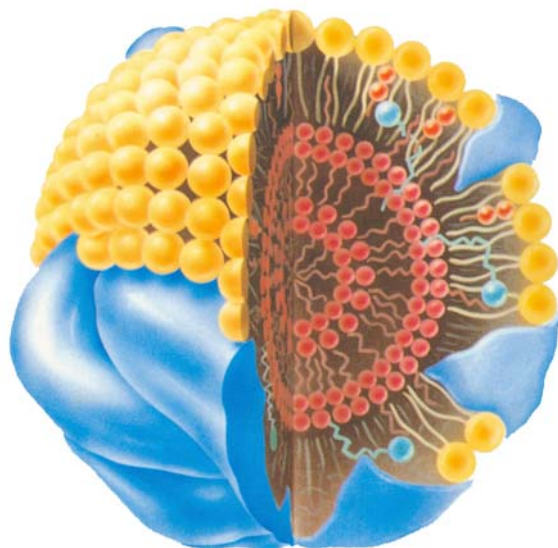


**ГОУ ВПО «КИРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ РОСЗДРАВА»**



**ВЯТСКИЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ВЕСТНИК**

**СПЕЦИАЛЬНЫЙ ВЫПУСК**

**Материалы Всероссийской научно-практической конференции  
«Актуальные вопросы современной биохимии»,  
посвященной 20-летию Кировской государственной  
медицинской академии**

**4. 2007**

**КИРОВ**

ББК 5я5  
ISSN-0368-4819  
M42

## ВЯТСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ВЕСТНИК

Научно-практический журнал

### Специальный выпуск

Материалы Всероссийской научно-практической конференции  
«Актуальные вопросы современной биохимии»,  
посвященной 20-летию Кировской государственной  
медицинской академии

Главный редактор	профессор И.В. Шешунов
Заместитель главного редактора	профессор Н.А. Никитин
Ответственный секретарь	доцент Н.К. Мазина

#### **Редакционная коллегия:**

профессор Бондаренко А.Л.  
профессор С.А. Дворянский;  
чл.-корр. РАМН, профессор В.А. Журавлев;  
профессор Я.Ю. Иллек;  
доцент О.В. Лавров;  
профессор Б.А. Петров;  
профессор П.И. Цапок.

#### **Редакционный совет:**

профессор Б.Н. Бейн, профессор Н.К. Вознесенский, Н.Г. Горохов,  
профессор В.С. Заугольников, профессор А.Г. Кисличко,  
доцент Л.В. Колотилов, профессор А.А. Косых,  
профессор С.А. Куковякин, профессор В.И. Циркин.

Учредитель Кировская государственная медицинская академия

Журнал зарегистрирован в министерстве РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Рег. ПИ 77-12440 от 19.04.2002 г.

Адрес редакции: 610027, г. Киров, ул. Карла Маркса, 112  
Тел.: (8332) 37-57-16, 32-24-49  
Факс: (8332) 69-07-34  
<http://www.kirovgma.ru>  
e-mail: [ivc@kirovgma.ru](mailto:ivc@kirovgma.ru), [espmaz@mail.ru](mailto:espmaz@mail.ru)

## УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

30 лет назад по инициативе заведующего кафедрой биохимии Челябинского медицинского института, профессора Р.И. Лифшица при активной поддержке зав. кафедрами медицинских вузов профессоров Груздевой К.Н. (Омск), Удинцева Н.А. (Томск), Бышевского А.Ш. (Тюмень), Глотова Н.А. (Свердловск), Рубина В.И. (Саратов), Гильмияровой Ф.Н. (Куйбышев) и других было организовано Объединение биохимиков Урала, Западной Сибири и Поволжья. Правление Объединения, возглавляемое почти два десятилетия Р.И. Лифшицем, положило начало проведения регулярных конференций и встреч, на которых обсуждались научные проблемы, вопросы преподавания химических предметов в высшей медицинской школе, обмен опытом экспериментальной и методической работы наших коллективов.

Настоящая конференция «Актуальные вопросы современной биохимии» имеет статус Всероссийской и посвящена двадцатилетию организации Кировской государственной медицинской академии. Принимая решение о проведении конференции в г. Кирове, Правление Объединения, исходило не только из роли фундаментальных дисциплин в развитии медицинской науки, практики здравоохранения, но и важности обсуждения насущных проблем биохимии, молекулярной биологии, иммунохимии, биотехнологии, химии межклеточных взаимодействий для дальнейшей реализации научного и педагогического потенциала коллективов кафедр, лабораторий, каждого участника этого научного форума. Мы выражаем искреннюю признательность руководству Кировской медицинской академии, ректору профессору Шешунову Игорю Вячеславовичу за любезно предоставленную возможность проведения конференции, за поддержку и помощь в ее подготовке, публикации ее материалов. Выражаем благодарность заведующему кафедрой биохимии профессору Цапок Петру Ивановичу и сотрудникам кафедры за большую работу и хлопоты по организации научного форума и изданию его трудов. На конференции представлены кафедры биологической, биоорганической, органической химии, лабораторной диагностики медицинских и других вузов, лабораторий научно-исследовательских институтов и лечебно-профилактических учреждений из разных городов России. Столь масштабное представительство различных научных коллективов на конференции несомненная заслуга наших коллег-биохимиков и руководства Кировской медицинской академии.

Надеюсь, что участники конференции получат удовлетворение от научных докладов, неформального общения, обмена опытом, полемики, дискуссий, убежденности и правильности выбора путей будущих научных исследований и методических подходов преподавания наших предметов.

Председатель Правления Объединения  
биохимиков Урала, Западной Сибири  
и Поволжья, заслуженный деятель науки  
РФ и РБ, член-корр. АН РБ,  
доктор медицинских наук, профессор



Ф.Х. Камиллов

Ректор Кировской ГМА, академик РАЕН,  
профессор И. В. ШЕШУНОВ  
**КИРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ: ТРАДИЦИИ,  
ДОСТИЖЕНИЯ, СТРАТЕГИЯ БУДУЩЕГО**  
ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Наш ВУЗ – одно из самых молодых и динамично развивающихся медицинских образовательных учреждений России. 2 апреля 2007 года академии исполнилось 20 лет – для любого вуза срок небольшой, однако за это время пройден путь – от филиала Пермского медицинского института в 1987 году, Кировского медицинского института в 1994 году до академии в 1999 году. В 2004 году Кировская ГМА успешно прошла ответственную для любого вуза процедуру – государственную аттестацию. Огромная работа, проделанная коллективом, получила достойную оценку – продлена лицензия, коллегия Министерства образования подтвердила статус академии, аккредитация была продлена на максимальный возможный срок – 5 лет. Одновременно Кировская ГМА была признана ведущим российским вузом по тем специальностям, которые прошли аттестацию – «лечебному делу» и «педиатрии».

Сегодня, кроме лечебного и педиатрического факультетов, с чего мы в принципе и начинали, у нас действуют факультеты высшего сестринского образования, социальной работы – с различной специализацией, в том числе и в области реабилитации. Плюс к этому мы – один из двух российских медицинских вузов, где открыт факультет экспертизы и товароведения. Здесь мы готовим экспертов, отвечающих не только за реализацию, но и за качество реализуемой продукции: от биологически активных добавок до продуктов питания, в том числе диетического, от детских игрушек до книжных изданий и бытовой химии.

Еще одно важное направление в работе академии – центр довузовской подготовки, где мы не только стараемся «подтянуть» базовую подготовку школьников до необходимого, учитывая специфику нашего вуза, уровня, но и расширить собственную географию. Кроме медицинских классов, базирующихся в школах г. Кирова и области, открыты представительства в Ухте, Йошкар-Оле, Воркуте, Костроме, Вологде ...

В Республике Коми имеется филиал ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава» в г. Сыктывкаре, которому недавно исполнилось 10 лет.

В академии действуют 52 кафедры, из них 32 – клинические; при академии функционирует терапевтическая клиника на 100 коек, открыта поликлиника.

В академии сформировался высоко-квалифицированный научно-педагогический коллектив; из 450 преподавателей академии более 240 кандидатов наук и доцентов, 52 доктора наук и профессоров, академик РАН, член-корреспондент РАМН, 4 – заслуженных врача РФ, 2 лауреата Государственной премии России по науке и технике. Профессиональная деятель-

ность 23 сотрудников отмечена Почетными грамотами Министерства здравоохранения и социального развития и Правительства Кировской области, 36 – нагрудным знаком «Отличник здравоохранения РФ» и другими наградами. У нас есть, кому учить, и есть, кого учить.

В академии обучается сейчас более четырех тысяч студентов из нашей области и многих регионов России, Есть и иностранные студенты, интерны, ординаторы, аспиранты из Индии, Судана, Пакистана, Перу, Сирии, Грузии, Азербайджана, Армении, Украины и даже из Японии.

В вузе работает совет по защите диссертаций, где за последние 2 года защищено 23 диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

Кроме учебно-педагогической Кировская ГМА занимается научно-исследовательской деятельностью по актуальным вопросам хирургии и внутренних болезней, неврологии и психиатрии, охране материнства и детства, микробиологии, иммунологии и инфекционной патологии, судебной медицины, морфологии и морфогенеза. Научно-исследовательские работы проводятся по приоритетным направлениям в области медико-биологических наук как в рамках программ международного, федерального и регионального уровней, так и по инициативным планам академии. Это: 7 программ, 16 отраслевых (Министерство здравоохранения и социального развития) тем, 2 темы программы Российской академии наук, 1 тема в аспекте международных (Международный научно-технический центр) программ. Сумма хозяйственных работ за прошлый год составила 1 млн. 750 тыс. рублей.

Сотрудниками академии за последние пять лет защищены более 120 диссертаций, в том числе 20 – докторских, издано 48 монографий и учебников, получено 66 патентов на изобретения. Совсем недавно Международный союз изобретателей наградил академию золотой медалью за лучшую экологическую разработку «Фиксатор биологического материала».

В академии созданы научные школы профессоров В.А. Журавлева, С.А. Дворянского, В.И. Циркина, Б.Ф. Немцова, Е.И. Тарловской, Б.Н. Бейна, П.И. Цапков, Б.А. Петрова, А.Е. Колосова и других талантливых ученых. Работают долговременные международные программы, включающие контакты с 18 научными, учебными и культурными организациями дальнего зарубежья:

- \* Ганноверская высшая медицинская школа;
- \* Юго-восточный медицинский центр штата Алабама;
- \* Резидентуры по семейной медицине штата Оклахома;
- \* Фраунхоферовский НИИ токсикологии и экспериментальной медицины.

С определенной периодичностью проводятся зарубежные стажировки. В Ганноверской медицинской школе прошли подготовку более 80 преподавателей и

студентов Кировской ГМА, в США 9 преподавателей и студентов, в Италии 4 преподавателя, в том числе и длительные стажировки от 6 месяцев до 3 лет. Так же на базах Кировской ГМА прошли месячные стажировки более 60 немецких студентов и ординаторов Ганновской медицинской школы.

За последнее пятилетие проведены следующие Международные конференции и семинары:

- 47 международных конференций;

- Более 30 научно-практических семинаров;

- Более 100 зарубежных участников из США, Великобритании, Германии, Швеции, Канады участвовали в них;

- Более 3000 участников из г. Кирова и Кировской области;

- Более 600 студентов, успешно прошедших тестирование по международным программам.

Сотрудниками Кировской ГМА опубликовано более 100 работ в материалах всемирных, европейских и международных конгрессов, выиграны гранты и премии. Проведены совместные операции: урологические, андрологические, офтальмологические, эндохирургические, гинекологические с использованием малоинвазивных технологий и хирургии печени и желчных путей.

На 32 клинических кафедрах ведется лечебная работа. Ежегодно почти 15 тысяч пациентов получают от сотрудников академии высококвалифицированную медицинскую помощь, выполняется около 5 тысяч операций, включая сложнейшие – на печени и открытом сердце.

Академия – активный участник реализации национального проекта «Здоровье», основной точкой приложения финансовых и организационных усилий стала подготовка врачей первичного звена. Все это позволило достаточно оперативно адаптировать целевые установки в тематике циклов кафедр при обучении врачей в соответствии с задачами по совершенствованию работы участковой службы, развитию общеврачебных практик. Уже прошли подготовку более 500 врачей первичного звена. В рамках программы «Здоровье» для выстраивания новой идеологии обучения семейных врачей в клинко-диагностическом отделении создан учебно-методический центр по подготовке врачей общей практики. В настоящее время оборудованы уникальным оборудованием кабинеты врача-отоларинголога, врача-офтальмолога, гинеколога и уролога, где будут консультировать ведущие специалисты нашей академии, профессора.

ВУЗ активно развивается, появляются новые специальности и направления. Совсем недавно открыли специальность «Государственное и муниципальное управление» и уже сделали несколько наборов для переподготовки руководящего звена системы здравоохранения. Теперь в медицинской академии учатся и главные врачи лечебно-профилактических учреждений.

Нашей области не хватает собственных фармацевтов и стоматологов. Можно было бы начать их подготовку, но пока все упирается в недостаток учебных

площадей. Тем не менее уже достраивается здание рядом с основным корпусом академии. Здесь будут прекрасные лекционные аудитории и спортивный зал.

В планах руководства вуза строительство научно-медицинской библиотеки на триста тысяч томов хранения. Проектно-изыскательная документация на здание прошла уже все экспертизы, а в будущем году должно открыться финансирование строительства объекта. Лишь тогда можно будет заявлять и об открытии в меакадемии новых специальностей.

В контексте проводимой Всероссийской конференции «Актуальные проблемы биохимии» необходимо подчеркнуть основополагающую роль естественно-биологических дисциплин в развитии современной медицинской науки, практики здравоохранения и отметить высокую продуктивность междисциплинарного сотрудничества. Обсуждение актуальных проблем теоретической медицины в рамках проводимой конференции является стимулом для дальнейшей реализации творческого, научного и педагогического потенциала каждого участника конференции, кафедр, научных лабораторий, вузов и всех биохимиков Урала, Западной Сибири и Поволжья, уникальная возможность для неформального общения, полемики, дискуссий и личных контактов, в которых рождается убежденность в правильности намеченных целей и выбранного пути.

### Литература

1.Шешунов И.В., Цапков П.И. Внутривузовская система контроля знаний студентов и управления качеством учебного процесса в медицинском вузе // Учебное пособие для системы повышения квалификации преподавателей медицинского вуза. Рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России. – Киров-Москва, 2004. – 44 с.

2.Шешунов И.В., Цапков П.И., Лавров О.В. 10 лет академического роста //Вятский медицинский вестник. – 2004.- №№2-4. – с. 3-4.

3.Шешунов И.В., Цапков П.И., Лавров О.В., Одинцов Н.И. Пути совершенствования подготовки товароведов-экспертов в высшей медицинской школе // Сборник материалов первой региональной научно-практической конференции «Проблемы питания: гигиена, безопасность, регионально-ориентированный подход». – Киров: Кировская ГМА. – 2006. – с. 114-116.

4.Шешунов И.В., Цапков П.И., Лавров О.В., Алексеев А.Ю. Проблемы модернизации современной высшей медицинской школы //Материалы Второй межрегиональной научно-практической конференции «Проблемы и перспективы многоуровневой подготовки специалистов здравоохранения». – Киров: ООО «Лобань». – 2006. – с. 6-10.

5.Шешунов И.В., Лавров О.В., Цапков П.И., Алексеев А.Ю. Мониторинг управления качеством образования в высшей медицинской школе //Сборник тезисов и материалов XI региональной учебно-методической конференции «Образовательная деятельность

## МАТЕРИАЛЫ ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ “Актуальные вопросы современной биохимии”

### Раздел 1. ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В ВЫСШЕЙ МЕДИЦИНСКОЙ ШКОЛЕ

Абдуллина Г.М., Тимирханова Г.А.  
**ЭЛЕКТИВНЫЙ КУРС «ПРИРОДНЫЕ  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА»**  
ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Уфа

Курс по выбору студента – электив является одной из форм обучения, предусмотренной государственным образовательным стандартом. Данная форма обучения предполагает свободный выбор студентом научной проблемы, тематики или направления, представляющего для него наибольший интерес. В то же время, прохождение дисциплины по выбору является обязательным. За весь период учебы студент, обучающийся по специальности 060101 – лечебное дело, должен пройти подготовку по курсам выбора в объеме не менее 360 ч (10 кредитов), студент специальности 060103 – педиатрия – в объеме не менее 288 ч (8 кредитов) студент, обучающийся по специальности 060104 – медико-профилактическое дело – в объеме не менее 108 ч (3 кредита) [1].

Как и по всем дисциплинам, включенным в учебный план, после прохождения обучения на элективном курсе студенту выставляется итоговая оценка – зачет, которая заносится в зачетно-экзаменационную ведомость и зачетную книжку.

На кафедре биологической и биоорганической химии Башкирского государственного медицинского университета действуют два электива – «Молекулярные взаимодействия в норме и патологии» для студентов 2-4 курсов и курс «Природные биологически активные вещества» для студентов первого года обучения.

Учитывая фундаментальный характер дисциплин, преподаваемых на кафедре, выбор тематики элективов определялся значимостью для последующего изучения таких предметов как биохимия, физиология, фармакология. В то же время, принимая во внимание бурное развитие в последние десятилетия так называемой молекулярной медицины, внедрение молекулярных технологий в диагностику и лечение заболеваний, круг рассматриваемых вопросов имеет и несомненное прикладное значение.

Тематический план элективного курса «Природные биологически активные вещества» включает 36 часов - 12 ч лекций и 24 ч практических и семинарских занятий [2].

На первой обзорной лекции ребята знакомятся с удивительным миром природных физиологически активных веществ. В ходе лекции дается характеристика таких классов биологически активных соединений как витамины, алкалоиды, терпены, стероиды,

антибиотики, сапонины. Рассматриваются особенности их химического строения, природные источники, механизмы биологического действия.

Цель следующей лекции - проследить историю развития витаминологии от начального этапа – описания болезней неясной этиологии до догадок К.Эйкмана, заслуг К. Функа, выводов Н.И.Лунина. На лекции также рассматриваются отличия витаминов и витаминоподобных веществ, описываются химическая структура и участие в обмене веществ холина, бетаина, инозита, метилметионина, пангамовой, оротовой кислот, хинонов (витамина Q), дается представление о строении и биологическом действии PQQ и цианогенных гликозидов.

Третья лекция курса сфокусирована на химической структуре и биологической роли полиненасыщенных жирных кислот семейств  $\Omega$ -3 и  $\Omega$ -6. Рассматриваются механизмы пероксидного окисления фрагментов жирных кислот в клеточных мембранах, образование продуктов ПОЛ. В ходе лекции дается детальный анализ антиоксидантного действия витаминов А и Е.

В лекции, посвященной аскорбиновой кислоте, помимо традиционных вопросов об участии витамина С в окислительно-восстановительных процессах, его антиоксидантных свойствах дается информация о механизмах транспорта аскорбиновой кислоты в клетку, синергизме с биофлавоноидами, путях влияния на деятельность клеток иммунной системы.

Первое практическое занятие курса посвящено оценке методов качественного и количественного анализа витаминов. Студенты проводят определение доброкачественности поливитаминных препаратов флюоресцентным методом, устанавливают количественное содержание витамина РР в чае по Левенталю, оценивают обеспеченность витамином С по содержанию аскорбиновой кислоты в слюне.

Учитывая то, что изменения интенсивности свободно-радикальных процессов носят универсальный характер и сопровождают многие патологические состояния, мы сочли целесообразным ввести в тематический план курса практическое занятие, посвященное методам исследования интенсивности свободно-радикальных процессов. Благодаря тому, что на кафедре имеется прибор хемиллюминометр, студенты получают возможность освоить хемиллюминесцентный анализ.

Также ребята знакомятся с принципом определения ТБК-реагирующих веществ, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида (МДА).

В ходе практического занятия «Алкалоиды» первокурсники изучают структуру и биологическое действие алкалоидов группы пиридина. пурина, фенантрена, изохинолина, тропана, знакомятся с

танином, пикриновой кислотой, фосфорновольфрамовым реактивом).

В тематическом плане основной дисциплины – биоорганическая химия - отсутствует отдельное практическое занятие, посвященное терпенам, в то же время программа по биоорганической химии предусматривает довольно подробное знакомство с этим классом биологически активных веществ. Учитывая это, в программу элективного курса мы ввели практическое занятие, нацеленное на подробное изучение моно- и бициклических терпенов (таких как лимонен, ментол, камфора) а также каротиноидов. На занятии детально изучается участие витамина А в фотохимическом акте зрения.

На семинарском занятии курса студенты получают дополнительные знания о растительных кардиотонических веществах - сердечных гликозидах, изучают их природные источники, классификацию и химическое строение, влияние углеводного компонента на растворимость и фармакокинетические параметры сердечных гликозидов. Следующее семинарское занятие курса посвящено антибиотикам – истории их открытия, классификации. Рассматриваются основные методы получения антибиотиков – природных, синтетических, полусинтетических и применение антибиотиков в биохимических исследованиях.

Завершает обучение итоговое тестирование, охватывающее материал всего элективного курса.

Анализ числа студентов, прошедших подготовку на элективном курсе «Природные биологически активные вещества», свидетельствует о его высокой востребованности. Особой популярностью курс пользуется среди студентов лечебного факультета, причем год от года число студентов-лечебников, выбравших обучение на данном курсе, растет.

Таблица  
Количество студентов, прошедших обучение на элективном курсе «Природные биологически активные вещества»

Факультет	Количество студентов	
	2005-2006 уч. год	2006-2007 уч. год
Лечебный	179	192
Педиатрический	27	33
Медико-профилактический	8	6

Таким образом, основной задачей курса «Природные биологически активные вещества» является более полное усвоение программного материала по биоорганической химии и, в то же время, более подробное изучение природных органических веществ, обладающих биологической активностью. Цель электива – формирование системных знаний о взаимосвязи строения, химических свойств и биологической активности, что является одним из условий успешного усвоения биологических и медицинских знаний на молекулярном уровне.

#### Литература.

1. Дисциплины по выбору студентов (элективы), запланированные на 2007–2008 учебный год./ Ганцева Х.Х. - Уфа: Изд-во БГМУ, 2007.

2. Рабочая программа элективного курса «Природные биологически активные вещества»/ Абдуллина Г.М., Камиллов Ф.Х. – Уфа, БГМУ, 2004.

## Баишев И.М., Зубаиров Д.М., Мустафин И.Г. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

### ПО БИОХИМИИ СТУДЕНТОВ-МЕДИКОВ

ГОУВПО «Казанский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Казань

На кафедре биохимии Казанского госмедуниверситета по истечении прохождения курса биохимии проводится экзамен в виде заключительного тестового контроля (ЗТК). Студенты в течение полутора часов письменно отвечают на 100 тестовых вопросов. Каждый тестовый вопрос имеет 5 вариантов ответа, из которых необходимо выбрать только один правильный или наилучший. Результат ЗТК выражается в баллах по 100 бальной шкале. Итоговая оценка за дисциплину выводится коллегиально на основании результатов ЗТК, средней оценки за 8 больших тем-модулей, на которые разделена дисциплина, оценки за тест на знание биохимических формул, оценки студента по факультативному изучению биохимии (работа в студенческом научном кружке). Наибольший вес при выставлении итоговой оценки имеет оценка за ЗТК.

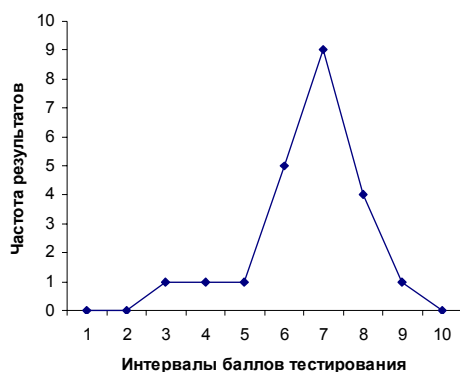
Заключительный тестовый контроль в сегодняшнем виде проводится с 1997 года, когда начал использоваться 1-й тестовый вопросник для студентов лечебного, педиатрического и медико-профилактического факультетов, содержащий 200 тест-вопросов. Используются также 2, 3 и 4-й вопросники соответственно 1998, 2000, 2003 годы издания, которые в общей сложности включают в себя свыше 600 тестовых вопросов. С использованием этой базы вопросов составлены вопросники для студентов стоматологов и фармацевтов, которые дополнительно включают вопросы, предусмотренные программой по биохимии для студентов этих специальностей.

Однако содержание тестовых вопросников по мере их использования на экзаменах становится известным студентам. Поэтому на кафедре постоянно ведется работа по обновлению базы тестовых вопросов. Актуальным является также установление критериев, говорящих о необходимости издания нового вопросника. Настоящая статья представляет попытку анализа опыта 5-летнего тестирования с использованием вопросника 2003 года издания.

При статистическом анализе результатов ЗТК, применив MS Excel, строили графики распределения частоты результатов в зависимости от результата тестирования. Предварительно отдельные результаты группировались по 10-бальным интервалам. Типичный график распределения баллов приведен на рисунке 1. В последующем на аналогичных графиках частота выражается в процентах от общего числа результатов.

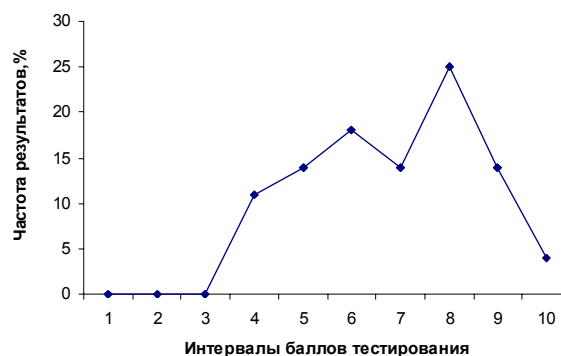
На рис. 1 результат тестирования в 28 баллов дал частоту 1 в 3-м интервале (21-30 баллов), результаты 55, 60, 59, 51, 53 - частоту 5 в 6-м интервале (51-60 б.), частота 0 в 10-м интервале означает отсутствие результатов в интервале 91-100 баллов. В 7-м интервале (61-70 б.) находится 9 результатов академической

Рис.1. Распределение частот баллов в гр.1204, 2005/06. 22 студ.



группы в 22 студента. В этом же 7 интервале находится мода данного распределения,  $M_o=65$ . Такой результат, являющийся наиболее часто встречаемым в группе из 22-х результатов, оказался у 5 студентов. Показатель  $M_e$ , занимающий среднее положение в совокупности результатов, равен 65 и оказался равным моде, что бывает далеко не всегда. Величины максимума и минимума группы результатов были равны:  $Max=84$ ,  $Min=28$ . Сумма частот результатов в интервалах 2 и 3 (11-30 баллов), обозначаемая нами как **Int 2,3**, оказалась равна  $0+1=1$ . Вероятность случайного угадывания правильного ответа из 5 вариантов составляет 20%, и мы полагаем, что наличие результатов в этом интервале примерно отражает количество студентов, не знающих ни биохимии, ни тестов. Результаты, попадающие во 2-й интервал, изредка встречаются; 1-й же интервал (1-10 правильных ответов из 100) практически всегда пустой. Их наполнению мешает та же вероятность в 20%. Чтобы дать менее 20% правильных ответов, надо хорошо знать биохимию и намеренно давать неправильные ответы. Только один результат в данной академической группе оказался равным 84 баллам и дал частоту 1 в 9-м интервале (81-90 б, **Int 9**, интервал высокой оценки). Интервал 10 (91-100 б., **Int 10**, очень высокая оценка) пуст, его может наполнять только тестирование очень сильных студентов и преподавателей-биохимиков. Средняя арифм. величина и ее среднее. квадр. отклонение,  $M \pm \sigma$ , для описываемой группы результатов составили  $62,1 \pm 13,3$ . График распределения на рис. 1 имеет 1 достаточно симметричный максимум, находящийся левее середины в 50 баллов. Положение максимума относительно оси интервалов, его выраженность и ширина говорят об уровне знаний по биохимии большинства тестируемых студентов. Хотя в целом график распределения на рис.1 и последующие аналогичные кривые имеют более сложный характер, чем кривая нормального распределения, мы применили для их описания названные выше параметры нормального статистического распределения, приведенные в итоговой таблице.

Рис.2. Распределение частот баллов тестирования в гр 1201, 2002/03, 28 студ.



Следующий типичный вид кривой распределения частот результатов тестирования – это графики с двумя максимумами (модами) частот – так называемое бимодальное распределение. Этот тип распределения результатов встречался более чем в половине отдельно взятых академических групп преимущественно в 1-й год применения тестов и показан на рис. 2.

Такое бимодальное распределение говорит, что описываемая академическая группа студентов неоднородна по способности правильно отвечать на тестовые вопросы. Из графика видно, что левую моду сформировали более низкие результаты, правую моду – более высокие. Пытаясь интерпретировать, допустим, что левая мода – это результаты студентов, изучавших биохимию, а правая мода – результаты студентов, изучавших биохимию и имеющих представление об экзаменационных тестах. Знание тест-вопросов истекает из ряда факторов, в частности из того, что студенты, сдавшие тест сегодня, сообщают его содержание студентам, сдающим позднее. Кроме того, вопросник образца 2003 года «произрастает» из предыдущих, более известных в студенческих кругах, вопросы и идеи в них частично повторяются, некоторые из вопросов использовались для модульных тест-контролей в учебном году. На рис.3 представлены распределения результатов тестирования в 1 год применения нового вопросника, а также через 2 и 4 года. Ясно прослеживается дрейф максимумов вправо, в сторону более высоких результатов и, соответственно, оценок. На графике 2002/03 года видна тенденция к раздвоению максимума, вызванная существованием 2-х мод. Во все последующие годы бимодальность распределения отсутствует.

Дрейф, слияние и рост максимумов распределения, в основе которого лежит накопление студентами информации об экзаменационных тестах, возможен не только по годам, но даже по дням одной сессии. Нам удалось зафиксировать такой быстрый



дрейф в 1-й год применения данных тестов, и он показан на рис.4. Группа 2202, сдававшая тест 20 июня 2003 г., имеет бимодальное распределение результатов с двумя максимумами в 5-м и 7-м интервалах. Результаты групп 2203 и 2204, полученные на 6 и 7 дней позже, сформировали распределения с одним максимумом разной величины в области интервалов 7 и 8, т.е. в области правой моды графика группы 2202.

