: Байеса (BIC), Акаике (AIC) и -2LL (-2 Log-

likelihood). При тестировании различных ФК моделей наилучшее соответствие предсказанных и измеренных данных было получено для двухкамерной модели с линейной абсорбцией и элиминацией. Двухкомпарментная модель была определена как оптимальная и другими исследователями [8]. В публикации [12] применялась однокамерная модель: однако ее выбор не был обоснован величиной функции максимального правдоподобия и, вероятно, такой подход был принят для упрощения интерпретации ФК параметров.

Во всех исследованиях элиминация летрозола после однократного приема рассматривалась как линейный процесс и описывалась кинетикой первого порядка. Интересно заметить, что по полученным данным, а также данным других исследователей [12] абсорбция летрозола соответствовала кинетике первого порядка, а в работе [8] - нулевому порядку. Данные, подтверждающие наличие активного транспорта летрозола при абсорбции, отсутствуют. Однако фаза абсорбции ФК кривой определяется не только процессами всасывания лекарственного средства в желудочно-кишечном тракте, но и пресистемным метаболизмом в стенке кишечника и при первом прохождении через печень. Насыщение ферментативного процесса в этом случае будет "склонять" модель в сторону нулевого порядка, а интенсивная диффузия - в сторону первого порядка.

. На основании величин информационных критериев, представленных в таблице 1, остаточная (резидуальная) ошибка была определена как (по минимальному значению информационных критериев - для максимизации функции правдоподобия).

Таблица 1

Влияние типа ошибки на качество модельных предсказаний.

Тип (модель) остаточной ошибки, приведена р-величина для теста отношения вероятностей (LRT)	Информационные критерии		
	AIC	BIC	-2LL
Постоянная	3707,8	3723,9	3685,8
Пропорциональная (p<0,0001, при сравнении с постоянной моделью)	3619,8	3636,0	3597,8
Экспоненциальная	4860,2	4877,8	4836,2
Комбинированная (p<0,0001, при сравнении с пропорциональной моделью)	3599,5	3617,1	3575,5

Для каждого участника исследования был собран набор индивидуальных характеристик (ковариат). В первую очередь интерес представляло:

(1) тестирование возможного влияния показателей печеночной функции, в частности аланин-трансаминазы (АЛТ) на системный и пресистемный (в ходе абсорбции) клиренс летрозола: с учетом основной роли печени в его элиминации

посредством ферментативной биотрансформации;

(2) влияние возраста - на клиренс;

(3) влияние уровней общего белка и альбумина крови на межкамерный клиренс (летрозол в значительной степени - на 80%, связывается с белками плазмы, что может влиять на его распределение между камерами);

(4) влияние ИМТ (индекса массы тела), BSA (площади поверхности тела) - на объемы распределения в центральной (V1) и периферической камерах (V2): такие закономерности смогли бы объяснить сниженную эффективность у пациентов с повышенной массой тела при гормонположительном раке молочной железы (ГПРМЖ).

После исходного анализа зависимостей изучаемых ФК-параметров от различных факто-

ров (ковариат) проводили пошаговое тестирование в соответствии с принципами анализа при нелинейном моделировании со смешанными эффектами (NLME).

Изначально показавшие достоверность зависимости объема распределения в периферической камере (V2) от уровня гемоглобина и креатинина являются физиологически необоснованными, и на 2-м этапе (при "обратном" тестировании в виде пошагового удаления ковариат) эти зависимости показали недостоверность (по тесту отношения вероятностей) и были исключены из результирующей модели.

При учете сформированных зависимостей в популяционной модели возростала степень правдоподобия популяционных оценок (таб. 2).

Таблица 2

Результаты тестирования влияния различных ковариат на ФК-параметры
(оценка по методу Монте-Карло).

С учетом влияния ковариат на ФК параметр	-2LL	AIC	BIC	p-величина (тест Вальда)
исходные оценки (без ковариат)	3576,0	3600,0	3617,6	-
АЛТ на Ка	3552,18	3584,18	3607,6	0,034
ИМТ на V1	3542,8	3570,8	3509,3	0,014
общ. белок на Q	3527,3	3557,3	3579,3	0,038

На основе определенных корреляций была сформирована результирующая популяционная модель, описываемая формулами:

$$K_{a_i} = 1,67 * \exp(-0,03 * \text{АЛТ}) * \exp(\eta_i K_{a_i});$$

$$Q_i = 0,086 * \exp(0,075 * \text{общ. белок}) * \exp(\eta_i Q_i);$$

$$V_{1_i} = 9,8 * \exp(0,05 * \text{ИМТ}) * \exp(\eta_i V_{1_i}); \text{ где } K_{a_i}, V_{1_i}$$

и Q_i - соответствующие ФК параметры для индивида i , а $\eta_i K_{a_i}$, $\eta_i V_{1_i}$ и $\eta_i Q_i$ - отклонение ФК параметра индивида i от популяционного среднего, которое находится в пределах нормально расположенной совокупности значений межиндивидуальной вариабельности:

$$\eta K_{a_i} \sim N(0; 0,39^2) \text{ или } \eta K_{a_i} \sim N(0; 0,15),$$

$$\eta Q_i \sim N(0; 0,16^2) \text{ или } \eta Q_i \sim N(0; 0,03),$$

$$\eta V_{1_i} \sim N(0; 0,06^2) \text{ или } \eta V_{2_i} \sim N(0; 0,0036).$$

Учет влияния этих факторов в финальной популяционной модели позволил снизить межиндивидуальную вариацию (CV%): для константы абсорбции - с 49,5% до 38,6%; для межкамерного клиренса - с 26,8% до 16,3%; для объема

распределения в центральной камере - с 11,2% до 5,7%. При этом было достигнуто общее улучшение качества предсказаний, выражаемое снижением величины функции правдоподобия (-2LL) от 3576,0 до 3527,3.

Рисунок 1 наглядно демонстрирует выявленные зависимости.

Определенная зависимость V1 от ИМТ согласуется с данными крупного исследования (n=261), проведенного у пациенток с ГПРМЖ [6]. В отличие от результатов этого исследования у нас не было выявлено достоверного влияния возраста на клиренс, что объясняется незначительным разбросом по возрасту в исследуемой выборке (45-55 лет). Так, в исследование [6] включали женщин с гормональным статусом, соответствующим климактерическому состоянию, а разброс возраста составлял, начиная от 18 лет и старше. Такие доводы согласуются с результатами другого исследования [11], в котором принимали участие женщины в постклимактерическом периоде возрастом до 70 лет, где также не было выявлено влияния возраста на ФК летрозола.

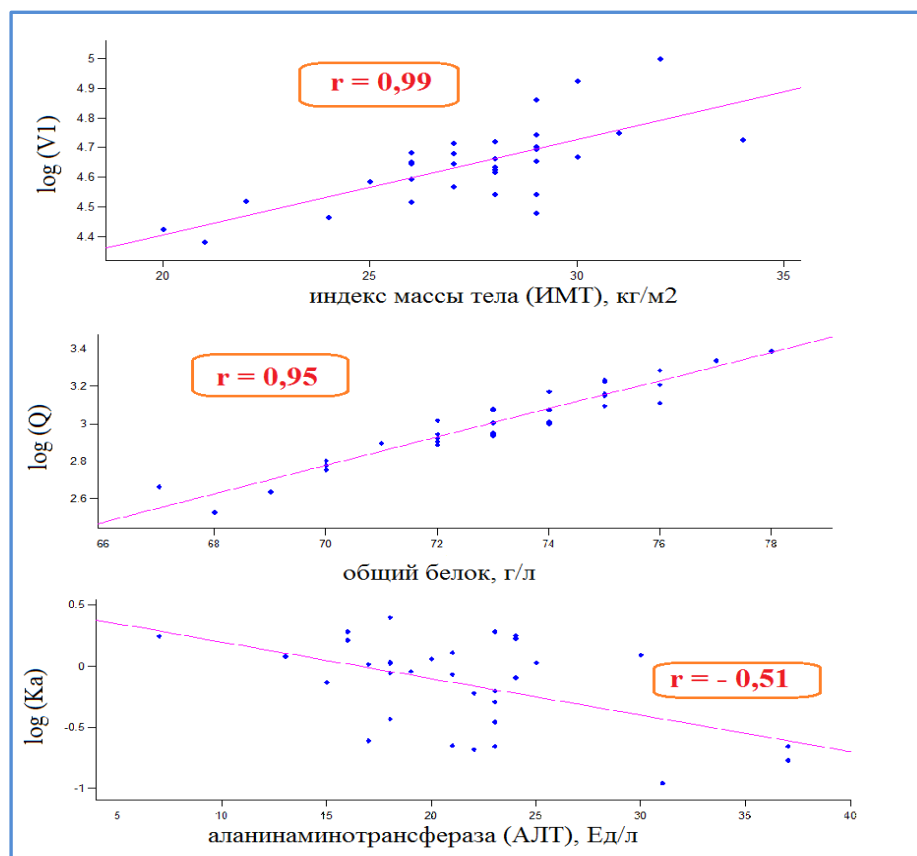


Рисунок 1 Графики корреляционных зависимостей для летрозолола (r- коэффициент корреляции).

Очевидно, что корреляция V1 и ИМТ имеет важное практическое значение: летрозол является сильно липофильным веществом, и чем больше массовая доля жиросодержащих тканей (как компартамента) присутствует в организме, тем более низкие концентрации летрозолола будут обнаруживаться в крови и межтканевой плазме (центральная камера). Основные количества ароматазы продуцируются в опухолевой ткани молочной железы, которая хорошо васкуляризована, а значит, является частью центральной камеры. Очевидно, что противоопухолевая эффективность летрозолола как ингибитора ароматазы будет определяться его концентрацией в центральной камере. Поэтому увеличение V1 (при увеличении ИМТ) является неблагоприятным фактором для противоопухолевой эффективности, так как означает меньшие концентрации летрозолола в центральной камере и таргентной опухолевой ткани, соответственно.

Ранее [7] было показано, что эффективность летрозолола (оцененная по степени снижения плазменных уровней эстрона и эстрадиола) одинакова в интервале доз 0,5-2,5 мг/сутки и при соответствующих этим дозам равновесных концентрациях: 12-15 нг/мл и 100-143 нг/мл. Поэтому, в

диапазоне обнаруженного влияния ИМТ на ФК летрозолола, при дозировании 2, 5 мг не следует ожидать значимого снижения противоопухолевой эффективности у пациенток с большим индексом массы тела. Тем не менее, выявленная и согласующаяся с данными других исследований закономерность может иметь важное практическое значение.

Общий белок крови показал очень тесную связь ($r = 0,95$) с межкамерным клиренсом (Q). Доля летрозолола, связанного с плазменными белками (в основном с альбумином) составляет 60% [1]. Величина Q условно характеризует клиренс из центральной камеры в периферическую, при этом межкамерный клиренс связан с константой K_{12} и объемом V1 соотношением: $Q = V1 * K_{12}$. Отсюда понятна прямая зависимость Q от уровня белка: чем больше содержание в плазме белка, тем больше лекарственного вещества содержится в центральной камере (кровь и межтканевая жидкость) - и тем больше V1. Вместе с тем, не была выявлена зависимость V1 от альбумина крови. Поэтому, несмотря на статистическую достоверность такой находки, вполне возможно, что она является случайной, а значит, требует подтверждения другими популяционными исследованиями.

Так как летрозол очень быстро всасывается в кровь при пероральном введении, а его биодоступность (в соответствии с инструкцией по медицинскому применению) составляет практически 99,9%, очевидно, что практически сразу после приема плазменные концентрации будут в основном определяться скоростью печеночного метаболизма - при первом прохождении через печень (в рамках пресистемной элиминации). Такими соображениями может объясняться выявленная зависимость константы абсорбции от АЛТ как показателя печеночной активности. Таким образом выявленная отрицательная корреляция константы абсорбции (K_a) от АЛТ может представлять интерес для будущих исследований, которые смогут улучшить понимание процессов абсорбции и метаболизма летрозола.

С помощью нелинейного моделирования смешанных эффектов (NLME) было проведено тестирование гипотез влияния на ФК категориальных ковариат-факторов: "препарат", "последовательность" и "период/случай", при этом значимости такого влияния выявлено не было.

Предложенный методологический подход популяционного анализа массива данных, полученных при исследовании биоэквивалентности, позволит расширить рамки постмаркетингового изучения лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Государственный реестр лекарственных средств. Инструкция по применению лекарственного препарата по медицинскому применению Фемара® [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.grls.rosminzdrav.ru>.
2. Платова А.И., Сергеева С.А., Мирошниченко И.И. Популяционная фармакокинетика: состояние и перспективы. / Ремедиум, 2014, №1-2., С.18-20.
3. Платова А.И., Мирошниченко И.И., Птицина С.Н., Юрченко Н.И. Быстрый и чувствительный хроматомасс-спектрометрический метод количественного определения летрозола с использованием твердофазной экстракции из плазмы крови человека и его применение в фармакокинетических исследованиях. Хим. Фарм. Журнал, 2014 Т. 48, №4, С. 47-52.
4. Bauer R.J., Guzy S., Chee N. A survey of population analysis methods and software for complex pharmacokinetic and pharmacodynamic models with examples. AAPS J. 2007; 9 (1): E60-E83.
5. Beal, S. L. NONMEM users guides [In EDS] / S. L. Beal, L. B. Sheiner. - Text data.- San Francisco.: NONMEM Project Group. University of California, CA, 1992.- (CD-ROM).
6. Desta Z., Kreutz Y., Nguyen A.T., Li L., Skaar T., Kamdem L.K., Henry N.L., Hayes D.F., Storniolo A.M., Stearns V., Hoffmann E., Tyndale R.F., Flockhart D.A.. Plasma letrozole concentrations in postmenopausal women with breast cancer are associated with CYP2A6 genetic variants, body mass index, and age. Clin.Pharmacol Ther. 2011; 90 (5): 693-700.
7. FDA. CDER. NDA 20-726. Clinical pharmacology biopharmaceutics review(s) (PDF) [Электронный ресурс]. 1997. Режим доступа: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/97/20726_FEMARA%202.5MG_BIO PHARMR.PDF
8. Jin S.J., Jung J.A., Cho S.H., Kim U.J., Choe S., Ghim J.L., Noh Y.H., Park H.J., Kim J.C., Jung J.A., Lim H.S., Bae K.S. The pharmacokinetics of letrozole: association with key body mass metrics. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. 2012; 50 (8): 557-65.
9. Joerger M. Covariate pharmacokinetic model building in oncology and its potential clinical relevance. The AAPS Journal. 2012; 14 (1): 119-32.
10. Lavielle M., Mentre F. Estimation of population pharmacokinetic parameters of saquinavir in HIV patients with the MONOLIX software. J. Pharmacokin. Pharmacodyn. 2007; 34 (2): 229-49.
11. Pfister C.U., Martoni A., Zamagni C., Lelli G., De Braud F., Souppart C., Duval M., Hornberger U. Effect of age and single versus multiple dose pharmacokinetics of letrozole (Femara) in breast cancer patients. Biopharm. Drug Dispos. 2001; 22: 191-97.
12. Tani H., Shitara Y., Horie T. Population pharmacokinetic analysis of letrozole in Japanese postmenopausal women. Eur. J. Clin. Pharmacol. 2011; 67: 1017-25.

Н.В. Малюжинская, О.В. Полякова, А.А. Токарева, К.В. Кожевникова

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ФЛУТИКАЗОНА ПРОПИОНАТОМ В РЕЖИМЕ STEP UP У ДЕТЕЙ 3-6 ЛЕТ С НЕКОНТРОЛИРУЕМОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

1

2

3

4

Abstract

The goal of asthma treatment - is to achieve and maintain long-term control of symptoms and lung function by determining the resistance of the airway by a brief interruption of airflow. A particular difficulty - is the diagnosis and treatment of patients of preschool age, which accounted for the studied group. Existing national guidelines and consensus documents do not give a clear answer to the question about the choice of therapy mode step up for children 3 - 6 years. Step up therapy of fluticasone propionate in the regime medium doses can control symptoms for a long time and contributes to preserving low airway resistance during the treatment period in children 3 - 6 years old with mild to moderate persistent asthma (reduces the severity of daytime and nighttime symptoms, the need for short-bronchodilator increase in the number of asymptomatic days) and contributes to maintaining low resistance airway throughout the treatment period.

Key words: children, bronchial asthma, treatment, fluticasone propionate.

Согласно рекомендациям Международной инициативы по диагностике и лечению бронхиальной астмы (БА) целью лечения является достижение и длительное поддержание контроля симптомов заболевания [7]. При этом стратегии терапии основаны на степени контроля воспаления дыхательных путей, а тактика лечения – на принципе ступенчатой терапии. На каждой ступени предпочтение отдается группам препаратов, на фоне приема которых контроль достигается быстрее и у большего количества пациентов [1,4,7]. При отсутствии контроля над заболеванием в качестве предпочтительной терапии у детей младшего и дошкольного возраста GINA 2009 и PRACTALL рекомендуют удвоение дозы ИГКС [6,7]. Expert Panel Report III: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma детям до 4 лет однозначно рекомендует использовать средние дозы ИГКС, а детям с 5 лет комбинированную терапию ИГКС с β_2 -агонистами длитель-

ного действия/ с антилейкотриеновыми препаратами/с теофиллинами или использовать средние дозы ИГКС [8]. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика» 2012 года не дает на этот счет однозначных ответов, но признает преимущества терапии ИГКС [3].

Цель исследования. Оптимизация лечения БА у детей дошкольного возраста при терапии step up с позиции контроля над симптомами заболевания и оценки показателей легочной функции с помощью методики определения сопротивления дыхательных путей (RINT).

Методика исследования. В исследование было включено 80 детей 3-6 лет (44 мальчика (55 %) и 36 девочек (45 %), средний возраст $4,5 \pm 1,02$ года. На момент включения в исследование у всех пациентов был выставлен диагноз атопической формы БА персистирующего течения легкой – в 67,5% (n=54) и средней степени тяжести – в 32,5% (n=26) случаев, а по уровню контроля

над заболеванием – неконтролируемое течение наблюдалось у 85% (n=68), а частично контролируемое течение – у 15% (n=12) детей. Все пациенты получали базисную терапию флутиказона пропионатом (ФП) (Фликсотид®, GSK, Польша) в дозе 50 мкг 2 раза в день через спейсер (беби-халер или чембер) не менее 3 месяцев. При включении ребёнка в исследование были учтены критерии включения, невключения и исключения. При необходимости пациенты могли принимать бронхолитический препарат сальбутамол (Вентолин®, GSK, Польша). Длительность терапии составила 24 недели.

Клинические симптомы астмы (дневные и ночные симптомы, количество бессимптомных дней, потребность в бронхолитиках) оценивались в динамике. Определялись исходные значения до начала исследования, через 4, 12 и 24 недели после начала лечения.

Оценка дневных симптомов производилась в баллах по каждому симптому и суммарно: 0 – отсутствие симптомов в течение дня; 1 – единственный кратковременный эпизод в течение дня; 2 – два и более кратковременных эпизодов в течение дня; 3 – симптомы отмечают большую часть дня, но не изменяют нормальную повседневную активность; 4 – симптомы отмечают большую часть дня и влияют на повседневную активность; 5 – симптомы настолько тяжелы, что не позволяют посещать школу/детский сад или заниматься повседневной деятельностью. Выраженность ночных симптомов также оценивалась в баллах: 0 – отсутствие симптомов в течение ночи или при утреннем пробуждении; 1 – отсутствие симптомов в течение ночи, но симптомы появляются при пробуждении утром в обычное время; 2 – отмечают ночные симптомы, которые не приводят к пробуждению (пробуждение в обычное время); 3 – отмечают ночные симптомы, приводящие к пробуждению (включая раннее вставание); 4 – отмечают ночные симптомы, приводящие к бодрствованию большую часть ночи; 5 – симптомы настолько тяжелы, что не позволяют заснуть вообще.

При исследовании функции внешнего дыхания оценивались показатели сопротивления дыхательных путей (RINTехр и Δ RINTехр).

Методика оценки и интерпретации результатов, все использованное оборудование, условия проведения процедуры соответствовали стандартам и протоколам измерения сопротивления дыхательных путей [5] методом кратковременного прерывания потока воздуха у детей. Использовался спироанализатор «SuperSpiro»

(«Micro Medical», Великобритания) с модулем RINT. В качестве нормативных значений использовали показатели RINT, полученные в ходе исследования Малюжинской Н.В. [2], т.к. полученные данные сопоставимы с другими нормативными значениями индексов RINT у детей в различных популяциях.

Гиперреактивность дыхательных путей определялась с помощью проведения бронхопровокационной пробы с метахолином. Перед пробой пациент находился в покое в течение 10 минут, после чего производили измерение индекса RINTехр.

Метахолин (AcetylMethylcholine Pharm, Grade, Penta International Corporation) распылялся с использованием компрессионного ингалятора. Аэрозоль доставлялся в течение 2 минут с помощью небулайзера с лицевой маской, интервал между ингаляциями составлял 5 минут. Оценка производилась при достижении PC₃₀ – бронхопровоцирующей концентрации метахолина, приводящей к падению RINTехр на 30% и более или кашля, затрудненного дыхания, аускультативно – сухих свистящих хрипов. Проба проводилась при обязательном мониторинговании сатурации кислорода в крови.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета статистических программ «Microsoft Office Excel 2010» и «Statistica 6.0» (StatSoft, USA). Характер распределения значений количественных признаков оценивался с помощью критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении признака анализ проводился методами параметрической статистики: вычислялись среднее арифметическое значение (M), стандартная ошибка среднего значения (m), результаты представлялись в виде (M±m). Для анализа использовался параметрический t-критерий Стьюдента для двух зависимых выборок. При ненормальном распределении признака анализ проводился методами непараметрической статистики: рассчитывали медиану (Me) и перцентили (Q1;Q3). Для вычисления значений, заданных через некоторые равные промежутки (PC30) использовалось среднее геометрическое (G). Для анализа двух зависимых групп использовался непараметрический критерий Вилкоксона. Для сравнения двух независимых групп по одному признаку использовали критерий Манна-Уитни. За уровень статистической значимости различий показателей принималась величина p<0,05.

Для решения поставленных задач в нашем исследовании детям, не достигшим контроля над

заболеванием при терапии ФП в режиме низких доз (100 мкг/сут), был назначен ФП 250 мкг/сут.

Результаты и обсуждение. Отягощенный наследственный аллергологический анамнез отмечался у 77,5% от общего числа пациентов (n=62). При этом у 22,5% детей (n=18) наследственный анамнез был отягощен по БА, у 30% (n=24) – по аллергическому риниту, у 7,5% (n=6) – по атопическому дерматиту, у 7,5% (n=6) – по крапивнице/ ангионевротическому отеку, у 17,5% (n=14) – по другим аллергическим заболеваниям (лекарственная аллергия, аллергический конъюнктивит, инсектная аллергия). Отягощенный собственный аллергологический анамнез наблюдался у 75% пациентов (n=60): у 65% детей (n=52) по аллергическому риниту, у 60% (n=48) – по атопическому дерматиту, у 10% (n=8) – по крапивнице/ ангионевротическому отеку и еще у 7,5% (n=6) – по другим аллергическим заболеваниям (лекарственная аллергия, аллергический конъюнктивит, инсектная аллергия). У 10% (n=8) детей эпизоды острых респираторных инфекций являлись наиболее частым провоцирующим фактором развития обострений (вирус-индуцированный фенотип БА).

Исходные значения показателей сопротивления дыхательных путей RINTEхр оставались в пределах нормативных значений для детей 3-6 лет. Следует отметить, что 10% (n=8) детей находились в последнем центильном коридоре (95-97,5). У остальных 90% (n=72) детей показатель RINTEхр оставался в пределах 95 перцентильного коридора. Показатель Δ RINTEхр у 100% (n=80) детей был $> 0,21$ кПа·л⁻¹·с. Исходные уровни гиперреактивности бронхов у всех детей были диагностически значимы.

В нашем исследовании на фоне монотерапии ФП 250 мкг/сут наблюдалась выраженная положительная динамика по всем исследуемым клинико-функциональным показателям. В данной группе к концу 4 недели наблюдалось уменьшение выраженности дневных симптомов на 72,2% (p<0,001) и на 92,2% (p<0,001) – к концу 8 недели. Средний балл выраженности ночных симптомов к 4 недели исследования снизился на 58,6% (p<0,001). К концу второго месяца исследования в группе не наблюдалось ночных симптомов (в том числе и у 4 детей с вирус-индуцированным фенотипом БА).

Количество бессимптомных дней к концу 4 недели увеличилось на 45% (p<0,001), а к концу 8 недели – на 57,4% (p<0,001), а к концу исследования ночных симптомов в группе не было. За

первый месяц терапии потребность в бронхолитиках снизилась на 64% (p<0,001). К концу 8 недели на 94,6% (p<0,001). К концу исследования у всех пациентов, получающих ФП в режиме средних доз, отмечался высокий уровень контроля симптомов БА: отсутствовали симптомы, не использовались бронхолитики короткого действия.

Несмотря на то, что индекс RINTEхр определялся в пределах нормативных значений у всех детей с неконтролируемым течением бронхиальной астмы, на фоне курсовой терапии ФП 250 мкг/сут наблюдалось быстрое достоверное снижение изучаемого показателя, продолжающееся в течение всего исследования. Аналогичная динамика наблюдалась в отношении индекса Δ RINTEхр. Уже к концу 1 месяца исследования в группе, получающей ФП 250 мкг/сут, индекс RINTEхр снизился на 3,05% (p<0,01), а Δ RINTEхр на 2,04% (p<0,05). К 8 неделе индекс RINTEхр снизился на 21,3% (p<0,001) относительно исходных значений и на 18,25% (p<0,001) относительно предшествующего значения. Индекс Δ RINTEхр на 11,4% (p<0,001) относительно исходных значений и на 9,4% (p<0,01) относительно предыдущего значения. К концу исследования индекс RINTEхр снизился на 23,9% (p<0,001), а индекс Δ RINTEхр на 14,8% (p<0,001) относительно исходных значений. Следует отметить, статистически значимое снижение за последний месяц исследования: RINTEхр на 2,6% (p<0,01) и Δ RINTEхр на 3,4% (p<0,05) относительно предшествующих значений. К концу 12 недели терапии ФП в режиме средних доз величина бронхопровоцирующей концентрации метахолина увеличилась на 212% (p<0,001), т.е. среднегеометрическое (G) PC₃₀ увеличилось с 1 до 3,73 мг/мл.

Заключение. Исходя из полученных нами результатов исследования клинико-функциональных особенностей течения БА при терапии step up у детей 3-6 лет можно сделать вывод о выраженной положительной динамике исследуемых показателей и, соответственно, высокой эффективности лечения ФП 250 мкг/сут. Получены достоверные данные о клинической эффективности (уменьшение количества и степени выраженности симптомов) и изменении показателей ФВД (уменьшение сопротивления дыхательных путей) уже после первого месяца терапии.

Литература

1. Баранов А.А., Хайтов Р.М. Аллергология и иммунология. Клинические рекомендации для педиатров. Под общей ред. акад. А.А.

-
- Баранова и Р.М. Хаитова. - М.: 2-е изд., испр. и доп. - 2010.- 246 с., ил.
2. Малюжинская Н.В., Гарина М.В., Шаталин А.В., Смирнов Н.А., Горбунов В.А., Развальяева А.В. Нормативные показатели легочной функции у детей раннего возраста с помощью методики определения сопротивления дыхательных путей. // Вопросы современной педиатрии. – 2010. - том 9 № 5. – С. 30-35.
 3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». 4-е изд., испр. и доп. - М.: Издательский дом «Атмосфера», 2012. - 182 с., ил.
 4. Петров В.И., Малюжинская Н.В., Блинкова Е.Ю., Полякова О.В., Вальмер Д.Н., Шемякина И. Л., Петрова И.В. Сравнительная эффективность различных вариантов терапии step down у детей 3-6 лет с бронхиальной астмой, получающих терапию ингаляционными глюкокортикостероидами // Вестник ВолгГМУ. – 2013. - № 1 (45). – С. 17-20.
 5. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Pulmonary Function Testing in Preschool Children (2007). An Official ATS Workshop Report. - P. 1318-1323. - www.thoracic.org/statements/.
 6. Bacharier L. B., Boner A., Carlsen K.H., Eigenmann P. A., Frischer T. et al. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report // Allergy. - 2008. - Vol. 63, N 1. - P. 5-35.
 7. GINA-Global strategy for asthma management and prevention. Update 2007, 2008, 2009, 2011. www.ginasthma.org
 8. Global strategy for asthma management and prevention in children 5 years and younger. <http://www.ginasthma.com> (GINA pediatric report, May 2009).

Ильсова С.И., Серебrenникова Н.И.

ЭКОНОМИКА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ

Введение

В 1991 году независимая страна - Республика Казахстан нуждалась в разработке собственной политики и стратегии планирования в области здравоохранения. Руководство Министерства здравоохранения и его организационная структура подвергались частым изменениям. Законодательством не были закреплены и развиты права пациентов.

В 1996-1998 гг. в нашей стране было введено медицинское страхование, но в настоящее время мы снова вернулись к системе бюджетного финансирования здравоохранения. В 2004 году была осуществлена программа государственных гарантий предоставления бесплатной медицинской помощи населению, которая включает в себя бесплатное лекарственное обеспечение льготных категорий населения при оказании амбулаторной помощи. В течение последних лет

государством предпринято ряд мер, направленных на реформирование и развитие здравоохранения.

Цель исследования:

Изучить состояние финансирования здравоохранения в Республике Казахстан и указать й восс.

й

д ючвающ
воохранеВ н

Методы исследования:

В ходе исследования мы использовали сравнительный и описательный методы. При использовании первого метода мы сравнили объем финансирования здравоохранения РК за прошедшие годы с настоящим временем, а также расходы на здравоохранение в нашей стране с показателями России, Германии и США. Благодаря описательному методу мы раскрыли основные источники финансирования, их направления, значимые проблемы и способы их решения.

Результаты исследования:

В настоящее время каждый год повышается объем финансирования здравоохранения

РК. В 1999 году показатели финансирования достигали около 46 млрд тенге, а более 735 млрд тенге - в 2013 году. Это говорит нам о том, что финансирование здравоохранения Республики Казахстан в 16 раз возросло в течение 10 лет. По рекомендации ВОЗ, на цели здравоохранения каждый год необходимо выделять не менее 5-5,5% от годового ВВП страны. На развитие здравоохранения РК выделяется всего 4 % от годового ВВП страны. Например, в США, согласно расходам на здравоохранение, выделяется 16 % ВВП, таким образом, эта страна занимает второе место среди государств-членов ООН.

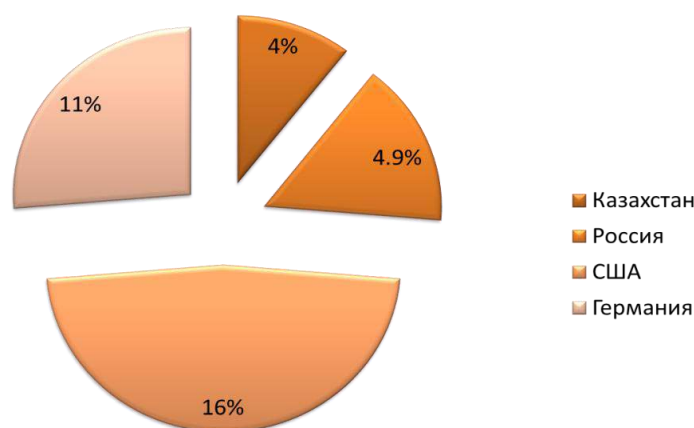


Рис.1 Расходы на здравоохранение от ВВП (%)

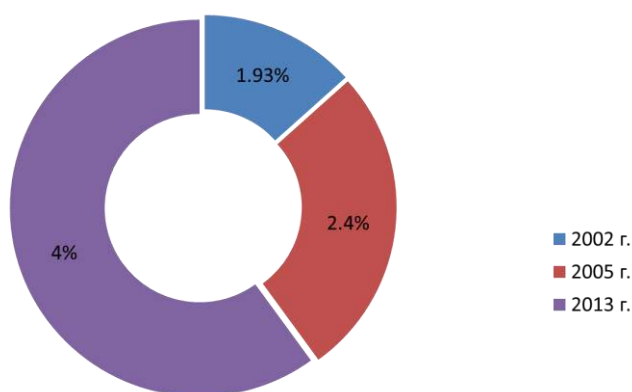


Рис.2 Объем финансирования здравоохранения РК (%) от ВВП

Из рис.2 мы видим, что на протяжении с 2002 по 2013 года в Республике Казахстан увеличился объем финансирования здравоохранения с 1.93% до 4% от ВВП, что повысило эффективность качества медицинских услуг и улучшения жизни населения. Однако, Рис.1 показывает, что в результате сравнения объема финансирования здравоохранения с такими странами как Россия,

США и Германия, наша страна значительно меньше вкладывает средств в фонд здравоохранения. На сегодняшний день государственный объем расходов на отрасль здравоохранения составляет 772.0 млрд. тенге, что значительно превышает показатели расходов в предыдущие года. Сравнительный анализ объема расходов показан на рис. 3.