В итоговой таблице приведены значения величин, характеризующих совокупности результатов тестирования последовательно по учебным годам:  $M$  и  $y$ ,  $Mo$ ,  $Me$ ,  $Max$  и  $Min$ ; наполнение различных интервалов.

Рис.3 Распределение частот баллов тестирования на лечфаке в разные годы

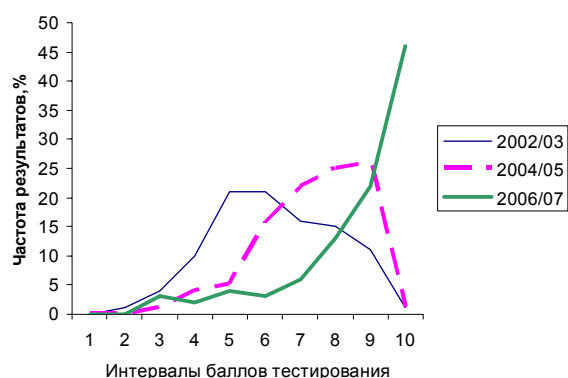
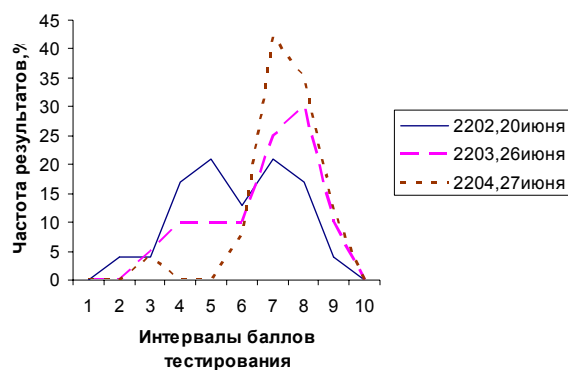


Рис.4. Распределение частот баллов тестирования в 3-х гр.педфака, 2002/03



Учебные годы	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07
Число студентов	136	151	152	153	117
$M$	57,85	63,52	69,99	69,39	81,75
$y$	17,17	14,66	14,78	19,05	17,45
$Mo$	49	73	79	84	94
$Me$	56	65	71	73	90
$Max$	91	92	91	98	98
$Min$	13	11	24	19	27
Int 2,3 %	5	3	1	3	3
Int 9 %	11	7	26	27	22
Int 10 %	1	3	1	11	46
Int 9 + Int 10 %	12	10	27	38	68

Выводы:

1. По мере «старения» тестового вопросника его содержание становится все более известным студентам, о чем можно судить по изменению распределения получаемых баллов тестирования. Признаками, наиболее ярко характеризующими рост информированности студентов о тестах, являются рост средней арифметической  $M$ , моды  $Mo$ , медианы  $Me$ , увеличение заполнения интервалов высоких и очень высоких оценок **Int 9** и **Int 10**.

2. Информированность студентов о содержании тестов растет в двух временных масштабах: 1) последовательно по учебным годам, 2) последовательно по дням в течение одной сессии одного и того же учебного года. Начальным признаком возникновения информированности о тестах у части студентов является возникновение бимодального распределения.

3. Критерием высокой информированности студентов о тестах (вплоть до наличия на руках их точных списков) можно считать превышение заполнения **Int 10** более чем на 10% от общего числа результатов. Такой уровень был достигнут за 3 года.

4. Среди общего количества изучавших биохимию студентов имеется незначительный контингент студентов ~ 2-3%, которые дают низкий процент правильных ответов на уровне случайного угадывания ответа тестового вопроса.

5. Для эффективного заключительного тестирования студентов по курсу биохимии необходимо использовать максимально широкую базу вопросов либо путем компьютерного тестирования, либо очень частой, например ежедневной, сменой книжек-вопросников. При создании новых книжек-вопросников не следует использовать в них тест-вопросы из предшествующих вопросников.

Барсуков А.К., Бохан А.Н., Бунтов С.Д., Бурлаков А.И., Васильев Р.Г.\*, Желтышев Е.Н., Касимов Ф.М., Климова В.И., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Нестерова О.Ю., Федорова А.А., Храмов В.А., Шелехов Д.И.

**УПРАВЛЕНИЕ И (САМО)УПРАВЛЕНИЕ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ НАУКОЕМКИХ ИННОВАЦИОННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЦИКЛОВ: ОБРАЗОВАТЕЛЬНО-ВОСПИТАТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ**

ГОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск

\*Общероссийская общественная организация «Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова», г. Москва

Технологические нововведения в производство лекарственных средств, реализованных на уровне технической биохимии, характеризуются:

- высокой наукоемкостью;
- фундаментально ориентированные исследования нацелены на получение результатов с

необходимым приборно-методическим уровнем качества;

– единением планов НИР с прикладным сектором науки для целесообразной организации фундаментальных исследований с учетом требований отраслевых стандартов;

– реализацией научно-технических разработок на крупном и наукоемком заводе, в т.ч. для освоения в дальнейшем серийной продукции, в создании которой принимал участие заводской сектор науки.

Изложенные особенности необходимы для успешного проектирования и выполнения трудоемкого процесса, длительность которого 10-15 лет, обусловлена требованиями к безопасности и эффективности вновь создаваемого лекарственного средства. Именно длительность стандартных сроков биотехнологических нововведений актуализирует проблематику прогнозно-плановой экономики в рамках «инновационного развития вообще» и в соответствии с принципами инновационно-технологического (само)управления, в частности. В целесообразном общественном развитии всегда присутствует алгоритм: «запечатленное в Духе реализуется в материально-вещественной культуре». Полагаем, что на формирование духовности оказывает влияние и содержательный смысл гуманитарных дисциплин, реализуемых в системе образования воспитания.

По нашему мнению иерархию управления и (само)управления в блоке гуманитарных дисциплин необходимо усовершенствовать нижеследующим образом:

1. Наивысшую значимость в образовании-воспитании имеет качество философско-мировоззренческого приоритета, на основании которого индивидуально-общественно формируется методология познания мира. Английский этнограф Э.Б. Тайлор высказался о «философии истории в обширном смысле, как об объяснении прошедших и предсказании будущих явлений в мировой жизни человечества на основании общих законов». По-видимому, это единственно здравая постановка основного вопроса философии. Полагаем, что методология познания (методологическая философия) позволяет переработать плюрализм разрозненных частных фактов в единство мнений о течении любого из процессов во Вселенной, включая и развитие человеческого общества. В мировоззренческой культуре, основанной на методологической философии, появление нового знания, которое не укладывается в прежние представления о жизни, ведет к преображению всей системы субъективных представлений. Именно поэтому в основу развития образовательно-воспитательного процесса необходимо заложить учебные программы, нацеленные на освоение методологической педагогики. Ввиду строгой определенности объективной реальности и многогранности одной и той же Истины именно методологическая философия позволяет осуществлять

прогнозирование путей развития личности и общества с целью выбора наиболее правильного из них.

2. Второй по значимости философско-исторический приоритет обобщенных средств самоуправления позволяет истинность мировоззрения апробировать хронологическим знанием. В настоящее время фактология науки обесценивается с периодичностью 5-7 лет. Высокая скорость обесценивания прикладной фактологии выдвигает на первый план методологию поиска совокупного Знания, необходимого для разработки прогноза общественного развития. Есть фундаментальные, прикладные и научно-технические задачи, которые с помощью физико-математических, физико-химических, биологических, инженерно-технических и медицинских подходов возможно решать, не выходя за «узкие» рамки инновационно-технологического цикла и сопряженного производства биомедицинского профиля. Например, «как создать новый противовирусный препарат для обеспечения безопасного проживания населения в гиперэндемичном очаге, например по клещевому энцефалиту или геморрагической лихорадке - не вызывает особых проблем». Однако на вопрос: «Надо ли...?» не следует искать ответ в экономике и разного рода экономических теориях, оторванных от реальных проблем здравоохранения России. Разрешение критических проблем образования-воспитания, науки, инновационно-технологического развития должно базироваться на иной алгоритмике (само)управления. Президент России В.В. Путин неоднократно отмечал: «Многие наши проблемы – проблемы нравственности». Следовательно, необходимо находить конкретную проблематику инновационно-технологического развития медицинской промышленности и сопряженной биохимии в общей фактологии истории. Только фактология истории в ее нравственно обусловленном понимании прошлого, как объемлющей концепции частных отраслей знания, позволяет строить прогноз развития производства в рамках обеспечения здравоохранения в образовании, науке и технико-технологическом сотрудничестве. Именно так в принципе можно получать правильные ответы в естествознании и научно-технических областях развития по частным вопросам и на основе практических достижений, реализуемых во времени. По нашему мнению, история вообще и, тем более, стратегия научно-технического совершенствования наукоемкого производства не являются цепью «случайно-мистических фактов». Закономерность истории, в т.ч. истории целесообразного развития различных направлений материалообработки познаваема. Познание разного рода объективных закономерностей позволяет «пророчить» варианты устойчивого будущего с точностью до общественного явления.

3. Подчиненный факто-описательный приоритет обобщенных средств (само)управления представлен информацией естественно-научного и технико-

технологического характера. Современная биотехнология нацелена на организацию производства в соответствии с пропагандируемым генотехническим периодом развития биологии и научно-технического прогресса. Однако в такой технико-технологической и производственной форме развития молекулярной биологии есть общезримые угрозы. В фундаментальных исследованиях, объединенных обобщающими отождествлениями «геном человека-млекопитающих», «геномика» и «протеомика», обсуждается субъективная интерпретация результатов разнородных измерений не более 2% от общей информационной емкости ДНК. На предмет функций оставшихся 98% ДНК ничего определенного сказать невозможно. Сравнительная геномика (геноинформатика) свидетельствует, что эволюция эукариот от низших форм к высшим сопряжена с «разбавлением» генома. На единицу длины ДНК все больше становится информации «ни о чем», иными словами, непочитанной и непонятой, относящейся к категории «мусорной, эгоистичной». Полагают, что «разбавление» генома высших эукариот является издержкой эволюции, платой за совершенство организации кодирующей ДНК. Однако химическая консервативность «мусорной» ДНК, ее структурное постоянство представляет собой наиболее мощный контраргумент. В других теоретических воззрениях (волновая генетика) ДНК рассматривается как мультитекстовое голографическое образование. ДНК в целом, в т.ч. и 98% «мусорной», отводится роль волновых и текстовых планов строительства различных организмов. Все биохимические и генетические процессы живых организмов имеют на атомно-молекулярном уровне электромагнитную и акустическую составляющую, т.е. своего рода аранжировку. Аранжировка и сопряженный метаболизм взаимно и причинно-следственно взаимосвязаны, общеприродное поле ДНК задает пространственно-временную систему координат для всех биохимических событий в организме. Именно волновая генетика актуализировала угрозу: «способны ли трансгены, считываемые и транслируемые чужеродным генетическим аппаратом, вносить путаницу в смысл их собственных голографических и текстовых программ». В данном контексте эффективность генотехнических промышленных подходов может иметь сопутствующий эффект – глобальную вредоносность.

4. К наименее значимым информационным приоритетам обобщенных средств самоуправления относится экономика, т.е. достаточно общая информация хозяйственного характера. В 50-х годах прошлого века экономическая наука получила математический аппарат: линейное/динамическое программирование, нелинейные функции типа Кобы-Дугласа и теорему двойственности. Очевидно также и то, что биотехнологическая продукция и, прежде всего, продукция медицинской биотехнологии предназначена

для удовлетворения демографически обусловленных потребностей населения России. Следовательно, валовой продукт совокупной биотехнологии рассчитывается в объективных количественных величинах строго математически на основе методов прикладной математики. Совершенно иная проблема характерна для современной России - неопределенность в управлении делами общественной значимости, в т.ч. в отсутствии целевых установок для удовлетворения демографически обусловленных потребностей в биотехнологической продукции. В системе управления биотехнологии России на уровне экономического приоритета управления инновационно-технологическим и промышленным развитием, считаем целесообразным показать несостоятельную вредоносность нижеследующих категорий, присутствующих в общественном жизнеустройстве:

- институт кредита с положительной величиной ссудного процента;
- биржевые котировки;
- вторичный рынок ценных бумаг;
- скупка авторских и смежных прав;
- межотраслевая и внутриотраслевая конкуренция в системе производства жизненно-необходимого.

Полагаем также необходимым разъяснить смысл западных экономических теорий, в общем-то, самоубийственных для изрядной доли нашего населения. Математически строго известно, что КПД использования энергии в технологических процессах зависит от климатических условий конкретного производства. Россия с ее 70% северных (холодных) территорий проигрывает в «технократическим» странам именно по КПД. Затраты на возведение и обогрев производственных и жилых помещений, обеспечение работы транспортной инфраструктуры и других территориально-климатических особенностей России так или иначе включаются в цену продукции. С помощью арифметики отечественная экономика на уровне бизнес-планирования (т.е. в сфере микроэкономики) безупречно доказывает, что в глобальной системе хозяйствования возможно повысить отдачу производства при одном и том же энергообеспечении, если промышленные комплексы размещать в климатически благоприятных зонах Планеты. Это обстоятельство, по нашему мнению, является наиглавнейшим при рассмотрении вопроса о тех, ранее указанных, составляющих экономического паразитизма, которые Россия из-за холодной зимы, длительного межсезонья и огромной территории вынести не сможет. В мировой производственно-потребительской кооперации при главенстве построения экономики на основе принципов торговли, под управлением кредитно-финансовых национальных систем, отечественное производство может быть, в принципе, убыточным.

Вышеизложенное приводит к рассмотрению

второй проблематики: качество образовательно-воспитательного процесса с целевым развитием нравственного отношения к труду в коллективе. В настоящее время подавляющее большинство продукции, необходимой для обеспечения технократически-обусловленного образа жизни, производится в ходе коллективной деятельности множества людей в разных отраслях и разных регионах Планеты. Речь идет о коллективной деятельности, охватывающей весь жизненный цикл товара, начиная от результатов фундаментальных исследований и заканчивая переработкой во вторсырье. При современных технологиях, технике, энерговооруженности брак на любой стадии жизненного цикла продукции из-за «человеческого фактора» в состоянии сделать «невозможное» вплоть до техногенной катастрофы. С этих позиций особое значение приобретает сотворчество в биотехнологической сфере и «экономический» принцип сокращения сроков внедрения. Результаты фундаментальных исследований ДНК животных и растений позволяют создавать трансгенные гибриды «здесь и сейчас». Если руководствоваться универсальным (само)управленческим принципом: «Максимум прибыли на единицу учтенного капитала», то генотехническая биотехнология достаточно успешна в производстве трансгенных продуктов питания. Однако теоретические представления волновой генетики формируют необходимость пересмотра фундаментальных положений молекулярной биологии. В частности, не исключено, что трансгены, кодируя наперед заданный целевой белок, в других кодовых измерениях могут войти в состав иных волновых и супертекстовых генетических программ, не контролируемых современной наукой. С этих позиций трансгенные растения или животные должны быть предметом прикладных исследований, но не современными продуктами питания. Очевидно также, что безопасность «промышленных трансгенов» необходимо контролировать в иных подходах «GLP» и «GCP», например, с использованием методологии волновой генетики. Именно экономическая успешность генотехнической биотехнологии способна породить стада и поля «уродов» явных и скрытых, полчища опасных микробов и вирусов и другие бедствия, вплоть до необратимого нарушения генофонда Планеты. Если учесть современный уровень не понимания структуры-функции ДНК, то следует признать и определенные изъяны общественной культуры в целом, о чем свидетельствуют трансгенные бобы, картофель, рис и т.д.

Полагаем, что методологическая педагогика в биохимии и сопряженном производстве должна опираться на мировоззренческо-философский фундамент. В частности, управленческие и

(само)управленческие решения следует принимать на основе всей полноты информации, описывающей конкретную проблематику. Не следует в практику нововведений закладывать знания, социальные последствия которых непредсказуемы.

Боровкова Г.И., Титова Н.М., Савченко А.А.  
**ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ  
СТУДЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАПРАВЛЕНИЙ  
В КОНТЕКСТЕ БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА**

*Сибирский федеральный университет,  
Институт естественных и гуманитарных наук,  
г. Красноярск*

Внедрение в систему отечественного образования основных принципов Болонской конвенции диктует реформирование структуры и содержания образования, технологий обучения, его материального и методического обеспечения для достижения уровня норм Европейского Союза, предъявляемых к выпускникам высших учебных заведений России.

Биохимия – фундаментальная наука, изучающая основы жизнедеятельности биологических объектов на языке молекул, надмолекулярных структур, химических процессов в норме и при патологиях. Выпускник биологического бакалавриата и магистратуры должен владеть этой наукой в совершенстве, чтобы быть успешным в решении любых задач биологии и медицины. Биохимия, как предмет современного высшего образования, занимает ведущее положение, интегрируя достижения других дисциплин, стоящих как по вертикали, так и по горизонтали образовательных программ биологического направления.

Согласно требованиям Болонской декларации, на самостоятельную работу по предмету должно быть выделено не менее 30% часов от общего количества и этим подчеркивается актуальность и важность нового подхода к ее организации и проведению. Для организации самостоятельной работы по любому предмету, в том числе и биохимии, в свете Болонского процесса необходимо решить многие методические, методологические и психологические задачи, в том числе: оценить условия и возможности; разработать актуальные методы и формы; организовать методическое обеспечение; разработать компьютерные технологии; определить место рейтинговой системы (ECTS); создать Интернет-сайты; обеспечить достаточную материальную базу; выработать инновационные подходы.

Самостоятельная работа студентов должна активизировать их мыслительную деятельность, увести от формальной трансляции материала, стимулировать внутреннюю потребность в получении знаний. Необходимым условием достижения положительного эффекта должна быть свобода выбора, учитывающая

индивидуальные способности.

Самостоятельная работа студентов должна научить учиться, при этом неформально заучивая материал, а осознанно понимать важность данной информации для дальнейшего продвижения по изучаемой дисциплине и смежных предметам.

Организация и проведение самостоятельной работы студентов предполагает адаптацию не только студентов, но и преподавателей к новым требованиям организации учебного процесса. Необходимо вникнуть в новые понятия, овладеть системой оценки знаний (модульно-рейтинговой системой), разработать новые формы обучения с использованием телекоммуникационных образовательных систем.

Как пример самостоятельной работы студентов на кафедре биохимии и физиологии человека и животных Сибирского федерального университета, можно привести изучение раздела биохимии «Обмен аминокислот». В рамках часов, отведенных на данную тему, невозможно подробно рассмотреть метаболизм отдельных аминокислот и синтез специализированных продуктов в норме и при патологии. Студентам предлагается список литературы для самостоятельной проработки материала с последующим обсуждением его на семинарах и/или мини-конференциях под контролем преподавателя. Кроме того, студент обязан предоставить в качестве отчета электронный вариант схем катаболизма и синтеза аминокислот, а также схем биосинтеза из некоторых аминокислот специализированных продуктов с указанием названий и шифров ферментов, участвующих в этих процессах. Для контроля знаний по данному разделу биохимии используются тест-задания и ситуационные задачи. Роль преподавателя заключается не только в обсуждении проработанного материала, но и в развитии у студентов логического мышления, умения доступно излагать полученные сведения, сравнивать и анализировать.

Одной из форм самостоятельной работы студентов, успешно практикующейся на нашей кафедре, развивающей их творческие способности в рамках образовательной программы, является привлечение студентов к выполнению научно-исследовательской работы (НИРС). Тематика НИРС соответствует основным научным направлениям кафедры. Часть студентов выполняет исследования на базе научно-исследовательских институтов и вузов г. Красноярска, Института белка РАН (г. Пущино Московской области), лечебно-профилактических учреждений г. Красноярска по тематике соответствующих лабораторий.

Научная работа кафедры посвящена изучению биохимических и физиологических особенностей клеток крови при различных патологических процессах,

воздействии экстремальных факторов окружающей среды, нормальном и экстремальном эритропоэзе; разработке методов оценки функционального состояния клеток (биолюминесцентные, флуоресцентные, хемилуминесцентные, молекулярно-генетические и др.); роли свободнорадикальных процессов при физиологических и патологических процессах; анализа функциональных возможностей центральной нервной системы. Создаются научные основы комплексного мониторинга внутренней среды человека, сочетающего классические и новейшие методы исследования и обработки данных. Основные научные направления кафедры соответствуют профилю подготовки выпускников, ориентированных на решение медико-биологических и экологических проблем XXI века.

Участие студентов в научно-исследовательской работе осуществляется в форме совместных исследований с ведущими научными организациями г. Красноярска и других городов России (курсовые и дипломные работы); выполнения НИР по грантам и договорам, заключенным кафедрой с лечебно-профилактическими учреждениями г. Красноярска, кафедрами Красноярской государственной медицинской академии; участия в работе конференций различного уровня, научно-методических семинарах; в конкурсах на лучшую студенческую научную работу; в работе научно-образовательных школ; молодежных фестивалей, в рамках которых проводятся научные конференции и конкурсы научных студенческих работ.

Для выполнения конкретной научной задачи необходим глубокий анализ студентами научной литературы, овладение современными биохимическими методами, умение спланировать эксперимент и грамотно обработать полученные результаты с привлечением современных методов статистической обработки.

Результатом интеллектуального процесса взаимодействия студентов и преподавателей является получение грантов, публикация статей в соавторстве с преподавателями, аспирантами и самостоятельно, выступления с докладами на конференциях. Достаточно высокий уровень научных исследований, проводимых студентами кафедры, неоднократно отмечался на Международных, Всероссийских, региональных научных студенческих конференциях, конкурсах на лучшую научную студенческую работу.

Высокогорский В.Е., Индутный А.В., Лопухов Г.А.  
**НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ  
БИОХИМИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ**  
*ГОУ ВПО « Омская государственная медицинская  
академия Росздрава», г. Омск*

Интенсивное развитие молекулярной биологии, биологической химии, внедрение в клиническую практику новых лабораторных технологий, доступность современных информационных ресурсов, с одной стороны, и унификация высшего образования, необходимость обеспечения непрерывности фундаментального образования в связи с Болонской конвенцией, с другой стороны, требует адаптации учебного процесса. Решение этих вопросов требует обновления всего учебно-методического комплекса, начиная с учебных программ и планов, лекционного материала, совершенствования методики и формы проведения лабораторно-практических занятий.

Создание единой европейской зоны высшего образования ставит вопрос о согласованности российского медицинского образования с европейским, о создании условий непрерывного фундаментального образования врача. Хорошо известно, что в европейских университетах основные фундаментальные медицинские дисциплины интегрированы в одну учебную дисциплину-патологию. При сохранении в российском медицинском образовании двух дисциплин: патофизиологии и патанатомии, вновь актуален вопрос о преподавании патохимии. При современных достижениях молекулярной биологии, биологической химии нужно признать анахронизмом включение вопросов патологии обмена веществ в программы по патофизиологии. Подготовку врачей по патологической биохимии должны проводить биохимики, а не патофизиологи.

Другой актуальной проблемой преподавания биохимии на современном этапе является вопрос о формах и методике проведения лабораторно-практических занятий со студентами. Существенные изменения в методике проведения практических занятий произошли при компьютеризации учебного процесса, после создания на кафедре компьютерного класса. Это позволило заменить часть «пробирочной биохимии» на работу в компьютерном классе.

Координация российского медицинского образования с европейской системой подготовки врачей диктует необходимость интеграции фундаментальных и клинических дисциплин. Одним из вариантов такой интеграции является внедрение в учебный процесс элективных курсов по общетеоретическим дисциплинам.

С 1999-2000 учебного года на кафедре проводятся занятия по клинической биохимии и клинической лабораторной диагностике на лечебном, педиатрическом и медико-профилактическом факультетах, что было связано также с введением новых

государственных образовательных стандартов.

Разработка рабочих программ по клинической биохимии и клинической лабораторной диагностике осуществлена с учетом принципа элективности, который был применен в форме выбора студентами содержания обучения в рамках изучаемой дисциплины. Согласно данным программам, студенческой группе предлагается расширенный тематический план, из которого студенты составляют список наиболее актуальных для себя тем (по количеству предусмотренных расписанием практических занятий) и формируют индивидуальный тематический план обучения. Содержание образовательных программ для различных факультетов учитывает профильные особенности получаемого базового образования.

Преподаватели кафедры отмечают высокий уровень интереса студентов к получению возможно большего объема современной информации по вопросам клинической биохимии и клинической лабораторной диагностики, что отражает востребованность этих знаний в клинике, особенно в связи с бурным развитием лабораторной медицины и появлением новых методов лабораторной диагностики. В связи с небольшим количеством выделяемых аудиторных часов и отсутствием достаточного количества учебной литературы, к настоящему времени разработаны, изданы и активно используются в обучении 4 учебных пособия. Кроме того, студентам предоставляется информация на электронных носителях. На практических занятиях осуществляется разбор и обсуждение учебного материала, тестовый контроль знаний (7 тематических тестов на 24 аудиторных часа занятий), проводится решение ситуационных задач.

Элективный принцип посещения занятий по клинической биохимии и клинической лабораторной диагностике, на наш взгляд, затрудняет обеспечение соответствия подготовки требованиям обязательного минимума ГОС, который содержит клиническую биохимию (пункт ЕН.Ф.06 - федеральный компонент, специальности: лечебное дело, педиатрия, медико-профилактическое дело). Кроме того, при составлении расписания не всегда учитывается количество студентов, желающих посещать занятия по клинической биохимии и лабораторной диагностике, что приводит к сложностям в организации проведения занятий.

Другим важным организационным вопросом преподавания клинической лабораторной диагностики является проблема, обусловленная сохранением в учебных планах элективного статуса данного курса на лечебном факультете. Таким образом, клиническая лабораторная диагностика продолжает быть единственной дисциплиной, по которой не проводится базовая додипломная подготовка, но которая относится к перечню основных специальностей для выпускников лечебного

факультета, не требующих профессиональной переподготовки (Приказ МЗ РФ от 27 августа 1999 года N 337 «О номенклатуре специальностей в учреждениях здравоохранения РФ» с изменениями, внесенными приказом Минздрава России от 6 февраля 2001 года N 31 и приказом Минздрава России от 2 апреля 2001 года N 98). В дополнение к этому, только выпускники лечебного факультета имеют право обучаться в интернатуре по клинической лабораторной диагностике (Письмо МЗ РФ N2510/584-32 от 21.01.2000). Поэтому, отсутствие базовой подготовки формирует серьезный разрыв между додипломным и последипломным образованием в сфере клинической лабораторной диагностики. Решение указанной проблемы преподавания возможно только путем придания этой дисциплине на лечебном факультете статуса обязательной (профессиональной) с выделением определенного объема часов и дополнением необходимой учебной нагрузки за счет часов электива, что предусмотрено п. 3.3. и п. 3.5. государственного образовательного стандарта. Дополнительно, это создаст серьезные предпосылки для методического и кадрового обеспечения возможности в дальнейшем проводить обучение в по специальностям: «Лечебное дело и лабораторная диагностика», «Клиническая лабораторная диагностика», «Медицинская генетика» и др. Актуальность этой проблемы обусловлена и рекомендациями о прекращении краткосрочной последипломной профессиональной переподготовки по разделам клинической лабораторной диагностики.

Безусловно, некоторые вопросы преподавания биохимии, клинической биохимии и клинической лабораторной диагностики могут быть решены в рамках каждого вуза, основываясь на принципе автономности, но многие актуальные проблемы общие для всех медицинских вузов, определяющих стратегию медицинского образования, требуют организационных решений на федеральном уровне.

Давыдов В.С., Давыдов С.В., Байкеев Р.Ф.,  
Мустафин И.Г., Зубаиров Д.М.,  
Баишев И.М., Пазюк Е.А., Сафина Н.А.,  
Свинтёнок Г.Ю., Субханкулова Ф.Б.

#### **ВАРИАНТЫ РАСЧЁТА РЕЙТИНГА ДИСЦИПЛИНЫ СТУДЕНТА**

*ГОУ ВПО «Казанский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Казань*

На основе рекомендаций Положения «О рейтинговой системе оценки успеваемости студентов Казанского государственного медицинского университета», принятого в соответствии с Законами РФ «Об образовании», «О высшем и послевузовском профессиональном образовании», согласно приказу Минобрнауки России от 11.07.2002 г. № 2654 «О проведении эксперимента по введению рейтинговой

системы оценки успеваемости студентов вузов» в целях повышения мотивации студентов к улучшению успеваемости и стимулирования учебной активности, а также повышения объективности процесса вынесения оценок в баллах с более широким диапазоном (от 0,0 до 100,0), – нами были разработаны варианты методических подходов вычисления **Рейтинга Дисциплины Студента (РДС)** по 100-балльной системе на примере биохимии.