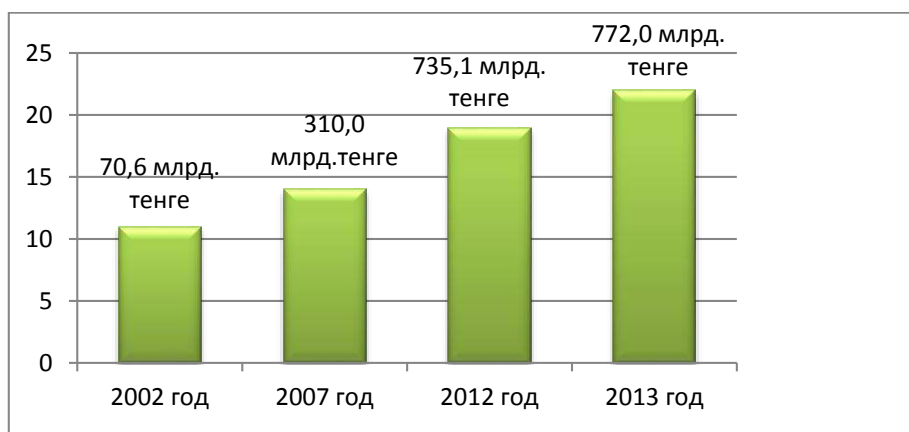


Рис. 3 Государственные расходы на здравоохранение

На рис. 3 мы отметили, что государственное финансирование отрасли здравоохранения 2002 по 2013 года возросло на 664,5 млрд. тенге, т.е. увеличилось в 10 раз.

Также в 10 раз повысился объем расходов здравоохранения на душу населения, что отображено на рис. 4.

На рис. 4 расходы здравоохранения на душу населения за последние 10 лет увеличи-

лись в 9 раз и за 5 лет в 2,2 раза и в 2012 году составили 43795 тенге (2002 год – 4758 тенге, 2007г. - 20196,2 тенге). В 2013 году расходы здравоохранения на душу населения составили 45680 тенге.

Как показано на рис. 5, с 2002 по 2012 года в 11 раз увеличился показатель финансирования гарантированного объема бесплатной медицинской помощи.

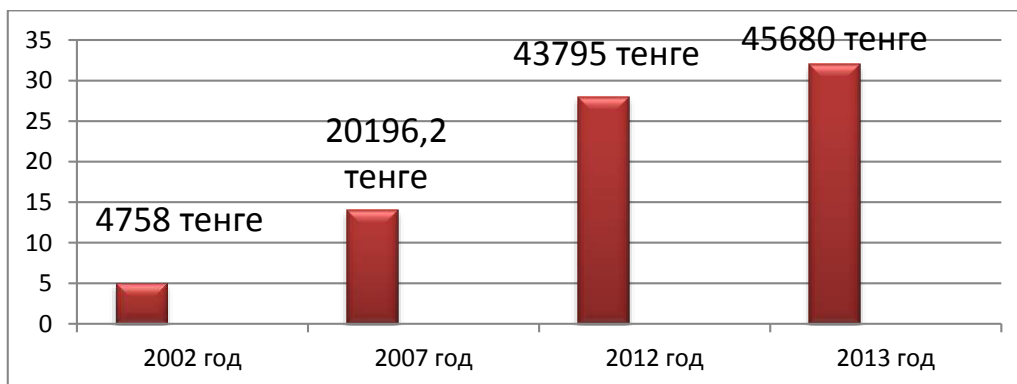


Рис. 4 Расходы здравоохранения на душу населения

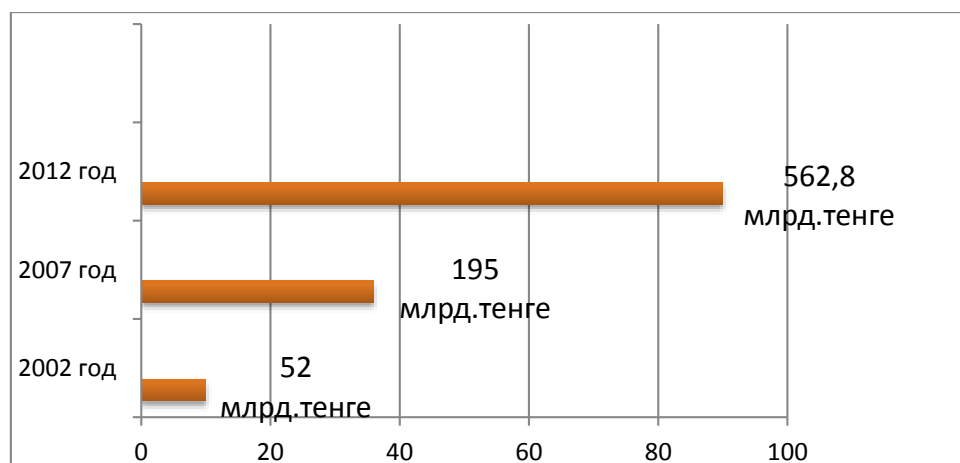


Рис.5 Объемы финансирования ГОБМП

Общая сумма затрат на гарантированный объем бесплатной медицинской помощи (далее - ГОБМП) в 2012 году составила 562,8 млрд. тенге, что в 11 раз больше, чем в 2002 году (52 млрд. тенге), и в 3,8 раза больше, чем в 2007 году (195 млрд.тенге).

По законодательству РК основными источниками финансирования государственной системы здравоохранения являются: средства местных бюджетов, средства республиканского бюджета, средства международных организаций, средства медицинских организаций, добровольные отчисления от прибыли организаций; благотворительные вклады организаций и граждан[1]. Благодаря источникам финансирования средства государственной системы здравоохранения направляются на: оказание бесплатного гарантированного объема медицинской помощи; целевые комплексные программы здравоохранения; развитие и содержание материально-технической базы государственного здравоохранения[2].

На сегодня Кодекс РК «О здоровье народа и системе здравоохранения», принятый в сентябре 2009 года имеет главную роль в законодательстве в сфере здравоохранения. С 2011 до 2015 годов реализуется Государственная программа развития РК «Саламатты Казахстан». Главной стратегической задачей данной программы является финансирование здравоохранения РК из республиканского и местных бюджетов на уровне 380,4 млрд.тенге, а основной целью предусматривается «улучшение здоровья граждан Казахстана для обеспечения устойчивого социально-демографического развития»[3].

Но для здоровья граждан необходимо увеличить вклад средств государства в здравоохранение. На пути повышения объема финансирования здравоохранения Казахстан сталкивается с рядом проблем: минусы действующей нормативной правовой базы в области здравоохранения, необоснованное планирование затрат, невыполнение нормативных требований к процессу осуществления государственных и отраслевых программ, а в отдельных программах их отсутствие; нерациональная трата бюджетных средств в результате несоответствия реальной стоимости бюджетных услуг и запрашиваемой в бюджетных заявках; отсутствие качественного контроля за эффективностью реализации программ. Одной

из центральных проблем в здравоохранении РК является необходимость в структурной реформе и ее совершенствовании: бюджетная форма финансирования здравоохранения недостаточно выделяет средств, тем самым не удовлетворяет потребности населения в получении полного объема бесплатной медицинской помощи, поставленном законодательством РК; вследствие различных показателей финансовых возможностей местных бюджетов во многих областях страны, объем и качество предоставления медицинских услуг неодинаковое; отсутствие получения населением бесплатной медицинской помощи вне места постоянного проживания; тарифная политика за медицинские услуги в диагностических центрах варьируется.

Заключение:

Таким образом, экономика здравоохранения Республики Казахстан находится на этапе развития. По результатам нашего исследования, можно сделать вывод, что объем финансирования здравоохранения РК, в целом, увеличился в 10 раз в период 2002 по 2013 года. Это говорит о стремительном развитии экономики здравоохранения, целью которой является улучшение качества жизни и здоровья населения. Существуют также и проблемы современного положения финансирования, которые требуют незамедлительного решения.

На сегодняшний день основными вопросами и задачами стоят совершенствование методов финансового планирования в области здравоохранения, оказания полного объема медицинской помощи и эффективности применения финансовых ресурсов в данной сфере. Для решения этих задач необходимо проводить анализ в условиях прогрессирующей экономики, требующий научного исследования.

Список использованной литературы:

1. Кодекс Республики Казахстан "О здоровье народа и системе здравоохранения" 2014г., глава 6, статья 23, п.1.
2. Кодекс Республики Казахстан "О здоровье народа и системе здравоохранения" глава 6, статья 25, п.1.
3. Государственная программа развития здравоохранения Республики Казахстан «Саламатты Қазақстан» на 2011 – 2015 годы

Биологические науки

Делеган Я.А.¹, Филонов А.Е.²

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫХ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *GORDONIA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРОБЫ ГРУНТА С ТЕРРИТОРИИ МОСКОВСКОГО НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО ЗАВОДА (КАПОТНЯ, Г. МОСКВА)

1

2

Ключевые слова

Keywords: petroleum destruction, oil-oxidizing bacteria, thermotolerant bacteria, bioremediation, hot climate, *Gordonia*, crude oil, hydrocarbons, alkanes

Резюме

Summary. The aim of the work was to determine the physiological characteristics and taxonomic position of oil-oxidizing *Gordonia* strains, isolated from soil sample from the territory of the refinery (Kapotnya, Moscow). Bacteria were able to oxidize crude oil a

Gordonia amicalis. After 14 days of cultivation in liquid mineral medium with crude oil thermotolerant *Gordonia* strains utilized 20-

Введение. Нефть является одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды в современном мире. Для ликвидации нефтяных загрязнений применяют различные методы: химические, механические, термические. Перспективным и экологически безопасным методом ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод является внесение бактерий-нефтедеструкторов в составе биопрепаратов в места загрязнения. Значительная часть загрязненных нефтью участков находится в регионах с жарким климатом, где метаболизм большинства известных бактерий существенно лимитируется температурой. Для очистки грунтов в регионах с жарким климатом могут быть использованы термотолерантные нефтеоокисляющие микроорганизмы.

Представители рода *Gordonia* обладают значительным метаболическим потенциалом, что позволяет эффективно использовать их в процессах биоремедиации токсичных отходов [1]. Метаболическая активность микроорганизмов рода *Gordonia* включает способность *Gordonia*

alkanivorans утилизировать гексадекан [8]. Известно, что представители рода *Gordonia* окисляют циклические алканы, полициклические ароматические углеводороды [5, 7], флуорантен [2].

В ходе данной работы из пробы грунта, отобранной на территории Московского нефтеперерабатывающего завода (Капотня, г. Москва), были выделены термотолерантные нефтеоокисляющие культуры, идентифицированные как представители рода *Gordonia*. Целью работы было исследовать физиологические особенности данных штаммов, а также установить их таксономическое положение в пределах рода *Gordonia*. Культуры, обладающие способностью к деструкции нефти при повышенной температуре, являются перспективными для создания микробного препарата для очистки грунтов в регионах с жарким климатом.

Материалы и методы. Штаммы выделяли из пробы нефтезагрязненного грунта с террито-

рии Московского нефтеперерабатывающего завода (МНПЗ, Капотня, г. Москва) методом накопительного культивирования в жидкой среде Эванса с нефтью (2%) в течение трех недель при температуре 24°C, затем изолировали чистые культуры. Для отбора термотолерантных бакте-

рий выделенные индивидуальные штаммы культивировали при 45°C в жидкой среде Эванса с нефтью (2%).

Идентификацию бактерий проводили посредством анализа нуклеотидных последовательностей амплифицированных фрагментов генов 16S рРНК и *gyrB*. Для амплификации использовали праймеры, представленные в табл. 1.

Таблица 1

Праймеры, используемые в работе

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Т° отжига, С	Размер продукта, пн	Источник
16S rRNA	63f	CAGGCCTAACACATGCAAGT С	55	1300	[6]
	1387r	GGGCGGWGTGTACAAGGC			
<i>gyrB</i>	UP1	GAAGTCATCATGACCGTTCT GCAYGCNNGGNGNAARTTY GA	60	1260	[11]
	UP2r	AGCAGGGTACGGATGTGCG AGCCRTCNAARTCN GTCAT			

Секвенирование выполняли в лаборатории молекулярной генетики Института вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава РФ (секвенатор Applied Biosystems 3130×1, набор для секвенирования BigDye v.3.1). Для филогенетического анализа использовали пакет программ MEGA 6 Software.

Для изучения спектра окисляемых субстратов штаммы культивировали в жидкой среде Эванса с добавлением в качестве единственного источника углерода и энергии следующих углеводов нефти и их производных: ПАУ (нафталин, фенантрен, антрацен, флуорен), салицилата, гентизата, алканов (C₈-C₁₆), дизельного топлива.

Инокулят вносили до конечной концентрации 10⁷ КОЕ/мл.

Для определения активности деградации нефти гордониями штаммы культивировали в жидкой среде Эванса с добавлением 2% нефти при температуре 45°C в течение 14 суток. Содержание углеводов измеряли методом ИК-спектроскопии. Измерения выполняли на анализаторе нефтепродуктов АН-2 (Россия) согласно РД 52.24.476-2007 «Массовая концентрация нефтепродуктов в водах. Методика выполнения

измерений ИК-фотометрическим методом». Анализ выполняли относительно стерильной контрольной системы.

Результаты и их обсуждение. Термотолерантные нефтеокисляющие бактерии были выделены из пробы грунта с территории МНПЗ (г. Москва).

Для установления таксономического положения штаммов секвенировали амплифицированные последовательности фрагментов генов 16S рРНК. На основе анализа генов 16S штаммы были идентифицированы как представители рода *Gordonia*. Видовой статус штаммов определяли посредством анализа нуклеотидных последовательностей генов *gyrB*. В ходе реакции с универсальными праймерами для гена *gyrB* ампликонов в пробах штаммов 1В и 1G не получили, для их дальнейшей идентификации требуются дополнительные эксперименты.

Матрица сходства, построенная на основании полученных данных для штамма 1D, показала, что штамм 1D наиболее близок к штамму *Gordonia* sp. СС-MJ-19, а также на видовом уровне предположительно принадлежит к *Gordonia amicalis* (табл. 2).

Таблица 2

Матрица сходства штамма 1D с ближайшими представителями рода *Gordonia*

Штамм	1D	CC-MJ-19	G. amic.	G. amar.	G. bron.	G. terr.	G. lac.
1D		0.005	0.010	0.018	0.016	0.014	0.014
<i>Gordonia</i> sp. CC-MJ-19_gyrB_EU266464.1	0.032		0.007	0.014	0.013	0.011	0.011
<i>Gordonia amicalis</i> _gyrB_AY972057.1	0.078	0.045		0.014	0.013	0.010	0.011
<i>Gordonia amarae</i> _gyrB_AB014105.1	0.242	0.201	0.190		0.014	0.013	0.014
<i>Gordonia bronchialis</i> _gyrB_AB014267.1	0.212	0.165	0.159	0.184		0.012	0.012
<i>Gordonia terrae</i> _gyrB_AB014270.1	0.158	0.116	0.112	0.184	0.136		0.007
<i>Gordonia lacunae</i> _gyrB_EF608480.1	0.171	0.122	0.112	0.186	0.139	0.047	

Филогенетическое дерево, построенное для штамма 1D (рис. 1), также подтверждает принадлежность штамма к *Gordonia amicalis*.

. Известными деструкторами алифатических углеводов среди рода *Gordonia* являются представители вида *Gordonia alkanivorans* [1] и *Gordonia paraffinivorans* [10]. Способность штаммов *Gordonia amicalis* утилизировать алифатические и ароматические компоненты нефти начали изучать сравнительно недавно. Хао с соавт. [4] выделили и описали парафиндеградирующий штамм *Gordonia amicalis* LH3, полученный в Jidong Oilfield Co., Ltd, в

Тангшане (Китай). Шен с соавт. [9] изучали видовое разнообразие гординий в нефтезагрязненных почвах. Анализ нуклеотидной последовательности гиразного гена *gyrB*, а также составление морфологических и биохимических профилей выявило, что в образцах, отобранных с загрязненных участков, следом за *Gordonia terrae* преобладали *G. amicalis*.

Анализ спектра утилизируемых субстратов выделенных в нашей работе штаммов *Gordonia amicalis* 1D, *Gordonia* sp. 1B и 1G показал, что микроорганизмы активно утилизируют алканы нормального строения и дизельное топливо (табл. 3).

Таблица 3

Спектр субстратов, окисляемых штаммами *Gordonia* при 45°C

Штамм	ПАУ				Производные ПАУ		Алканы					
	Nah	Phn	Ant	Flu	Sal	Gnt	Oct	Non	Dec	Hde	Hmn	Dsf
<i>Gordonia</i> sp. 1B	+		+				++	+	++	++		++
<i>Gordonia amicalis</i> 1D		+	+	+	+		++	++	++	++		++
<i>Gordonia</i> sp. 1G		+	+	+	+	+	++	++	++	+		++

Nah – нафталин, *Phn* – фенантрен, *Ant* – антрацен, *Flu* – флуорен, *Sal* – салицилат, *Gnt* – гентизат, *Oct* – октан, *Non* – нонан, *Dec* – декан, *Hde* – гексадекан, *Hmn* – гептаметилнонан, *Dsf* – дизельное топливо

В ряду полициклических ароматических углеводов (нафталин, фенантрен, флуорен, антрацен) только штамм 1B утилизировал нафталин в качестве источника углерода и энергии. Выделенные нами штаммы 1D и 1G не росли на

нафталине, но были способны окислять фенантрен, антрацен и флуорен. Францетти [3] при работе со штаммами *Gordonia terrae* и *Gordonia amicalis* также не выявлял роста на нафталине. Однако, в отличие от выделенных в нашей работе штаммов *G. amicalis* 1D и *Gordonia* sp. 1G, *G.*

amicalis M22, исследованный Францетти, не рос на фенантрене. Также 1D и 1G росли на салицилате, а 1G также на гентизате. Салицилат и гентизиновая кислота являются известными метаболитами нафталина. Выявление причин окисления этих соединений при неспособности утилизировать нафталин требует дальнейшего исследования.

Оценка степени деструкции нефти термотолерантными гордониями в жидкой минеральной среде с нефтью при повышенной температуре (45°C) показала, что штаммы способны утилизировать 20-25% нефти за 14 суток при исходной концентрации нефти 2%.

Заключение. Таким образом, из пробы грунта, отобранной на территории МНПЗ (Капотня, г. Москва), было выделено 3 термотолерантных нефтеокисляющих культуры. Штаммы были идентифицированы как представители рода *Gordonia*. Видовой статус штамма 1D был определен на основании анализа последовательности гена *gyrB*, было выявлено, что штамм принадлежит к виду *Gordonia amicalis*. Штаммы *G. amicalis* 1D, *Gordonia* sp. 1B и 1G были способны окислять нефть, а также индивидуальные углеводороды (ПАУ, линейные алканы) при температуре 45°C. Термотолерантные нефтеокисляющие гордонии могут быть перспективны для ремедиации нефтезагрязненных грунтов в регионах с жарким климатом.

Список литературы

1. Arenskötter M., Bröker D., Steinbuchel A. Biology of the Metabolically Diverse Genus *Gordonia* // Applied and Environmental Microbiology. – 2004. – Vol. 70. – No. 6. – P. 3195-3204.
2. Brito E.M.S., Guyoneaud R., Goñi-Urriza M., Ranchou-Peyruse A., Verbaere A., Crapez M.A.C., Wasserman J.C.A., Duran R. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil // Res Microbiol. – 2006. – Vol. 157. – P. 752-762.
3. Franzetti A., Bestett G., Caredda P., La Colla P., Tamburini E. Surfaceactive compounds and their role in the access to hydrocarbons in *Gordonia* strains // FEMS Microbiology Ecology. – 2008. – Vol. 63. – No. 2. – P. 238-248.
4. Hao D., Lin J.Q., Song X., Su Y.J., Qu Y.B. Isolation, identification, and performance

studies of a novel paraffin-degrading bacterium of *Gordonia amicalis* LH3 // Biotechnology and Bioprocess Engineering February. – 2008. – Vol. 13. – No. 1. – P. 61-68.

5. Hernandez-Perez G., Fayolle F., Vandecasteele J.P. Biodegradation of ethyl t-butyl ether (ETBE), methyl tert-butyl ether (MTBE) and t-amyl methyl ether (TAME) by *Gordonia terrae* // Appl Microbiol Biotechnol. – 2001. – Vol. 55. – No. 1. – P. 117-121.
6. Marchesi J.R., Sato T., Weightman A.J., Martin T.A., Fry J.C., Hiom S.J., Wade W.G. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA // Applied and Environmental Microbiology. – 1998. – Vol. 64. – No. 2. – P. 795-799.
7. Kastner M., Breuer-Jammali M., Mahro B. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil // Applied and Environmental Microbiology. – 1998. – Vol. 64. – P. 359-362.
8. Kummer C., Schumann P., Stackebrandt E. *Gordonia alkanivorans* sp. nov., isolated from tar-contaminated soil // Int J Syst Bacteriol. – 1999. – Vol. 49. – P. 1513-1522.
9. Shen F.T., Rekh P.D., Young C.C., Ho M.J., Huang H.R., Arun A.B. Molecular detection and phylogenetic characterization of *Gordonia* species in heavily oil-contaminated soils // Research in Microbiology. – 2008. – Vol. 159. – P. 522-529.
10. Xue Y., Sun X., Zhou P., Liu R., Liang F., Ma Y. *Gordonia paraffinivorans* sp. nov., a hydrocarbon-degrading actinomycete isolated from an oil-producing well // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2003. – Vol. 53. – P. 1643-1646.
11. Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains // Applied and Environmental Microbiology. – 1995. – Vol. 61. – P. 1104-1109.

Горностаева Е.Е.

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА НА ГЕМОЛИЗ ЭРИТРОЦИТОВ

THE INFLUENCE OF MAGNETITE NANOPARTICLES ON ERYTHROCYTES HEMOLYSIS

Gornostaeva Ekaterina

Postgraduate student of Nizhny Novgorod State Technical University n. a. R.E. Alekseev

Резюме:

Ключевые слова

Abstract: Magnetic nanoparticles are promising for usage in biology and medicine as an alternative to more toxic fluorescent nanomaterials. There are not so many studies on toxicity of nanomaterials for blood cells and their results are contradictory. In the present study the effect of magnetite nanoparticles on induced (osmotic and acid) and spontaneous hemolysis has been investigated. Osmotic resistance of erythrocytes has been researched by means of the unified method in modification of L.I. Idelson. Acidic hemolysis was used for the kinetic research. Spontaneous hemolysis has been studied through the Jager method. The results show that magnetic nanoparticles do not influence osmotic hemolysis. At the same time, acid hemolysis is suppressed by magnetite and erythrogram significantly changes after incubation with nanoparticles. Significant effect on spontaneous hemolysis and its kinetics has not been detected.

Key words: magnetite nanoparticle, induced hemolysis, spontaneous hemolysis, erythrogram.

В настоящее время все больше внимания привлекает перспектива использования наноразмерных материалов в биологии и медицине. Однако на данном этапе имеет место недостаток понимания фундаментальных биологических принципов, определяющих влияние наночастиц на организм человека. В литературе появляется все больше информации о токсичности различных видов наноматериалов [5]. Кроме того, до сих пор работ, посвященных исследованию токсичности наноматериалов в отношении клеток крови, мало, а их результаты противоречивы. Поскольку большинство флуоресцентных наноматериалов проявляют выраженную токсичность по отношению к нативным клеткам, внимание исследователей привлекли магнитные наноматериалы [6; 7].

Биомедицинское применение магнитных наночастиц, в частности наночастиц магнетита – $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ обусловлено их хорошими контрастирующими свойствами при магнитно-резонансной терапии, адсорбирующей активностью при гипертермии и высокой перспективностью в области направленной доставки лекарств и специфического связывания терапевтических агентов [4].

Однако для успешного практического применения необходимо выявить закономерности воздействия магнитных наночастиц на клетки крови человека, поскольку при любых вариантах введения в организм ксенобиотики попадают в кровь.

Целью данной работы является изучение влияния наночастиц магнетита на индуцированный (осмотический и кислотный) и спонтанный гемолиз эритроцитов. Наночастицы $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ брали в конечной концентрации 0,0018 мг/мл и 0,18 мг/мл. Для исследований гепаринизированную венозную кровь предварительно инкубировали с наноматериалами (60 мин, 24°C).

Осмотическая резистентность эритроцитов исследовалась унифицированным методом в модификации Л.И. Идельсона. Принцип метода заключается в количественном определении степени гемолиза эритроцитов в гипотонических растворах хлорида натрия. Оптическая плотность измерялась с помощью спектрофотометра [1].

Полученные данные не выявили статистически значимых различий степени гемолиза эритроцитов, проинкубированных с наночастицами магнетита по сравнению с контролем (рисунок

1). Например, полный гемолиз наступает при концентрации NaCl 0,4% (контрольное значение составило $96,3 \pm 7,3\%$), степень гемолиза после экспозиции с суспензией наночастиц в концентрации 0,0018 мг/мл и 0,18 мг/мл – $93,5 \pm 10,2\%$ и $93,8 \pm 12\%$ соответственно.

Для кинетического исследования был рассмотрен кислотный гемолиз эритроцитов. Сущность метода кислотных эритрограмм заключается в том, что кровь помещается в слабый раствор соляной кислоты, в котором эритроциты разрушаются не сразу, а в течение определенного времени. Поэтому можно наблюдать кинетику

гемолиза клеток, используя фотоэлектроколориметрический метод, и представить ее графически в виде кривой – эритрограммы [3]. Для контрольных исследований характерна эритрограмма с максимумом гемолиза в среднем $105,4\%$ на 34-й секунде исследования. Под воздействием магнитных наночастиц максимальные значения гемолиза уменьшаются (в среднем до уровня $43,8\%$ для концентрации 0,0018 мг/мл и $78,5\%$ для 0,18 мг/мл и; $p < 0,05$), а время его наступления увеличивается (в среднем до 109 мин для 0,0018 мг/мл и до 51 сек для 0,18 мг/мл; $p < 0,05$).

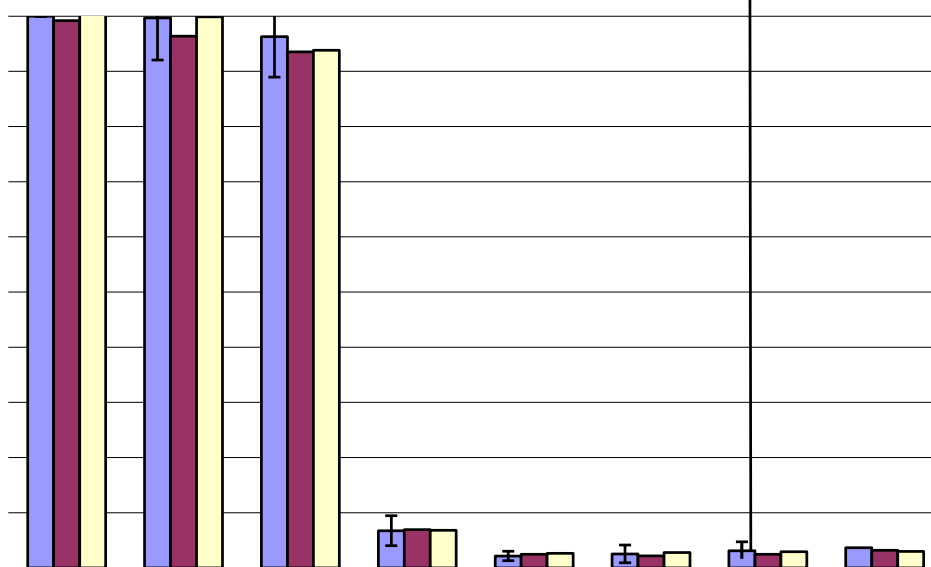


Рисунок 1. Влияние наночастиц магнетита на осмотическую резистентность эритроцитов

Спонтанный гемолиз эритроцитов исследовался методом Ягера. Метод основан на фотометрическом определении внеэритроцитарного гемоглобина (при 540 нм), поступающего в среду вследствие спонтанного лизиса мембран эритроцитов, вызванного пероксидным окислением липидов кислородом воздуха [2]. Контрольное значение степени гемолиза эритроцитов составило $26,5 \pm 6,8\%$. Статистически значимых различий после инкубации с наночастицами магнетита по сравнению с контролем не зафиксировано ($31,7 \pm 6,6\%$ и $34,7 \pm 9,6\%$ для концентрации 0,0018 мг/мл и 0,18 мг/мл соответственно). Однако наблюдается тенденция к снижению резистентности эритроцитов под воздействием наноматериалов.

Внесение наночастиц в систему также как в случае кислотного гемолиза повлияло на кинетику спонтанного гемолиза эритроцитов. Показано изменение эритрограммы после инкубации с наночастицами, однако статистически значимых различий с контролем не зафиксировано. Среднее значение максимума гемолиза в контроле составило $42,3\%$ на 137-й секунде измерения. После воздействия ксенобиотика пик гемолиза наступает в среднем на 145-й секунде и достигает $41,1\%$ для концентрации 0,0018 мг/мл и на 225-й секунде $67,5\%$ для 0,18 мг/мл. Тем не менее, можно отметить небольшое увеличение времени наступления максимального гемолиза под воздействием наноматериалов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния магнитных наночастиц на гемолиз эритроцитов в гипоосмотических жидкостях. Однако происходит существенное изменение эритрограммы – наблюдается тенденция к подавлению кислотного гемолиза при внесении наночастиц. В тоже время, заметного влияния на спонтанный гемолиз эритроцитов и его кинетику не выявлено.

Список литературы:

1. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник.; Под ред. В. В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.
2. Строев Е.А., Макаров В.Г. Практикум по биологической химии. М.: Высш. шк., 1986. с. 208-211.
3. Терсков И.А., Гительзон И.И. Метод химических (кислотных) эритрограмм. Биофизика. 1957. Т.11, вып.2. с.259-266.
4. German S. V., Inozemtseva O. A., Navolokin N. A., Pudovkina E. E., Zuev V. V., Volkova E. K., Bucharskaya A. B., Pleskova S. N., Maslyakova G. N., and Gorin D. A.. Synthesis of Magnetite Hydrosols and Assessment of Their Impact on Living Systems at the Cellular and Tissue Levels Using MRI and Morphological Investigation. Nanotechnologies in Russia. 2013. Vol. 8, Nos. 7–8. pp. 573–580.
5. Hiromi Nabeshi, Tomoaki Yoshikawa, Akihiro Arimori, Tokuyuki Yoshida, Saeko Tochigi, Toshiro Hirai, Takanori Akase, Kazuya Nagano, Yasuhiro Abe, Haruhiko Kamada, Shin-ichi Tsunoda, Norio Itoh, Yasuo Yoshioka, Yasuo Tsutsumi. Effect of surface properties of silica nanoparticles on their cytotoxicity and cellular distribution in murine macrophages. Nanoscale Research Letters. 2011. Vol. 6, №93.
6. Mariangela Bellusci, Aurelio la Barbera, Franco Padella, Mariateresa Mancuso, Alessandra Pasquo, Maria Giuseppa Grollino, Giorgio Leter, Elisa Nardi, Carlo Cremisini, Paola Giardullo, Francesca Pacchierotti. Biodistribution and acute toxicity of a nanofluid containing manganese iron oxide nanoparticles produced by a mechanochemical process. International Journal of Nanomedicine. – 2014:9. pp. 1919–1929.
7. Nel Andre, Xia Tian, Madler Lutz, Li Ning. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. Science. 2006. Vol. 311. pp. 622-627.

*В.В. Григорьев**, *Т.А. Воронина***, *Т.Л. Гарибова***, *С.А. Литвинова***.

АНТИАМНЕСТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ДИАЗАБИЦИКЛОНОНАНОВ СОЕДИНЕНИЯ ХХХ-2

*

;

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) или деменция Альцгеймеровского типа была впервые описана Алоизом Альцгеймером в 1906 году. БА представляет собой хроническое дегенеративное заболевание, которое ведет к прогрессирующему нарушению когнитивных функций. БА представляет собой четвертую по распространенности причину смерти пожилых людей. Каждые 5 лет после 65-летнего возраста частота заболевания удваивается. Число больных БА сейчас в мире превышает 30 млн. человек. К 2020 году число таких больных достигнет 50 млн.

Эпидемиологические исследования, проведенные в НЦПЗ РАМН, показали, что 4,5 % московского населения в возрасте 60 лет и старше страдают деменцией альцгеймеровского типа, число больных, нуждающихся в лечении когнитивной патологии нейродегенеративного генеза, в России может достигать 4 млн.

Дефицит холинергической системы является наиболее ярким проявлением патогенеза БА, он возникает на ранней стадии болезни и имеет четкую корреляцию со степенью развития деменции. Именно недостаточностью холинергической системы определяется дефицит когнитивных и поведенческих функций при БА. Поэтому

и ранее, и в настоящее время для лечения БА широко используются холиномиметические средства, которые усиливают холинергическую нейротрансдукцию, среди которых наиболее широко применяются ингибиторы ацетилхолинэстеразы [3,5]. Кроме того, для коррекции мнестических нарушений при деменциях применяются ноотропные препараты.

Антагонисты холинергической системы, в частности скополамин, вызывают в эксперименте нарушения памяти, сходные с тем, которые наблюдаются при БА [4,2]. Поэтому одной из наиболее часто используемых экспериментальных моделей БА являются методики, использующие введение скополамина.