#### **Вариант I:**

В соответствии с рекомендациями учебной части КГМУ, изложенными в Положении «О рейтинговой системе...», мы предлагаем рассчитывать **РДС** путём суммирования дискретного числа баллов (по 100-балльной шкале) так называемых составляющих рейтинга дисциплины студента, обладающих определённым «балльным весом» (коэффициентом пересчёта). В частности, составляющие **РДС** представлены следующим образом (Табл.1): Текущий Итоговый Рейтинг Студента (**ТИРС**) – средняя величина 100-балльных курсовых рейтингов, т.е. всех курсов (и/или дисциплин), пройденных студентом до обсуждаемой дисциплины (предоставляется деканатами; в наших вычислениях **вес 0,1**); Рейтинг Учебно-Аудиторной Нагрузки Студента по Дисциплине (**РУАНСД**) – показатель посещаемости и выполняемости (рейтинг) нагрузки лекционных (**РЛН**) и практических занятий (**РПН**) студента по дисциплине, регистрируемый в часах и рассчитываемый как процентное отношение суммы фактически посещённых и пропущенных-отработанных часов по лекциям (1лекц.=2ч) и практике (1пр.зан.=3ч) – к общему числу лекционных и практических часов, предусмотренных планом учебной программы по дисциплине (**вес 0,2**); Рейтинг Текущей Аттестации Модулей Студента по Дисциплине и Выходного Тестового Контроля (**РТАМСД и ВТК**) – суммарная средняя величина 100-балльных оценок, получаемых студентом как выражение результата успешного прохождения контролей, зачётов, коллоквиумов и т.п. (т.е. модулей) по основным темам, разделам, блокам и т.п., из которых состоит дисциплина, а также баллов выходного (итогового) тестового контроля, причём в знаменателе расчётной дроби фигурирует суммарная величина числа подходов (попыток) сдачи студентом и модулей, и **ВТК (общий вес 0,3)**; Промежуточная Аттестация Студента по Дисциплине (**ПАСД**) – число баллов по 100-балльной шкале, выставляемых экзаменатором (экам. комиссией) как выражение результата сдачи/несдачи экзамена, или, если экзамен проводится в тестовой форме (т.е. по сути тождественен ВТК), если экзамен не предусмотрен по обсуждаемой дисциплине и т.п., – это выносимая ведущим преподавателем 100-балльная оценка итогового зачёта, на основе которого студент допускается/не допускается до экзамена (**вес 0,4**); Средняя Текущая Оценка из Практических Занятий (**СТОПЗ**) – средняя величина, рассчитываемая как

Таблица 1

№	Составляющие РДС	Виды учебной деятельности	Единицы расчёта и выражения	Вес (коэффициент пересчёта)
1	<b>ТИРС</b> (деканаты)	Ср.рейтинг за пройденные курсы и/или дисциплины	100-балльная система	Ч <sub>0,1</sub>
2	<b>РУАНСД*** = РЛН + РПН</b>	Лекционные часы* + Часы практических занятий**	100-балльная система	Ч <sub>100,0</sub> Ч <sub>0,2</sub>
3	<b>РТАМСД+ВТК=</b> $\frac{(M_1+...M_n+ВТК)}{N(nM+nВТК)}$	Модули-контроли; Выходной тестовый контроль	100-балльная система	Ч <sub>0,3</sub>
4	<b>ПАСД</b>	Экзамен, или итоговый зачёт	100-балльная система	Ч <sub>0,4</sub>
5	<b>СТОПЗ</b>	Средняя арифметическая практических занятий	10-балльная система	Ч <sub>1,0</sub>
6	<b>РДС=ТИРС</b> Ч <sub>0,1</sub> + <b>РУАНСД</b> Ч <sub>0,2</sub> +[( <b>РТАМСД+ВТК</b> )/N]Ч <sub>0,3</sub> + <b>ПАСД</b> Ч <sub>0,4</sub> + <b>СТОПЗ</b> Ч <sub>1,0</sub>			

Примечание к Табл.1: \* – рассчитаны путём суммирования фактически посещённых студентом лекционных часов по дисциплине (разность лекционных часов по дисциплине согласно программе и пропущенных студентом) и (пропущенных-отработанных часов)х0,5;

\*\* – рассчитаны путём суммирования фактически посещённых (выполненных по программе) студентом практических часов по дисциплине (разность практических часов по дисциплине согласно программе и пропущенных студентом), (пропущенных-отработанных часов)х0,5 (если отработка осуществляется в реферативной и/или устной форме), а также (пропущенных-отработанных

часов)х0,75 (если отработка осуществляется в аудиторной форме: например, с другой группой и т.п.); \*\*\* – рассчитывается путём отношения суммы фактически посещённых и пропущенных-отработанных лекционных и практических часов студентом по дисциплине – к общему числу лекционных и практических часов по дисциплине согласно программе, умноженного затем на 100 % и на вес 0,2 (более подробно см. Табл.2–4).

Рассмотрим 3 примера расчёта РДС по биохимии у студентов различного уровня успеваемости: Студент №1 с оценкой «Отлично»; Студент №2 с оценкой «Хорошо»; Студент №3 с оценкой «Удовлетворительно» (см. Табл.2–4):

Таблица 2

Составляющие РДС	Пример расчёта						
<b>ТИРС</b>	– Ч <sub>0,1</sub> = 0,0						
<b>РУАНСД*** = РЛН + РПН</b>	Лекционные часы			Практические часы			[(39+119)/158]Ч <sub>100,0</sub> Ч <sub>0,2</sub> = 20,0
	Все-го: 39	Про-пуц.: 0	Факт. посещ.: 39	Все-го: 119	Про-пуц.: 0	Факт. посещ.: 119	
<b>РТАМСД+ВТК=</b> $\frac{(M_1+...M_n+ВТК)}{N(nM+nВТК)}$	[(92,0+89,0+93,0+95,0+85,0+94,0+94,0+89,0+96,0)/(8+1)]Ч <sub>0,3</sub> = [827/9]Ч <sub>0,3</sub> = 27,6						
<b>ПАСД</b>	95,0Ч <sub>0,4</sub> = 38,0						
<b>СТОПЗ</b>	[(10+10)/2]Ч <sub>1,0</sub> = [20/2]Ч <sub>1,0</sub> = 10,0						
<b>РДС</b> = 0,0 + 20,0 + 27,6 + 38,0 + 10,0 = <b>95,6</b> (Соотв. экзамен. оценке «Отлично»)							

Таблица 3

№	Составляющие РДС	Пример расчёта						
1	<b>ТИРС</b>	– Ч <sub>0,1</sub> = 0,0						
2	<b>РУАНСД*** = РЛН + РПН</b>	Лекционные часы			Практические часы			[[ (31+8Ч <sub>0,5</sub> ) + (101+18Ч <sub>0,5</sub> +0Ч <sub>0,75</sub> ) ] / 158] Ч <sub>100,0</sub> Ч <sub>0,2</sub> = [[ (31+4) + (101+9+0) ] / 158] Ч <sub>20,0</sub> = [145/158] Ч <sub>20,0</sub> = 18,4
		Все-го: 39	Про-пуц.: 8	Факт. посещ.: 31	Все-го: 119	Про-пуц.: 18	Факт. посещ.: 101	
3	<b>РТАМСД+ВТК=</b> $\frac{(M_1+...M_n+ВТК)}{N(nM+nВТК)}$	[(85,0+90,0+90,0+95,0+75,0+95,0+79,0+79,0+64,0)/(8+1)]Ч <sub>0,3</sub> = [752/9]Ч <sub>0,3</sub> = 25,1						
4	<b>ПАСД</b>	88,0Ч <sub>0,4</sub> = 35,2						
5	<b>СТОПЗ</b>	[(9+8)/2]Ч <sub>1,0</sub> = [17/2]Ч <sub>1,0</sub> = 8,5						
6	<b>РДС</b> = 0,0 + 18,4 + 25,1 + 35,2 + 8,5 = <b>87,2</b> (Соотв. экзамен. оценке «Хорошо»)							



Таблица 4

№	Составляющие РДС	Пример расчёта						
		1	ТИРС	– Ч <sub>0,1</sub> = 0,0				
2	РУАНСД*** = РЛН + РПН	Лекционные часы			Практические часы			[[[(31+8Ч <sub>0,5</sub> )+(104 +18Ч <sub>0,5</sub> +0Ч <sub>0,75</sub> )]/158] Ч <sub>100,0</sub> Ч <sub>0,2</sub> = = [[[(31+4)+(104+9+0)]/ 158]Ч <sub>20,0</sub> ]=[148/158]Ч 20,0=18,7
		Всего: 39	Про- пущ. 8	Факт. посещ. 31	Всего: 119	Про- пущ. 15	Факт. посещ. 104	
3	РТАМСД+ВТК= (M <sub>1</sub> +...+M <sub>n</sub> +ВТК) N(nM+nВТК)	[[[(0+75,0)+(0+75,0)+79,0+79,0+(0+70,0)+(0+75,0)+(0+70,0)+(0+75,0)+83,0]/(14+1)]Ч <sub>0,3</sub> = [681/15]Ч <sub>0,3</sub> = 13,6						
4	ПАСД	78,0Ч <sub>0,4</sub> = 31,2						
5	СТОПЗ	[(7+6)/2]Ч <sub>1,0</sub> = [13/2]Ч <sub>1,0</sub> = 6,5						
6	<b>РДС = 0,0 + 18,7 + 13,6 + 31,2 + 6,5 = 70,0 (Соотв. экзамен. оценке «Удовл.»)</b>							

**Вариант II:**

Критерии: 90-100 баллов – «отлично», 80-99 – «хорошо», 70-79 – «удовлетворительно», менее 70 – «неудовлетворительно» – студент изучает дисциплину повторно в полном объеме.

## 1. Экзамен:

Рейтинг дисциплины (P) = A·0,4 + E (1)

Экзамен проводится по тестам, при подсчете правильных ответов суммируются очки полученные студентом по линии студенческого научного общества, шкала: 1- реферативный доклад на кружке или регулярное посещение заседаний, 2- реферативный доклад на университетской конференции, 3- проведение эксперимента, 4 и более - доклад по результатам эксперимента - на кружке, 5 - на университетской студенческой конференции, 6- на университетской конференции, английском языке, 7- на Всероссийской конференции, 8- на Международной конференции, 9- на Международной конференции, на английском языке. А - оценка экзамена переводится в баллы - шкала:

Не явился -	0				
Явился на -	2	48			
экзамен	3-	70	4	80	5- 90
	3+	79	4+	89	5+ 100

Примечание. Если A > 80, но Тест по формулам (предлагается задание на узнавание 10 формул биохимических молекул, всего формул 200) не сдан - A = 75 в формуле (1); E - см. пункт 2.

2. Оформляет для экзамена преподаватель

$$E = B \cdot 0,2 + C \cdot 0,3 + D \cdot 1,0$$

B - Аудиторный рейтинг (объем выполненных часов, %), см. пункт 2.1.

C - Текущая аттестация (средняя оценка за тесты, баллы), см. пункт 2.2.

D - Текущая оценка (средняя оценка на текущих занятиях, включая семинары, баллы), см. пункт 2.3

$$2.1 \quad B = \{ [100\% - (B_{11} - B_{11} \cdot 0,5) - (B_{12} - B_{12} \cdot 0,75)] + [100\% - (B_{21} - B_{21} \cdot 0,5) - (B_{22} - B_{22} \cdot 0,75)] \} : 2$$

B<sub>11</sub> - % лекций пропущенных, но отработанных в форме рефератов, устных ответов и т.д. B<sub>12</sub> - % лекций пропущенных, но отработанных путем посещения аналогичной лекции. B<sub>21</sub> - % практических занятий

пропущенных, но отработанных в форме рефератов, устных ответов и т.д. B<sub>22</sub> - % практических занятий пропущенных, но отработанных путем практического выполнения плана занятия.

2.2 C = (Сумма всех баллов по тестам): количество тестов

Шкала (баллы) - смотри пункт 1.

2.3 D = (Сумма всех баллов текущих оценок): количество оценок

Шкала (баллы): неуд.- 6; удовл. - 7; хор. - 8; отл. - 9; превосх.- 10.

Примеры расчета рейтинга (P):

1. **Отлично:**

$$B = \{ [100\% - 3,44\%] + [100\% - 0\%] \} : 2 = 98,27; C = 94,37; D = 8; E = 98,27 \cdot 0,2 + 94,37 \cdot 0,3 + 8 \cdot 1,0 = 55,967; A = 95. P = 95 \cdot 0,4 + 55,967 = 93,96.$$

2. **Хорошо:**

$$B = \{ [100\% - 10,44\%] + [100\% - 4,30\%] \} : 2 = 92,67; C = 75,87; D = 7,33; E = 92,67 \cdot 0,2 + 75,87 \cdot 0,3 + 7,33 \cdot 1,0 = 48,63; A = 85. P = 85 \cdot 0,4 + 48,63 = 82,63.$$

$$3. \text{ Удовлетворительно: } B = \{ [100\% - 0\%] + [100\% - 2,15\%] \} : 2 = 98,92; C = 64,75; D = 6; E = 98,92 \cdot 0,2 + 64,75 \cdot 0,3 + 6 \cdot 1,0 = 45,21; A = 75. P = 75 \cdot 0,4 + 45,21 = 75,21.$$

Поскольку оба варианта дают примерно сходные результаты, право выбора остается за пользователем.

*Ерлыкина Е.И., Семенова Т.С., Рубанова Н.А.,  
Якобсон Л.И.*

### НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕСТИРОВАНИЮ СТУДЕНТОВ ПО БИОХИМИИ

*ГОУ ВПО «Нижегородская государственная  
медицинская академия Росздрава»,  
г. Нижний Новгород*

Повышение качества образования в медицинском ВУЗе непосредственно связано с проблемой познавательной деятельности студентов и совершенствованием различных методов обучения, что способствует улучшению знаний студентов. Одним из факторов, влияющих на оптимизацию обучения, является использование единиц новых

технологий. Такой креативный подход позволяет приблизиться к интеграции Российской системы образования в Европейское образовательное пространство согласно Болонской декларации.

Опыт западной системы образования заставляет обратиться к практике тестирования, которая получила широкое распространение в учебной работе. Тесты отличаются от традиционной системы контроля знаний объективностью качества усвоения учебного материала, регулярностью охвата всех студентов группы.

Таким образом, спор о целесообразности использования тестов в настоящее время, безусловно, решен в его пользу.

В то же время любой, конкретный тип тестового контроля, такой как выбор одного правильного ответа из нескольких предложенных, исключает возможность логического, критического мышления тестируемого и может привести к недостаточно объективной оценке его знаний, а прагматичного студента просто к запоминанию правильных ответов без понимания изучаемого материала.

В целях эффективности оценки тестового контроля последний должен основываться не только на выборе одного конкретного ответа, но и включать вопросы, требующие понимания сущности изучаемого материала, логического мышления испытуемого.

На кафедре биохимии разработаны тесты первого, второго, третьего уровней сложности, объединенные в «Сборнике тестов и упражнений по биохимии» (Н.Новгород, 2006).

При составлении тестов мы основывались на следующих принципах; тесты должны:

- 1) четко соответствовать лекционному курсу и материалу пособий, рекомендуемых учебной программой,
- 2) ставить вопросы, построенные не только на узнавании правильного ответа, но и на логическом мышлении с использованием изучаемого материала,
- 3) содержать несколько уровней сложностей,
- 4) иметь доступные, краткие и четкие формулировки.

Для исключения субъективного влияния проверяющих на результаты тестирования были использованы общепринятые существующие критерии, а именно:

- от 51% до 70% - правильных ответов оценивается как «удовлетворительно,»
- от 71% до 80% - ответов засчитывается с оценкой «хорошо,»
- более 81% ответов - с оценкой «отлично».

При использовании тестов возможно осуществление различных видов контроля: предварительный (вводный), текущий, итоговый и отсроченный.

1) *Предварительный контроль* проводится на первом занятии по биохимии с целью выяснения

уровня знаний и навыков за предыдущее обучение, необходимых для восприятия нового материала. Этот контроль позволяет педагогу получить представление о пробелах в знаниях студента. Он включает вопросы 1-го уровня и позволяет организовать учебную работу в конкретной студенческой группе.

2) *Текущий контроль* проводится на каждом занятии, содержит вопросы всех уровней сложности и позволяет выявить степень подготовленности студентов по изучаемой теме, а также приучает их к регулярной подготовке к занятиям на протяжении всего цикла обучения.

3) *Итоговый тест* используется по окончании изучения программы всего курса, служит для скринингового выявления подготовленности студента к экзамену.

4) *Отсроченный тест* используется для проверки выживаемости знаний как контроль усвоения отдельных модулей предмета.

В зависимости от цели проводимого контроля знаний, тесты имеют разные уровни сложности.

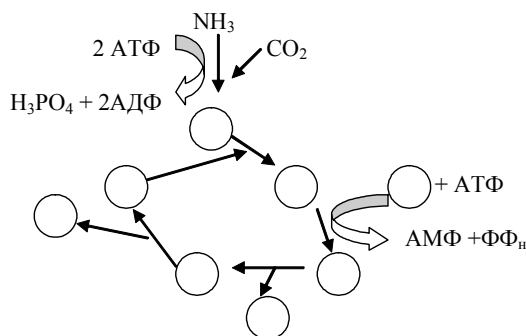
Первый уровень сложности учитывает выбор определений или формул из предложенных пяти ответов.

*Пример:* Окислительное фосфорилирование в дыхательной цепи митохондрий -это:

- 1 - образование АТФ за счет энергии субстратов
- 2- образование АТФ, не требующее расхода кислорода
- 3 - образование АТФ, сопряженное с переносом электронов по дыхательной цепи
- 4 - окисление АТФ в дыхательной цепи
- 5 - распад АТФ до АДФ и фосфорной кислоты

Второй уровень сложности: узнавание процесса.

*Пример:* Дополните цепь реакций, подставьте вместо цифр название участников орнитинового цикла:



Третий уровень сложности

а) *открытый тест* основан на дополнении или восстановлении пропущенных фрагментов текста. Он основан на теории о подсознательном запоминании пробелов в деформированном тексте.

*Пример:* Назовите витамин, входящий в состав пиридинзависимых дегидрогеназ.....

б) *тест на последовательность событий*

включает перечень реакций, ферментов, продуктов и т.д., имеющих место в метаболическом процессе. Такой тест позволяет выявить знание сущности самого процесса.

*Пример:* Расположите процессы каскадного механизма передачи гормонального сигнала последовательно, в порядке очередности.

в) *сравнительные тесты (сопоставление процессов).....*

*Пример-1:* Подберите к каждому из перечисленных классов ферментов витамины, производные которых могут быть кофакторами данного класса ферментов:

- А- оксидоредуктазы 1 - В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>
- Б- трансферазы 2 - В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>
- В- изомеразы 3 - В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>
- Г - лиазы 4 - В<sub>12</sub>
- Д - лигазы 5 - Н,К

*Пример-2 :* Заполните таблицу, укажите отличия процессов в-окисления и синтеза высших жирных кислот (ВЖК):

Новый подход в составлении тестов позволяет детализировать процесс обучения, обеспечить и оценить полноту и глубину знаний и является одним из самых эффективных, объективных и экономичных способов контроля обучения студентов.

№	характеристика процесса	в-окисление ВЖК	синтез ВЖК
1.	Локализация		
2.	исходный субстрат		
3.	переносчики ч/з мембрану		
4.	кофакторы о/в реакции		

Однако он не может претендовать на полную, окончательную оценку знаний студента. При этом не улавливаются такие критерии, как умение мыслить, рассуждать, аргументировать. Поэтому полагаться только на тестирование при проведении экзаменов и зачетов не следует. Необходимо сочетание тестов разных уровней сложности с другими видами контроля, подразумевающими непосредственное общение с преподавателем в устной и письменной формах, что позволит выйти на качественно-новый уровень объективной оценки знаний студентов.

Каминская Л.А., Мещанинов В.Н.  
**БИОХИМИЯ В ПОДГОТОВКЕ  
 ВРАЧА-СТОМАТОЛОГА: ПРОФИЛЬНОЕ  
 ОБУЧЕНИЕ И ЛЕКЦИИ-ПРЕЗЕНТАЦИИ.**

ГОУ ВПО « Уральская государственная  
 медицинская академия Росздрава»,  
 г. Екатеринбург

Современная профессиональная подготовка врача-стоматолога включает в себя непременно активное владение основами теоретических знаний и практических умений в области медико-биологических дисциплин: биологии, биохимии, физиологии, гистологии.

Быстрая смена стоматологических технологий,

развивающиеся рыночные отношения, непрерывно повышающиеся требования пациентов к качеству медицинских услуг, ставят новые задачи в деятельности врача.

Только высокий уровень мотивации и понимания востребованности общемедицинских знаний, получаемых на младших курсах, создадут необходимые партнерские отношения «студент-педагог» и будут способствовать взаимному успеху в учебной деятельности студентов- стоматологов, которые ориентированы на свою профессиональную деятельность с самого начала обучения.

Профильность (профилизация) в преподавании биохимии - это необходимое, наиболее перспективное и сложное направление в организации учебного процесса.

Возникают две стороны одной проблемы. Профильность невозможна без начального обучения базовым знаниям по всем разделам биохимии. Изучение этих разделов без понимания их важности, нужности не создает основы для успешного усвоения и, в дальнейшем, препятствует введению элементов профильного образования. Поэтому мы считаем, что профилизация в обучении биохимии на стоматологическом факультете должна осуществляться непрерывно в течение всего курса биохимии и затем заканчиваться освоением специализированного раздела «биохимия полости рта». Изучая каждый раздел биохимии, студент должен видеть тесную взаимосвязь с будущей профессиональной деятельностью, проецировать полученные знания в свою специальность. Особое внимание следует уделять выявлению логических связей между изменением метаболических процессов в организме – нарушением гомеостаза – проявлением (манифестацией) в состоянии полости рта.

Мы включаем элементы профилизации с самого начала изучения биохимии на стоматологическом факультете.

В разделе «Медицинская энзимология» при изучении физико-химических свойств ферментов, способов классификации, номенклатуры, использовании в энзимодиагностике, в качестве учебных элементов используем ферменты слюны и особое внимание уделяем энзимотерапии при заболеваниях полости рта.

В теме «Биологическое окисление, свободно-радикальные процессы в организме» студенты стоматологического факультета изучают особенности энергетического обмена в тканях полости рта, ферменты антиоксидантной и антиперекисной защиты, содержащиеся в слюне, изменение их активности при заболеваниях полости рта (пародонтит, гингивит), при нарушении процесса саливации. Тема «Углеводный обмен, патология углеводного обмена» также тесно связана с последующим изучением в курсе терапевтической стоматологии патологических процессов в полости рта.

Студенты должны хорошо знать:  
-особенности переваривания дисахаров и крахмала в полости рта,

-процессы всасывания моносахаров в полости рта,  
-патологическую роль моносахаров, присутствующих в полости рта, в развитии кариеса.

Особое внимание следует уделять эндокринной функции слюнных желез в регуляции углеводного обмена, тесной взаимосвязи экзокринных функций поджелудочной железы и слюнных желез, указывать на прямую связь между гипергликемией и содержанием глюкозы в ротовой жидкости при диабете, на типичное осложнение диабета - нарушение секреторной функции слюнных желез, которое сопровождается изменением состава слюны и нарушением гомеостаза полости рта.

В разделе «Обмен витаминов, витамины-кофакторы, витамины-антиоксиданты» необходимо дать студентам сведения о типичных проявлениях гиповитаминозов и авитаминозов в полости рта (витамины В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, РР, С, Д, Е, А)

Таким образом, шаг за шагом возникает сквозная линия между биохимией и стоматологическими дисциплинами.

С учетом всех вышеприведенных учебных элементов составлены тестовые контроли и вопросы к итоговому тематическим контролям.

Использование компьютерных технологий привлекает студентов своей современностью, расширяет возможности организации педагогического процесса.

Электронные варианты лекций и тестовых заданий студенты получают для подготовки к сдаче тематического контроля (при желании могут взять бумажный вариант).

В 2006-2007 гг. мы поставили себе задачу создать новый визуальный ряд, пригодный для организации учебного процесса с участием компьютера-*лекции-презентации*, которые содержали бы в себе необходимые учебные элементы, были яркими и запоминающимися, и были ориентированы на студентов стоматологического факультета.

В создании лекций-презентаций (программа Microsoft Power Point) принимали участие студенты 2 курса стоматологического факультета, занимающиеся на кафедре биохимии. В лекциях - презентациях много иллюстративного материала, имеются элементы анимации.

Презентации: «*Метаболиты, ферменты, витамины – лекарственные препараты, применяемые в стоматологии*», «*Ферменты слюны*», «*Проявления сахарного диабета в полости рта*», «*Соединительная ткань*», «*Костная ткань*» «*Патология обмена кальция и фосфора*», «*Обмен фтора в организме*» способствуют профилизации в преподавании биохимии и могут быть использованы студентами в процессе изучения как общих разделов биохимии, так и в раздела «Биохимия полости рта»,

для занятий врачей - интернов, на факультете повышения квалификации.

#### Литература

1. Клиническая патофизиология для стоматологов. Под редакцией Н.М.Петрищева Л.Ю. Ореховой.- М.: Медицинская книга, Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2002-112с.

2. Мещанинов В.Н. Региональные особенности в преподавании биоорганической химии/ В.Н. Мещанинов, Л.А.Каминская, И.В.Гаврилов,

3. С.Д.Трубачев, И.Ф.Гетте, В.К.Кротов// Новая идеология в единстве фундаментальной и клинической медицины. Материалы межрегиональной н - пр.конференции. -Самара,2005.- С. 261-264

Каминская Л.А., Мещанинов В.Н.

#### **БИОХИМИЯ В ВЫСШЕМ СЕСТРИНСКОМ ОБРАЗОВАНИИ**

*ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава», г. Екатеринбург*

Медико- биологические дисциплины в программе факультета высшего сестринского образования ( ВСО ) сосредоточены в первом и втором семестрах обучения, на которые приходится основная нагрузка адаптации к учебному процессу в высшем учебном заведении студентов, имеющих в основной своей массе большой перерыв в образовании.

Возникают особые задачи преподавателей:

- поддержать студентов в преодолении барьера между уже имеющимся профессиональным опытом, определенным социальным статусом и возникшей необходимостью вновь почувствовать себя в роли учащихся,

- создать максимально благоприятные условия для полного и глубокого освоения теоретических дисциплин, которые создают базу для дальнейшего успешного обучения клинических дисциплин

Два предмета - органическая химия и биохимия – составляют две части одного общего курса, который студенты факультета ВСО изучают на кафедре биохимии.

Занятия по органической химии (6 часов лекций и 4 часа практических занятий) проходят в январе месяце, студенты получают домашнее задание на межсессионный период и возвращаются на очередную сессию в мае месяце для изучения биохимии (10 лекционных часов, 20 часов практических занятий).

Краткий курс биоорганической химии и домашнее задание должны подготовить студентов к успешному изучению биохимии:

- к восприятию названий и узнаванию формул биоактивных соединений (метаболитов, субстратов,

медиаторов, лекарственных препаратов),

- знанию свойств и строения важнейших классов биоорганических соединений - белков, углеводов, жиров, без которых невозможно существование организма во времени и в пространстве.

В состав домашнего задания включены вопросы по программе органической химии, тестовые задания по курсу органической химии, реферат на тему «Биополимеры и лекарственные препараты», тестовые задания по биохимии, которые позволяют проверить знания, полученные в процессе самостоятельной подготовки перед началом сессии.

В курсе биохимии в соответствии с программой студенты изучают сущность метаболических процессов в клетке:

- основы медицинской энзимологии,
- процессы биологического окисления,
- пути обмена углеводов, липидов, белков, нуклеотидов, липопротеинов,
- процессы переваривания в желудочно-кишечном тракте,
- биохимические процессы в тканях и органах (кровь, форменные элементы, почка, печень, соединительная, мышечная и нервная ткани),
- обмен витаминов,
- биохимию эндокринной системы.

Особое внимание мы уделяем биохимии патологических процессов и лабораторной диагностике атеросклероза, диабета, инфаркта миокарда, нарушению обмена билирубина.

На занятиях проводятся тематические тестовые контроли, которые позволяют оценивать полноту усвоения материала лекций и практических занятий.

Экзамен, заключающий изучение биохимии, состоит из ответа на 18 тестовых вопросов по ключевым разделам и ответа на билет из 3 вопросов (один из которых обязательно связан с лабораторной диагностикой).

Такая насыщенная программа, которая реализуется в короткий срок сессионных занятий, требует хорошего знания студенческой аудитории, непрерывной взаимосвязи и совместной деятельности преподавателя и студента. Большую помощь в этом оказывают методы социометрии, в частности, анкетирование студентов.

С этой целью нами проведено анкетирование студентов двух групп 1 курса ВСО. Студенты (все женского пола) были разделены на две группы по признаку стажа работы:

1 группа – стаж до 5 лет (среднее значение - 3,5 года, составляют 30% от общего количества опрошенных), средний балл на экзамене 3,2,

2 группа- стаж от 10 до 22 лет (среднее значение 15,5 лет, составляют 70% от общего количества опрошенных), средний балл на экзамене 4,2.

Студентам была предложена анкета из 18 вопросов, на которую они отвечали анонимно после сдачи экзамена.

Часть вопросов и ответы на них представлены в таблице 1.

В работе со студентами факультета ВСО необходимо учитывать, что они владеют определенным уровнем медицинских знаний, хорошими практическими навыками и могут объективно оценивать качество преподавания, содержание и востребованность учебных элементов биохимии в профессиональной деятельности.

Поэтому мы предложили ответить еще на ряд вопросов помимо приведенных в таблице:

*1. Какие изучаемые темы являются для вас наиболее важными?*

В обеих группах 50% опрошенных сказали - все, особенно отметили необходимость знания лабораторной диагностики, биохимии патологических состояний, крови, эндокринной системы, обмена витаминов и участия в метаболических процессах.

*2. Какие темы показались наиболее трудными?*

В обеих группах опрошенные выделили разделы «биологическое окисление, цикл Кребса», в 1 группе трудными для усвоения оказались темы «печень», «почка», во 2 группе 25% анкетированных указали на разделы «обмен липидов, белков и аминокислот», «механизмы действия гормонов».

*3. Какие темы показались наиболее легкими?*

В 1 группе мнения разделились, а во 2 группе были более дружными:

25% студентов отметили тему «кровь» и «витамины», 33% - «медицинская энзимология», 18% - «липиды», «печень». Очевидно, приобретенные в процессе профессиональной деятельности знания оказали положительную роль при изучении вышеперечисленных тем, тем более, что тема «липиды» одновременно фигурирует и в разделе трудных для усвоения.

Анализ ответов на поставленные вопросы позволил нам сделать практические выводы, связанные с оптимизацией учебного процесса на факультете ВСО:

1. Уровень мотивации у студентов в отношении изучения предмета биохимии высокий.

2. Содержание предмета до начала изучения известно не всем (в 1 группе не были информированы 60%, профессиональный опыт 2 группы позволил ответить положительно 36% опрошенных, отрицательно- 18%, на частичное знание указали 46%).

3. Большинству студентов, имеющих среднее медицинское образование, учеба в медицинской академии, дается трудно, и зависит от стажа работы, т.е. от перерыва в обучении.

4. Студенты, имеющие большой стаж работы, более ответственно относятся к учебе и профессиональный опыт помогает в учебе (средний балл на экзамене в 1 группе-3,2, а во 2 группе - 4,2).