Материалы и Методы

Изучение антиамнестических свойств нового соединения ХХХ-2 и эталонного препарата мемантина на когнитивные функции крыс осуществляли путем определения влияния веществ на выработку условного рефлекса пассивного избегания в челночной камере. Для этого использовали модели амнезии условной реакции пассивного избегания, вызванной острым введением скополамина или максимальным электрошоком (МЭШ) [1].

Выработку экспериментальной амнезии УРПИ с применением МЭШ проводили на стандартной установке пассивного избегания (Passive Avoidance) фирмы Lafayette Instrument Co (США). МЭШ применяли непосредственно после обучения через кортикальные электроды силой тока 43 мА, частота тока 50Гц, продолжительность 0,3сек. тест на воспроизведение осуществляли через 24 часа после обучения. Животное помещали на освещенную платформу установки хвостом к входу в темную камеру и регистрировали латентный период первого захода в темную камеру. Максимальное время регистрации 3 мин. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 мин. до обучения.

Результаты и обсуждение

Установлено, что животные контрольной группы крыс, получавшие физиологический раствор, при воспроизведении условного рефлекса

пассивного избегания через 24 часа после обучения помнили об ударе током в темной камере и не заходили туда (80% крыс) или заходили с большим латентным временем рефлекса. В контрольной группе крыс, получавших скополамин, условный рефлекс через 24 часа воспроизводили только 10% крыс (табл.1). Это свидетельствует о развитии амнезии у этих животных. Изучение антиамнестической активности соединения ХХХ-2 на модели амнезии УРПИ, вызванной однократным внутривентриальным введением скополамина в дозе 1,5 мг/кг показало, что соединение ХХХ-2 в дозе 0,01 мг/кг обладает выраженным антиамнестическим эффектом, который характеризуется статистически достоверным увеличением латентного времени рефлекса и количества животных, не зашедших в темную камеру (60%) при воспроизведении рефлекса через 24 часа после обучения (табл.1.). В дозах 0,05 и 0,1 мг/кг вещество предупреждало амнезию у 50% животных, но эти результаты были статистически недостоверны. Антиамнестическое действие препарата сравнения мемантина выявлялось в условиях этой модели в дозе 2 мг/кг (табл.1).

Таким образом, соединение ХХХ-2 обладает отчетливым антиамнестическим эффектом, на модели амнезии УРПИ, вызванной холинолитиком скополамином и превосходит по эффективности мемантин.

Показано, что в контрольной группе крыс с МЭШ при воспроизведении УРПИ через 24 часа после обучения всего 30 % животных помнили об ударе током и не заходили в темный отсек камеры, тогда как в группе интактных (без МЭШ) животных этот показатель составлял 100 % (табл. 2) При изучении антиамнестических свойств соединения ХХХ-2 установлено, что вещество в дозе 0,01 мг/кг, при введении животным до обучения УРПИ, статистически достоверно увеличивало как латентное время рефлекса ($P \leq 0,05$), так и количество крыс, не зашедших в темную камеру установки ($P \leq 0,05$), а в дозе 0,05 и 0,1 мг/кг эти показатели снижались до не достоверных значений. Мемантин в дозе 2 мг/кг не влиял на воспроизведение рефлекса по количеству животных, не зашедших в темный отсек камеры и не увеличивал латентное время рефлекса (табл. 2).

Таблица 1

Антиамнестический эффект веществ на модели амнезии УРПИ, вызванной скопололамином.

Группа животных	Доза мг/кг ввб	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч. после обучения		
		Латентное время рефлекса	Латентное время рефлекса	Время нах. на светлой площадке	Кол-во жив., не зашедших в тем. камеру (%)
Интактные	-	8,57±1,43	165,7±9,47	169,7±8,78	90
Контроль со Скопололамином	1,5	14,11±1,77	21,33±3,87	45,15±5,24 [#]	20 ^{\$}
XXX -2	0,1	15,88±3,28	78,38±29,79	97,15±30,05	50
XXX-2	0,05	14,52±2,28	84,23±29,54	98,34±31,17	40
XXX-2	0,01	10,0±1,89	96,25±31,72	115,61±28,87*	60 ^{&}
Мемантин	2,0	16,58±3,19	121,62±30,1	121,62±30,12*	50 ^{&}

-

* -

\$ -

& -

2)

2)

Таблица 2. Антиамнестический эффект веществ на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ

Группа животных	Доза мг/кг ввб	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч. после обучения		
		Латентное время рефлекса (с)	Латентное время рефлекса (с)	Время нах. на светлой площадке	Кол-во жив., не зашедших в тем. камеру (%)
Интактные	-	22,5±4,96	160,8±19,17	177,5±2,5	100
Контроль с МЭШ (120 V)		21,43±5,08	54,29±23,59	83,57±25,47 [#]	30 ^{\$}
xxx-2	0,1	17,25±3,35	117,5±26,58	121,34±21,17	50
xxx-2	0,05	15,22±4,46	75,56±22,84	119,56±19,03	50
xxx-2	0,01	18,75±5,56	131,2±24,29	160,2±15,24*	70 ^{&}
Мемантин	2,0	20,68±3,89	105,74±26,14	138,51±27,32	40

-

* -

\$ -

& -

2)

2)

Таким образом, соединение XXX-2 обладает выраженным антиамнестическим действием на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ.

В результате проведенных исследований установлено, что соединение XXX-2 в диапазоне доз от 0,01 до 0,1 мг/кг обладает отчетливым антиамнестическим эффектом. Этот эффект выявляется на моделях амнезии УРПИ, вызванной скопололамином или МЭШ. Соединение XXX-2 было наиболее эффективно в дозе 0,01 мг/кг, т.к. именно в этой дозе его антиамнестический эффект

реализовался с высокой степенью достоверности на обеих моделях амнезии. С возрастанием дозы вещества до 0,1 мг/кг показатели воспроизведения УРПИ снижались, хотя и были выше уровня показателей контрольных групп на моделях амнезии с разными амнезирующими факторами (скополамин, МЭШ). По выраженности антиамнестического эффекта соединение XXX-2 не уступает действию мемантина (2 мг/кг) на модели амнезии УРПИ, вызванной скопололамином и превосходит его на модели амнезии, вызванной МЭШ.

В исследовании в качестве препарата сравнения использовался мемантин. Мемантин (ISS 2000, акатинол) в настоящее время применяется в клинической практике при различных неврологических заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, и др. По механизму действия мемантин является неконкурентным антагонистом NMDA рецепторов с низким сродством к рецептору. Особенно эффективен препарат у больных с мягкой (начальной) и умеренной стадией развития болезни Альцгеймера.

В настоящем исследовании показано, что мемантин в дозе 2 мг/кг обладает антиамнестическим эффектом на модели амнезии условной реакции пассивного избегания, вызванной скополамином. Вместе с тем, этот эффект препарата выявляется в дозе, существенно превышающей эффективные дозы соединения XXX-2.

Таким образом, получены результаты, позволяющие охарактеризовать соединение XXX-2, как вещество, обладающее способностью улучшать когнитивные функции у животных на фоне дефицита холинергической системы, на модели болезни Альцгеймера. Эффект соединения выявляется в низких дозах (0,01 – 0,1 мг/кг). Соединение превосходит действие мемантина, как по дозам, так и по глубине эффекта.

Это дает надежду, что при дальнейшей оптимизации структур удастся создать препараты широкого спектра действия – для лечения и профилактики нейродегенеративных и психоневрологических заболеваний, а также для стимуляции памяти и улучшения когнитивных функций человека.

Резюме

Целью работы было исследование антиамнестических свойств нового производного диазабикаклононанов соединения XXX-2. Изучение антиамнестических свойств нового соединения XXX-2 и эталонного препарата мемантина на когнитивные функции крыс осуществляли путем определения влияния веществ на выработку условного рефлекса пассивного избегания в челночной камере. Для этого использовали модели амнезии условной реакции пассивного избегания, вызванной острым введением скополамина или максимальным электрошоком. В результате проведенных исследований в опытах на крысах показано, что новое соединение XXX-2 обладает способностью существенно ослаблять нарушения памяти у животных, вызванным введением холиноблокатора скополамина (модель болезни Альцгеймера) или применением максимального электрошока. Эффект вещества, особенно в дозе 0,01 мг/кг, характеризуется улучшением выработки нарушенного у крыс условного рефлекса

пассивного избегания и количества обучившихся крыс. Эталонный препарат мемантин в этих условиях обладал значительно менее выраженным действием, как по дозам, так и по глубине эффекта.

Ключевые слова:

Summary

The aim was to study the anti-amnesic properties of a novel diazabicyclononanes compound XXX-2. The study of the anti-amnesic properties of the new compounds XXX-2 and the reference drug memantine on cognitive function in rats was performed by determining the effect of substances on the production of passive avoidance in a shuttle box. For this purpose, a model of amnesia passive avoidance caused by acute administration of scopolamine or maximal electroshock were carried. The studies in rats showed that the new compound XXX-2 has the ability to significantly attenuate memory deficits in animals caused by the introduction of cholinergic antagonists scopolamine (model of Alzheimer's disease), or using the maximal electroshock. The effect of the substance, especially in a dose of 0.01 mg/kg, characterized by improvement in rats passive avoidance impaired development and the number of trained rats. Reference preparation of memantine in these conditions had significantly less pronounced effect, as measured doses, and the depth of the effect.

Keywords: *Alzheimer's disease, a new derivative diazabicyclononanes, anti-amnesic properties, cholinoblokator scopolamine, maximal electroshock, memantine.*

Литература

1. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва; 2000. 153-8.
2. Voronina T.A. Nootropic drugs in Alzheimer disease treatment. *New Pharmacological Strategies*. In book: *Alzheimer disease: therapeutic strategies*. Giacobini E., Becker M., editors. Boston: Birkhauser; 1994. 265-9 p.
3. Barril X., Kalko S.G., Orozco M., Luque F.J. Rational design of reversible acetylcholinesterase inhibitors. *Mini reviews in Med. Chem.* 2002; 2(1):37-50.
4. Camps P., Munos-Torrero D. Cholinergic drugs in pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Mini reviews in Med. Chem.* 2002; 2(1):11-26.
5. Pomponi M., Giacobini E., Brufani M. Present state and future development of the therapy of Alzheimer disease. *Aging.* 1990; 2(2):125-153.

Крыльский Е. Д.¹, Попова Т. Н.², Кирилова Е. М.³

АКТИВНОСТЬ АКОНИТАТГИДРАТАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ЦИТРАТА В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ И ДЕЙСТВИИ ТИОКТОВОЙ КИСЛОТЫ

1

2

3

1-

Aconitase activity and citrate content in blood serum and muscles of rats at norm, experimental rheumatoid arthritis and under thioctic acid effect were investigated.

Albino laboratory rat males weighing 150-200 g were used as the object of the investigation. Animals were divided into 3 experimental groups: group 1 (control) rats contained in standard mode of vivarium; group 2 - animals with experimental rheumatoid arthritis; group 3 - animals injected with thioctic acid under the pathology development. Materials for the investigation were taken at the 15 day after the experiment start. Rheumatoid factor in rat blood serum was determined by turbidimetric method. Erythrocytes sedimentation rate was measured by the Pachenkov method. Aconitase activity was determined spectrophotometrically at 233 nm in a medium containing 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7,8), 4 mM citrate. Citrate concentration was determined by the Natelson method. The data were processed using the Student t-test, differences were considered significant at

The development of rheumatoid arthritis at rats was accompanied by marker indicators increase and aconitase activity decrease, occurring probably due to excessive generation of reactive oxygen species in these conditions. Enzyme activity inhibition was associated with the citric acid accumulation in rat muscles. Injections of thioctic acid to rats with rheumatoid arthritis was accompanied by the investigated parameters changes to the side of norm, presumably because of the antioxidant activity of the test substance.

Rheumatoid arthritis, free radical oxidation, aconitase, citrate, thioctic acid.

Введение.

В настоящее время ключевой проблемой ревматологии является ревматоидный артрит (РА) – системное аутоиммунное заболевание, поражающее, в первую очередь, периферические суставы [3]. Данные, полученные в ряде работ,

посвященных изучению данной болезни, позволяют предположить, что РА можно отнести к патологиям, сопряженным с окислительным стрессом. [3, 6, 11]. В связи с этим, значительный интерес представляет поиск веществ, обладающих

данные изменения происходили благодаря наличию у молекулы ТК способности обезвреживать свободные радикалы. Известно, что такие АФК, как супероксидный анион-радикал, пероксид во-

дорода, гидроксильный радикал и ряд других, вовлечены в развитие острого и хронического воспаления, являющегося одним из ключевых факторов прогрессирования РА [9,12].

Таблица 1

Маркерные показатели развития ревматоидного артрита в норме, при ревматоидном артрите и введении тиоктовой кислоты.

Группа животных	Контрольная группа	Животные с РА	Животные, получавшие инъекции ТК на фоне РА
Содержание РФ, МЕ/мл	5,31±0,11	7,84±0,16*	5,66±0,11**
СОЭ, мм/час	3,5±0,1	10,4±0,2*	4±0,12**

Установлено, что развитие РА сопровождалось снижением активности АГ в исследуемых тканях и накоплением цитрата в мышцах лабораторных животных (табл. 2). Так, активность фермента при индукции патологии, выраженная в Е/мл и Е/г сырой массы ткани, уменьшалась в 1,2 раза в сыворотке крови и 1,5 в мышцах крыс (табл. 2). По-видимому, причиной подавления активности фермента являлось разрушающее влияние АФК на его активный центр, содержащий железо-серный кластер – чувствительную мишень действия свободных радикалов [5, 8]. Увеличение содержания цитрата на 13% в мышцах животных с индуцированным РА происходило, ве-

роятно, вследствие угнетения активности АГ, которая является основным ферментом, участвующим в метаболизме лимонной кислоты [5]. Введение ТК животным с патологией приводило к изменению показателей активности АГ в исследуемых тканях и содержания цитрата в мышцах в сторону контрольных значений. Так, активность фермента, выраженная в Е/мл и Е/г сырой массы ткани, увеличивалась на 8% в сыворотке крови и 45% в мышцах крыс. Содержание цитрата снижалось в мышцах крыс на 13% по сравнению с животными с РА. Изменения данных показателей в сторону нормы может быть связано с проявлением ТК антиоксидантных эффектов и её способностью снижать интенсивность СО [7, 13].

Таблица 2

Активность аконитатгидратазы и содержание цитрата в сыворотке крови и мышцах крыс в норме, при развитии ревматоидного артрита и при введении тиоктовой кислоты.

Показатель	Сыворотка крови			Мышцы		
	Норма	РА	РА+ТК	Норма	РА	РА+ТК
Активность АГ, Е/мл и Е/г сырой массы	1,12±0,033	0,96±0,029*	1,04±0,031**	0,68±0,020	0,44±0,013*	0,64±0,019**
Содержание цитрата, мкмоль/мл	0,57±0,017	0,56±0,011*	0,47±0,014**	0,38±0,011	0,43±0,013*	0,38±0,011**

Заключение.

Развитие РА у животных сопровождалось уменьшением активности АГ, что, по-видимому, было связано с чрезмерной генерацией АФК и интенсификацией СО при развитии патологии. Повышение содержания цитрата, по-видимому, происходило вследствие угнетения активности

АГ – основного фермента, участвующего в его метаболизме. Введение ТК приводило к изменению исследуемых параметров в сторону нормы, что, по-видимому, могло быть связано с наличием у данного вещества антиоксидантных свойств.

Список литературы.

1. Вершинин В.И., Власова И.В., Никифорова И.А. Аналитическая химия. Москва (Россия): Академия; 2011. 444 с;
2. Луговская С.А., Долгов В.В. Лабораторная Гематология, Тверь (Россия): Триада; 2006. 158 с;
3. Мазуров В.И., редактор. Клиническая ревматология: Руководство для врачей. Санкт-Петербург (Россия): Фолиант, 2005. 487 с;
4. Рахманова Т.И., Матасова Л.В., Семенихина А.В., Сафонова О.А., Макеева А.В., Попова Т.Н. Методы оценки оксидативного статуса: учебно-методическое пособие для вузов. Воронеж (Россия): Изд-во ВГУ. 2009. 64 с;
5. Gardner P.R., Nguyen D.M., White C.W. Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs. Proc. Nat. Acad. Sci. 1994; 91(25):12248-12252;
6. Hitchon C.A., El-Gabalawy H. Oxidation in rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2004; 6:265-278;
7. Liang J.F., Akaike T. Inhibition of nitric oxide synthesis in primary cultured mouse hepatocytes by alpha-lipoic acid. Chem. Biol. Interact. 2000; 124(1), 53-60;
8. Murakami K., Yoshino M. Inactivation of aconitase in yeast exposed to oxidative stress. Biochem. Mol. Biol. Int. 1997; 41(3):481-486;
10. Nissim A., Winyard P. G., Corrigan V., Fatah R., Perrett D., Panayi G., Generation of neoantigenic epitopes after posttranslational modification of type II collagen by factors present within the inflamed joint. Chernajovsky Y. Arthritis Rheum. 2005; 52(12):3829-38;
11. Ozkan Y., Yardym-Akaydyn S., Sepici A., Keskin E., Sepici V., Simsek B. Oxidative status in rheumatoid arthritis. Clin Rheumatol. 2007; 26(1): 64-68;
12. Stocker R., Keaney J.F. Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. Physiol Rev. 2004; 84(4):1381-478;
13. Winyard P.G., Moody C.J., Jacob C. Oxidative activation of antioxidant defence. Biochem Sci. 2005; 30(8):453-61;
14. Zacharias E. Suntres Prophylaxis against lipopolysaccharide-induced liver injuries by lipoic acid in rats. Pharmacological Research. 2003; №48, 585-591.

Павличенко В.В.¹, Протопопова М.В.², Гамбург К.З.³, Войников В.К.⁴

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ТОПОЛЯ БЕРЛИНСКОГО
ГЕНОМ *AtGA20ox1***

1

2

3 -

4 -

Резюме:

Ключевые слова:

Abstract: The work is addressed to the fundamental problem of genetic engineering of plants - the study of genetic transformation efficiency for the development of the woody plant forms, which are characterized by increased growth rate and biomass accumulation. As an object for the genetic transformation *Populus berolinensis* was chosen. Vector system for the genetic transformation was performed by using a commercial vector pBII21 containing the general promoter CaMV35S and selective antibiotic resistance gene - nptII. The transfer of vector construction into *A. tumefaciens* cells was performed by direct transformation method of freezing and thawing. Direct genetic transformation of the plant was carried out by incubation of plant explants (leaf segments) in the *A. tumefaciens* suspension. As a result of the study the working concentration of the antibiotic (kanamycin, 12 mg / l) was chosen, it can be effectively used for the selection of transgenes on the nutrient media. First transgenic poplar with AtGA20Ox1 gene was created. Obtained plants are more resistant to the kanamycin comparing to control plants. It is shown that AtGA20Ox1 expression in the poplar in the presence of kanamycin in the medium leads to inhibition of root formation in plants. In the absence of kanamycin in the media, transgenic plants showed normal root formation.

Key words: plant growth hormones, genetic transformation of plants, woody plants, gibberellin oxidase, *Populus berolinensis*.

В настоящее время с постоянным увеличением спроса на продукцию деревообрабатывающей и лесохимической отраслей промышленности, все более остро встает проблема рационального использования естественных и искусственных лесонасаждений для удовлетворения растущих нужд промышленности. Одним из подходов решения проблемы сохранения и возобновления древесных ресурсов является искусственное восстановление лесонасаждений и создание древесных плантаций. В то же время, следует учитывать тот факт, что продолжительный срок возобновления лесов (50—150 лет) практически несоизмерим с длительностью обычных производственных циклов. Кроме того, скорость возобновления лесов после вырубок ограничена не только физиологическими особенностями растений, но и в значительной степени климатическими особенностями региона их произрастания. В связи с этим всё большую актуальность приобретают исследования, направленные на разработку мероприятий по увеличению продуктивности древесных растений для увеличения эффективности восстановления лесонасаждений. Одним из классических путей ускорения роста и увеличения биомассы древесных растений является обработка лесных плантаций фитогормонами роста.

Данный подход является экономически не выгодным, так как сопряжен с повышенными трудо- и энергозатратами. Наиболее перспективными в данном направлении являются подходы, основанные на применении методов генетической инженерии. Данные технологии позволяют получать растения, которые способны естественным путем (без искусственной обработки фитогормонами) синтезировать гормоны роста в большом количестве, и тем самым ускорить их рост и развитие, что, в конечном итоге, позволит значительно сократить объем площадей, занятых под насаждения, и снизить затраты на производство и, соответственно, цену конечного продукта. Таким образом, целью данного исследования является создание быстрорастущих форм древесных растений с помощью их генетической трансформации ключевыми генами биосинтеза гиббереллинов.

В качестве объекта исследования для проведения генетической трансформации был выбран тополь берлинский (*Populus berolinensis* Dippel). Представителей семейства Ивовые часто используют в качестве модельного объекта для изучения влияния генетической трансформации генами биосинтеза гибберелинов на рост и разви-

тие древесных растений. Наиболее перспективными в этом отношении являются виды рода *Populus*, ввиду их высокой способности к трансформации, небольшого размера генома, а также поскольку к настоящему моменту имеется полный и частично аннотированные геномы представителей этого рода. Кроме того, тополь берлинский хорошо адаптирован к климатическим условиям Восточной Сибири и обладает хорошими показателями зимостойкости и продуктивности в течение вегетации, поэтому работа по улучшению показателей роста и развития именно этого вида представляется актуальной и перспективной.

С использованием генетической базы данных (GenBank) был произведен поиск нуклеотидной последовательности, кодирующей гиббереллин-20-оксидазу (*GA20ox1*) у *Arabidopsis thaliana*. Подготовку векторной системы осуществляли на основе коммерческого вектора pBI121, содержащего генеральный вирусный промотор CaMV35S и селективный ген устойчивости к антибиотику (канамицину) - *nptII*. Из тканей листьев *A. thaliana* проводили выделение препарата общей РНК, очистку мРНК, которую затем использовали для синтеза кДНК. Полученные образцы кДНК использовали для ПЦР-амплификации *AtGA20ox1* с помощью модифицированных праймеров, содержащих сайты рестрикции BamHI и SacI для последующей встройки в клонирующий вектор. Полученные ампликоны лигировали в промежуточный плазмидный вектор pBluscript по сайтам рестрикции BamHI и SacI. Полученную плазмиду встраивали в клетки *E. coli* для консервации и оперативной наработки модифицированного гена *AtGA20ox1*, несущего сайты рестрикции. Векторная система на основе pBI121 была также предварительно амплифицирована в клетках *E. coli*. Затем pBI121 и pBluscript со встроенным модифицированным геном *AtGA20ox1* выделяли из клеток *E. coli*, рестрицировали по соответствующим сайтам рестрикции и разделяли на электрофоретическом геле. Очищенные продукты рестрикции (pBI121 с вырезанным участком *gus* и ген *AtGA20ox1*) лигировали для получения рабочих векторных систем для агробактериальной трансформации. Полученный вектор на основе pBI121 и несущий ген *AtGA20ox1* под контролем конститутивного промотора был встроен в клетки *E. coli*. Отбор бактериальных клонов, несущих необходимую генетическую конструкцию, на всех этапах осуществляли на бактериальных средах с использованием

канамицина в качестве селективного агента и бактериальной ПЦР с использованием специфических праймеров. Перенос векторной конструкции в клетки *A. tumefaciens* осуществляли с помощью прямой трансформации методом замораживания-оттаивания. Непосредственно генетическую трансформацию растений осуществляли при помощи инкубации растительных эксплантов (отрезки листьев) в суспензии *A. tumefaciens* с использованием селективных сред. Трансформированные и отмытые от агробактерий экспланты переносили на питательные среды для получения регенератов. Для освобождения растительного материала от агробактерий и получения регенератов использовали цефотаксим.

В результате проделанной работы была подобрана рабочая концентрация антибиотика (канамицин, 12 мг/л), которая может эффективно использоваться для селективного отбора трансгенов на питательных средах. Также определен тип экспланта растений, который наиболее эффективно дает регенераты после агробактериальной трансформации - им оказались отрезки стеблей. Они наиболее эффективно образуют регенераты в отличие от кусочков листьев и черешков листьев тополя. Получены первые трансгенные растения тополя берлинского со встроенным геном *AtGA20ox1* из *Arabidopsis thaliana*. Полученные растения более устойчивы к канамицину по сравнению с контрольными растениями. Показано, что экспрессия гена *AtGA20ox1* в тополе берлинском в присутствии канамицина в питательной среде приводит к угнетению образования корней у растения. В отсутствие канамицина, у растений, получивших ген *AtGA20ox1*, происходило нормальное корнеобразование. Поскольку канамицин является известным ингибитором корнеобразования у растений, а гиперэкспрессия гиббереллинов также часто приводит к нарушению развития корневой системы, мы полагаем, что обнаруженный эффект может быть связан с синергическим эффектом канамицина и повышенным уровнем экспрессии гиббереллинов в тканях трансформированных растений. Дальнейшая работа будет направлена на сравнение темпов роста и развития трансгенных форм тополя берлинского и контрольных растений как на питательных средах, так и в почве (в закрытых климатических камерах, изолированных от внешней среды).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-31681 мол_а.

Протопопова М.В.¹, Павличенко В.В.², Гнутиков А.А.³, Чепинога В.В.⁴

РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА НЕМОРАЛЬНЫХ РЕЛИКТОВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ

1

2

3

4

Резюме:

-rps20, psbA-trnH, trn

rps12-

rps12-

Ключевые слова:

Abstract: The present study was aimed to find the molecular markers allowing to estimate genetic polymorphism within populations of the nemoral relict species in Baikal Siberia. Three relict species, *Anemone baicalensis* Turcz. ex Ledeb., *Eranthis sibirica* DC. and *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch, were examined. Plants were collected along the northern foothills of the Khamar-Daban Ridge (southern coast of Lake Baikal). The genetic polymorphism value was estimated by the comparative analysis of noncoding nucleotide sequences in nuclear genes of the ribosomal RNA (ITS1, ITS2) and of the chloroplast DNA (rpl20-rps20, psbA-trnH, trnV). The temperature and time temporal regime of amplification was optimized for the studied markers and species. The specificity of amplification and primers annealing for ITS1, ITS2 and rpl20-rps20 regions of *W. ternata*; psbA-trnH, ITS1, ITS2 of *A. baicalensis*; ITS1, ITS2; rpl20-rps20 and trnV of *E. sibirica* were confirmed by sequencing and comparative analysis by BLAST of NCBI. The analysis of nucleotide sequences of ITS1, ITS2 and rps12-rpl20 regions showed the significant differences between two populations of *E. sibirica* from Besymiannaya River and Bolshoi Mamai River valleys. Thus, the analysis of the phylogenetic tree (Neighbour-Joining algorithm) and identity table (built in ClustalX) showed that differences in nucleotide sequences of these markers are significant and close to the interspecies level. The found differences indicated the genetic heterogeneity of populations of the relict species from the northern foothills of the Khamar-Daban Ridge.

Key words: nemoral relicts, Refugium, glaciation, genetic polymorphism, molecular genetic markers.

На протяжении Четвертичного периода растительность Южной Сибири претерпевала значительные изменения, однако в отличие от

растительности Северной Европы, не теряла пре-емственности благодаря отсутствию здесь по-кровного оледенения [5]. Исследования генети-

ческого полиморфизма реликтовых видов растений на сегодняшний день является одним из наиболее эффективных подходов, позволяющих выявить не только видовую структуру и родство отдельных популяций, но также определить особенности динамики биомов, в которых произрастают эти растения, в условиях меняющегося климата. Настоящая работа направлена на подбор молекулярно-генетических маркеров, позволяющих оценить степень генетического полиморфизма реликтовых видов растений Байкальской Сибири, а также получить предварительные данные о генетическом разнообразии популяций модельных видов в пределах рефугиума на северном макросклоне хр. Хамар-Дабан (Южное Прибайкалье).

В качестве модельных объектов выбраны одни из наиболее типичных представителей неморальной реликтовой флоры Байкальской Сибири: *Anemone baicalensis* Turcz. ex Ledeb., *Eranthis sibirica* DC. и *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch.

Степень генетического разнообразия проводили с помощью сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей ядерных генов рибосомной РНК (*ITS1*, *ITS2*) и ДНК хлоропластов (*rpl20-rps20*, *psbA-trnH*, *trnV*). Сбор материала для молекулярно-генетических исследований проводили в поймах крупных рек северного макросклона хр. Хамар-Дабан на участке от р. Безымянная (близ с. Мангутай) до р. Большая Речка. Фиксацию материала проводили высушиванием в силикагеле и заморозкой образцов в жидком азоте. Для выделения ДНК использовали коммерческий набор Thermo Scientific и СТАВ метод [1] с авторскими дополнениями. Амплификацию маркерных последовательностей проводили с использованием набора Promega (# M8291) и специфичных праймеров [2, 3, 4] в финальном объеме реакционной смеси 20 мкл. Полученные ампликоны отделяли от димеров праймеров и продуктов реакции с помощью электрофореза в агарозном геле, затем участки ДНК выделяли из геля и проводили их очистку с использованием набора Thermo Scientific. Очищенные продукты лигировали с коммерческим плазмидным T/A вектором (Thermo scientific) с последующей трансформацией в клетки *E. coli*. Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью секвенирования плазмидного вектора по методу Сэнгера.

Результаты показали, что методы фиксации, использованные при сборе растительного

материала, достоверно не влияют на качество выделения ДНК. Хлороформная экстракция с использованием СТАВ и PVP с последующей обработкой РНКазой значительным образом повышает качество препарата ДНК по сравнению с коммерческими наборами. Были подобраны оптимальный температурный и временной режимы реакции амплификации. Показано, что эффективная амплификация исследованных маркеров у *W. ternata* и *E. sibirica* проходит при использовании финальной концентрации каждого праймера 100-200 нМ и температуре отжига 52°C в течение 20 секунд. Амплификация исследованных маркеров у *A. baicalensis* проходит эффективно при использовании финальной концентрации праймеров в 5-10 раз выше, чем для двух других видов при температуре 48-52°C в течение 30 секунд. Секвенирование маркерных последовательностей и сравнительный анализ с последовательностями, находящимися в базе данных NCBI, показали специфичность праймеров и реакции амплификации на участки *ITS1* и *ITS2* и *rpl20-rps20* у *W. ternata*; *psbA-trnH*, *ITS1* и *ITS2* у *A. baicalensis*; на *ITS1* и *ITS2* и *rpl20-rps20*, *trnV* у *E. sibirica*. Для остальных маркеров необходима дальнейшая адаптация методики амплификации. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей маркерных участков *ITS1* и *ITS2* и *rps12-rpl20* выявил различия между двумя популяциями *E. sibirica*, произрастающих вблизи р. Безымянная и р. Большой Мамай. Так, филогенетический анализ (Neighbour-Joining) на основании выравнивания последовательностей *ITS1* и *ITS2* (без учета региона 5.8S) у представителей двух популяций *E. sibirica* и других представителей сем. *Ranunculaceae* (включая другие виды рода *Eranthis*) показал сходство последовательностей у этих двух популяций. Представители двух популяций формировали общий узел, который образовывал общий кластер с другими выбранными для анализа представителями рода *Eranthis*. В то же время, анализ таблицы идентичности последовательностей показал, что разница в *ITS1* и *ITS2* регионах между популяциями *E. sibirica* значительна и близка к межвидовому уровню в пределах одного рода. Для популяций *E. sibirica* также выявлен полиморфизм *rps12-rpl20* регионов. Процент идентичности по этому региону составил 82 %, что ниже процента идентичности с представителями других родов *Ranunculaceae*, использованных в анализе

(*Aconitum* и *Ranunculus*), который составил 83–87 %. Таким образом, можно констатировать, что выявленные различия нуклеотидных последовательностей маркерных участков *ITS1* и *ITS2* и *rps12-rpl20* между двумя популяциями *E. sibirica* существенны и близки к межвидовым, что может говорить о генетической гетерогенности популяций в пределах ареала вида на северном макросклоне хр. Хамар-Дабан.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-31350-мол_а.

Список литературы

1. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue-PROTOCOL. *Phytochem Bull.* 1987; 19: 11–15.
2. Hamilton M. Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology.* 1999; 8: 521–52.
3. Utelli A., Roy B., Baltisberger M. Molecular and morphological analyses of European *Aconitum* species (Ranunculaceae). *Plant Systematics and Evolution.* 2000; 224: 195–212.
4. Wang L., Abbott R. J., Zheng W., Chen P., Wang Y., Liu J. History and evolution of alpine plants endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau: *Aconitum gymnantrum* (Ranunculaceae). *Molecular Ecology.* 2009; 18(4): 709–21.
5. Wilson R.C.L., Drury S.A., Chapman J.L. *The Great Ice Age: climate change and life.* London: Routledge and the Open University; 2000. 267 p.

А.С. Самсонова, Н.Г. Клишевич,

БИОСОРБЦИОННЫЙ ПРЕПАРАТ РОДОБЕЛ-ТН: СОСТАВ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1

2

Summary

Aim of the work was to develop biosorption composition for treatment and recultivation of soil polluted with crude oil and refining products.