5. Для успешной организации учебного процесса на факультете ВСО необходимо обеспечить каждого студента в межсессионный период учебно-

Таблица 1

## Результаты анкетирования

Вопросы	Ответы. 1 гр. ( в % от опрошенных	Ответы. 2 гр. ( в % от опрошенных )
<i>Как Вам дается учеба в УГМА?</i> - трудно - легко - затрудняюсь с ответом	40 40 20	75 15 10
<i>Имели ли Вы до начала занятий представление о содержании предмета биохимия?</i> - да ( скорее да, чем нет) -нет( скорее нет, чем да) - частичное	20 60 20	36 18 46
<i>Нужно ли знать биохимию для Вашей сегодняшней профессиональной деятельности?</i> - да ( скорее да, чем нет) -нет ( скорее нет, чем да) -затрудняюсь с ответом	80 - 20	92 - 8
<i>Как Вы полагаете, нужно ли знание биохимии для будущей профессиональной деятельности?</i> - да ( скорее да, чем нет) - нет ( скорее нет, чем да) -затрудняюсь с ответом	100 - -	100 - -
<i>Какие трудности были при изучении биохимии</i> - много формул - много незнакомых терминов -трудно создавать логические связи -много информации - мало времени	- 10 - - 100	- 25 8 35 83
<i>Соответствуют ли вопросы тестов на экзамене содержанию учебного материала</i> - да - нет -частично		92 - 8
<i>Получили ли Вы ответы на интересующие Вас медицинские проблемы на занятиях по биохимии</i> -да -нет - частично	75 - 25	25 - 75
<i>Готовы ли Вы к дистантной (через Интернет, в компьютерном варианте) форме обучения</i> -да - нет -частично	20 60 20	50 25 25

методическими пособиями с приложением тестовых заданий по всем темам. Эти методические пособия должны компенсировать «недостаток времени» и «изобилие информации»

6. Надо перед началом занятий необходимо проводить диагностику «научных и практических профессиональных интересов студентов», связанных с биохимией, чтобы в процессе занятий ответить на все волнующие их вопросы.

7. Тревожным является тот факт, что студенты обеих групп так «дружно» не готовы к дистантной (дистанционной) форме обучения, причем неожиданно, что студенты 2 старшей возрастной группы оказались более подготовленными к новому направлению в организации учебного процесса.

## Литература

1. Валов А.П. Тестовый контроль в оптимизации и стандартизации преподавания биохимии./ А.П.Валов, И.Г.Данилова, Л.А.Каминская, В.Н.Мещанинов. В.К.Кротов/ Стандартизация тестового контроля качества знаний и некоторые вопросы организации учебного процесса; Материалы региональной научно-практ. конфер. – Екатеринбург, 1998.- С.14-16.
- 2.Попков В.А., Коржув А.В. Методология педагогического исследования и дидактика высшей школы. – М., 2000. - 184 с.
3. Сорокина Л.А. Опыт преподавания биохимии студентам факультета высшего сестринского образования/ Л.А.Сорокина, С.Р. Трофимова, Е.Г.Бутолин/ Актуальные проблемы теоретической и прикладной химии. Материалы конференции биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири - Ижевск, 2001.- С.186-187.

Кулагина И.Г., Камиллов Ф.Х., Тимирханова Г.А.  
**ПРИРОДНЫЕ ПОЛИЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ  
 КИСЛОТЫ И АНТИОКСИДАНТЫ В  
 ЭЛЕКТИВНОЙ ЛЕКЦИИ ПО КУРСУ  
 «БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ»**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
 медицинский университет Росздрава», г.УФА*

В настоящее время к изучению полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) проявляется повышенное внимание, т.к. они структурно входят в состав фосфолипидов мембран клеток и являются предшественниками биологически активных веществ. По представлениям некоторых авторов, атеросклероз – заболевание, связанное с распространенным поражением артерий, является следствием дефицита в клетках ПНЖК и формированием синдрома патологической компенсации данной ситуации (Титов В.Н., 1998). Радикалы ПНЖК в низких концентрациях индуцируют экспрессию генов и деление клеток, тогда как в высоких концентрациях оказывают повреждающее действие (Владимиров Ю.А., 2002). Пероксидация липидов в клетке находится под контролем ферментных и неферментных систем, в числе которых ведущее положение занимают витамины и среди них следует выделить водорастворимые (аскорбиновая кислота, биофлавоноиды) и жирорастворимые (токоферол и ретинол) витамины.

ПНЖК, жирорастворимые витамины Е (б-токоферол) и витамин А (ретинол) изучаются в курсе «Биоорганическая химия» с позиции классической химической науки – представление химической структуры и биологической роли данного вещества. Однако, к настоящему времени получены новые сведения о структурно-функциональных особенностях механизмах действия, взаимного влияния и использования витаминов Е, А которые недостаточно отражены в учебниках по биоорганической химии (Овчинников Ю.А., 1987; Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И., 2005). Следовательно, необходимо восполнить информационный пробел современными данными, что возможно сделать в рамках элективного курса. В элективном курсе по биоорганической химии имеется специальная лекция, призванная дать студентам дополнительную информацию.

Содержание лекции «Полиненасыщенные жирные кислоты (витамин F). Перекисно-модифицированные липиды и жирорастворимые антиоксиданты» охватывает такие вопросы как краткая характеристика высших жирных кислот, природных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), их биологическая роль, положительное и отрицательное влияние на организм человека вследствие избыточного поступления или образования. Механизм действия ПНЖК связан с их включением в состав клеточных мембран, они являются важными компонентами фосфолипидов, гликолипидов. Отмечено, что при дефиците транспорта

в клетки щ3-ПНЖК (гекса- и пентаеновых кислот) их места в фосфолипидах занимают менее насыщенные тетра- и триеновые кислоты, что отражается на физико-химических свойствах мембран. Снижение числа двойных связей уменьшает отрицательный заряд мембран высококодифференцированных клеток, вследствие чего наблюдается альбуминурия, снижается транспорт глюкозы в клетки, нарушается активность  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -АТФ-азы, а именно в клетке повышается содержание ионов  $\text{Na}^+$ . Изменение состава ПНЖК в клеточной мембране влияет на чувствительность клеток к действию гормонов, иммуноглобулинов, цитокинов, модулирует текучесть мембранных липидов, что оказывает действие на активность ферментов, транспортных молекул, погруженных в мембраны (Ли Е.Д. и др., 1994; Gastelli W.P., 1992). Физиологически проявление недостаточности ПНЖК в эксперименте наблюдается в виде остановки роста молодых животных, поражений кожных покровов (язвы, некрозы, усиление пигментации), нарушений фертильности, остроты зрения, изменений электрокардиограммы, повышения чувствительности к бактериальным инфекциям. ПНЖК, прежде всего щ3- и щ6-кислоты являются предшественниками эйкозаноидов: простагландинов, простаглицлинов, тромбоксанов и лейкотриенов. Эти физиологически активные вещества образуются в клетках под действием специфических ферментов циклооксигеназы (ЦО) и липоксигеназы (ЛОК) и гуморальным путем регулируют тонус сосудов, сокращение гладкомышечных клеток, активируют кровотоки, агрегацию тромбоцитов, хемотаксис нейтрофилов. Кроме того простаглицлины, например, препятствуют тромбообразованию, но усиливают аллергическое и бактериальное воспаление, простаглицлины – понижают артериальное давление; тромбоксаны, образующиеся из щ6-линолевой кислоты, способствуют образованию тромбов.

На роль ПНЖК и их метаболитов в патогенезе атеросклероза существует несколько точек зрения, которые дополняют друг друга. Отмечено, что витамин F предупреждает отложение холестерина в артериях, тормозит синтез триглицеридов, и таким образом снижает риск развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний (Мартынов А.И. и др., 1994). Известно, что у человека ПНЖК поступают в клетки в неполярной фазе этерифицированные холестерином через апоВ-100 рецепторы. Представление о патогенезе атеросклероза с позиции Титова В.Н. и соавт. (1998) связаны с нарушением транспорта ненасыщенных жирных кислот в клетку, перераспределением пула полиеновых кислот в сторону увеличения липопротеидов низкой плотности в кровотоке, но не в клетках. Независимо от того, на каком этапе нарушен активный транспорт ПНЖК в клетки, формируется афизиологичный транспорт через другие рецепторы – скавенджер и рецепторы к IgG – моноцитов и макрофагов, которые превращают их в

«пенистые» клетки с последующей гибелью путем некроза. В ряде исследований выявлены изменения, которые можно отнести к нежелательным: усиление перекисного окисления липидов (ПОЛ) под действием активных форм кислорода, ЦО, ЛОК, накопление липидных радикалов, пероксидов, гидропероксидов и алкоксилов ПНЖК (Владимиров Ю.А., 2002). Наиболее важными последствиями усиления липопероксидации являются: взаимодействие ненасыщенных альдегидов и аминокрупп белков с образованием шиффовых оснований, полимеризация окисленных липидов, мутагенное и цитотоксическое действие, ингибирование и конверсия мембранно-связанных белков. Гидроперекиси ПНЖК являются мощными ингибиторами биосинтеза антитромбогенного фактора – простациклина (Ланкин В.З., 1989).

Гомеостаз в организме зависит от состояния интенсивности ПОЛ в биомембранах и мощности антиоксидантных систем, в норме поддерживающих ПОЛ на стационарно низком уровне. Свободно-радикальному процессу в организме при патологических состояниях противостоят эндогенные механизмы антиоксидантной системы, в которую входят ферментные и неферментные антиоксиданты, такие как СОД, каталаза, пероксидаза,  $\beta$ -токоферол, ретинол. Нарушение баланса между интенсивностью действия прооксидантных факторов и антиоксидантных ведет к развитию окислительного стресса, предпатологии (Кулинский В.И., 1999). Детально рассматриваются особенности образования радикалов ПНЖК, а так же антирадикальные свойства токоферола и ретинола. Участие витамина Е (токоферола) в регуляции свободно-радикального окисления заключается в стабилизации липидного бислоя путем образования прочных комплексов с ПНЖК, подавлении хеимлюминисценции ткани вследствие перехода возбужденного эксимера кислорода  $[(O_2)_2]^*$  в основное состояние и перемещение радикального центра на углеводородную цепь витамина Е, а так же участие его в обмене селена (Ерин А.Н. и др., 1985; Алексеев С.М. и др., 1993; Назаров П.В., Лидер В.А., 1996). Витамин А в форме ретинол-пальмитата, по данным Бурлаковой Е.Б. и Храпова Н.П. (1985), проявляет антиоксидантное действие в модельных системах. Наибольший антиоксидантный эффект проявляют совместно витамины А и Е. Предполагают, что витамин F предохраняет цепочку витамина А, содержащую пять конъюгированных двойных связей, от окисления (Бобырев В.Н. и др., 1988).

Материал лекции направлен на расширение представлений о витаминах Е, А как о природных антиоксидантах, на связывание их свойств с особенностями строения веществ. Проблемной и необходимой для студентов-медиков представляется часть лекции, посвященная совместному действию этих витаминов, раскрытию механизмов их взаимодействия на мембранном уровне. Понимание механизмов

антиоксидативного действия токоферола и ретинола позволяет успешно использовать их при лечении ряда заболеваний: пневмонии, плеврита, нагноении раны, до и после хирургического лечения, в геронтологии (Михельсон В.И. и др., 1988; Денисов А.И. и др., 1994).

Опыт работы свидетельствует, что лекционный материал помогает студентам в освоении тем: «Витамины», «Механизмы обезвреживания токсических веществ» и при изучении курса «Биологическая химия».

#### Литература

1. Алексеев С.М., Куница Н.И., Кузьменко И.В. и др. / Биохимия. - 1993. – т.53. – вып.11. – С.1709-1713;
2. Бобырев В.Н., Гайшенец В.Ф., Николов О.Т. / Вопросы питания. - 1988. - №5. - С. 57-59;
3. Бурлакова Е.Б., Храпов Н.Б. / Успехи медицинской химии. - 1985. - 54(9). - С. 1540-1558;
4. Владимиров Ю.А. / Соросовский образовательный журнал. - 2002. - Т.6. - №12. - С.13-20;
5. Денисов Л.И., Лобарева Л.С., Якушева Е.О. / Терапевтический архив. - 1994. - №5. - С. 82-87;
6. Ерин А.Н., Скрытин В.И., Прилипко Л.Л., Коган В.Е. / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1985. - Т.100. - №8. - С.184-186;
7. Кулинский В.И. / Соросовский образовательный журнал. - 1999. - №1. - С. 2-7;
8. Ланкин В.З. / Вопросы медицинской химии. – 1989. - №3. – с.18-24;
9. Ли Е.Д., Исаев В.А., Прохорович Е.А. и др. / Клиническая фармакология и терапия. - 1994. - №3. - С. 23-36;
10. Мартынов А.И., Мартынов И.В., Прохорович Е.А. и др. / Клинический вестник ПМЦ. - 1994. - №2. - С.16-25;
11. Михельсон В.И., Клевко В.А., Мухин В.Х., Азизова О.А. / Вестник АМН СССР. - 1988. - №9. - С. 56-61;
12. Назаров П.В., Лидер В.А. / Вопросы питания. - 1996. - №2. - С. 11-14;
13. Титов В.Н. / Клиническая лабораторная диагностика. – 1998. - №4. – с.3-13;
14. Gastelli W.P. / Amer. J. Cardiol. - 1992. - №70. - P.3-9.

Терехина Н.А., Реук С.Э.

#### КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧЕЙ-ИНТЕРНОВ

ГОУ ВПО «Пермская государственная  
медицинская академия Росздрава  
им. акад. Е.А. Вагнера», г. Пермь

На современном этапе развития медицины освоение практических навыков невозможно без прочных знаний фундаментальных дисциплин. Биохимия в медицинском образовании, как одна из основных базовых теоретических дисциплин, определяет развитие и становление клинического мышления врача. Крепкие теоретические знания дают хорошую основу для дальнейшего понимания этиологии, патогенеза, диагностики и лечения заболеваний. Будущий врач должен быть не только хорошо подготовлен в теоретическом отношении,



овладеть практическими навыками, но и быть способным действовать в неординарных ситуациях. Появление молекулярной медицины подразумевает не только переориентацию взглядов врача-клинициста на диагностику, лечение и профилактику заболеваний, но и изменение формы и содержания медицинского образования.

С 2005 года на нашей кафедре начали заниматься врачи-интерны. Для них мы разработали и прочитали цикл лекций по клинической биохимии. Курс клинической биохимии для интернов-терапевтов включает 12 лекций и 18 часов практических занятий. Для интернов-педиатров этот курс значительно меньше – 1 лекция и 9 часов практических занятий. Для наиболее оптимального усвоения материала интерны занимаются группами по 10 – 15 человек.

На кафедре преподавание ведется в соответствии с рабочей программой курса клинической биохимии. Ежегодно мы составляем согласования с различными кафедрами к рабочей программе по клинической биохимии по изучению отдельных тем. Прежде всего, это кафедры нормальной физиологии, патологической физиологии, гистологии, патологической анатомии, фармакологии. Кроме этого, есть у нас согласования рабочей программы и с клиническими кафедрами.

На заседаниях Ученого Совета академии, центральной координационной методической комиссии, цикловых методических комиссий обсуждаются вопросы преподавания врачам-интернам фундаментальных дисциплин. Ежегодно в рамках цикловой методической комиссии по медико-биологическим дисциплинам проводятся междисциплинарные согласования рабочих программ курса клинической биохимии для врачей-интернов с программами по патологической физиологии, клинической фармакологии, патологической анатомии.

Объем учебного материала, получаемого врачами-интернами очень значителен. На кафедре биохимии врачи-интерны подробно изучают вопросы медицинской энзимологии. Особое внимание уделяется вопросам энзимопатологии и энзимодиагностики. Отдельная лекция посвящена наследственным энзимопатиям. Интерес у врачей-интернов вызывают лекции: «Антиоксидантная защита организма», «Биохимия остеопороза», «Новые биохимические технологии в диагностике заболеваний». На практических занятиях интернам предлагается ряд ситуационных задач, тестовых заданий по темам: «Белковый спектр крови», «Биохимические механизмы патологии липидного обмена», «Молекулярные основы патологии соединительной ткани», «Биохимические основы патологии печени», «Микроэлементозы», «Механизмы действия гормонов». Для интернов-педиатров акцент в преподавании предмета делается на изучение вопросов возрастной биохимии, при освещении каждой темы рассматриваются особенности метаболизма у детей

всех возрастных периодов. Часть материала по курсу освещается в виде лекций, отдельные вопросы клинической биохимии разбираются на практических занятиях. На лекциях и занятиях по клинической биохимии обязательно используются мультимедийные презентации материала, наглядные пособия, видеофильмы, таблицы, слайды. В ходе подготовки к практическим занятиям, контрольным тестам, итоговому зачету врачи-интерны изучают биохимические основы физиологических и патологических процессов, используя современную литературу по клинической биохимии и учебные пособия, написанные сотрудниками кафедры: «Свободнорадикальное окисление», «Коферменты и кофакторы», «Наследственные энзимопатии». Сотрудниками нашей кафедры написаны ряд методических рекомендаций и учебных пособий совместно с хирургами, стоматологами для постдипломного образования.

Обобщение и закрепление изученного материала происходит при решении тестов и ситуационных клинико-биохимических задач. Ситуационные задачи включают в себя данные клинических и фундаментальных дисциплин и позволяют врачам-интернам применить изученный материал по клинико-диагностическому значению биохимических исследований в современной медицине на практике, врачи-интерны самостоятельно учатся определять биохимические механизмы нарушенных патологических процессов.

Итоговой контроль знаний и практических умений врачей-интернов проводится на практических занятиях по курсу клинической биохимии и осуществляется в виде тестовых программ, контроля практических умений. По окончании обучения студенты сдают зачет. Для тестового контроля созданы варианты текущих и итоговых тестовых заданий. На кафедре разработан перечень практических умений, которыми врач-интерн должен овладеть в результате пройденного курса клинической биохимии.

На заключительном занятии по курсу клинической биохимии проводится анкетирование обучающихся с целью выявления новых клинически важных направлений в изучении предмета. Интерны высказывают единое мнение о том, что количество часов, выделенных для изучения курса клинической биохимии недостаточно.

Ежемесячно на нашей кафедре организуются и проводятся заседания научного общества специалистов по клинической лабораторной диагностике. Врачи-интерны имеют возможность посещать эти заседания.

Врачи-интерны проявляют интерес к научной работе. Некоторые из них планируют выполнение кандидатских диссертаций на нашей кафедре.

Таким образом, изучение клинической биохимии дает возможность сформировать у будущих врачей

терапевтов и педиатров объективный взгляд на выбранную специальность, овладеть основными программами и алгоритмами проведения биохимического обследования. Все это позволяет перевести теоретические и практические знания по фундаментальным дисциплинам на уровень профессионального клинического мышления и закладывает прочные основы знаний, умения и опыт для будущей успешной работы по избранной специальности в практическом здравоохранении.

Терёхина Н.А., Поносков В.Л., Боровик Г.А.,  
Созинова Г.М.

### **ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ НА КАФЕДРЕ БИОХИМИИ**

*ГОУ ВПО «Пермская государственная  
медицинская академия Росздрава  
им. акад. Е.А. Вагнера», г. Пермь*

Основная цель самостоятельной работы студентов (СРС) – стимулирование эффективной познавательной деятельности. Самостоятельная работа способствует освоению изучаемой на кафедре дисциплины, умению работать с учебной и научной литературой, приобретению практических навыков. СРС является планируемым видом педагогической деятельности. Важная задача каждого преподавателя – организация, стимулирование и контроль СРС. Решению этой задачи во многом способствует методическое обеспечение самостоятельной работы студентов. Известны два аспекта методического обеспечения СРС – методическое обеспечение аудиторной работы и методическое обеспечение внеаудиторной деятельности.

Методическое обеспечение аудиторной СРС на нашей кафедре включает знакомство с планом практических занятий и лекций по биохимии, с инструкциями по правилам техники безопасности и противопожарной безопасности, порядком работы на лабораторном оборудовании, обеспечение студентов учебными пособиями, предоставление им большого перечня ситуационных задач и тестовых заданий для работы на занятиях. На лекциях и занятиях демонстрируются таблицы, схемы, слайды.

Внеаудиторная работа студентов обеспечивается учебным пособием по всему курсу, разработанным коллективом кафедры и содержащим перечень основных вопросов для самостоятельной подготовки. Данное пособие рекомендовано учебно – методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов медицинских вузов. Кроме того, студенты обеспечиваются учебными пособиями по отдельным темам биохимии: «Коферменты и кофакторы», «Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система», сборником тестов по биологической химии, сборником ситуационных задач по биохимии,

«Биохимия полости рта» для студентов стоматологического факультета, «Биологическая химия» для студентов высшего сестринского образования.

В начале учебного года студентам предоставляется список основной и дополнительной литературы по биохимии, перечень тем рефератов, тем для проведения стендовой сессии, план работы СНО, перечень практических навыков и умений, приобретаемых студентами на кафедре.

На кафедре работает методический кабинет, оснащенный необходимыми наглядными пособиями. Студенты имеют возможность получать ежедневные консультации преподавателей. Таким образом, организация эффективной познавательной деятельности студентов на кафедре возможна только при наличии системного учебно-методического комплекса для самостоятельной работы. Развитие СРС, увеличение объема и отводимого на эту работу времени, усиление методического обеспечения – путь совершенствования высшего медицинского образования.

Для выступления на заседании СНО студенты получают списки литературных источников от преподавателя и затем самостоятельно проводят поиск литературы.

В процессе творческого взаимодействия студента с преподавателем реализуется индивидуальный подход к обучению наиболее способных студентов.

На кафедре имеется журнал самостоятельной работы студентов, в котором фиксируются виды самостоятельной работы: написание реферата, стендовая сессия, выступление на СНО, подготовка презентации, экспериментальная работа.

Для итоговой оценки работы студентов на кафедре разработана рейтинговая карта. Рейтинговая карта информирует экзаменатора о среднегодовой успеваемости студента и посещаемости лекций, участии его в СНО и стендовой сессии, оценивает самостоятельную работу студента и тестовый зачет.

С 1996 года для студентов стоматологического факультета введен новый курс «Биохимия полости рта».

Курс включает 12 часов лекций. В лекционный курс включены следующие темы: «Биохимия соединительной ткани, периодонта, пульпы», «Водно-минеральный обмен», «Биохимия костной ткани, эмали и дентина», «Химический состав и функции слюны», «Ферменты слюны», «Роль углеводов и зубного налета в развитии кариеса». Вопросы курса прошли согласования с клиническими кафедрами и включены в экзаменационные вопросы по общей биохимии. Преподавание биохимии полости рта имело определенные трудности, так как не было учебника и учебного пособия для лабораторных занятий. Возникла необходимость методического сопровождения преподавания этого курса.

В 2006 году сотрудниками кафедры написано учебное пособие «Биохимия полости рта», которое

утверждено УМО. В пособии каждое занятие начинается с описания теоретического материала, который должен быть усвоен студентом, затем следуют вопросы для самостоятельной работы, по которым студенты готовятся дома, предлагаются темы реферативных сообщений.

В разделе пособия «Аудиторная работа» представлены ситуационные задачи и описаны лабораторные работы, выполняемые студентами на занятиях.

Самостоятельно решая ситуационные задачи на лабораторном занятии, студенты закрепляют знания, используя теоретический материал данного занятия.

В соответствии с указаниями методического пособия студенты выполняют лабораторные работы: определяют буферную емкость слюны по кислоте и щелочи, активность амилазы слюны, содержание кальция и фосфора в минерализате зубов.

Интересна для дальнейшего практического применения лабораторная работа: «Влияние сахарозы на рН слюны», так как с помощью этой методики можно исследовать влияние различных продуктов и напитков на изменение рН слюны и скорость развития кариесогенной ситуации в полости рта.

Тесты в методическом пособии приведены с ответами, что дает возможность студентам проконтролировать собственные знания.

Используя пособие, студенты готовят стенды и таблицы, участвуют в стендовой сессии по следующим темам: «Ремоделирование костной ткани», «Неколлагеновые белки костной ткани», «Ферменты слюны», «Физико-химические показатели слюны».

Наличие учебного пособия оказалось полезным не только для студентов, но и для преподавателей. В течение двух лет занятия по биохимии проводятся по данному пособию. На кафедральном заседании подвели итоги использования пособия. Анализ успеваемости студентов второго курса стоматологического факультета показал, что в 2006 году повысился средний балл и показатель качества. Мы связываем это с использованием нового учебного пособия «Биохимия полости рта».

Самостоятельное изучение студентами отдельных разделов курса биологической химии требует целенаправленного методического обеспечения, которое должно помочь обучающимся не только овладеть определенной суммой знаний, но и проявить творческие способности.

Учитывая, что на кафедру приходят студенты 1 курса ВСО, которые находятся на этапе адаптации к ВУЗу, считаем целесообразным планировать самостоятельную работу во время как домашней подготовки к текущим занятиям, так и в выполнении контрольной работы дома.

Курс биохимии составляет всего 90 часов очно-заочного обучения, это в 2 раза меньше, чем на других факультетах. Из них 54 часа отводится на самостоятельную работу, выполнение в домашних

условиях контрольных работ по определенным разделам курса биохимии.

Для улучшения обучения по заочной форме были написаны планы самостоятельных работ, лекций, практических занятий. В помощь студентам издано методическое пособие, в которое включены разделы отдельных тем курса, тесты, ситуационные задачи. Методическое пособие необходимый «помощник» работы студентов.

Конечно, особый интерес представляет самостоятельная работа студентов с использованием учебных компьютерных программ. Такая форма обучения позволит быстро определить исходный уровень знаний, с которым студенты пришли на занятие, т.е. результат их внеаудиторной самостоятельной работы. Программы могут быть использованы и для самоконтроля знаний студентов во внеаудиторное время. В перспективе компьютерное обучение может стать одной из основных форм СРС.

Тимебаев В.Н., Киселев С.В.

### **ЗНАЧЕНИЕ ХИМИИ В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКОГО МЫШЛЕНИЯ**

*ГОУ ВПО «Казанский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Казань*

Мышление – это совокупность мысленных операций по отражению с помощью абстракций общих свойств предметов и процессов окружающего мира, поиску взаимосвязей между ними, созданию новых идей и прогнозированию событий и действий. Мышление осуществляется в виде возникновения понятий, суждений, умозаключений. Умозаключение может быть простым и сложным в виде гипотез и теорий. В процессе мышления человек использует различные логические приемы – анализ и синтез, дедукцию, индукцию и др. Мышление может быть правильным и патологическим. Критерием правильности мышления служит подтверждение полученного с его помощью знания практикой. В зависимости от категорий осмысливаемых явлений и глубины их теоретического обобщения различают бытовое и научное мышление.

Мышление является неотъемлемым элементом сознания каждого человека. Вместе с тем в части осмысления явлений, связанных с конкретной сферой практической деятельности человека, мышление имеет качественные особенности. В этой связи клиническое мышление врача является одним из видов профессионального мышления. Клиническое мышление – достаточно условное понятие, однако оно широко употребляется в медицинской литературе и во врачебном обиходе. Это мыслительная деятельность врача по соотношению известной ему в симптомах и синдромах картины болезни с выявленным у больного симптомокомплексом, а также принятием решения о природе заболевания у данного больного на основе логических и интуитивных компонентов

профессионального опыта. Особенностью клинического мышления является то, что оно, как правило, не дает нового научного знания, а распознает уже известное науке заболевание у конкретного больного. Поэтому клиническое мышление является преимущественно дедуктивным и имеет динамический характер. Кроме того, поскольку предметом осмысления в работе врача является человек, клиническое мышление всегда имеет этическую компоненту, зависящую от структуры личности врача, его общей культуры.

Из изложенного ясно, что выработка клинического мышления требует, прежде всего, усвоения специальных знаний общетеоретических, медико-биологических и клинических дисциплин, овладения логическими приемами мышления и усвоения этических норм. Понятно, что не все специалисты с врачебным образованием вырабатывают клиническое мышление. Отсутствие достаточного уровня специальных знаний, неразвитость логики, психопатическая структура личности делают невозможным формирование клинического мышления и становление врача как профессионала в подлинном смысле. Следует отметить, что важно овладение не только необходимым уровнем знаний в их абстрактном содержании, но и в их реальном воплощении в виде заболеваний у конкретных больных, что дается только клинической практикой. Нередко, даже очень эрудированные специалисты не могут поставить точный диагноз и назначить адекватное лечение из-за недостаточности клинического опыта. Вот почему среди практических врачей бытует поговорка: «Учиться надо у профессоров, а лечиться – у докторов».

Каким же образом усвоение химических дисциплин в медицинском университете способствует формированию клинического мышления? Прежде всего усвоение содержательной части общей и органической химии можно рассматривать как необходимую основу восприятия таких медико-биологических дисциплин, как биохимия, физиология, патофизиология, гигиена и далее всех клинических дисциплин. Кратко покажем это по разделам программ общей и органической химии.

Изучение основ химической термодинамики дает будущему врачу ясные представления об энергетическом балансе организма, особенностях превращения разных видов энергии в процессах жизнедеятельности, уяснить объективные критерии осуществимости различных химических реакций в организме.

Изучение закономерностей химической кинетики и химического равновесия помогает понять механизм действия ферментов и предвидеть направление протекания биохимических реакций.

Изучение электронной структуры атомов, природы химической связи и строения молекул

позволяет рассматривать процессы жизнедеятельности на молекулярном уровне, прогнозировать физиологические и фармакологические свойства различных соединений.

Изучение физико-химических свойств биогенных элементов и их соединений предопределяет в дальнейшем уяснение их биологической роли, в обеспечении действия многих ферментов, витаминов, гормонов, в развитии ряда наследственных, эндемических и элемент дефицитных заболеваний (зоб, кариес и др.). Это является также основой рассмотрения в курсе гигиены вопросов загрязнения и защиты окружающей среды.

Особенно важное значение имеет изучение физико-химических свойств растворов. Рассмотрение процессов растворения и диссоциации веществ, диффузии, осмоса, изменений рН, действия буферных систем нужно для понимания функции клеточных мембран, кислотно-основного равновесия, работы сердечно-сосудистой системы, легких, почек, лечебного эффекта различных методов лечения.