*RHODOBEL-TH preparation is based on local microbial strains-oil degraders *Rhodococcus wratislaviensis* G13, *Rhodococcus ruber* ING-30P, *Bacillus* sp. 2-4-201N, *Bacillus* sp. 4NG-PCD. Active microorganisms were immobilized on natural peat support. Peat combines properties of oil sorbent, carrier for microbial degraders of hydrocarbons and agent remediating petroleum-contaminated soil. Conventional microbiological, physical-chemical, chemical investigation methods were used in this study.*

Industrial trials of 1 ton RHODOBEL -TH introduced at dose 350 kg/t oil to the site of Gomel pumping station, Druzhba international pipeline polluted with 3 ton of leaked oil demonstrated 89.7% degree of petroleum decomposition after 1 month of exposure.

Keywords: biosorption agent, oil, microbial degraders, immobilization, decomposition, recultivation

С ростом нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности увеличивается ущерб, который наносится почве и водным экосистемам вследствие загрязнения их нефтью [1]. Разработка биотехнологических приемов рекультивации почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами основывается на использовании природных микроорганизмов, потребляющих в качестве источников питания широкий спектр органических соединений [3].

Имеющийся зарубежный и отечественный опыт свидетельствует, что в ситуациях чрезвычайных, когда нужно очистить почву и воду от скопления большого количества нефти, данные прогнозов исследователей в решении этой проблемы при использовании микроорганизмов вполне оправданы [2].

В процессе воздействия углеводов нефти на почву изменяются не только ее физико-химические характеристики, но и происходит обеднение почвы наиболее ценными для ее функционирования питательными компонентами [5]. В связи с этим актуальной экологической проблемой становится разработка технологии рекультивации, связанная не только с удалением загрязняющих веществ, но и с восстановлением в почве баланса гумуса путем внесения природного гумуса содержащего материала – торфа. Интенсификации процесса самоочищения можно добиться с помощью биотехнологических приемов, основанных на внесении микроорганизмов-деструкторов нефти, иммобилизованных на природных носителях [4]. В этой связи к числу важных характеристик, определяющих эффективность культур микроорганизмов, используемых для создания препаратов, предназначенных для очистки нефтезагрязненной почвы, относятся их деструктивная активность и иммобилизационная способность. Создание в республике Беларусь отечественного биосорбционного препарата, обладающего наряду с высокой эффективностью биоремедиации почвы от нефти, способностью к рекультивации очищенных почв сельскохозяйственного назначения и к длительному хранению, является задачей актуальной как в экономическом, так и социальном (экологическом) отношении.

Цель работы – разработка технологии получения и применения биосорбционного препарата на основе микроорганизмов-деструкторов нефти, иммобилизованных на природном сорбенте – торфе.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись:

- микроорганизмы-деструкторы, входящие в состав препарата РОДОБЕЛ-ТН: *Rhodococcus wratislaviensis* Г-13, *Rhodococcus ruber* 1НГ-30П, *Bacillus sp.* 2-4-201N и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД;

- нефть ($d = 0,85 \text{ г/см}^3$, С - 85,6%, Н - 12,7%, О+S - 1,7%);
- нефтепродукты: дизельное топливо, мазут, моторное масло
- углеводороды нефти: н-декан (х.ч.), п-ксилол (х.ч.), гексадекан (х.ч.), бензол (х.ч.), нефть (сырая);
- торф: верховой магеланникум, осоковый, тростниковый, пушицевый, пушицево-сфагновый.

Выделение микроорганизмов, разрушающих нефть, проводили методом накопительных культур из почвы, загрязненной нефтью. Образцы помещали в жидкую минеральную среду Е-8 следующего состава (г/л): NaCl – 0,5; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,5; KH_2PO_4 – 0,7; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,8; рН 7,3; нефть в качестве единственного источника углерода и энергии – 0,1%. Накопительные культуры получали путем их 10-кратных пассажей в условиях повышающихся концентраций нефти в среде от 0,1 до 1%. Культуры накопления рассевали на поверхности агаризованной минеральной среды Е-8 с нефтью. Для выявления деструкторов, выросшие изолированные колонии вносили в жидкую минеральную среду Е-8 с нефтью (0,1%).

Определение числа живых клеток осуществляли традиционным методом.

Количественное определение нефтепродуктов проводили по методике Гидрохимического института Главного управления гидрометеорологической службы спектрофотометрическим методом. Методика определения нефтепродуктов (НП) основана на экстракции НП четыреххлористым углеродом с одновременной очисткой элюатов на оксиде алюминия в колонке. Концентрацию углеводов в пробе определяли ИК-спектрофотометрическим методом. Интенсивность поглощения каждого раствора на инфракрасном спектрометре измеряли в интервале длин волн $2700\text{--}3100 \text{ см}^{-1}$. Оптическую плотность рассчитывали методом базисной линии, которую проводили как касательную к основанию двух пиков, соответствующих симметричным и ассиметричным валентным колебаниям CH_2 и CH_3 -групп. Анализ вели по полосе поглощения ассиметричных валентных колебаний метиленовых групп – 2926 см^{-1} .

Степень деградации нефти (S) рассчитывали по формуле:

$$S = 100 - C/C_0 \times 100,$$

где C – конечная концентрация нефти, мг/л; C₀ – концентрация внесенной нефти, мг/л

Результаты и их обсуждение

Из природных объектов (почва, сточные воды), загрязненных нефтью и продуктами ее переработки (дизельное топливо, мазут, моторное масло), выделено 27 штаммов высокоактивных микроорганизмов-деструкторов нефти, способных расти на агаризованной среде Е-8, содержащей 0,1-5,0% нефти в качестве единственного источника углерода. Наиболее обильный рост на среде со всеми использованными концентрациями нефти выявлен у трех выделенных микроорганизмов-деструкторов, идентифицированных нами как *R. ruber* 1НГ-30П, 2-4-201N и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД.

Скрининг культур деструкторов в коллекции микроорганизмов лаборатории деградации ксенобиотиков и биоремедиации природных и производственных сред Института микробиологии НАН Беларуси позволил выявить штаммы *R. opacus* 29Ф, *R. erythropolis* 23Ф, 37Ф, 70Ф, 5Д, *R. ruber* 1В, 2В *R.wratislaviensis* Г-13, которые наиболее активно росли на среде с нефтью. Штаммы были выделены из почв Беларуси и характеризовались высокой деструктивной активностью в отношении широкого круга ксенобиотиков.

Выделенные и музейные штаммы микроорганизмов были подвергнуты адаптивной селекции к высоким концентрациям нефти в жидкой минеральной среде Е-8. Полученные штаммы *R. wratislaviensis* Г-13, *R. ruber* 1НГ-30П, 2-4-201N и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД на основании свойственной им высокой скорости роста в сочетании со способностью разрушать нефть в концентрации от 1 до 10% были использованы в качестве микробной составляющей в создании препарата для очистки воды и почвы от нефти и продуктов ее переработки. Штаммы депонированы в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (научной коллекции типовых и промышленно ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси).

Важным этапом в разработке препарата для очистки почвы от нефти являлся этап выбора носителя для иммобилизации микроорганизмов-деструкторов углеводородов. Основными требованиями к такому носителю являлись: высокая нефтепоглощающая способность;

высокоразвитая поверхность, обеспечивающая сорбцию клеток микроорганизмов-деструкторов для создания тесного контакта их с субстратом; природное происхождение, отвечающее биосферной совместимости с очищаемой почвой. Кроме того, при выборе носителя для иммобилизации микроорганизмов-деструкторов нефти должны учитываться такие показатели, как простота технологии его получения и наличие необходимых сырьевых ресурсов, невысокая стоимость. В достаточной степени универсальностью свойств, отвечающих вышеперечисленным требованиям, обладает торф. Более того, являясь природным органоматериалом, он служит источником гумуса и элементов дополнительного питания для иммобилизованных на нем микроорганизмов-деструкторов, способствуя тем самым созданию условий, необходимых для восстановления свойств почв, нарушенных в результате загрязнения.

Использование торфа в качестве сорбента нефти и продуктов ее переработки предопределяется, прежде всего, его микроструктурой, пористостью и дисперсностью. Определяющим показателем сорбционной способности торфа по отношению к нефти является степень разложения, т. е. уровень гумификации исходного растительного материала. Поэтому для защиты почвенных объектов от загрязнения нефтью необходимо использовать торф с малой степенью разложения.

Установлено, что наибольшей сорбционной способностью по отношению к воде и нефти обладают образцы малоразложившегося торфа (R=5-15%). Величина нефтепоглощения (НП) у них изменяется от 9,8 до 13,8 кг/кг. НП у низинного торфа меньше, чем у верхового. С увеличением степени разложения низинного торфа величина НП снижается до 1,4 кг/кг. Величина НП зависит от размера частиц торфа. С увеличением размера частиц от 0,5 до 2-3 мм для сфагнового торфа значения НП увеличиваются от 6,8 до 9,8 кг/кг, для сосново-сфагнового торфа – от 2,5 до 6,4 кг/кг, что обусловлено увеличением порового пространства, способного удерживать нефть. Соответственно увеличению нефтепоглощения увеличивается иммобилизационная активность сфагнового торфа. Все исследованные культуры, независимо от родовой и видовой принадлежности, проявили высокую иммобилизационную способность по отношению ко всем исследованным образцам торфа при влажности его не выше 20% и размере частиц не меньше 0,3 мм.

Эффективность иммобилизации микроорганизмов-деструкторов на различных видах

торфа была проверена экспериментально. Процесс иммобилизации состоит из следующих стадий: подготовки микроорганизмов-деструкторов; обработки торфяного носителя сгущенной биомассой; адгезии микроорганизмов-деструкторов на носителе; консервации иммобилизованных на носителе микроорганизмов-деструкторов.

Установлено, что первичная мгновенная иммобилизация клеток *Rhodococcus*

wratislaviensis Г-13 значительно выше, чем у *Rhodococcus ruber* 1НГ-30П и составляет 0,01 г и 0,006 г сухой биомассы/1г носителя, соответственно. Первичной мгновенной иммобилизации клеток бациллярных культур на носителе не выявлено. Только через 24 часа 0,01 и 0,004 г клеток *Bacillus sp.* 2-4-201N и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД соответственно закрепилось на 1г носителя (см. рис.).

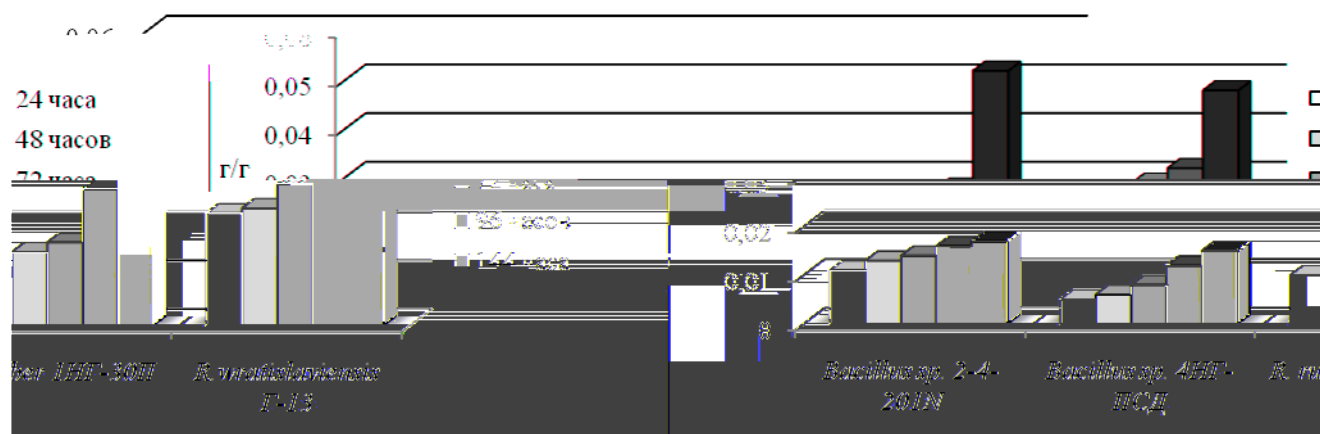


Рисунок. Иммобилизация бактерий на торфе

В процессе роста культуры родококки проявляют более высокую иммобилизационную активность, чем бациллярные культуры: максимальный сухой вес их клеток, закрепившихся на носителе через 144 часа, составляет 0,048 и 0,052 г/г торфа, тогда как объем иммобилизационной биомассы культуры *Bacillus sp.* 2-4-201N и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД достигал 0,015 и 0,014 г/г носителя, соответственно.

Согласно полученным результатам наибольшая степень деградации нефти отмечалась в вариантах с преобладанием верхового торфа в составе биосорбционного препарата.

Учитывая необходимость сочетания сорбционных свойств и деструктивной активности биосорбционного препарата, в качестве носителя для иммобилизации микроорганизмов-деструкторов нефти был выбран верховой торф низкой и средней степени разложения, с влажностью до 20% и размером частиц технологической фракции не меньше 0,3 мм.

В соответствии с параметрами опытно-промышленного регламента (ОПР) микробный комплексный препарат микроорганизмов-деструкторов нефти, предназначенный для иммобилизации на торфяном носителе, получен путем смешивания культуральных жидкостей 4-х

штаммов микроорганизмов *Rhodococcus ruber* 1НГ-30П, *Bacillus sp.* 2-4-201N, *Rhodococcus wratislaviensis* Г13 и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД. Общий титр жизнеспособных клеток, КОЕ/мл в препарате - не менее 1×10^9 .

В соответствии с ОПР торфяной носитель для иммобилизации микробной составляющей биосорбционного препарата соответствует следующим основным показателям: влажность – не более 20%; размер частиц – не более 5 мм; сорбционная емкость – не менее 3 кг/кг.

Разработаны технические условия (ТУ ВУ100289066.097-2012) на биосорбционный препарат РОДОБЕЛ-ТН, представляющий собой смесь микроорганизмов *Rhodococcus ruber* 1НГ-30П, *Bacillus sp.* 2-4-201N, *Rhodococcus wratislaviensis* Г13 и *Bacillus sp.* 4НГ-ПСД, иммобилизованные на носителе – торфе.

Исходным сырьем для производства препарата РОДОБЕЛ-ТН являются: торфяной сорбент; микробный препарат; раскислитель (мел гранулированный, массовая доля активных $\text{CaCO}_3 + \text{MgCO}_3$, % – 97,94); биогенные элементы (N:P:K) в виде NH_4NO_3 , NaH_2PO_4 и KCl.

Разработанный препарат имеет важнейшие физико-химические и микробиологические характеристики, приведенные в таблице.

Таблица

Физико-химические и микробиологические характеристики биосорбционного препарата РОДОБЕЛ-ТН

Наименование показателей	Значение показателя
1. Влажность, %	53,1
2. Зольность, А ^с	8
3. Массовая доля древесных включений, %	0,5
4. Тип торфа	верховой
5. Нефтеемкость, кг/кг	3
6. Титр жизнеспособных клеток, КОЕ/г	6,8x10 ⁹

По заключению токсиколого-гигиенической экспертизы микробного препарата РОДОБЕЛ-ТН, проведенной ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» Минздрава Республики Беларусь, биосорбционный препарат РОДОБЕЛ-ТН не обладает существенными вирулентными, токсигенными, токсическими и раздражающими свойствами и рекомендован для постоянной государственной регистрации в Республике Беларусь в качестве биологического средства очистки объектов окружающей среды от нефти и нефтепродуктов согласно инструкции по применению.

Исследование деструктивной активности опытной партии биосорбционного препарата провели в условиях лабораторного опыта. Модельное загрязнение почвы осуществили на уровне 5 000, 10 000 и 15 000 мг/кг, что соответствует 100, 200 и 300 ПДК (ПДК – 50 мг УВ/кг для почв сельскохозяйственного использования). Через 45 суток компостирования загрязненных образцов почвы, обработанных биосорбционным препаратом, содержание нефти в них значительно снизилось, а показатели степени деградации составили 69,4; 71,8 и 77,8 % соответственно.

Эффективность применения опытно-промышленной партии биосорбционного препарата для очистки дерново-подзолистой супесчаной почвы от нефтяных загрязнений была изучена в условиях полевого мелкоделяночного опыта, заложенного на территории опытного участка Института природопользования НАН Беларуси. Учетная площадь делянки 1 м², повторность четырехкратная. Загрязнение нефтепродуктами моделировалось равномерным разбрызгиванием дизельного топлива в количестве 1,2 и 2,4 дм³, что соответствовало 100 и 200 ПДК. Для очистки почвы от загрязнения дизельным топливом биосорбционный препарат вносился в количестве 1,6 и 3,2 кг, исходя из нефтеемкости торфа 3 кг/кг. Степень деградации нефтепродуктов в почве за 3 месяца наблюдений при применении биосорбционного препарата РОДОБЕЛ-ТН составила 92,7–94,8 % в зависимости от уровня загрязнения, что

на 23,4–24,4 % выше, чем в фоновой нефтезагрязненной почве.