При изучении электрохимии студенты усваивают закономерности электропроводности растворов, возникновения электродных, окислительно-восстановительных и мембранных потенциалов, знакомятся с техникой кондуктометрических и потенциометрических измерений. Это позволяет в дальнейшем понять механизм возникновения и физиологическое значение биоэлектрических потенциалов, а также овладеть различными физиотерапевтическими методами лечения и клинко-диагностическими методами анализа.

При изучении физической химии поверхностных явлений студенты постигают сущность адсорбции и механизм действия поверхностно-активных веществ. Это важно для понимания структуры и свойств биологических мембран, процессов пищеварения, иммунологических механизмов, для овладения методами адсорбционной терапии, гемосорбции, хроматографическим методом анализа сложных смесей веществ биологического происхождения и др.

Изучение дисперсных систем (коллоидной химии) и высокомолекулярных соединений позволяет студентам понять особые физические свойства различных жидкостей (кровь, моча и др.) и плотных тканей организма, механизмы гемодиализа, ультрафильтрации, электрофореза и др.

Наконец, при изучении органической химии усвоение электронного и пространственного строения молекул природных органических соединений во взаимосвязи с их биологическим действием делает возможным последующее понимание их превращений в биохимических реакциях, дает умение ориентироваться в классификации, строении и свойствах лекарственных веществ.

Следует отметить, что изучение общей и органической химии знакомит будущего врача с целым комплексом аналитических и физико-

химических методов исследования, дает практические навыки работы с различными приборами и аппаратурой, которые используются в научно-медицинских исследованиях и в клинической диагностике.

Однако овладение студентами на базе теоретических сведений и навыков общей и органической химии специальными медико-биологическими и клиническими знаниями еще не является условием формирования клинического мышления. Необходимо выработать умение пользоваться этими знаниями, правильно и последовательно вести рассуждения, создавать достаточные основания для умозаключений. Все это достигается только путем тренировки мышления при самостоятельной работе с больными. Химическое образование наиболее подходящим образом развивает логические основы клинического мышления. Это достигается постоянным решением задач, рассмотрением химических процессов в динамике, выявлением физического смысла закономерностей, выявлением причинно-следственных связей между структурой и функцией соединений. Таким образом, при изучении общей и органической химии обеспечивается постоянный мыслительный тренинг студентов.

Наконец, при изучении общей и органической химии начинает формироваться и третий элемент клинического мышления – врачебная этика. Основы ее, конечно, закладываются воспитанием в семье, но вклад химического образования в выработку этических норм врача заметен и значим. Врач должен быть добросовестен в работе, эмоционально отзывчив, иметь чувство такта. На занятиях по химии у студентов вырабатывается точность и аккуратность, добросовестное отношение к выполнению заданий. Вежливость, культура общения преподавателей, требования к студентам по поддержанию порядка и чистоты, объективность в оценке знаний – все это развивает у студентов нормы врачебной этики.

Из выше изложенного можно заключить, что преподавание в медицинском университете такой общетеоретической дисциплины, как общая и органическая химия уже на 1 курсе обучения закладывает у студентов основы клинического мышления и является необходимым условием становления врачей как профессионалов.

Цапок П.И., Симкина Т.В., Еликов А.В.,  
Коршунова Т.Ю., Смольникова В.И.

**КАФЕДРА БИОХИМИИ КИРОВСКОЙ  
ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ  
АКАДЕМИИ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров*

Кафедра была организована сразу же после открытия филиала Пермского государственного

медицинского института в г. Кирове как кафедра бионеорганической и биофизической химии. Уже в сентябре 1987 года студенты начали слушать курс лекций и заниматься на практических занятиях по бионеорганической химии. Коллектив кафедры состоял из 6 человек: доцент А.С.Вахрушев, канд. хим. наук Л.В.Власова, канд. биол. наук Т.Ю. Коршунова, ассистенты: Т.А. Жданова, Е.А. Мамаева, ст. лаб. В.И. Смольникова. В январе 1988 г. заведующим кафедрой избран д.м.н., профессор П.И.Цапок, который приступил к работе 13 мая 1988 г. С его приездом был подписан приказ министра здравоохранения РСФСР о переименовании кафедры в кафедру бионеорганической, биофизической и биологической химии. В этом же году, с началом преподавания на втором курсе биохимии на кафедре начали работать к.м.н., доцент Т.В. Симкина, к.м.н. А.С. Разумов, ассистенты: Е.В. Вандакуров, О.Ю. Попова, С.В. Талантов, О.В. Никонова.

22 июля 1996 года ректор института член-корр. РАМН В.А. Журавлев подписал приказ о реорганизации кафедры. Для улучшения преподавания химических дисциплин кафедру бионеорганической, биофизической и биологической химии реорганизовали в кафедры: общей химии с преподаванием общей и бионеорганической химии (зав. кафедрой – докт. техн. наук, профессор А.Г. Мешандин) и медицинской химии с преподаванием биоорганической и биологической химии (зав. кафедрой – докт. мед.наук, профессор П.И. Цапок).

В настоящее время в составе кафедры биохимии 1- д.м.н., профессор, 3 - к.м.н., доценты, 2 ассистента, 3 аспиранта, 1 ст. лаб., 1 зав. уч.-метод. кабинетом. Преподавание биохимии осуществляется на лечебном, педиатрическом факультетах дневного обучения, на заочном отделении факультета высшего сестринского образования, на факультете сверхпланового приема. С учетом специфики каждого факультета разработаны учебные программы, адаптирована тематика лекционного курса и содержания лабораторно-практических занятий. Учебная база хорошо оснащена демонстрационным и всем необходимым лабораторным оборудованием для выполнения практикума. Для обеспечения учебного процесса коллективом кафедры изданы учебные пособия «Биологическая химия» (2003), «Углеводы» (2005), «Взаимосвязь обмена веществ» (2006), «Биологическая химия» (2006), рекомендованные учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России [1-3]. На практических занятиях используются современные обучающие технологии: различные формы контроля знаний, умений и навыков: анализ выполнения лабораторных работ, решение ситуационных задач с клинической направленностью, самостоятельное выполнение индивидуальных заданий по билетам, использование эксперимента при индивидуальном опросе, анализ

работы с литературой, конспектами лекций, групповые обсуждения, анализ проведенных письменных контрольных работ, анализ реферативных сообщений. Создан учебный фильм, в котором иллюстрируется содержание учебных тем и демонстрируется целый ряд используемых методов изучения биохимических процессов. На кафедре проводятся элективные курсы для студентов 4 и 5 курсов лечебного и педиатрического факультетов: «Клиническая биохимия», «Биохимические основы здорового образа жизни», «Деонтология в клинической биохимии». Для аспирантов и клинических ординаторов ежегодно читается курс лекций «Клиническая лабораторная диагностика».

За прошедшие годы много изменилось в жизни нашего общества и в жизни учреждений высшего профессионального образования. Проблем не становится меньше, постепенно увеличивается педагогическая нагрузка, проводить научные изыскания становится труднее не только из-за ограниченности финансовых ресурсов на эти цели, но и из-за заметного падения престижности занятия исследовательской работой среди молодежи. Тем не менее, научные исследования кафедры биохимии выполнялись в тесном содружестве с кафедрами общественного здоровья и здравоохранения (академик РАЕН, профессор И.В.Шешунов, профессор Б.А.Петров, доцент Д.С.Симкин, к.м.н. Е.И.Дорманчева, к.м.н. С.Б.Петров, к.м.н. С.В.Селюнина), медицинской биофизики (доцент В.А.Кудрявцев, доцент Е.В.Луценко, к.б.н. П.Г.Чупраков, ст. преподаватель О.И.Шилов), офтальмологии (д.м.н. А.Д.Чупров, доцент Ю.В.Кудрявцева), инфекционных болезней (профессор А.Л.Бондаренко, к.м.н. О.Н.Любезнова), пропедевтики внутренних болезней (профессор Н.К.Вознесенский, к.м.н. В.В.Радаева), пропедевтики детских болезней (доцент В.А.Беляков, доцент А.В.Кашин, к.м.н. И.С.Коротких, к.м.н. О.Ю.Мошанова), микробиологии (профессор А.И.Смирнова, доцент Е.П.Колеватых, доцент О.В.Лавров), неврологии и нейрохирургии (профессор Ю.В.Кислицын), травматологии (доцент А.Г.Тукмачев), психологии, медицинской психологии и педагогики (доцент Е.П.Еликова), физической культуры (М.И.Юкляевская), общей гигиены (доцент А.А.Галкин), фармакологии (доцент Н.К.Мазина), факультета экспертизы и товароведения (доцент Н.И.Одинцов, Ю.В.Перевалова), поликлинической терапии и курортологии (профессор С.Ф.Гуляева), медицинской биологии (профессор А.А.Косых), нормальной физиологии (профессор Н.Ф.Камакин), госпитальной хирургии (член-корреспондент РАМН, профессор В.А.Журавлев), ФГУ Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови (профессор Г.А.Зайцева), центр детского и юношеского творчества (Е.В.Белугина). За годы существования на кафедре выполнены 1 докторская и 20 кандидатских диссертаций. Они

успешно защищены и утверждены ВАК России. Работы посвящены актуальным проблемам современной биохимии и медицины и направлены на решение неотложных задач – снижение показателей смертности, инвалидности, заболеваемости и предусматривают остановку процесса депопуляции нации, связанной с кризисным состоянием экономики страны и отечественного здравоохранения.

Общая характеристика проведенных научных исследований кафедрой биохимии за годы существования (1987-2007 гг.) представлены в итоговой таблице 1.

**Итоги выполнения НИР коллективом кафедры биохимии ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава» за 20 лет (1987-2007 гг.)** Таблица 1

Виды НИР	Завершены	Выполняются
Диссертации:		
докторские	1	3
кандидатские	20	5
Патенты на изобретения	6	2
Монографии	16	3
Статьи в реферируемых журналах	105	5
Пособия для врачей, рекомендованные Минздравом РФ	2	-
Статьи в журнале «Вятский медицинский вестник»	35	3
Информационные листки ЦНТИ	37	2
Материалы мировых и международных конгрессов (на англ. яз.)	22	-
Материалы международных конгрессов	53	4
Материалы Всероссийских съездов, симпозиумов и конференций	172	5
Материалы региональных конференций	145	12
Учебно-методические пособия грифом «УМО медвузов России»	5	-
Учебно-методические пособия	24	3

Из представленных в таблице 1 данных видно, что помимо диссертационных работ, кафедра достаточно много внимания уделяет внедрению результатов научно-исследовательской работы в практику здравоохранения и в первую очередь в виде научных сообщений и докладов на съездах, конгрессах и

симпозиумах. Так, выполненные работы опубликованы в материалах Мировых, Европейских и Международных конгрессов (Австрия, Великобритания, Германия, Египет, Канада, Кипр, Корея, Куба, Мальта, Турция, Франция, Украина, Швейцария) и Всероссийских симпозиумов (Березники, Вологда, Екатеринбург, Ижевск, Йошкар-Ола, Кемерово, Киров, Краснодар, Курск, Ленинск-Кузнецкий, Москва, Набережные Челны, Нижний Новгород, Новосибирск, Орел, Оренбург, Пенза, Пермь, Самара, Санкт-Петербург, Саратов, Сочи, Сыктывкар, Томск, Тюмень, Уфа, Челябинск). Опубликовано более 600 работ, получено 5 патентов на изобретения [4-8].

Совместно с кафедрой общественного здоровья и здравоохранения (заведующий – профессор Б.А.Петров) в рамках отраслевой программы «Системная разработка мероприятий по гигиенической безопасности России» выполнены исследования по разработке систем санитарно-гигиенического мониторинга в районах размещения предприятий по комплексной переработке медно-сульфидных руд и объектов хранения и уничтожения химического оружия. Впервые изучены вопросы состояния окружающей среды при современной технологии комплексной переработки медно-сульфидных руд и влияния промышленных выбросов и отходов на здоровье населения; в условиях эксперимента дана оценка характера биологического действия выбрасываемой в атмосферный воздух металлургической пыли; разработаны основные направления организации санитарно-гигиенического мониторинга в районах размещения медеплавильных комбинатов; впервые изучены медицинские последствия работ по уничтожению химического оружия, разработаны принципиально новые методические подходы к организации системы динамического наблюдения за объектами окружающей среды и здоровьем населения в районах уничтожения химического оружия. По материалам исследований издано пособие для врачей, утвержденное Минздравом РФ [9].

В настоящее время на кафедре успешно выполняются запланированные 4 докторские диссертации (доцент В.А.Кудрявцев, доцент Е.П.Еликова, доцент А.В.Еликов, доцент А.Г.Тукмачев) и 5 кандидатских диссертаций (И.Е.Голубев, В.В.Вычугжанин, С.А.Караваев, М.И.Юкляевская, М.Г.Шешунова).

Активно и плодотворно работают на кафедре студенты-кружковцы и старшеклассники Вятского научного общества (НОУ) «Вектор» по Всероссийской программе «Шаг в будущее» (научный руководитель – директор ЦДЮТ Е.В.Белугина).

Лучшие студенческие работы были доложены на итоговых научно-практических конференциях Кировской ГМА, Башкирского госмедуниверситета, Саратовского госмедуниверситета, Ижевской

госмедакадемии, Пермской госмедакадемии, Российского госмедуниверситета. Лучшие работы были отмечены дипломами, почетными грамотами, ценными подарками. Призерами и победителями региональных конкурсов в г. Кирове стали более 20 старшеклассников. Приобретенный школьниками опыт научной работы полезен в будущем для их профессионального становления по любой специальности, что подтверждает участие их уже в качестве студентов в выполнении научно-исследовательской работы (НИРС) и в работе над дипломными проектами и кандидатскими диссертациями.

В заключение необходимо подчеркнуть, что научная и педагогическая деятельность кафедры биохимии является взаимопроникающим процессом, нацеленным на подготовку высококвалифицированных специалистов, укрепление позиций здравоохранения и престижа Кировского госмедакадемии.

#### Литература

1. Цапок П.И., Симкина Т.В., Еликов А.В. **Биологическая химия**: Учебное пособие. Рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России. – Киров: Кировская ГМА, 2003. – 66 с.
2. Никитина Н.И., Казакова Е.И., Цапок П.И. **Углеводы**: Учебное пособие. Рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России. – Киров-Москва, 2005. – 60 с.
3. Цапок П.И., Бойко Е.Р., Кононов Е.И., Ларина В.Е., Цицковкина В.В., Еликова Е.П. **Взаимосвязь обмена веществ**: Учебное пособие для студентов медицинских вузов. Рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России. – Киров: ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», 2007. – 96 с.
4. Галкин А.А., Цапок П.И. Способ диагностики патологического течения климактерического периода // Описание изобретения к патенту Российской Федерации RU №216690. С.2. 27.03.2001 Бюл.№10.М.:ФИПС-8 с.
5. Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г., Тукмачев О.А., Еликова Е.П. Способ оценки тяжести состояния травматологического больного // Описание изобретения к патенту Российской Федерации RU №2208787 С.2, 20.07.2003. Бюлл. №20. – М.:ФИПС – 8 с.
6. Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г., Тукмачев О.А., Еликова Е.П. Способ оценки эффективности лечения ортопедо-травматологических больных // Описание изобретения к патенту Российской Федерации. RU № 2208788. С.2, 20.07.2003. Бюлл. № 20. – М.:ФИПС. – 10 с.
7. Цапок П.И., Кудрявцев В.А., Еликова Е.П., Чупраков П.Г., Кожевников А.Ю. Способ лечения сезонных аффективных расстройств // Описание изобретения к патенту Российской Федерации RU № 2289453, С.2. 20.12.2006. Бюлл. № 20. – М.:ФИПС – 6 с.

8. Кудрявцев В.А., Галкин А.А., Шешунов И.В., Цапок П.И., Шилов О.И. Способ исследования чистоты воды // Положительное решение по заявке на изобретение № 200614771/20(051736) от 08.06.2007.

9. Петров Б.А., Цапок П.И., Симкин Д.С., Дорманчева Е.И., Петров С.Б. Организация санитарно-гигиенического мониторинга в районах размещения предприятий по комплексной переработке медно-сульфидных руд // Пособие для врачей. Утверждено Минздравом РФ. – Киров-Москва, 2004. – 28 с.

Чернов Н.Н.

### **ЧТО ОСТАЕТСЯ ЗА РАМКАМИ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ?**

*ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», г. Москва*

Биохимия (по определению 60-х годов XX столетия «ребенок, который быстро растет, и уже наговорил целые тома») продолжает оставаться молодой развивающейся наукой. По оценкам корифеев биохимии конца прошлого века доля наших знаний составляет 5%, а незнания (степень которого трудно определить) - 95%. Расшифровка генома человека, а позднее и человекообразной обезьяны косвенно подтвердила эти количественные оценки, поставив больше новых вопросов, нежели дав ответов. Указанные 5% знаний были хорошо систематизированы и положены в основу фундаментальных учебников биохимии, структура которых существенно не менялась за последние 30 лет. Таким образом, создается впечатление, что мы преподаем студентам некую стройную искусственно созданную систему знаний, которая может существенно отличаться от действительности.

В самом деле, даже в таком, казалось бы, детально изученном процессе как гликолиз, до последнего времени остаются неясными до конца роль глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и обратимость фосфоглицераткиназной реакции. Совершенно очевидно также, что последовательность ферментативных реакций в цикле трикарбоновых кислот может изменяться и шунтироваться. Такие изменения могут иметь адаптивное и компенсаторное значение. Мы до сих пор плохо представляем себе «поведение» внутриклеточных ферментов в условиях высокой концентрации белков и липидного окружения. Способность ферментов к ассоциации (образование метаболонов) и зависимость от микроокружения (обращенные мицеллы) могут существенным образом изменять не только их кинетические параметры, но даже субстратную специфичность. Всегда остаются сомнения, что же в действительности мы измеряем, определяя ферментативную активность *in vitro*. Несколько успокаивает тот факт, что определение активности индуцибельных ферментов, в частности, в культурах

опухолевых клеток, адаптировавшихся к действию доксорубина, хорошо согласуется с изменениями содержания их матричных РНК.

Число вопросов, остающихся без ответа чрезвычайно велико. В частности (очень субъективно): проблема автономности животной клетки, зависящая от внутриклеточных путей передачи внешнего сигнала; специфическая роль различных нуклеозидтрифосфатов; взаимосвязь семейств соединений, содержащих в своем составе 3, 4, 5 или 6 атомов углерода; смысл существования множественных альтернативных и обходных путей метаболизма; роль серосодержащих соединений (в том числе, содержащих сульфогруппу).

Обсуждение всех этих вопросов остается за рамками преподавания биохимии. Естественно, учебный курс, как и учебник должны содержать только устоявшиеся факты и теории, но нельзя создавать у молодого человека «иллюзию знания». Студентам-медикам необходимо давать основы сравнительной и эволюционной биохимии, демонстрируя возможности биохимической адаптации и альтернативных путей в сложных сетях метаболизма. Надо акцентировать внимание студентов на непонятных и малоизученных проблемах с единственной целью – не навреди, так как активное вмешательство в невыясненные до конца процессы всегда чревато серьезными ошибками и просчетами, которые могут обнаружиться, к сожалению, слишком поздно.



## Раздел 2 БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА

Акбашева О.Е., Учасова Е.Г., Овчинникова Т.С.,  
Черногорюк Г.Э.

### **АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ «ПРОТЕИНАЗЫ – ИНГИБИТОРЫ» И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г.Томск*

Среди заболеваний бронхолегочной системы особое место занимает хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), в связи с возрастающей распространенностью и смертностью от этого заболевания. Цель работы заключалась в изучении активности эластазо-, трипсиноподобных протеиназ,  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha_1$ -ПИ),  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ), кислотостабильных ингибиторов (КСИ) при обострении ХОБЛ и в группах высокого риска. Существенное значение уделялось исследованию перекисного окисления липидов (ПОЛ), для чего определяли содержание малонового диальдегида (МДА), активность каталазы и супероксиддисмутазы.

Было обследовано 79 больных (мужчины) в возрасте от 35 до 60 лет, 65 из них прошли курс стандартной терапии. Условием для включения в исследование было наличие клинических признаков ХОБЛ, изменений на спирограмме (ОФВ составлял 80% и менее). У 12 больных была установлена I стадия ХОБЛ, у 12 больных - II, у 19 человек - III стадия и у 20 пациентов - IV стадия ХОБЛ. Группу высокого риска развития ХОБЛ составили 28 курящих мужчин (индекс курения 260-480 пачка/лет), у которых был выявлен кашлевой синдром, но отсутствовали признаки обструкции. В качестве контрольной группы было обследовано 20 здоровых добровольцев (индекс курения 36-120 пачка/лет) без патологических изменений при обзорной рентгенографии легких, с нормальными показателями функции внешнего дыхания и отсутствием острых респираторных заболеваний в течение последних трех месяцев. Показатели протеолиза и ПОЛ определяли в индуцированной мокроте, которую получали с помощью небулайзера.

Выявлена зависимость протеиназ и ингибиторов от стадии ХОБЛ. По мере прогрессирования заболевания в индуцированной мокроте повышается активность эластазо- и трипсиноподобных протеиназ, достигая максимума на IV стадии болезни и снижается активность  $\alpha_2$ -МГ и, особенно,  $\alpha_1$ -ПИ. Активность КСИ повышена на всех стадиях ХОБЛ. После курса стандартной терапии показатели нормализуются, но не достигают контрольных значений.

Показано, что при ХОБЛ наблюдается активация ПОЛ, о чем свидетельствует повышение содержания МДА по сравнению с контролем. При оценке показателей системы антиоксидантов обнаружено снижение активности супероксиддисмутазы и каталазы в индуцированной мокроте больных с ХОБЛ по сравнению с соответствующими параметрами у здоровых доноров. Истощение антиоксидантов может быть следствием повышенной дегрануляции активированных нейтрофилов в дистальных отделах респираторного тракта. Следует отметить, что после курса традиционной терапии у некоторых больных сохранялась активация ПОЛ и дефицит антиоксидантных ферментов.

У курящих людей, составляющих группу высокого риска, в индуцированной мокроте отмечалось высокая, по сравнению с контролем, но ниже, чем при ХОБЛ, активность трипсиноподобных протеиназ, каталазы,  $\alpha_1$ -ПИ,  $\alpha_2$ -МГ и КСИ. Наиболее выражено при курении было увеличение в 3,5 раза содержания МДА.

Таким образом, выявление дефицита  $\alpha_1$ -ПИ и антиоксидантных ферментов может быть использовано для определения степени тяжести заболевания и эффективности терапии.

Акбашева О.Е., Деханд А.Е., Преймачук Е.А.,  
Бурковская В.А.

### **АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ, ИНГИБИТОРОВ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И БИОПТАТЕ КИШЕЧНИКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА**

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г.Томск*

В последние годы отмечен рост числа функциональных и деструктивных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Синдром раздраженного кишечника является достаточно распространенным функциональным заболеванием, проявляется нарушением моторики кишки, не сопровождается органическими изменениями. К дегенеративным заболеваниям относятся неспецифический язвенный колит и болезнь Крона, при которых происходит повреждение слизистой кишки с образованием трансмуральных язв. В России распространенность данных заболеваний в целом неизвестна, однако очевидно, что низкие показатели в отдельно взятых регионах связаны с трудностями дифференциальной диагностики этих состояний.

Цель работы заключалась в исследовании активности протеиназ и их ингибиторов, показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биоптате кишечника и сыворотке крови при функциональных и деструктивных заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Были обследованы 20 больных с функциональным расстройством кишечника (синдром раздраженного кишечника) и 30 больных с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника (язвенный колит и болезнь Крона). Верификация диагноза проводилась с помощью колонофиброскопии, биопсии и дополнительных методов исследования. Обязательным условием включения в обследование являлось информированное согласие больных. В сыворотке крови и биоптатах кишки определяли активность трипсина-, эластазо- и коллагеназоподобных ферментов,  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha_1$ -ПИ) и  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ), содержание малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК), активности каталазы и супероксиддисмутазы унифицированными методами. Контрольная группа (20 практически здоровых добровольцев) была сопоставима с группой обследованных. Статистическую обработку результатов проводили непараметрическими методами.

Установлено, что при синдроме раздраженного кишечника наблюдается повышение активности каталазы и супероксиддисмутазы, активация протеолитических ферментов на фоне компенсаторного увеличения активности  $\alpha_1$ -ПИ и  $\alpha_2$ -МГ. При неспецифическом язвенном колите увеличение содержания МДА и ДК в сыворотке крови сопровождается снижением активности каталазы и супероксиддисмутазы. Кроме того, при неспецифическом язвенном колите выявлены больные, у которых была снижена активность ингибиторов протеиназ, что являлось основой для чрезмерной активации протеиназ. Наиболее выражен был дисбаланс системы протеиназы-ингибиторы и ПОЛ-антиоксиданты при болезни Крона.

В биоптате кишечника при болезни Крона активность протеиназ, содержание ДК и МДА была выше, а активность  $\alpha_1$ -ПИ и  $\alpha_2$ -МГ и супероксиддисмутазы ниже по сравнению с биоптатом кишечника больных неспецифическим язвенным колитом.

Определение активности антиоксидантных ферментов и ингибиторов протеиназ может быть дополнительным критерием оценки степени тяжести и развития осложнений при синдроме раздраженного кишечника и неспецифическом язвенном колите.

Акбашева О.Е., Белобородова Е.В., Чежина Н.П.  
**СИСТЕМА ПРОТЕИНАЗЫ-ИНГИБИТОРЫ  
И СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОКСИПРОЛИНА  
В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ТКАНИ ПЕЧЕНИ  
ПРИ ФИБРОЗЕ**

ГОУ ВПО «Сибирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Томск

Сохранение динамического постоянства структуры клеток и межклеточного вещества соединительной ткани определяется согласованным

действием процессов синтеза и распада фибриллярных белков – коллагена и эластина. При дисбалансе этих процессов, выражающемся в чрезмерном образовании фибриллярных белков паренхиматозных органов, развивается фиброз. «Золотым стандартом» в диагностике фиброза является биопсия печени. Оценка степени фиброза печени требуется постоянно растущему числу пациентов, а биопсия печени подвергает их потенциальному риску развития осложнений. Поиск биохимических маркеров фиброза составляет одну из современных проблем медицины.

Цель работы заключалась в исследовании активности коллагеназо-, эластазо-, трипсиноподобных протеиназ,  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ),  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha_1$ -ПИ), содержание фракций гидроксипролина в плазме крови и биоптате печени в зависимости от степени воспаления и стадии фиброза.

Было обследовано 303 больных с хроническими заболеваниями печени. У 109 больных была установлена I стадия фиброза печени, 87 – имели II, 33 – III и 74 – IV стадию фиброза (цирроз). По степени воспалительного процесса больные были поделены на следующие группы: 15 человек с минимальной степенью активности (индекс гистологической активности до 3 баллов), 144 человека со слабой – 4-8 баллов, 85 человек с умеренной – 9-12 баллов и 23 человека с высокой – выше 13 баллов и.

Активность протеиназ и ингибиторов определяли унифицированными методами с использованием соответствующих синтетических субстратов. Содержание фракций гидроксипролина измеряли по цветной реакции с реактивом Эрлиха. Определяли содержание свободного и пептидосвязанного гидроксипролина, отражающих распад коллагена и содержание белковосвязанного гидроксипролина, свидетельствующего о синтезе коллагена. Статистическую обработку проводили с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни, используя программу «STATISTICA 6.0».

Установлено, что фиброз печени характеризуется универсальной реакцией активации  $\alpha_1$ -ПИ, увеличением активности эластазы, содержания всех фракций гидроксипролина и снижением активности коллагеназы и  $\alpha_2$ -МГ плазмы крови.

Выявлена зависимость активности ингибиторов плазмы крови от морфологических признаков фиброза. Активность  $\alpha_1$ -ПИ прямо пропорционально зависела от степени воспалительного процесса в ткани печени, в то время как активность  $\alpha_2$ -МГ отражала стадии процесса и была минимальна на III и IV стадиях фиброза. Содержание гидроксипролина, активность эластазы и коллагеназы в плазме крови изменялись независимо от стадии фиброза и гистологической активности воспаления. Изменение содержания свободного и белковосвязанного гидроксипролина свидетельствует о том, что на ранних стадиях увеличен

как синтез, так и распад коллагена, а на IV стадии фиброза обмен коллагена в печени снижается.

Была определена активность ингибиторов, протеиназ в ткани печени, полученной при биопсии. Показано, что на ранних стадиях фиброза изменения показателей не столь существенны как на III и IV стадии заболевания, что позволяет предположить возможную обратимость коллагенообразования при фиброзе. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи показателей в плазме крови и ткани печени рассчитаны положительные коэффициенты корреляции для коллагеназы,  $\alpha_1$ -ПИ и белковосвязанного оксипролина. Полученные данные можно использовать для контроля лечения и прогнозирования развития цирроза печени.

Акимов П.А., Терёхина Н.А.  
**СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗЫ В СТЕКЛОВИДНОМ  
ТЕЛЕ ГЛАЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ  
НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ**

*ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская  
академия Росздрава им. акад. Е.А. Вагнера»,  
г. Пермь*

*ГУЗОТ «Пермское краевое бюро  
судебно-медицинской экспертизы», г. Пермь*

Стекловидное тело – это прозрачная желеобразная, студенистая масса, объемом 3,5 – 4,0 мл, которая содержит 99% воды [3]. Это особая ткань человеческого организма со сложной архитектурой строения и функционирования, которая содержит очень мало клеток и почти целиком состоит из интерцеллюлярных структур, обильно насыщенных водой. Обмен воды в стекловидном теле значительный, за сутки проходит до 0,25 литров, однако в физиологических условиях объем стекловидного тела не может увеличиваться, так как его гель находится в состоянии максимальной гидратации.

Несмотря на довольно быстрый ток жидкости в стекловидном теле, содержание ряда компонентов не соответствует содержанию их в сыворотке крови. Гематофтальмический барьер обеспечивает гомеостаз внутренних сред глаза, избирательно пропускает воду, электролиты, низкомолекулярные вещества и даже определенные более сложные молекулы. Перенос глюкозы осуществляется с помощью транспортного белка Глют-1 (белок 50 кДа), причем он вырабатывается двумя типами клеток: пигментными глиальными и эндотелиальными клетками [5].