Производственные испытания установочной партии препарата провели на промплощадке насосно-перекачивающей станции «Гомель» ОАО «Гомельтранснефть Дружба» для очистки грунта от 3 т нефти при норме расхода препарата, составляющей 350 кг/т нефти.

Установленная степень деградации 3-х тонн нефти в почве, составившая 89,7 % за 1 месяц (с 23 сентября по 23 октября) наблюдений в условиях низких температур (9 – 11 °С) при использовании 1 т биосорбционного препарата РОДОБЕЛ-ТН, свидетельствует о его существенном углеводородокисляющем потенциале, соответствующем лучшим мировым аналогам.

Литература

1. Ветрова А.А. и др. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти. Известия Тульского государственного университета. 2013; №2. С. 241–257.
2. Войно Л.И. Биодegradация нефтезагрязненных почв и акваторий. Фундаментальные исследования. 2006; №5. С. 68–70.
3. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Костарев С.М. Применение экологически безопасной экспресс-технологии очистки нефтезагрязненных почв и грунтов (на примере районов нефтедобычи Пермской области). Нефтяное хозяйство. 2013; Т.12. С. 85–99.
4. Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами. Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012; Т. 7, № 1. http://www.ngtp.ru/rub/7/16_2012.pdf.
5. Шамраев А.В., Шорина Т.С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды. Вестник ОГУ, 2009; № 6. С. 642 – 645.

Фармацевтические науки

Н.В. Бородина¹, В.Н. Ковалев², А.А. Стремоухов³

АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ПОБЕГОВ SALIX ALBA L

1

; 2

3

- 2014

Summary

Branch of willow are a rich source of connections of phenolic nature (flavonoids, tannic substances), carbohydrates, organic acids, vitamins, macro - and microelements The objects of the study were branch *Salix alba L* which were collected during 2013 - 2014 years in various parts of the Kharkiv region. It was made at first comparative analysis of free and bonded amino acids composition by high performance liquid chromatography in different herbal samples. It was established 23 amino acids, 9 of which belong to essential. Dominant amino acids in all the test samples are alanine, lysine, leucine. Results talk about perspective of the use of vegetative part of willows.

Введение. В Украине естественно произрастают многие виды ивы (*Salix L.*, семейство *Salicaceae*). Наиболее известны и распространены ива белая (серебристая), остролистная, ломкая, козья – древесные виды; ива пятитычинковая (верболоз), пурпурная, остролистная (шелюга) – кустарниковые виды. Безусловным фаворитом является Ива белая (украинское название – верба, ветла) *Salix alba L.* На сегодняшний день имеется значительное число работ, посвященных изучению химического состава коры ивы белой, в основном соединений фенольной природы, фенологликозидов, флавоноидов, дубильных веществ. Между тем побеги ивы являются богатым источником самых разнообразных биологически активных веществ, поэтому могут быть использованы в качестве перспективного растительного сырья для получения комплексных препаратов [1-3].

Цель исследования. Анализ аминокислотного состава побегов *Salix alba L.*

Материалы и методы. Объектами нашего изучения служили побеги *Salix alba L.* которые заготавливались 2013- 2014 году на

протяжении вегетационного периода в различных районах Харьковской области.

Аминокислотный состав исследуемых видов сырья изучали на хроматографе фирмы Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованным проточным вакуумным дегазатором G1379A, 4-х канальным насосом градиента низкого давления G1311A, автоматическим инжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, диодноматричным детектором G1316A. Для проведения анализа была использована хроматографическая колонка размером 4,6 × 50 мм, заполненная октадецилсилильным сорбентом, зернением 1,8 мкм, «ZORBAX-XDB-C18».

Пробоподготовка для анализа растительного сырья.

Свободные аминокислоты. На аналитических весах в виале на 10 мл взвешивается 0,3 г мелкоизмельченного растительного сырья. Затем в виалу приливается 3 мл 0,1 N водного раствора соляной кислоты содержащего 0,2% β-меркаптоэтанола. Виала герметично закрывается и помещается на 2 ч в ультразвуковую баню при температуре 50 °C

Общее содержание аминокислот (связанные + свободные). На аналитических весах в виале взвешивается 0,20 г мелкоизмельченного растительного сырья. Затем в виалу приливается 3 мл 6 N водного раствора соляной кислоты содержащего 0,4% β-меркаптоэтанола. Виала герметично закрывается и выдерживается 24 ч при температуре 110 °С.

Виалы с образцами приготовленными по п 2.1 и 2.2 центрифугируют и фильтруют. Отбирают в реакционную 2 мл виалу фильтраты 100 мкл по п 2.1 и 20 мкл по п.2.2 и помещают в вакуумный эксикатор при температуре 40-45°С и давлении 1,5 мм рт.ст. до полного удаления соляной кислоты. Затем в виалу для анализа последовательно добавляют автоматическим дозатором - 200 мкл 0,8М боратного буфера рН 9.0, 200 мкл

20 mM раствора 9-флуоренилметоксикарбонил хлорида в ацетонитриле, после 10 минутной выдержки в реакционную виалу добавляется 20 мкл 150 mM раствора амантадина гидрохлорида в 50% водном ацетонитриле.

Условия хроматографирования: Для проведения анализа устанавливают следующий режим хроматографирования: градиентный режим хроматографирования:

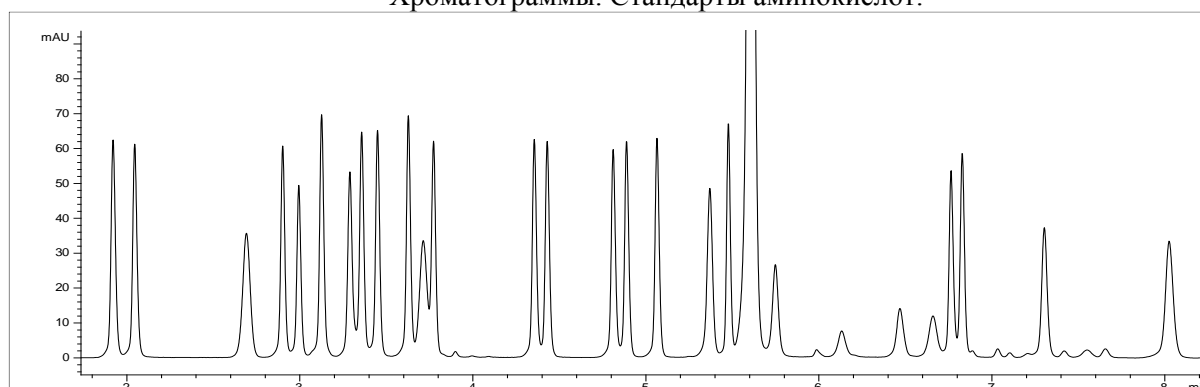
- рабочее давление элюента 220-275 кПа; температура термостата колонки 50 °С;
- объем пробы 2 мкл; Параметры детектирования устанавливают следующие: масштаб измерений 1,0; время сканирования 0.5 сек. Длина волны детектирования 265 нм

Время мин.	А% 0.05M водн. раствор ацетата натрия, рН 6.5	В% 0.10 M водный раствор ацетата натрия :ACN= (23:22, v/v), рН 6.5	С % H ₂ O	D% ацетон-итрил	Скорость подачи подвижной фазы мл/мин;
0	70	30	0	0	1.5
3.87	27	73	0	0	1.5
5.73	0	100	0	0	1.5
7.83	0	100	0	0	1.5
8.17	0	0	15	85	1.5
10.00	0	0	2	98	2.0
10.10	70	30	0	0	2.0
11.00	70	30	0	0	2.0

Идентификацию аминокислот производили по временам удерживания стандартов. Расчет содержания связанных аминокислот производится путем вычитания содержания свободных аминокислот из их общего содержания. Однако такие аминокислоты как аспарагин и глутамин в процессе кислотного гидролиза (пробоподготовка для анализа) превращаются в аспарагиновую и глутаминовую кислоты соответственно. В

тех же условиях цистин, может частично или полностью распадаться на цистеин и цистеиновую кислоту. Таким образом, расчет содержания связанных аминокислот: аспарагина и аспарагиновой кислоты, глутамин и глутаминовой кислоты, цистина и цистеина удобно производить по их сумме соответственно. [4].

Хроматограммы. Стандарты аминокислот.



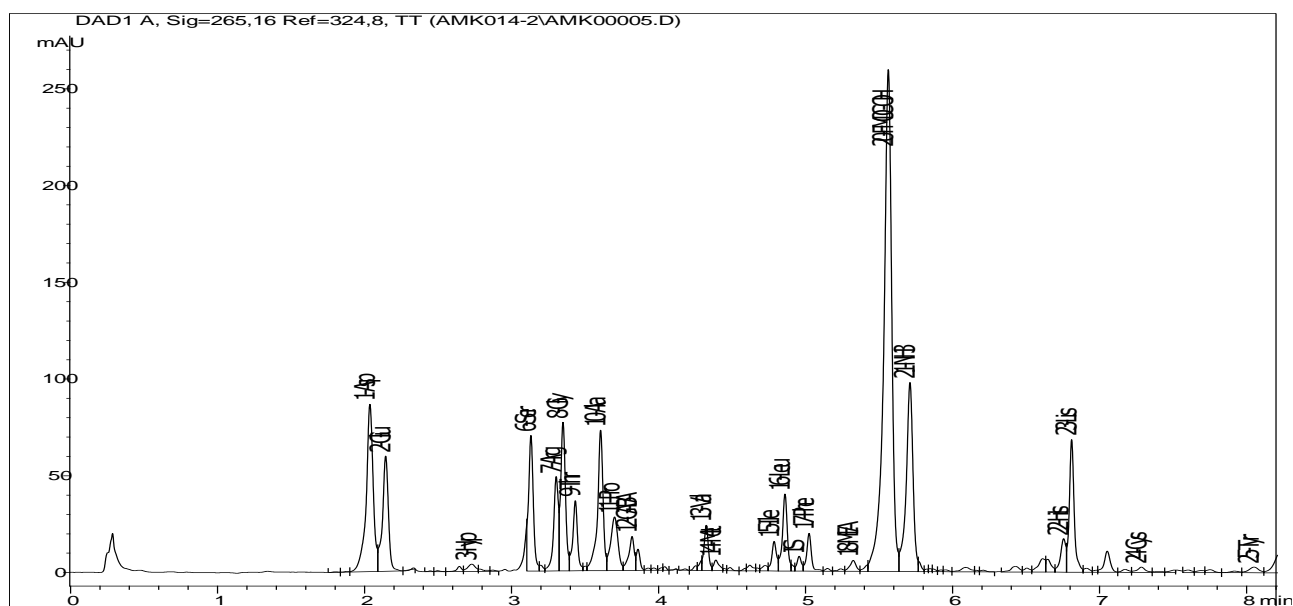
Результаты и обсуждение.

Результаты определения аминокислотного состава побегов *Salix alba* L. представлены в таблице и рис.1 и 2.

Таблица

Аминокислотный состав побегов *Salix alba* L.

Название аминокислот	Время удерживания мин.	Концентрация аминокислот мг в 100 г <i>Salix alba</i> L.	
		общее	свободных
Аспарагиновая кислота	2,01	1708	143
Глутаминовая кислотата	2,11	1218	27
4-Гидроксипролин	2,70	88	8
Аспарагин	2,90	0	364
Глутамин	2,99	0	5
Серин	3,11	832	155
Аргинин	3,30	906	234
Глицин	3,34	602	21
Треонин	3,42	460	56
Аланин	3,60	768	116
Пролин	3,70	587	65
Аминомасляная кислота	3,84	243	108
Валин	4,33	242	60
Метионин	4,39	113	2
Изолейцин	4,79	209	45
Лейцин	4,86	640	26
Фенилаланин	5,02	345	42
2-Этаноламин	5,42	47	35
Цистин	6,74	0	0
Гистидин	6,80	240	46
Лизин	7,27	595	37
Цистеин	8,02	37	0
Тирозин	8,71	74	9

Рис.1. Хроматограмма суммы свободных и связанных аминокислот побегов *Salix alba* L.

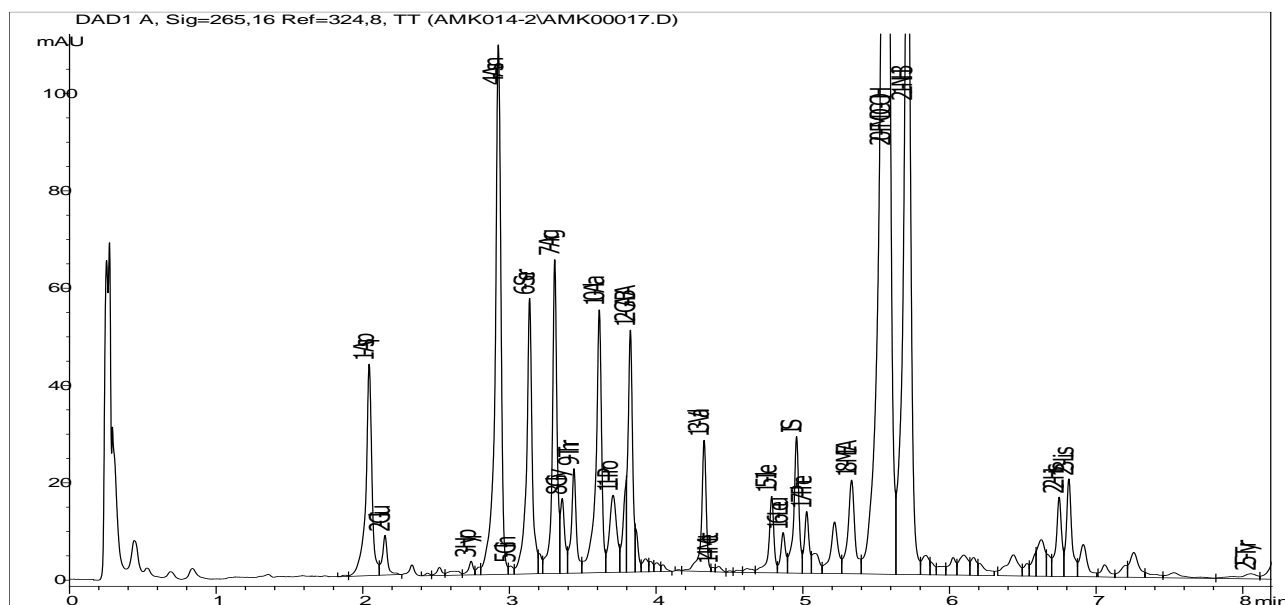


Рис.1. Хроматограмма свободных аминокислот побегов *Salix alba* L.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определено количественное содержание аминокислот в побегов *Salix alba* L. Установлено наличие 23 аминокислот, 9 из которых являются незаменимыми. В количественном отношении в сырье преобладают заменимые аминокислоты (7350 мг в 100 г). Среди незаменимых кислот преобладают лейцин, лизин. Аминокислоты принимают участие в процессах нервной регуляции различных функций организма и оказывают выраженное влияние на сосудистый тонус. Так, глутаминовая кислота применяется при гипоксиях и аритмиях, аспарагиновая - для улучшения коллатерального сердечного кровообращения и повышения потребления миокардом кислорода, метионин - при железодефицитных анемиях, для профилактики атеросклероза, глицин - для уменьшения возбуждения ЦНС. Известно, что незаменимые кислоты - лейцин, изолейцин и валин стимулируют синтез белка в мышцах, способствуют развитию мышечной массы и уменьшению объема жировых отложений, подавляют развитие злокачественных опухолей и усиливают иммунные функции организма. Лейцин также участвует в восстановлении костей, мышц и кожи, снижает уровень сахара в крови и стимулирует выделение гормона. Полученные результаты будут учтены в дальнейшем при разработке комплексных препаратов на основе биологически активных веществ побегов ивы.

Выводы.

Впервые методом высокоэффективной жидкостной хроматографии изучен аминокислотный состав и определено количественное содержание аминокислот в побегов *Salix alba* L. флоры Украины. Результаты говорят о перспективности использования вегетативной части ивы.

Литература

1. Кузьмичева Н.А. Фармакогностический анализ цветков ивы. козьей / Кузьмичева Н.А. // Вестник фармации. 2012. - №2 (56) - С. 16-21.
2. Петрук А. А. Сезонная динамика содержания дубильных веществ в листьях и соцветиях некоторых видов рода *Salix* (Salicaceae) при интродукции / А. А. Петрук // Химия растительного сырья. - 2013. - № 2. - С. 135-138
3. Sushma Semwal Isolation and characterization of a new flavine diglucoside from *Salix denticulata* / Semwal Sushma, Rawat Usha, Kant Sharma Rajni // Химия природных соединений. - 2011. - N 3. - С. 328-329
4. A. Jámbor, I. Molnár-Perl. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl. J:nl

Международное Научное Объединение "Inter-Medical"