Ранее нами было установлено, что содержание глюкозы в стекловидном теле глаза не зависит от длительности постмортального периода. Высокое содержание глюкозы отмечено у больных сахарным диабетом, а при наступлении смерти в результате

диабетической комы с гипергликемией отмечается резкое увеличение глюкозы в стекловидном теле, что является диагностическим критерием [1, 4]. Интерпретация уровня гликемии по содержанию глюкозы в трупной крови недостоверна. После наступления смерти наблюдается стойкое снижение показателя, вплоть до полного отсутствия глюкозы к концу 2 - 3 суток [2, 4].

**Цель нашего исследования** – изучить содержание глюкозы в стекловидном теле глаза при различных видах наступления смерти и обосновать использование биохимического анализа стекловидного тела для постмортальной диагностики.

**Материалы и методы исследования**

Стекловидное тело забирали одноразовыми шприцами путем прокола у наружного угла глаза, перед проведением исследования центрифугировали в пластиковых пробирках при 6000 – 8000 g в течение 20 мин.

Количественное определение глюкозы в жидкости стекловидного тела 96 трупов с различными видами смерти, не страдавших при жизни сахарным диабетом, проводили стандартным унифицированным глюкозооксидазным методом. Определение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ – 46.

**Результаты и обсуждение**

В 50% случаев глюкоза в стекловидном теле глаза трупа не обнаруживается, в остальных отмечены её «следовые» концентрации. Отсутствие глюкозы в стекловидном теле связано с работой гематофтальмического барьера для глюкозы. Наличие глюкозы свидетельствует о гипергликемии перед наступлением смерти.

В 60 - 80 % случаев глюкоза отсутствует в стекловидном теле глаза в группах людей, скончавшихся в результате сердечной патологии и различных соматических заболеваний. Наличие глюкозы в стекловидном теле глаза лиц, скончавшихся от сердечной патологии, может быть связано с длительным ишемическим приступом. В группе людей, скончавшихся в результате травм, повышение глюкозы связано с длительностью посттравматического периода: чем длительнее переживание, тем больший уровень гликемии и, соответственно, большее содержание глюкозы в стекловидном теле.

В группе лиц, скончавшихся в результате механической асфиксии при повешении (самоубийство) отсутствие глюкозы выявлено примерно в 30% всех случаев. Содержание глюкозы в стекловидном теле остальных лиц этой группы оказалось минимальным.

Резкое, почти в 10 раз, повышение содержания глюкозы в стекловидном теле выявлено в случаях убийств путем удушения. Полученные данные свидетельствуют о явном эмоциональном и физическом стрессе перед наступлением смерти. Аналогично высокое содержание глюкозы в

Содержание глюкозы в стекловидном теле глаза (ммоль/л) в зависимости от причины смерти.

	Сердечная патология	Травмы	Отравления	Механич. асфиксия	Соматическ. заболевания	Удушение (убийства)
N	34	16	17	7	15	7
M ± m	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	4,0 ± 1,7
min - max	0,0 - 0,8	0,0 - 3,4	0,0 - 1,8	0,0 - 1,0	0,0 - 1,3	0,6 - 9,4
0 рез. (%)	20 (58,8)	6 (37,5)	8 (47,1)	2 (28,6)	12 (80,0)	0 (0,0)

стекловидном теле ранее нами было выявлено только в группе больных сахарным диабетом.

Таким образом, наличие глюкозы в стекловидном теле свидетельствует об антеморальной гипергликемии. Повышенное содержание глюкозы в стекловидном теле у лиц, не страдавших при жизни сахарным диабетом, свидетельствует о физическом или эмоциональном стрессе перед наступлением смерти.

#### Литература

1. Акимов П.А. Постморальная диагностика диабетических ком / П.А. Акимов, Н.А. Терёхина // Новая идеология в единстве фундаментальной науки и клинической медицины. – Межрегион. научно-практич. конф.: Мат. – Самара, 2005. – С. 20-24.

2. Качина Н.Н. Сравнительные исследования уровня глюкозы в сухих пятнах крови от доноров и трупов / Н.Н. Качина // Суд.-мед. эксперт. - 1994. - № 3. - С. 5-7.

3. Селиванова И.Н. Современные представления о функциональной структуре стекловидного тела / И.Н. Селиванова // Стекловидное тело в клинической офтальмологии. - Л., 1979. - Вып. 2. - С. 5-12.

4. Терёхина Н.А. Биохимический анализ стекловидного тела глаза в постморальной диагностике диабетических ком / Н.А. Терёхина, П.А. Акимов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2005. - № 2. – С. 24-25.

5. Mantych G.J. Characterization of glucose transporter isoforms in the adult and developing human eye / G.J. Mantych, G.S. Hageman, S.U. Devaskar // Endocrinology. – 1993. – Vol. 133, № 2. – P. 600-607.

Байгильдина А.А.

#### АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕНИНА ПРИ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – острая вирусная природно-очаговая инфекция, характеризующаяся лихорадкой, общей интоксикацией, своеобразным поражением почек и развитием тромбгеморрагического синдрома. Заболевание распространено во всем мире и имеет тенденцию к расширению границ очагов. Данная проблема является наиболее актуальной для Республики Башкортостан, территория которой является самым крупным и активным природно-

зоонозным очагом ГЛПС не только на Европейской части континента, но и в мире. Вирус ГЛПС имеет определенный тропизм к эндотелию сосудов, и среди механизмов, связанных с влиянием на сосудистую стенку, важную роль отводят биологически активным веществам, образующимся при повреждении вирусом различных клеточных структур, в том числе и сосудистого эндотелия. При кратковременном действии повреждающих агентов эндотелий продолжает выполнять защитную функцию, но при продолжительном повреждении, по мнению многих исследователей [4, 5], эндотелий, а именно, - продуцируемые им в данной ситуации вещества, начинает играть ключевую роль в развитии ряда системных патологий (атеросклероз, гипертония, инсульты, инфаркты и др.). Это объясняется переключением активности эндотелия на синтез оксидантов, вазоконстрикторов, агрегантов и тромбогенных факторов, а также участием эндотелия в активизации системы «ренин-ангиотензин».

Целью исследования явилось изучение места и роли изменения активности плазматического ренина (концентрации ангиотензина I) как ведущего компонента целостной ренин-ангиотензиновой системы в патогенетических механизмах развития ГЛПС в зависимости от периода и тяжести заболевания.

#### Материалы и методы

Обследованы 67 больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (56 мужчин – 84,6% и 11 женщин – 15,4%) в возрасте от 16 до 66 лет (средний возраст – 39,7 ± 1,44 года), находившихся на стационарном лечении в МУ «Инфекционная клиническая больница № 4» г. Уфы и в отделении гемодиализа Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова в 2002 - 2006 гг. Диагноз у всех верифицирован серологически методом непрямых флуоресцирующих антител Среднетяжелая форма выявлена у 31 больного (46,2%), тяжелая без осложнений – у 22 больных (32,8%), тяжелая с осложненным течением (инфекционно-токсической шок I-II степени, острая почечная недостаточность, ДВС-синдром, острая дыхательная недостаточность) – у 14 больных (21%). Пациентов с легкой формой ГЛПС в исследование не включали. Группу контроля составили 15 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Концентрацию ангиотензина I в плазме крови для оценки активности плазматического ренина (АПР) определяли радиоиммунологическим методом с

Таблица

**Активность плазматического ренина (концентрации ангиотензина I) у больных ГЛПС различной степени тяжести на фоне базисной лекарственной терапии (нг/млЧас)**

периоды заболевания	формы заболевания		
	Среднетяжелая	тяжелая	тяжелая форма с осложненным течением
Лихорадочный	9,0±0,47 p<0,05	8,2±0,1 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,05	10,36±1,04 p<0,05 p <sub>2</sub> <0,05
Олигоанурический	5,92±0,4 p<0,05	6,8±0,3 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05	5,0±0,17 p<0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Полиурический	0,243±0,06 p<0,05	0,34±0,05 p<0,05 p <sub>1</sub> >0,05	1,34±0,01 p<0,05 p <sub>2</sub> <0,05
восстановленного диуреза	0,4±0,09 p>0,05	1,17±0,05 p>0,05 p <sub>1</sub> <0,05	1,44±0,04 p<0,05 p <sub>2</sub> >0,05
Контроль	0,712±0,12		

Примечание: p – достоверность различий с группой контроля; p<sub>1</sub> – достоверность различий со среднетяжелой формой ГЛПС; p<sub>2</sub> – достоверность различий с тяжелой формой ГЛПС без осложнений

использованием тест-набора производства фирмы Immunotech (Чехия). Результаты исследования подвергли математическому анализу с использованием методик вариационной и непараметрической статистики. Различия принимали за существенные при p < 0, 05.

**Результаты и обсуждение**

Анализ полученных данных показал, что активность ренина (концентрация ангиотензина I) в плазме крови больных ГЛПС зависит в большей степени от периода заболевания, чем от его формы (табл.).

Активность фермента наиболее высока в лихорадочном периоде при всех формах заболевания – в 12.64, 7.3 и 14.55 раз, соответственно. В период олигоанурии активность энзима в плазме крови остается существенно повышенной (в среднем в 8 раз), а к полиурическому периоду при среднетяжелой и тяжелой формах имеет место, наоборот, достоверное снижение АПР (концентрации ангиотензина I) в среднем в 2.5 раза; однако при осложненной форме уровень определяемой субстанции остается достоверно повышенным. К периоду восстановленного диуреза имеет место тенденция к нормализации изучаемого показателя при всех формах заболевания; но если при среднетяжелой и тяжелой формах АПР (концентрация ангиотензина I) статистически значимо снижается, то при осложненном течении ГЛПС активность энзима, несмотря на наблюдаемую тенденцию к нормализации, все же остается достоверно повышенной.

Выявленные сдвиги в функционировании ренин-ангиотензиновой системы могут быть трактованы как отражение вовлеченности этой системы в патогенез заболевания уже в ранние сроки заболевания в качестве протективного механизма, а не только нарушение регуляции сосудистого тонуса. Как известно, важнейшим патофизиологическим механизмом,

имеющим исключительное значение в патогенезе ГЛПС, является повышение проницаемости сосудистой стенки. Выход жидкой части крови за пределы сосудистого русла приводит к уменьшению объема циркулирующей плазмы, что даже в начальном периоде ГЛПС сказывается на уровне артериального давления. И вследствие гиповолемии у большинства больных оно несколько снижается, а у части из них настолько, что приводит к развитию гиповолемического (инфекционно-токсический) шока. Компенсаторно уже в лихорадочный период усиливается продукция еще незначительно поврежденным эндотелием ангиотензина I с целью увеличения сосудистого тонуса с последующим уменьшением проницаемости сосудистой стенки. Как отражение и подтверждение включения подобного механизма предотвращения уменьшения объема циркулирующей крови является выявленное Г.Х. Мирсаевой и соавт. [3] уменьшение содержания в крови другого мощного вазодилатора, продуцируемого эндотелием, – простаглицина. По нашему мнению, источником ангиотензина I в лихорадочном периоде заболевания является именно эндотелий сосудов, поскольку в столь ранний период болезни ишемия почек с выбросом ренина и последующей наработкой им этого вазоактивного пептида вряд ли возможна. Последующее снижение АПР (концентрации ангиотензина I) в плазме крови может быть обусловлено двумя основными причинами: либо несостоятельностью сосудистого эндотелия как эндокринного органа вследствие нарастающего повреждения его хантавирусом, либо снижением «потребности» в данном вазоконстрикторе из-за вовлечения в компенсаторный процесс других механизмов – усиление продукции оксида азота (II) [1], эндотелина-1 [2], повышенная дегградация брадикинина под действием ангиотензина II и т.д. Сохранение повышенного уровня ангиотензина I в полиурический период и период восстановленного

диуреза при осложненном течении геморрагической лихорадки с почечным синдромом объяснимо с позиции более значимой, чем при остальных формах болезни, вовлеченности в патогенез заболевания патологии почек с развитием ишемии органа и последующим выбросом ренина. В подобной ситуации пул этой субстанции в крови, поддерживаемый благодаря активной химазе эндотелиоцитов, дополняется ангиотензином I, формируемым за счет активного ренина.

Таким образом, полученные данные доказывают, что эндотелиальная дисфункция при геморрагической лихорадке с почечным синдромом начинает развиваться уже в ранние сроки заболевания, и более глубокие деструктивные изменения эндотелиальная выстилка сосудов претерпевает при его осложненном течении.

### Литература

1. Галиева А.Т. Патогенетическое значение оксида азота при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / А.Т. Галиева // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Уфа, 2004. – 26с.

2. Камиллов Ф.Х. Эндотелин-1 и оксид азота (II): патогенетическое значение при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / Ф.Х. Камиллов, А.А. Байгильдина, А.Т. Галиева, Д.А. Валишин. // Сб. науч. трудов Всероссийской научной конференции «Патогенез и лечение геморрагической лихорадки с почечным синдромом». - Уфа, 2006. – с. 66-68.

3. Мирсаева Г.Х. Патогенез и лечение геморрагической лихорадки с почечным синдромом / Г.Х. Мирсаева, Р.М. Фазлыева, Ф.Х. Камиллов, Д.Х. Хунафина // Уфа, 2000. – 234с.

4. Сергиенко В.Б. Роль дисфункции эндотелия в развитии ишемии миокарда у больных ишемической болезнью сердца с неизменными и малоизмененными коронарными артериями / В.Б. Сергиенко, Е.В. Саютина, Л.Е. Самойленко и др. // Кардиология. - 1999. - Т.39. - №1. - С.25-30.

5. Furchgott R.E. Nitric oxide as a signaling molecule in the cardiovascular system / R.E. Furchgott, L.S. Ignarro, F. Murad // Press Release: The 1998 Nobel Prize in Physiology of Medicine. - Webmaster.

Булгакова В. С., Высокогорский В. Е.

### УГЛЕВОД-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ В ПЕЧЕНИ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА

ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Росздрава», г. Омск

Известно, что острая алкогольная интоксикация вызывает временную гипогликемию (10). Хроническое употребление алкоголя, наоборот, приводит к снижению реактивности организма на инсулин, что может являться причиной развития гипергликемии (11).

У 45-70% пациентов, страдающих заболеваниями печени, вызванными чрезмерным употреблением алкоголя, наблюдается непереносимость глюкозы или развивается сахарный диабет (8). Выяснено, что у 8,3% больных сахарным диабетом эндокринологического отделения общесоматического стационара выявлены признаки хронического алкоголизма, сформировавшегося на фоне уже существующего заболевания. Чрезмерное, так же как и хроническое, употребление алкоголя влияет на течение сахарного диабета и эффективность действия антигипергликемических лекарственных препаратов (7,9). У пациентов, злоупотребляющих алкоголем, на фоне нарушения функций печени и поджелудочной железы быстрее развиваются сосудистые осложнения сахарного диабета (ретинопатия, нефропатия, нейропатия, синдром диабетической стопы, энцефалопатия, энтеропатия) (6), в формировании которых важную роль играет процесс неферментативного гликозилирования белков межклеточного матрикса и окислительный стресс. (1,2). Установлено, что злоупотребление алкоголем на фоне сахарного диабета проявляется увеличением концентрации гликопротеинов и компонентов протеогликанов в сыворотке крови (5), но механизм данных изменений изучен недостаточно.

**Цель:** выяснить особенности влияния острой алкогольной интоксикации на состояние обмена углеводов – белковых комплексов печени и плазмы крови животных при аллоксановом диабете.

**Материалы и методы:** эксперимент проводился на 40 взрослых беспородных крысах – самцах, массой 200 – 220г. Сахарный диабет (СД) моделировали путем интраперитонеального введения аллоксана тетрагидрата в дозе 160 мг/кг массы животного после 24 часового голодания. Развитие и течение СД контролировали со 2-го дня после введения аллоксана по уровню гликемии натощак и наличию глюкозурии. Острую алкогольную интоксикацию (ОАИ) вызывали интраперитонеальным введением 25% раствора этанола в дозе 2 г/кг массы после кормления. Животные были разделены на 4 группы: контрольные животные (К), животные с алкогольной интоксикацией (А), крысы с аллоксановым диабетом (СД), и животные с сочетанием острой алкогольной интоксикации и диабета (СД-А).

В надмитохондриальной фракции гомогената ткани печени и в плазме крови животных исследовали уровень гликозаминогликанов (ГАГ) и глюкуроновой кислоты (ГК) по карбозольной реакции Дише в модификации Шараева П. Н., 1990г. Исследовали концентрацию мукопротеинов (МП) с помощью тест-системы компании «Hospitex» и уровень сиаловых кислот (СК) – набором реактивов «Сиалотест – 80». Статистическая обработка проведена с помощью программ Microsoft Excel и «Biostat» (Гланц С. А., 2002). Достоверность результатов исследования подтверждена непараметрическим критерием Манна

– Уитни (pU). Критический уровень значимости статистических гипотез принимался равным 0,05.

**Результаты исследования**

При исследовании компонентов углеводов – белковых комплексов в группе А установлено, что уровень ГАГ и ГК в печени и плазме животных достоверно не отличается от контрольных значений

(табл.1,2). Концентрация СК в плазме превышает показатели группы К на 37% (p = 0,003), а уровень МП достоверно снижен на 65% (p = 0,047) в плазме и не отличается от контроля в супернатанте гомогената печени (табл.3,4).

Таблица 1

**Содержание ГАГ в печени и плазме животных при однократном введении алкоголя на фоне аллоксанового диабета (в мг/кг ткани, в ммоль/л)**

Пок-ли	ПЛАЗМА КРОВИ				ПЕЧЕНЬ			
	К	А	СД	СД-А	К	А	СД	СД-А
n	12	11	7	11	18	21	14	14
Ниж. кв.	1,5	1,6	1,4	1,4	28,3	33,6	46,3	36,2
Me	1,9	2,6	1,8	2,4	45,6	51,4	74,7	41,3
Верх. кв.	2,3	2,8	3,1	2,7	53,8	60,8	84,9	63,6
Pu (К)		0,295	0,767	0,441		0,346	0,007	0,771
Pu (СД)								0,016

Примечание: n – количество животных в группе;  
 Pu (К) – степень достоверности различий с группой К по критерию U;  
 Pu(СД) – степень достоверности различий с группой СД по критерию U;  
 Me – медиана;  
 Ниж. кв. – нижний квартиль;  
 Верх. кв. – верхний квартиль;

Таблица 2

**Содержание ГК в печени и плазме животных при однократном введении алкоголя на фоне аллоксанового диабета (в мг/кг ткани, в ммоль/л)**

Показатели	ПЛАЗМА КРОВИ				ПЕЧЕНЬ			
	К	А	СД	СД-А	К	А	СД	СД-А
n	12	10	7	10	18	21	14	15
Ниж. кв.	0,44	0,25	0,65	0,6	52	71	79,2	81
Me	0,55	0,45	1,26	0,85	66	81	100	102
Верх. Кв.	0,69	0,49	2,87	1,8	86	92	149	144
Pu (К)		0,444	0,035	0,012		0,092	0,044	0,020

Таблица 3

**Содержание СК в печени и плазме животных при однократном введении алкоголя на фоне аллоксанового диабета (в мг/кг ткани, в ммоль/л)**

Пок-ли	ПЛАЗМА КРОВИ			
	К	А	СД	СД – А
N	7	9	5	7
Ниж. кв.	1,6	2,2	1,3	2,4
Me	1,9	2,7	1,8	2,6
Верх. кв.	2	3,1	2,0	2,9
Pu (К)		0,003	0,686	0,001
Pu (СД)				0,001

Таблица 4

**Содержание МП в печени и плазме животных при однократном введении алкоголя на фоне аллоксанового диабета (в мг/кг ткани, в ммоль/л)**

Пок-ли	ПЛАЗМА КРОВИ				ПЕЧЕНЬ			
	К	А	СД	СД-А	К	А	СД	СД-А
N	9	10	5	7	18	12	10	13
Ниж. кв.	70,9	54,4	73,5	95,6	16,9	9,8	33,8	9,1
Me	97,7	63,2	191,1	172,1	56	17,2	88,3	133,6
Верх. Кв.	167,5	76	207,6	222,6	99,7	41,8	133,6	17,6
Pu (К)		0,047	0,143	0,464		0,385	0,481	0,057

В группе СД выявлено увеличение концентрации ГАГ в печени на 64 % ( $p=0,007$ ) по отношению к контролю, в плазме различия с группой К не достоверны (табл.1). Уровень ГК превышает контрольные значения в плазме – на 129% ( $p=0,035$ ), в печени на 51% ( $p=0,044$ ) (табл.2). При исследовании концентрации СК в плазме и МП в плазме и супернатанте гомогената печени достоверных изменений не выявлено (табл.3,4).

В группе СД-А происходит достоверное снижение концентрации ГАГ в печени на 55% ( $p=0,016$ ) по сравнению с группой СД. В плазме крови и супернатанте гомогената печени уровень ГАГ достоверных отличий с контролем не имеет (табл. 1). Концентрация ГК превышает контрольные значения в плазме на 54% ( $p=0,012$ ), в печени на 54% ( $p=0,020$ ) (табл.2). Уровень СК в плазме на 44% ( $p=0,001$ ) выше, чем в группе К. Достоверных отличий в концентрации МП плазмы и печени не выявлено (табл.3,4).

#### Обсуждение результатов

В результате проведенного исследования выяснено, что у животных подвергнутых острой алкоголизации наблюдается достоверное увеличение количества сиаловых кислот в плазме крови. Известно, что при окислении этанола в микросомах гепатоцитов в избыточном количестве образуются свободные радикалы, способные инициировать цепные свободнорадикальные реакции, приводящие к повреждению структуры и нарушению функционирования биополимеров, в том числе фосфолипидов, гликопротеинов и протеогликанов. Таким образом, возможно, увеличение концентрации сиаловых кислот в плазме крови животных является следствием распада свободных и мембраносвязанных сиалогликопротеинов, в результате активации свободнорадикальных процессов.

При исследовании компонентов протеогликанов в группе СД мы выявили увеличение уровня ГАГ в супернатанте гомогената печени и концентрации ГК в печени и плазме крови. Известно, что аллоксановый сахарный диабет проявляется в первую очередь дефицитом инсулина из-за повреждения свободными радикалами В-клеток островков Лангерганца поджелудочной железы. Возникающая вследствие этого гипергликемия является причиной неферментативного гликирования белков плазмы крови и эндотелия сосудов. В результате развивается тканевая гипоксия и синдром эндогенной интоксикации (1). Возможно, увеличение количества ГАГ в гомогенате наблюдается вследствие активации их синтеза фибробластами, что, по мнению ряда авторов, является одной из форм адаптации организма к условиям эндотоксикоза. Молекулы ГАГ, являясь естественным барьером на пути движения токсических агентов из сосудов в ткани, способны «цементировать» их в межклеточном матриксе, снижая антигенную нагрузку на клетки, поэтому увеличение их количества является одним из защитных механизмов организма. С другой стороны

увеличение уровня ГАГ может быть следствием избыточной активности пролиферирующих фибробластов, что является одним из звеньев в развитии фиброза в тканях, и таких осложнений, как нефропатия, ретинопатия, атеросклероз (4).

ГК необходима, как для синтеза ГАГ, так и для реакций конъюгации с эндотоксинами в избыточном количестве образующихся при сахарном диабете. Возрастание концентрации ГК может говорить об изменении углеводного обмена в сторону её синтеза и о присутствии в ткани печени и плазме крови большого количества конъюгантов.

Введение алкоголя на фоне развившегося у животных сахарного диабета проявляется снижением уровня ГАГ по сравнению с группой СД и значительным увеличением содержания сиаловых кислот в плазме крови. Сахарный диабет сопровождается активацией микросомального цитохрома Р-450. В то же время активность ацетальдегиддегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы снижена из-за накопления восстановленных коферментов НАД-Н. Поэтому, можно предположить, что при сахарном диабете окисление этанола будет протекать главным образом в микросомах печени, внося дополнительный вклад в образование свободных радикалов. Метаболизм протеогликанов и сиалогликопротеинов будет в данных условиях характеризоваться преобладанием процессов распада.

#### Литература

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета // Проблемы эндокринологии. - 2000. №6. – С.29-34.
2. Бондарь Т.П., Козинец Г.И. // Лабораторно – клиническая диагностика сахарного диабета и его осложнений. – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. -84 с.
3. Ковалев И.Е., Румянцева Е.И. Система цитохрома Р450 и сахарный диабет // Проблемы эндокринологии. -2000. № 2. – С. 16-22.
4. Подгребельный А.Н., Смирнова О.М., Дедов И.И. Роль фибробластов в развитии сахарного диабета и его осложнений // Проблемы эндокринологии. – 2005. –Т.51, №.2. –С. 14–22.
5. Притыкина Т.В., Высокогорский В.Е., Индутный А.В., Аксенов А.В., Индутная Л.Н. Уровень компонентов межклеточного матрикса в сыворотке крови больных сахарным диабетом при злоупотреблении алкоголем // Материалы межрегиональной конф. Биохимиков Урала, Западной Сибири и Поволжья «Биохимия: от исследования молекулярных механизмов – до внедрения в клиническую практику и производство». - Оренбург, 2003. – С. 71 – 73.
6. Сидоров П.И., Соловьев А.Г. Особенности течения сахарного диабета при злоупотреблении алкоголем // Проблемы эндокринологии. –1999. –№5. – С.10–13



7. Angelini, P., Vendemiale G., & Altomare E. Alcohol and diabetes mellitus. *Alcologia* 4(2):109-111, 1992.

8. Gordon, G.G., & Lieber, C.S. Alcohol, hormones, and metabolism. In: Lieber, C.S., ed. *Medical and Nutritional Complications of Alcoholism*. New York: Plenum Publishing Corp., 1992. pp. 55-90.

9. Lewis H., & Kendall M.J. Alcohol and treatment of diabetes. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* 13:312-328, 1988.

10. O'Keefe S.J., & Marks V. Lunchtime gin and tonic a cause of reactive hypoglycemia. *Lancet* 1(8025): 1286-1288, 1977.

11. Shah J.H. Alcohol decreases Insulin sensitivity in healthy subjects. *Alcohol and Alcoholism* 23(2): 103-109, 1988

Быкова М.В.<sup>1</sup>, Титова Н.М.<sup>1</sup>, Маркова Е.В.<sup>2</sup>,  
Светлаков А.В.<sup>2</sup>

**ГЛУТАТИОН И ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫЕ  
ФЕРМЕНТЫ В СПЕРМАТОЗОИДАХ И СЕМЕННОЙ  
ПЛАЗМЕ МУЖЧИН ПРИ ПАТОСПЕРМИИ**

1 – ГОУ ВПО «Сибирский федеральный  
университет»;

2 - Центр репродуктивной медицины, г. Красноярск

**Введение**

Трипептид глутатион (γ-глутамилцистеинил-глутатион или GSH) является главным неэнзиматическим регулятором внутриклеточного окислительно-восстановительного гомеостаза, повсеместно присутствуя во всех типах клеток в миллимолярной концентрации. GSH - уникальная молекула, свойства которой связаны со способностью легко отдавать электроны благодаря наличию в ее структуре сульфгидрильной группы (SH).

В условиях нормальных клеточных редокс(окислительно-восстановительных) условий, преобладающей является восстановленная форма глутатиона, найденная в ядре, эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях и цитоплазме. GSH может ковалентно связываться с белками через процесс глутатионирования и действовать как кофермент различных ферментов, включенных в защиту клеток. Глутатион может также прямо взаимодействовать с АФК, устраняя их или действовать как субстрат для ГПО и GST при детоксикации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, гидропероксидов липидов и электрофильных компонентов (Irvine D., 1996).

В семени млекопитающих неферментативное звено антиоксидантной защиты представлено в основном глутатионом (Drevet J., 2006). Основная функция GSH в семени млекопитающих относится к его взаимодействию с другими системами для предотвращения образования АФК. Интересно, что уровень глутатиона уменьшается во время процессов созревания сперматозоида (Montiel E., 2003).

Данные по содержанию компонентов

глутатионовой системы фрагментарны и противоречивы. Согласно сведениям некоторых авторов Aitken R.J., Fisher H. (1994) восстановленный глутатион отсутствует или содержание его крайне низкое в сперматозоидах, и как следствие, ферменты глутатионовой системы как компоненты антиоксидантной защиты функционируют слабо.

По данным других исследователей Irvine D.(1996), Saleh R.(2002), Sikka S.(1996) зрелые сперматозоиды содержат все компоненты глутатионовой системы. Работ, в которых оценивалось состояние глутатионического звена АОС при патоспермии, на сегодняшний день очень мало.

Цель работы – изучить содержание восстановленного глутатиона и активность ферментов его метаболизма ГПО и GST в сперматозоидах и семенной плазме мужчин при патоспермии (нормо-, астено- и тератоастенозооспермии).

**Материалы и методы**

Для биохимического анализа использовалась сперма 140 мужчин в возрасте 22-46 (средний возраст 34,5±2), которые проходили предварительное обследование по причине подозрения на бесплодие в Центре Репродуктивной Медицины г. Красноярск. В зависимости от показателей спермограммы были выделены 3 группы пациентов: с нормозооспермией, астенозооспермией, тератоастенозооспермией по показателям WHO. Обследование включало стандартный спермиологический анализ, включающий оценку концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов, физико-химических свойств эякулята (WHO, 1992). Активность ферментов антиоксидантной системы исследовали в спермиоцитарных лизатах и семенной плазме, для этого нативный эякулят разделяли на сперматозоиды и семенную плазму центрифугированием при 1700g. Содержание восстановленного глутатиона и активность ГПО определяли по методу Beutler E. (1990), активность GST по методу Habig W.H. (1974).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 7». Достоверность различий исследуемых показателей между группами оценивали непараметрическим критерием Вилкоксона для зависимых выборок. Различия между показателями считали достоверными при значении  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования**

Параметры спермограмм в группе пациентов с различными видами патоспермии и контрольной группе – пациентов с нормозооспермией представлены в табл.1.

Обследуемые в работе группы достоверно отличались по содержанию прогрессивноподвижных сперматозоидов и общей концентрации сперматозоидов. Такие параметры как pH эякулята, объем эякулята, количество круглых клеток достоверно не различались между группами.

Таблица 1.  
Средние показатели спермограмм в обследуемых группах

Группа пациентов	Количество сперматозоидов			
	Концентрация, Млн/мл	Прогрессивно-подвижные, %	Слабоподвижные, %	Аномальные, %
Нормозооспермия (n=90)	80,0±5,4	57,1±1,0	6,6±0,3	34,0±0,6
Астенозооспермия (n=30)	61,0±7,8*	33,5±1,5*	8,0±0,9	39,0±1,2
Тератоастенозооспермия (n=20)	41,1±5,1*	28,6±2,7*	9,0±0,8	57,2±2,0

Примечание: \* - p<0,05.

Таблица 2.  
Содержание глутатиона и активность глутатионзависимых ферментов в сперматозоидах человека при нормо- и патоспермии

Группа пациентов	GSH, мкмоль/мг белка	ГПО, мкмоль/мин•мг белка	GST, мкмоль/мин•мг белка
Нормозооспермия (n=40)	0,18±0,05	0,61±0,23	8,34±0,44
Астенозооспермия (n=30)	0,10±0,03**	0,33±0,04*	4,81±0,3*
Тератозооспермия (n=20)	0,07±0,002**	0,21±0,01**	4,5±0,7**

Примечание: \*\* - p<0,01, \* - p<0,05

В спермиях человека при астенозооспермии по сравнению с нормозооспермией содержание GSH снижено на 45%, активность ГПО и GST достоверно снижена на 46% и 42% соответственно. При тератозооспермии по сравнению с нормозооспермией содержание глутатиона снижено на 46,7%, активность ферментов ГПО и GST – на 64% и 42% соответственно (табл.2).

Таблица 3.  
Содержание глутатиона и глутатионзависимых ферментов в семенной плазме человека при нормо- и патоспермии

Группа пациентов	GSH, мкмоль/мг белка	ГПО, мкмоль/мин•мг белка	GST, мкмоль/мин•мг белка
Нормозооспермия (n=40)	0,39±0,02	3,25±0,22	47,8±1,7
Астенозооспермия (n=30)	0,21±0,02**	2,64±0,28*	60,2±2,5*
Тератозооспермия (n=20)	0,22±0,02**	0,38±0,03**	28,3±2,5**

В семенной плазме при астенозооспермии по сравнению с нормозооспермией содержание GSH – достоверно ниже на 46,7%, активность ГПО снижена на 18,7%, тогда как активность GST выше на 20,5%. При тератозооспермии по сравнению с нормозооспермией содержание глутатиона снижено на 46,7%, активность ферментов ГПО и GST – ниже на 64% и 46% соответственно (табл. 3).

Согласно полученным данным, у пациентов с астенозооспермией и тератозооспермией в сперматозоидах и в семенной жидкости, в целом, наблюдается снижение параметров глутатионового звена АОС относительно этих же показателей у пациентов с нормозооспермией, что согласуется с результатами других авторов (Fujii, 2003). Данный факт предполагает наличие окислительного стресса, как показателя дисфункции про-/антиоксидантного статуса, который характеризуется значительным и

бесконтрольным в сперматозоидах преобладанием свободнорадикальных процессов, в частности, перекисного окисления липидов. Известно, что мембраны клеток спермы содержат высокий уровень полиненасыщенных жирных кислот, исключительно восприимчивых к перекисному окислению (Aitken R.J., 2000). При ослабленной АОС происходит накопление продуктов ПОЛ в цитозоле и окислительные процессы передаются на мембраны митохондрий - основного места выработки АТФ. Нарушение транспорта электронов по дыхательной цепи, а также повреждения структуры АТФсинтазы, снижает выработку энергии, а значит и подвижность сперматозоидов (Ford W., 2004). Вероятно, на этом фоне при дефиците энергетических источников происходит снижение синтеза GSH, который осуществляется с помощью АТФ-зависимых ферментов: γ-глутамилцистеинилсинтетазы и глутатионсинтетазы (Irvine D., 1996, Saleh R., 2002). Концентрация восстановленного глутатиона в сперматозоидах при астенозооспермии и тератозооспермии, возможно, снижается в результате непосредственного привлечения значительного количества тиола в процессы защиты клетки от гидроксильных и алкоксильных свободных радикалов, а также от источников их образования. Отчасти поэтому происходит снижение активностей ферментов ГПО и GST в сперматозоидах, поскольку GSH для данных энзимов является дефицитным коферментом.

Продолжительное и интенсивное образование свободных радикалов приводит к усиленному расходованию на их обезвреживание эндогенных антиоксидантов, к модуляции активности, а в конечном счете – ингибированию антиоксидантных ферментов ГПО и GST. Снижение мощности глутатионовой системы может приводить к радикальной перестройке процессов жизнедеятельности клетки: изменению активности ферментов, проницаемости клеточных мембран, интенсивности метаболических процессов и других, которые имеют большое значение в генезе различных форм патоспермии.

### Выводы

Согласно проведенным исследованиям, содержание глутатиона и активность ферментов глутатионовой АОС как в сперматозоидах, так и в семенной плазме у пациентов с астено-, терато- и тератоастенозооспермией по сравнению с нормозооспермией существенно снижались. Особенно выраженное снижение мощности глутатионовой системы наблюдалось при сочетанной патологии тератоастенозооспермии.

### Литература

1. Aitken R.J., Fisher H. Reactive oxygen generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Biossays* 1994; 16: 259-267.
2. Aitken R.J. Possible redox regulation of sperm motility activation. *J Androl* 2000; 4: 491-496.
3. Beutler E. Red cell metabolism a manual of bio chemical methods. E.Beutler//Grune&Station, Orlando.- 1990.-P.131-134.

4. Drevet J. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: complex story. *Mol Cell Endocrinol.* 2006; 250:70-79.
5. Ford W. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Human Reprod Update* 2004; 5: 387-399.
6. Fujii J., Iuch Y., Matsuki et al. Cooperative function of antioxidant stress in male reproductive tissues. *As J Androl* 2003; 1: 1-12.
7. Habig W.H. Glutathione-S-transferases. The enzymes step mercapturic acid formation/ W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jacoby *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
8. Irvine D. Glutathione as a treatment for male infertility. *Reviews of Reprod* 1996; 1: 6-12.
9. Montiel E., Huidobro C., Castellon E. Glutathione-related enzymes in cell cultures from different regions of human epididymis. *Arch Androl.* 2003; 49: 95-105.
10. Lubarda Z. The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod Biol.* 2005; 5(1): 5-17
11. Ochsendorf F., Buhl R. et al. Glutathione in spermatozoa and seminal plasma of infertile men. *Hum Reprod.* 1998; 13(2): 353-359.
12. Saleh R., Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl* 2002; 6: 737-752.
13. Sikka S. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front in Bioscience* 1996; 1: 78-86.
14. World Health Organization. *Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen And Sperm Cervix Mucus Interaction* 1992 – Cambridge, Univ Press – 378p.

Вавилова Т.П., Орехов Д.Ю., Пушкина А.В.,  
Курбатов С.М.

**ВЛИЯНИЕ КИСЛЫХ ОПОЛАСКИВАТЕЛЕЙ НА  
ПОКАЗАТЕЛИ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ У  
ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ПРОГРАММНЫЙ  
ГЕМОДИАЛИЗ**

*ГОУ ВПО «Московский государственный  
медико-стоматологический университет»,  
г. Москва*

Согласно международным данным, в настоящее время во всем мире популяция больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (тХПН) насчитывает около 2 млн. человек, из них приблизительно 1,5 млн. человек получает гемодиализное (ГД) лечение. Ежегодное увеличение числа таких больных оценивается экспертами в 4-7% в странах Западной Европы и США. Согласно данным, представленным регистром Российского диализного общества (РДО), в нашей стране темп прироста больных с тХПН в 2005 году составил 13,6%. Развитие программ диализ-трансплантация, увеличение обеспеченности населения качественной гемодиализной помощью привели за последние 30-40 лет к снижению заболеваемости и смертности среди пациентов с тХПН. Исследования состояния полости рта у этой категории

больных выявили высокую распространенность заболеваний тканей полости рта и, как следствие, значительную нуждаемость в стоматологической помощи (Bots С.Р. с соавт. 2005, 2006, 2007; Vesterinen М. с соавт. 2007; June-Ming Sung с соавт. 2005, 2006).

Большинство исследователей, изучая состояние тканей полости рта у пациентов, получающих ГД, отмечает их жалобы на сухость во рту и жажду. Известно, что длительно существующая ксеростомия может предрасполагать к развитию кариеса и гингивита, вызывать дисфагию, потерю вкуса, и служить причиной образования изъязвлений слизистой полости рта. По данным Sung J.M. с соавт. (2004, 2005), Bots С.Р. с соавт. (2005), Dominic S.C. с соавт. (1996), чем больше выражена ксеростомия у пациентов на ГД, тем больше жидкости в междиализный период они употребляют, что влечет за собой выраженную объемную перегрузку, усугубление артериальной гипертензии и еще более ухудшает состояние сердечно-сосудистой системы пациентов, представляя реальную угрозу для их жизни.

**Цель работы:** изучение степени выраженности ксеростомии, скорости саливации и состава слюны у пациентов с тХПН, получающих гемодиализ, а также влияние кислых полосканий на изменение изучаемых параметров.

**Материалы и методы.** Обследован 41 пациент, 20 женщин и 21 мужчина, средний возраст которых составил 46±12 лет. Все пациенты получали стандартный бикарбонатный гемодиализ по 4-4,5 часа 3 раза в неделю в амбулаторном (внестационарном) центре. Обеспеченная доза диализа КТ/V составила в среднем 1,5±0,3, процент удаления мочевины 70±4. Образцы смешанной слюны изучали в период времени, непосредственно предшествующий диализной процедуре и получали путем сплевывания в течение 10 минут. В течение 60 минут до сбора образцов слюны пациенты не принимали пищу и не курили. Контрольные образцы смешанной слюны также собирали в течение 10 минут путем сплевывания после ополаскивания полости рта 150 мл 0,05% лимонной кислоты и споласкивания чистой водой. Скорость саливации оценивали в мл/мин. В смешанной слюне определяли концентрацию кальция, фосфатов, магния, железа, хлора и активность щелочной фосфатазы (ЩФ). Также проводилось анкетирование пациентов по специальному, разработанному авторами опроснику.

**Результаты.** Согласно результатам опроса, 32% пациентов с тХПН, получающих ГД, испытывают затруднение при пережевывании пищи. Часто испытывают жажду 32% пациентов, 42%- иногда, и лишь 26% пациентов не испытывают чувства жажды практически никогда. На ощущение сухости в полости рта жалуются 52% из числа обследованных. Практически 100% пациентов отметили улучшение субъективных ощущений в полости рта после полоскания.

У всех пациентов отмечалась сниженная скорость саливации, которая составила  $0,15 \pm 0,09$  мл/мин. После полоскания раствором лимонной кислоты скорость саливации статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивалась до уровня  $0,27 \pm 0,11$  мл/мин, оставаясь, однако, ниже физиологически нормального уровня ( $0,45 \pm 0,07$  мл/мин). Содержание магния, хлора, железа до и после полоскания статистически достоверно не изменялось, составив  $0,46 \pm 0,06 / 0,39 \pm 0,02$ ;  $57,01 \pm 7,35 / 53,0 \pm 10,2$  и  $1,56 \pm 0,51 / 2,45 \pm 0,99$  ммоль/л соответственно. Вместе с тем, содержание кальция и фосфатов в слюне после полоскания различалась статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) с исходным уровнем, составив  $1,18 \pm 0,23$  до и  $1,56 \pm 0,13$  ммоль/л после полоскания для кальция и  $5,21 \pm 0,45$  и  $5,94 \pm 0,36$  ммоль/л для фосфатов. Активность ЩФ в слюне статистически высокодостоверно ( $p < 0,001$ ) снижалась после полоскания относительно исходного уровня:  $12,0 \pm 2,05$  и  $3,22 \pm 0,61$  МЕ/л соответственно.

**Выводы.** У пациентов, находящихся на лечении ГД широко распространена ксеростомия, обусловленная гипосаливацией. Полоскание слабокислым раствором увеличивает количество отделяемой смешанной слюны и уменьшает у пациентов ощущение сухости во рту. Однако, на фоне полоскания  $0,05\%$  раствором лимонной кислоты, происходит увеличение содержания кальция и фосфатов в слюне, что может негативно сказаться на состоянии эмали и создавать условия для ускоренного образования фосфата кальция, осаждающегося на поверхности зуба. А повышение количества кальция в слюне и снижение активности щелочной фосфатазы после полоскания, следует также рассматривать как развитие дисбаланса в процессе деминерализации/реминерализации эмали. Полоскание раствором лимонной кислоты не вызывало статистически значимого изменения содержания магния, хлора и железа в смешанной слюне.

Гирина Л.В., Никоноров А.А.  
**ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ  
 ЛИПОПРОТЕИДОВ КРОВИ ПРИ АТЕРОГЕННЫХ  
 ДИСЛИПИДЕМИЯХ**

*ГОУ ВПО «Оренбургская государственная  
 медицинская академия Росздрава», г.Оренбург*

В настоящее время нет единой теории развития атеросклероза, но одну из лидирующих позиций занимает теория химической модификации липопротеидов (ЛП) крови [2]. Модификация ЛП *in vivo* происходит за счет процессов протеолиза, гликозилирования, дезаилирования белковой части, а также за счет окисления липидных и белковых компонентов ЛП, что приводит к их агрегации или образованию иммунных комплексов [4]. В результате таких модификаций ЛП становятся атерогенными и токсичными, увеличивается захват этих ЛП

макрофагами [8,10]. Процессу химической модификации подвергаются все классы липопротеидов как за счет ферментативных, так и неферментативных процессов. При этом установлено, что некоторые типы модификаций усиливают другие, и оказывают синергическое атерогенное действие [4,9]. Существует целый ряд работ посвященных изучению роли окисленных ЛНП (окЛНП) в развитии атеросклероза за счет процессов свободно-радикального окисления [1,3,10], где основными субстратами окисления служат ненасыщенные жирные кислоты, среди которых главной является линолевая кислота. В результате накопления отрицательно заряженных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) происходит окисление положительно заряженных лизиновых остатков апопротеина В, его фрагментация и, как следствие, возникновение высокого сродства к сквенджер-рецепторам макрофагов [11]. Также под действием процессов свободно-радикального окисления происходит окисление –SH-групп апопротеинов, что ведет к изменению структуры белковой молекулы и, соответственно, к изменению ее функций [2]. Следовательно, окислению могут подвергаться все составные части молекул ЛП: апобелки, стерольные остатки ХС и эфиров ХС, ФЛ [2,4,6]. Особая роль отводится изучению процессов дезаилирования углеводных цепей апо-В-содержащих ЛП и их способностью накапливать ХС в гладкомышечных клетках интимы аорты человека, что способствует снижению устойчивости апо-В-содержащих ЛП к ассоциации, повышая тем самым их атерогенный потенциал [5]. В связи с этим представляло определенный интерес изучение степени химической модификации ЛП крови у лиц с выявленными атерогенными дислипидемиями.

**Материалы и методы исследования**

В исследовании приняли участие 56 мужчин 40-45 лет. Опытную группу составили 44 человека, у которых в ходе предварительных исследований были выявлены атерогенные дислипидемии. Контрольную группу составили 12 человек без нарушения липидного обмена. Забор венозной крови с ЭДТА (1 мг/мл) для проведения биохимических исследований осуществлялся в утренние часы, натощак. О выраженности дислипидемий судили по содержанию в сыворотке крови общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП) определяемых с помощью ферментативных диагностических наборов («Olvex diagnosticum», Санкт-Петербург) на спектрофотометре «APEL» PD-303UV (Япония). На основании полученных данных рассчитывали коэффициент атерогенности. Дополнительно в плазме крови определяли концентрацию неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК), а также содержание фосфолипидов (ФЛ) в составе ЛВП колориметрическим методом с помощью диагностического набора («Chronolab», Швейцария).

Уровень апопротеинов AI и B, CIII, E (apoAI, apoB, apoCIII, apoE) определен иммуно-турбидиметрическим методом по реакции преципитации со специфической антисывороткой на биохимическом анализаторе “COBAS Integra” 400 plus (Швейцария – Германия).

Фракционное разделение липопротеидов осуществляли с помощью реакции преципитации по классической технологии, в модификации И.А. Волчегорского (2000).

Химическую модификацию липопротеидов оценивали по следующим показателям: в супернатанте, содержащем ЛВП и осадке, содержащем apoB-липопротеиды (ЛОНП и ЛНП) определяли уровень альдегидфенилидрозонов (АФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КФГ). Содержание продуктов окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности пересчитанной на 1 мг белка. Степень окисления апопротеинов в составе ЛП также оценивали по содержанию –SH-групп. Число сульфгидрильных групп определяли с помощью реактива Элмана по реакции тиол-дисульфидного обмена в щелочной среде колориметрическим методом. Расчет концентраций –SH-групп рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции, равный  $14000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  при длине волны 412 нм. О степени десиалирования аполипопротеинов судили по содержанию сиаловых кислот в подфракциях ЛП. Уровень сиаловых кислот определяли с помощью диагностического набора («Сиалотест», Россия). Содержание белка в ЛП определяли по методу Лоури.

### Результаты и обсуждение

В результате проведенного исследования было установлено, что в опытной и контрольной группе значение ОХС остается в пределах нормы, но в опытной группе происходит перераспределение ХС в сторону увеличения атерогенной фракции, и как следствие, снижение ХС антиатерогенной фракции. Показатели липидного обмена сыворотки крови у обследованных лиц представлены в таблице 1. Среднее значение концентрации циркулирующих ТГ в опытной группе достоверно превышало значение контроля, что, по-видимому, влияет на повышенное содержание НЭЖК

Таблица 1

Показатели липидного обмена сыворотки крови у обследованных лиц до и после курса ПГГ

Показатели	Опытная группа (n=44)	Контрольная группа (n=12)
ОХС, моль/л	6,27 ± 0,15 *	5,06 ± 0,3
ХСЛВП, моль/л	1,19 ± 0,03*	1,49 ± 0,08
ТГ, моль/л	1,88 ± 0,1*	1,21 ± 0,17
ХСЛОНП, моль/л	0,85 ± 0,05*	0,56 ± 0,08
ХСЛНП, моль/л	4,22 ± 0,13*	3,01 ± 0,24
ИА, у.е.	4,52 ± 0,12*	2,40 ± 0,13
ФЛ ЛВП, ммоль/л	0,88 ± 0,03*	1,20 ± 0,08
НЭЖК, мэкв/л	0,47 ± 0,01*	0,38 ± 0,02

\* - достоверность отличия от контроля (p<0,05)

Важно отметить, что были выявлены существенные изменения в апопротеиновом спектре у лиц с дислипидемиями (табл. 2). Так в опытной группе уровень apoB был значительно повышен, а уровень apoAI понижен, по сравнению с контрольной группой. Учитывая, что в настоящее время определение содержания уровня apoAI и B, с расчетом индекса apoB/apoAI может служить независимым критерием для диагностики атерогенных дислипидемий [7], выявленные дисапопротеинемии свидетельствуют о высокой вероятности развития атеросклероза. Необходимо отметить у лиц с атерогенными дислипидемиями повышенный уровень, apoCIII и apoE, что, по-видимому, указывает на возникновение компенсаторного механизма, связанного со снижением функциональной активности ЛП и неэффективности процессов катаболизма липопротеидных частиц при данном виде патологии.

Таблица 2

Показатели апопротеинового спектра сыворотки крови у обследованных лиц до и после курса ПГГ

Показатели	Опытная группа (n=44)	Контрольная группа (n=12)
apo AI, г/л	1,52 ± 0,04*	1,67 ± 0,1
apo B, г/л	1,23 ± 0,03*	0,92 ± 0,06
apo B / apo AI, у.е.	0,84 ± 0,03*	0,55 ± 0,02
apo C-III, мг/дл	9,01 ± 0,17*	7,79 ± 0,67
apo E, мг/дл	3,40 ± 0,15*	2,20 ± 0,26

\* - достоверность отличия от контроля (p<0,05)

Таблица 3

Показатели химической модификации белков липопротеидных частиц сыворотки крови у обследованных лиц до и после курса ПГГ

Показатели	Опытная группа (n=44)	Контрольная группа (n=12)
АФГ ЛОНП + ЛНП, у.е. на 1 мг б	4,36 ± 0,37	3,33 ± 0,21 *
АФГ ЛВП, у.е. на 1 мг б	2,29 ± 0,22	1,88 ± 0,17 *
ФГ ЛОНП + ЛНП, у.е. на 1 мг б	0,56 ± 0,06	0,29 ± 0,10 *
ФГ ЛВП, у.е. на 1 мг б	0,24 ± 0,07	0,47 ± 0,05 *
SH-группы ЛВП, ммоль/л	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,07
SH-группы ЛНП, ммоль/л	0,06 ± 0,005	0,10 ± 0,02 *
СК ЛВП, ммоль/л	0,86 ± 0,08	0,88 ± 0,03
СК ЛНП, ммоль/л	0,40 ± 0,02	0,46 ± 0,02 *

\* - достоверность отличия от контроля (p<0,05)

При исследовании окислительной модификации ЛП обнаружено, что АФГ, являясь ранними маркерами окислительной деструкции белков, у лиц опытной группы превышали значения АФГ во всех подфракциях ЛП частиц, что свидетельствует об увеличении активности свободно-радикальных процессов на фоне развития атерогенных дислипидемий. Кроме того, о степени окислительной деструкции апопротеинов ЛВП и apoB-содержащих ЛП судили по содержанию кетондинитрофенилгидразонов (КФГ). Поскольку уровень КФГ опытной группы в составе всех классов ЛП был практически в 2 раза выше значений контроля, это позволило судить о более выраженном повреждении белковых молекул и возможном нарушении их физиологических функций. Также о степени деструкции различных классов апопротеинов судили по содержанию –SH-групп: так в опытной группе этот показатель для апопротеинов apoB-содержащих ЛП оказался сниженным в 1,7 раза по сравнению с контролем, что подтверждает мнение, что из всех классов ЛП окисление затрагивает в первую

очередь ЛОНП и ЛНП (апоВ-содержащие ЛП). Также нами было зафиксировано снижение концентрации сульфгидрильных групп в составе апопротеинов ЛВП опытной группы, что подтверждает мнение о роли ЛВП в перекисной концепции атерогенеза.

Также нами было отмечено достоверное снижение уровня концентрации СК в составе ЛНП опытной группы, что подтверждает мнение об усилении и синергическом действии химических модификаций друг на друга. В целом результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие выводы:

В результате атерогенных дислипидемий происходят не только количественные, но и качественные изменения в составе ЛП частиц, которые затрагивают все группы веществ образующих ЛП частицу.

Интенсификация процессов химической модификации ЛП при дислипидемиях увеличивает их атерогенный потенциал, что приводит к развитию атеросклероза. Наиболее ярко эта связь прослеживается для ЛНП, модифицированных продуктами окисления белков и сниженным содержанием в них сиаловых кислот. Образование химически модифицированных компонентов ЛПЧ, по-видимому, лежит в основе формирования дислипопротеидемий.

Возрастание концентрации апопротеина В на фоне дислипидемических расстройств, по-видимому, свидетельствует о компенсаторной активации его биосинтеза, вследствие снижения функциональной активности, что можно рассматривать как один из ранних признаков развития атеросклероза.

#### Литература

1. Азизова О.А., Пирязев А.П., Москвина С.Н., Асейчев А.В./Метод определения окисляемости белков сыворотки крови и плазмы крови.// Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53. – вып. 1. – С. 99-106
2. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Белов А.А., Кухарчук В.В. /Процессы модификации липопротеинов, физиологическая и патогенетическая роль модифицированных липопротеинов // Вопр. мед. химии. – 2000. - № 1 – С.
3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б./Окислительная модификация липопротеинов низкой плотности.// Усп. совр. биологии. – 1996. – Т.116 – С.729-748
4. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения.- Ж Питер Ком, 1999. - 512 с.
5. Мельниченко А.А., Тертов В.В., с соавтр./ Десалирование снижает устойчивость апо-В-содержащих липопротеидов к ассоциации, повышая их атерогенный потенциал.// Бюлл. Эксперим. Биологии и медицины. – 2005. – Т. 140. - №7. – С.60-64
6. Рагино Ю.И., Воеводова М.И., с соавтр./ Применение новых биохимических способов для оценки окислительно-антиоксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности.// Клин. лаб. диагностика. – 2005. - №4 – С. 11-15
7. Северина С.Е. Биохимия патологических процессов
8. Clare K., Hardwick S. J., Carpenter K. L. H. et al. Toxicity of oxysterols to human monocyte-macrophages.

(1995) Atherosclerosis, 118, 67-75.

9. Lopes-Virella M. F., Virella G. / Modified lipoproteins, cytokines and macrovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus.// (1996) Ann. Med., 28, 347-354.

10. Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T.E. et al. / Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity // (1989) N. Engl. J. Med., 320, 915-924.

11. Yla-Herttuala S. Macrophages and oxidized low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. / Ann. Med. 1991. V. 23. P. 561

Глыбочко П.В., Понукалин А.Н., Захарова Н.Б., Шахпазян К.Н., Слозова О.В., Михайлов В.Ю.

### ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ЦИТОКИНОВОГО СОСТАВА МОНОНУКЛЕАРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТАДИИ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»  
НИИ фундаментальной и клинической  
уронефрологии, г. Саратов

Цель исследования. Выявление роли цитокинов сыворотки крови в поддержании иммунного гомеостаза организма у больных с различными стадиями РМП.

Материал и методы. Проведено обследование 33 больных РМП, проходивших лечение в НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии при СГМУ и 20 практически здоровых лиц, доноров. Возраст больных колебался от 44 до 76 лет и в среднем составил 60,7 лет. Мужчин было 30 (90%), женщин - 3(10%). При клинико-морфологическом обследовании у 6 (18%) больных диагностирован поверхностный РМП (pTа-T1), у 17 (51,5%) пациентов опухоль была ограничена органом (pT2-T3а), а у 10 (30,3%) имелось экстравезикальное распространение новообразования (pT3в-T4). С первичным РМП было 24 (72,8%) больных, 9 (27,2%) пациентов обратились в клинику с рецидивом заболевания. Семи больным (21,2%) до госпитализации проведена системная химиотерапия. У всех больных был верифицирован переходноклеточный РМП. Гистологическая градация опухоли у 9 (27,2%) пациентов была G-1, у 6 (18,1%) – G-2, у 6 (18,2%) – G-3. В 12 (36,3%) случаях степень дифференцировки не определена.

У всех обследованных забор венозной крови проводили в стерильные пробирки с раствором 0,1М цитрата натрия, разделительным гелем и раствором фикола для создания градиента плотности (BD Vacutainer CPT). После центрифугирования в течение 20 минут при 1500-1800 g и разделения крови на фракции выделяли вместе с плазмой над разделительным гелем кольцо, содержащее мононуклеары (лимфоциты и моноциты). Готовили суспензию в плазме мононуклеаров и проводили

подсчет количества выделенных клеток и их состав с помощью гематологического анализатора.

В полученной взвеси проводили определение содержания цитокинов методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов фирмы Biosource USA: гамма-интерферон (гИНФ), интерлейкин-4 (ИЛ4), фактора некроза опухоли альфа (ФНОб), интерлейкина-6 (ИЛ6), интерлейкина-8 (ИЛ8), интерферона-альфа (ИНФб), интерлейкина-1Я (ИЛ1Я). Проводили расчет содержания цитокинов на 1 млн. клеток в выделенной взвеси мононуклеаров плазмы крови. Результаты выражали в фг/10<sup>6</sup> клеток.

Результаты. При сравнении полученных данных изменения цитокинового профиля взвеси мононуклеаров у больных РМП и контрольной группы установлены значимые различия в содержании провоспалительных цитокинов. В группе больных с поверхностным РМП несмотря на снижение содержание ИЛ1в на 48% от уровня нормы, ИЛ 6 на 58% отмечено повышение уровня ИЛ8 на 211%, г-интерферона на 72%, ФНОб на 186%.

В группе больных с РМП в пределах органа отмечено снижение содержания ИЛ1в на 62% уровня нормы, ИЛ6 на 50% на фоне значимого нарастания уровня ИЛ8 на 457%, г-интерферона на 42 %, ФНОб на 600% . У больных с экстравезикальным РМП аналогичные изменения цитокинового профиля сопровождалось у всех обследованных больных резким подъемом ФНОб на 1789% уровня нормы. На фоне химиотерапии также выявлено снижение содержания ИЛ1в на 54%, ИЛ 6 на 46% при незначимом увеличении уровня ИЛ8 на 128%, г-интерферона на 7% и ФНОб в 2,2 раза.

В каждой из групп больных РМП содержание противовоспалительного цитокина ИЛ4 было снижено (с поверхностным РМП на 87%, с РМП в пределах органа на 89%, с экстравезикальным РМП на 79%, на фоне проведенной химиотерапии на 46%).

На основании полученных данных можно говорить о активации системы клеточного иммунитета у всех больных с опухолью мочевого пузыря, что выражается в активации Th 1 клеток и ослаблением по принципу обратной связи Th 2 клеток или в развитии провоспалительного каскада, приводящего к нарастанию уровня ФНОб У больных с рецидивом РМП все из исследуемых групп про- и противовоспалительных цитокинов снижены. После проведенной химиотерапии у больных с первичным РМП также отмечено значимое снижение основных групп про- и противовоспалительных цитокинов.

То есть в ответ на инвазию раковых клеток в стенку мочевого пузыря у больных с первичным инвазивным РМП развивалось усиление экспрессии ряда про- и противовоспалительных цитокинов основными иммунокомпетентными клетками крови. В развитии системного иммунного ответа у больных РМП важное значение принадлежит ФНОб. Усиление

его выработки обуславливает инициацию так называемых вторичных каскадов в виде выхода из белых клеток оксидантов, протеаз. Кроме того подъем уровня ФНОб можно рассматривать как один из механизмов активации явлений апоптоза и ангиогенеза. При инвазивном РМП уровень ФНОа в 4,3 раза выше чем при поверхностной форме этого заболевания. Отсутствие усиления выработки ИЛ1Я, ИНб, на фоне подъема ФНОб свидетельствует о том, что воспалительный процесс не играет ведущей роли в изменение системной продукции цитокинов при РМП. У пациентов с рецидивом РМП и после химиотерапии снижение содержания основных групп про- и противовоспалительных цитокинов можно считать следствием подавления системного иммунного ответа и одной из причин развития иммуносупрессии.

#### Выводы

1. У больных первичным инвазивным РМП дисбаланс цитокинов связан с развитием системного иммунного ответа, активацией его Th1 звена и накоплением ФНОб. Изменение экспрессии выработки провоспалительных цитокинов у больных первичным РМП способствует активации явлений апоптоза и развитию нарушений тканевых структур.

2. У больных после химиотерапии, при рецидиве РМП развивается снижение выработки всех про- и противовоспалительных цитокинов, свидетельствующее о снижении активности клеток иммунной системы и, возможно, ее способности дифференцировать цитокин-индуцирующий эффект между клетками иммунной и неиммунной системы и, таким образом, регулировать Th1/Th2 тип иммунного ответа.

3. Несмотря на немногочисленность наблюдений удается установить статистически значимые различия уровня ФНОа у больных с инвазивным и неинвазивным РМП. Это позволит определить группу больных повышенного риска, которые будут нуждаться не только в местном лечении, но и в системной химио- и лучевой терапии или в цистэктомии.

Захарова Н.Б., Гладилин Г.П., Авдиенко И.В.,  
Кузьмин И.С.

#### **Циклы тематического усовершенствования «ИФА В ПРАКТИКЕ РАБОТЫ КЛИНИКО- ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА»**

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»,  
г.Саратов

С целью повышения качества использования аппаратуры для иммуноферментного анализа на уровне клинико-диагностических лабораторий Саратова и области, прежде всего на уровне первичного звена медицинской помощи – поликлиник на кафедре клинической лабораторной диагностики

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава» разработана программа нового цикла тематического усовершенствования «ИФА в практике работы клинико-диагностических лабораторий». В процессе проведения цикла запланировано привлечение знаний и опыта всего лабораторного сообщества – ученых, педагогов, работников фирм, производящих и распространяющих наборы реагентов для лабораторных исследований, на оказание практической помощи специалистам клинико-диагностических лабораторий, получивших в свое распоряжение это новое оборудование.

В процессе обучения на цикле обсуждены наиболее актуальные вопросы использования ИФА в лабораторной практике:

- аналитические возможности лабораторного оборудования для ИФА, поставляемого в учреждения первичного звена;

- возможности отечественных и импортных тест-систем для ИФА;

- вопросы рационального использования методов ИФА в диагностике эндокринной патологии, инфекций (ВИЧ, гепатиты), онкологических заболеваний, аутоиммунных и других системных заболеваний, инфекций урогенитального тракта, наследственных болезней.

Подготовку на цикле прошли 31 специалист клинической лабораторной диагностики лечебных учреждений города и области. Все слушатели смогли получить и усовершенствовать практические навыки постановки методов ИФА, научиться программированию и использованию иммуноферментных анализаторов, вспомогательного оборудования. Для обучения в распоряжение слушателей были предоставлен комплект оборудования, поставленный по проекту «Здоровье» и наборы реактивов для проведения исследования тиреоидных гормонов от фирм «Биохиммак» и «Вектор Бест».

Кроме преподавателей кафедры участие в обучении работе на оборудовании, проведении исследований с использованием наборов реактивов для ИФА приняли специалисты фирм «Алкор Био», «Вектор Бест», «Биохиммак». На практических занятиях были подробно разобраны типичные ошибки в ИФА и способы их устранения, приемы экономного расходования реактивов и примеры расчета стоимости анализа, нормативные документы, вопросы контроля качества исследований. Кроме того слушатели получили представление о современных диагностических наборах и приборах различных производителей, смогли самостоятельно оценить их аналитические характеристики.

Полученные слушателями навыки позволят в наиболее короткие сроки согласовать с клиническим персоналом и требованиями стандартов медицинской помощи перечень осваиваемых тестов с учетом медицинского профиля учреждения. Обучение приемам

и критериям контроля качества исследований, а также экономически обоснованных заказов необходимых тест-систем и контрольных материалов обеспечить расширение номенклатуры лабораторных исследований на уровне поликлиник.

Зиннатов Ф.Ф., Гибадулина И.Р.,  
Хазипов Н.З., Тюрикова Р.П., Камалов Б.В.

### **ДЕТЕКЦИЯ И ТИПИЗАЦИЯ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

*ГОУ ВПО «Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины», г. Казань*

Лейкоз крупного рогатого скота имеет значительное распространение, а потому эффективный метод диагностики его является одной из важнейших задач не только ветеринарной медицины, но и биотехнологии. Наличие у вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) близкого морфологического и эволюционного сродства с вирусом Т-клеточного лейкоза человека, способность некоторых онкогенных вирусов преодолевать межвидовые барьеры делает актуальным поиск высокочувствительных тестов выявления вируса с использованием молекулярно – генетических методов.

Для диагностики лейкоза крупного рогатого скота сегодня используются в основном серологические (РИД и ИФА) и гематологические методы исследования. Однако эти методы не обеспечивают полного выявления инфицированных животных, так как телята до 6-месячного возраста остаются вне плановых исследований, в связи с отсутствием у них обнаруживаемого антителообразования.

В этом отношении весьма перспективным является молекулярно-генетический метод диагностики инфекции – полимеразная цепная реакция (ПЦР). Этот метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Кроме того, обнаружение вируса в материале возможно уже через неделю после заражения.

Задачей данной работы являлась оптимизация метода ПЦР для диагностики ВЛ КРС с целью ускорения оздоровления хозяйств от лейкоза и типизация штаммов вируса лейкоза в обследуемых хозяйствах, неблагополучных по данной инфекции.

**Материалы и методы.** Материалом для исследований служили пробы крови и молока, а также крови телят, начиная с 15-дневного возраста (по согласованию с ГУ ветеринарии РТ).

Кровь брали с помощью специальных вакуумных пробирок фирмы «Vacuette».

ДНК из крови выделяли либо фенолхлороформным методом, либо по инструкции используемых тест-систем для ПЦР.

Молоко брали от тех же коров в количестве 60 мл. Пробы молока центрифугировали для осаждения



Таблица 1

Сравнительные данные исследований проб крови на выявление ВЛКРС серологическими методами и методом ПЦР

Хозяйства	Коровы			
	Серологически		Результаты ПЦР	
	позитивные	Негативные	положительные	отрицательные
Буинский район д. Ташкичу	18	-	18	-
Зеленодольский район д. Нурлаты	22	-	22	-
Верхнеуслонский район д. Каргуза	15	-	5	10
Нижекамский район (ООО «Бахетле-Агро»)	147	20	117	30
	Телята			
Зеленодольский район д. Нурлаты			7	
Нижекамский район (ООО «Бахетле-Агро»)			15	

Примечание: Все исследованные телята – от коров, серопозитивных.

лейкоцитов при 5000 об/мин в течение 5 минут. ДНК из молока извлекали вышеуказанными методами.

ПЦР проводили с использованием тест-системы «Лейкоз-КРС-Провирус» (ФГУН ЦНИИЭ, фирма АмплиСенс) и тест-системы Gene Pak (фирмы Biokom).

В работе использовали праймеры, разработанные Lekursi (2004 г.) к участку гена env ВЛКРС:

env5032: 5'-tctgtccaagtctcccagata-3'  
 env5099: 5'-cccacaaggcggcgccgggtt-3'  
 env5521: 5'-gcgagccgggtccagagctgg-3'  
 env5608: 5'-aacacaacctctgggaagggt-3'

Аmplифицированную провирусную ДНК длиной 444 п.н. разделяли методом горизонтального электрофореза в 1,5-2%-ном агарозном геле с триборатным буфером в присутствии бромида этидия (результаты регистрировали с помощью видеосистемы «Gel Imager 2» в компьютер), а также методом вертикального электрофореза в 6%-ном полиакриламидном геле, с последующим окрашиванием геля нитратом серебра.

Типизацию вируса лейкоза в обследуемых районах проводили с помощью рестриктаз PVU II, BCL I b Bam HI и разделения фрагментов амплификата в ПААГе в условиях фирмы-производителя.

**Результаты исследований.** В результате исследований установлено, что из 202 исследованных проб крови коров в 162 присутствует провирусная ДНК вируса лейкоза.

Из 101 проб крови телят 15-20-дневного возраста, полученных от положительно реагирующих по РИД и больных лейкозом коров-матерей, 22 также показали положительный результат в ПЦР. Данные результаты были подтверждены исследованиями с применением тест-систем двух фирм – АмплиСенс и Biokom, а также с использованием праймера Lekursi (2004 г.).

Таким образом из исследованных 202 голов коров, из которых серологически позитивных на ВЛКРС было 182 головы, положительную реакцию в ПЦР дали 162 пробы.

Кроме того, нами проведены исследования методом ПЦР проб молока из хозяйств, неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота. Всего было исследовано 103 пробы, в том числе 10 проб сборного молока, и установлено, что в 25 случаях был обнаружен вирус лейкоза. Необходимо подчеркнуть, что положительная реакция на ВЛКРС была получена в 5 случаях из 10 проб сборного молока. Анализ проб молока привлекает интерес для рекогносцировочных исследований, а потому необходимо эту работу продолжать с целью разработки более эффективных приемов подготовки проб и режимов ПЦР.

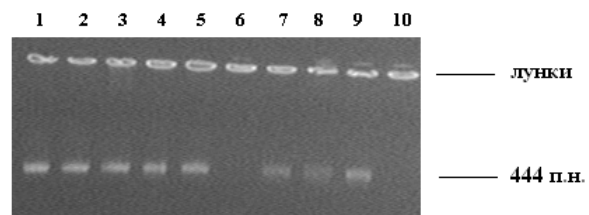


Рис. 1. Электрофореграмма результатов ПЦР: 1,2,3,4,5 - пробы крови телят; 6,7,8 - пробы молока; 9 – положительный контроль (ДНК вируса лейкоза), 10 – отрицательный контроль (дистиллированная вода).

На рисунке 1 представлена одна из фореграмм электрофореза продуктов амплификации участка ДНК провируса молекулярной массой 444 п.н., полученных с помощью праймеров разработанных Lekursi M гена env. На электрофореграмме зафиксировано свечение специфической полосы ампликона в пробах 1, 2, 3, 4,

5,7, 8, 9 (положительный контроль), таким образом 5 проб крови телят (№ 1,2,3,4,5) и 2 пробы молока (№ 7,8) содержат в себе провирус лейкоза крупного рогатого скота, встроенный в геном лейкоцитов. Проба молока №6 свечение не имеет, следовательно, амплификация не прошла из-за отсутствия провируса лейкоза.

Анализ данных, представленных в таблице, свидетельствует о том, что серологически позитивные животные не всегда являются носителями провирусной ДНК лейкоза, что согласуется с известными литературными данными.

Для определения подтипа циркулирующего в хозяйствах вируса были использованы рестриктазы (PvuII, BglI, Bam HI). Электрофореграмма продуктов рестрикции амплификатов представлена на рис 2

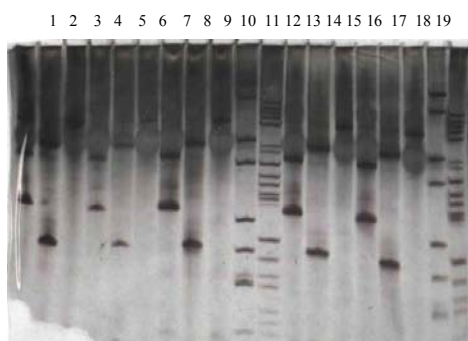


Рис 2.Рестрикционный анализ продуктов амплификации фрагмента гена env провирусной ДНК ВЛКРС длиной 444 п.н. для 5 изолятов ВЛКРС после гнездовой ПЦР с праймерами ENV1-ENV4. Образцы рестрикции получали обработкой ампликонов ферментами рестрикции PvuII, BglI, Bam HI

1-Изолят № 2 обработан PvuII, 2- Изолят № 2 обработан BglI, 3- Изолят № 2 обработан Bam HI, 4- Изолят № 4 обработан PvuII, 5- Изолят № 4 обработан BglI, 6- Изолят № 4 обработан Bam HI, 7- Изолят № 8 обработан PvuII, 8- Изолят № 8 обработан BglI, 9- Изолят № 8 обработан Bam HI, 10- Маркер молекулярной массы, 11- Маркер молекулярной массы, 12- Изолят №12 обработан PvuII, 13- Изолят №12 обработан BglI, 14- Изолят №12 обработан Bam HI, 15- Изолят №9 обработан PvuII, 16- Изолят №9 обработан BglI, 17- Изолят №9 обработан ферментом Bam HI, 18- Маркер молекулярной массы, 19- Маркер молекулярной массы.

Анализ представленных на рисунке 2 данных свидетельствует о том, что фермент PvuII расщепляет все ампликаты длиной 444 п.н. на два фрагмента - 280 и 164 п.н., фермент BglI на фрагменты 300 и 100 п.н., а фермент Bam HI фрагментов не образует.

Аналогичная картина рестрикции ампликатов

в 444 п.н. этими же рестриктазами получена в работах Лиманского, что позволяет отнести вирус лейкоза в обследуемых нами хозяйствах к Бельгийскому подтипу.

Таким образом, метод ПЦР позволяет в течение рабочего дня определить инфекцию (в виде провирусной ДНК) в крови как коров, так и телят, начиная с 15-ти дневного возраста, а также и в молоке в том числе и сборном. Кроме того, используя рестриктазы, возможно быстрое типирование возбудителя ВЛКРС.

Литература

1. Limansky A., Limanskaya O. Comparison of primer sets for detection of bovine leukemia virus by polymerase chain reaction //Bull. Vet. Inst. in Pulawy-2002- Vol. 46. - P. 27-36
2. Willems L., Thienpont E., Kerkhops P. Bovine leukemia virus, an animal model for the study of intrastrain

Иванов М.В., Воскресенская О.Н., Захарова Н.Б.  
Никитина В.В., Слюзова О.В.

**К ВОПРОСУ О РОЛИ МАРКЕРОВ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АЛЬТЕРАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»,  
г. Саратов

Актуальность проблемы: Артериальная гипертензия (АГ) и др. сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место в структуре неинфекционной патологии взрослых и являются основной причиной ранней инвалидизации и преждевременной смерти в большинстве экономически развитых стран. В России АГ встречается у трети взрослого населения и является одним из важнейших факторов риска цереброваскулярных нарушений.

Длительное существование артериальной гипертонии включает основные механизмы развития хронического патологического (нейродегенеративного) процесса в ткани головного мозга: хроническое воспаление, изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера оксидантный стресс и программированную клеточную смерть (апоптоз).

В настоящее время продолжается исследование роли механизмов включения иммунологических нарушений и активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в развитии цереброваскулярной патологии. Установлено, что уже при начальных стадиях артериальной гипертензии (АГ) независимо от причины возникновения имеют место изменения иммунологической реактивности, которая связана с морфологической перестройкой сосудов под

влиянием самого повышения АД.

Цель исследования: исследование особенностей изменения показателей иммунного воспаления, оксидативного стресса и антиоксидантной защиты у лиц, страдающих артериальной гипертензией и хронической ишемией головного мозга на разных стадиях заболевания.

Установлено, что в патогенезе хронической ишемии головного мозга важнейшую роль имеют иммунологические механизмы, среди которых наиболее важное значение имеют реакции локального воспаления и аутоиммунной агрессии, осуществляющимися цитокинами, т.е. пептидами, вырабатываемыми воспалительными тканевыми макрофагами и лимфоцитами в ответ на действие повреждающего агента, к которым относятся интерферон  $\gamma$ - и  $\beta$ -интерфероны (гИНФ бИНФ), фактор некроза опухоли  $\beta$  (ФНО $\beta$ ).

Несмотря на обширный экспериментальный материал в литературе имеется небольшое число клинических исследований, посвященных роли иммунологического процесса и феномена локального воспаления в патогенезе хронической ишемии головного мозга, протекающей на фоне артериальной гипертензии, остается мало изученной роль провоспалительных (гИНФ, бИНФ, ФНО $\beta$ ) и противовоспалительных (интерлейкин-4 (ИЛ 4)) цитокинов при цереброваскулярной патологии.

Материалы и методы

В исследование включены 22 пациентов (женщин – 13, мужчин – 9) с ХИГМ I-II ст и АГ I-III степени (по классификации ВОЗ-МОГ, 1999) в возрасте от 45 до 65 лет (в среднем 56,4 $\pm$ 4,2 года) Среди них больных АГ I-II ст. было 16, III ст. – 6. Исходя из этого, обследованные пациенты разделены на группы. В 1-ю группу вошли лица, страдающие АГ I-II ст. и ХИГМ I-II ст., во 2-ю группу – больные с АГ III ст и ХИГМ III ст. В группу контроля вошли 20 здоровых доноров в возрасте от 42 до 61 года (в среднем 52,5 $\pm$ 3,9 года).

Исследование содержания цитокинов в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), выполненного с использованием тест систем фирмы «Вектор-Бест», «Новосибирск». Определяли содержание гИНФ, бИНФ, ФНО $\beta$  и ИЛ 4. Результаты выражали в пг/мл.

Содержание продуктов ПОЛ (малоновый диальдегид (МДА)) и компонентов антиоксидантной защиты тканей (АОЗ) (супероксиддисмутаза (СОД), а также общий и восстановленный глутатион (ОГ и ВГ)) оценивали на спектрофотометре СФ-46 (Россия). Определение витамина Е, отражающего активность неферментативного пути АОЗ тканей, проводилось на приборе «Флюорат-02-АБЛФ» (Россия).

Для статистического анализа данных применялась программа Statistica“99 Edition. Версия 5.5 А. Во всех процедурах статистического анализа принимался уровень значимости  $p < 0,05$ .

Результаты и их обсуждение

При исследовании цитокинового профиля сыворотки крови были получены следующие результаты: ИЛ 4 в группе контроля составлял 3,7 $\pm$ 2,6 пг/мл, в 1 группе был равен 22,6 $\pm$ 6,7 пг/мл, а во 2-й группе – 36,9 $\pm$ 18,5 пг/мл; содержание в сыворотке ФНО $\alpha$  в группе контроля отмечалось на уровне 1,3 $\pm$ 1,8 пг/мл, в 1 группе – 3,7 $\pm$ 1,5 пг/мл, а во 2-й группе составляло 5,8 $\pm$ 3,8 пг/мл; у ИНФ у лиц, входящих в группу здоровых доноров обнаружен в количестве 13,2 $\pm$ 2,1 пг/мл, в то время как в 1-й и 2-й группе этот показатель составлял 8,1 $\pm$ 2,8 пг/мл и 7,3 $\pm$ 3,1 пг/мл соответственно. Содержание аИНФ в сыворотке здоровых лиц имело значение 8,0 $\pm$ 2,1 пг/мл, в 1-й группе составляло 15,7 $\pm$ 8,9 пг/мл, а во 2-й – 6,9 $\pm$ 0,9 пг/мл.

Исследование сыворотки крови на активность процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты позволило выявить следующие числовые значения названных ранее маркеров: МДА – 2,01 $\pm$ 0,05, 3,68 $\pm$ 0,23, 3,7 $\pm$ 0,11 мкмоль/л – в группе контроля, 1 и 2-й группах соответственно; уровень СОД составлял в 1 и 2 группах по 3,78 $\pm$ 0,25 и 4,23 $\pm$ 0,35 у.е./1 мл пробы, а в контрольной группе лишь 2,49 $\pm$ 0,06 у.е./1 мл пробы; ОГ в образцах сыворотки здоровых лиц имел значение 1,24 $\pm$ 0,04 ммоль/л эритроцитов, а в образцах от 1 и 2 групп – 0,09 $\pm$ 0,03 и 0,08 $\pm$ 0,03 ммоль/л эритроцитов соответственно; содержание ВГ сыворотки у лиц контрольной группы составило 2,73 $\pm$ 0,31 ммоль/л эритроцитов, а в 1 и 2-й группах – 0,75 $\pm$ 0,06 и 0,83 $\pm$ 0,06 ммоль/л эритроцитов соответственно; витамин Е в образцах сыворотки группы контроля, 1 и 2-й групп содержался в количестве 3,24 $\pm$ 0,12, 0,766 $\pm$ 0,227, 0,845 $\pm$ 0,18 мкг/мл соответственно.

Таким образом, анализ полученных данных позволяет отметить достоверное нарастание в 1-й и 2-й группах как провоспалительного паттерна цитокинов (ФНО $\beta$ ), так и противовоспалительного ИЛ 4 по сравнению с их уровнем в образцах сыворотки, взятых от здоровых доноров. Содержание гИНФ в 1-й и 2-й группах ниже, чем в группе контроля, а количество бИНФ, повышаясь в 1-й группе, вновь снижается ниже контрольных значений в пробах, взятых у больных из 2-й группы. Подобный дисбаланс цитокинов в значительной мере отражает выраженность воспалительного ответа, что может послужить прогрессированию трофических и сосудистых нарушений в тканях мозга.

При сравнительной оценке уровня продуктов ПОЛ и активности системы АОЗ обращает на себя внимание возрастание содержания МДА и СОД, а также снижение ВГ, ОГ и витамина Е в 1-й и 2-й группах по сравнению с группой здоровых доноров, что говорит о выраженной активации ферментативных систем АОЗ по мере нарастания оксидативного стресса, параллельно с достаточно инертным участием системы глутатиона и неферментативной системы защиты (витамин Е) в процессах предупреждения ПОЛ.

**Выводы**

1. Увеличение выработки про- и противовоспалительных цитокинов свидетельствует о развитии острой фазы воспаления и возможной активации сосудистого эндотелия, моноцитарно-макрофагальной системы с усилением сосудистых и гуморальных реакций

2. Нарастание уровня ФНОα у больных 2-й группы дает основание считать, что АГ усиливает выработку провоспалительных цитокинов и, возможно, является одним из пусковых элементов активации микроглии на уровне тканей головного мозга

3. У больных с АГ и ХИГМ отмечается подъем содержания продуктов ПОЛ, параллельно с активацией тканевого звена антиоксидантной защиты (СОД) и снижением неферментативной антиоксидантной активности (ОГ, ВГ и витамин Е)

Каминская Л. А., Данилова И.Г., Гетте И.Ф.  
**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ И ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ**  
 ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава»,  
 Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,  
 г.Екатеринбург

Существование гематосаливарного барьера, в формировании которого принимают участие слюнные железы, не вызывает сомнения [4]. Гематосаливарный барьер необходим для поддержания гомеостаза полости рта и всего организма.

Биохимические показатели слюны имеют отличия от биохимических показателей плазмы крови и могут также изменяться при отклонении биохимических показателей плазмы крови от нормы [2].

Слюна является не только связующим звеном в обмене низкомолекулярных веществ и электролитов в системе «кровь-желудочно-кишечный тракт-кровь», но и «конечной» жидкостью организма, которая позволяет выделить из организма, наряду с мочой и потом, избыток некоторых веществ и метаболитов.

Целью нашего исследования было изучение биохимических показателей ротовой жидкости при кратковременной и долговременной гипергликемии.

Кратковременную гипергликемию создавали путем проведения теста толерантности к глюкозе.

Была сформирована группа из 11 здоровых молодых людей женского и мужского пола в возрасте 18-22 лет. Испытуемые принимали 150 г 30% раствора глюкозы однократно, после чего тщательно полоскали полость рта. Ротовую жидкость собирали в положении сидя в течение 5 мин в условиях нестимулированного слюноотделения.

Определяли показатели ротовой жидкости: величину рН, содержание глюкозы глюкозооксидазным способом до и через 30 и 60 мин после сахарной нагрузки.

Значения величин рН не претерпели изменений:

до нагрузки  $7,15 \pm 0,18$ ,

через 30 мин. после нагрузки -  $7,12 \pm 0,14$ ,

через 60 мин.-  $7,02 \pm 0,22$ .

Изменение содержания глюкозы в ротовой жидкости в динамике глюкозотолерантного теста отличается по сравнению с кровью.

Среди обследованных пришлось выделить две группы.

В 1 группе из 8 человек уровень глюкозы в течение 30 мин понижался, и далее у 7 человек - продолжал оставаться ниже исходного.

Во 2 группе (3 человека) через 30 мин наблюдали повышение уровня глюкозы, через 60 мин у одного представителя этой группы повышение продолжалось, а у двух человек уровень глюкозы начал снижаться.

Содержание глюкозы ( ммоль/л) в ротовой жидкости до начала опыта  $0,30 \pm 0,03$ .

Через 30 мин в 1 группе (8 человек) -  $0,21 \pm 0,038$ , через 60 мин (7 человек) -  $0,17 \pm 0,023$ .

Полученные нами данные имеют отличия с проведенными исследованиями в группе здоровых детей: у них после нагрузки глюкозой повышение уровня глюкозы в крови сочеталось с незначительной тенденцией к подъему в слюне [2].

Снижение уровня глюкозы в ротовой жидкости в условиях стандартного теста толерантности к глюкозе мы объясняем участием инсулиноподобного фактора, который полноценно выделяется слюнными железами здоровых взрослых людей и препятствует секреции глюкозы в слюну при кратковременной гипергликемии.

Изменение биохимических показателей ротовой жидкости при долговременной гипергликемии мы изучали у больных сахарным диабетом 1 типа, которые находились в условиях стационара. У всех обследованных отмечена стадия декомпенсации, которая сопровождалась высоким уровнем глюкозы в крови.

Обследовано 10 пациентов (4 женщины, 6 мужчин), возраст 31-50 лет, срок заболевания 3-9 лет. Контрольная группа состояла из здоровых 10 человек (5 женщин и 5 мужчин) в том же возрастном интервале.

Проведена сиалометрия, сбор ротовой жидкости осуществляли утром, натощак, в течение 10 минут.

Определены биохимические показатели ротовой жидкости, использовали стандартные методики, которые применяют в клинической лабораторной диагностики.

Исследуемые показатели	Группа здоровых	Группа с гипергликемией
скорость выделения слюны( мл/мин)	$0,45 \pm 0,07^*$	$0,16 \pm 0,02^*$
рН	$7,07 \pm 0,12^*$	$6,67 \pm 0,14^*$
Белок ( г/л)	$4,78 \pm 1,25^*$	$1,95 \pm 0,22^*$
Глюкоза( ммоль/л)	$0,024 \pm 0,003^{**}$	$0,143 \pm 0,019^{**}$
Кальций (ммоль/л)	$1,36 \pm 0,29^{**}$	$2,09 \pm 0,24^{**}$
*P < 0,05	**P < 0,01	

**Сиалометрия и биохимические показатели ротовой жидкости при длительной гипергликемии.**

Исследуемые показатели	Группа здоровых	Группа с гипергликемией
скорость выделения слюны( мл/мин)	0,45 ± 0,07*	0,16 ± 0,02*
pH	7,07 ± 0,12 *	6,67 ± 0,14*
Белок ( г/л)	4,78 ± 1,25 *	1,95 ± 0,22*
Глюкоза( ммоль/л)	0,024 ± 0,003 **	0,143 ± 0,019**
Кальций (ммоль/л)	1,36 ± 0,29 **	2,09 ± 0,24**
*P < 0,05	**P < 0,01	

Данные сиалометрии однозначно указали на значительное снижение скорости выделения слюны у обследованных больных диабетом ( почти в 3 раза). Ксеростомия подтверждается и субъективными ощущениями «сухого» рта. Причиной заметного изменения секреторной функции слюнных желез может быть гликозилирование макромолекулярных белковых структур, которое неотвратимо наступает при длительной гипергликемии и существенно изменяет функции гематосаливарного барьера и вызывает падение метаболической активности слюнных желез. Это подтверждается и значительным снижением содержания в ротовой жидкости белка; белки слюны имеют плазменное происхождение и являются секретом собственно слюнных желез [1].

Длительная гипергликемия сопровождается резким увеличением в ротовой жидкости глюкозы и кальция.

Более высокое содержание кальция можно объяснить снижением трех важных показателей: объема выделяемой слюны, содержания белка и величины pH. Все это означает, что активируются процессы деминерализации эмали, и это, в свою очередь, также приводит к повышению содержания кальция в ротовой жидкости.

Высокое содержание глюкозы в слюне при гипергликемии (превышает в 6 раз показатель в контрольной группе) создает неблагоприятный «климат» в полости рта, способствует активному развитию микрофлоры. формированию зубного налета, развитию болезней полости рта [3].

**Литература**

1. Клиническая патофизиология для стоматологов. Под редакцией проф. Н.Н.Петрищева и проф. Л.Ю.Ореховой.-М.: Медицинская книга, Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2002.-112с.

2. Комарова, Л.Г. Саливалогия/ Л.Г.Комарова, О.П.Алексеева.-Н. Новгород: Издательство Нижегородской государственной академии, 2006.-180с.

3. Куторгин, Г.Д. Состояние зубов и пародонта при сахарном диабете и гипотиреозе/ Г.Д. Куторгин, Н.Б.Бородин, Ю.В.Коробова, Н.А.Морева // Стоматология нового тысячелетия: Сб. тезисов. -М: Авиаиздат, 2002.-С.27-28

4. Петрович, Ю.А. Гематосаливарный барьер/ Ю.А.Петрович, Р.П.Подорожная, С.М. Киченко // Российский стоматологический журнал.-2004- №4- С. 39-44.

Клюева О.В., Слесаренко Н.А, Захарова Н.Б., Утц С.Р.  
**ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ПСОРИАТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА**  
ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»,  
г. Саратов

Вопросы этиологии и патогенеза псориаза окончательно не решены. В настоящий время активно обсуждается мультифакториальная концепция формирования данного заболевания, в которой ведущую роль играют иммунологические нарушения. Считается, что процессы, вызывающие гиперпролиферацию кератиноцитов и нарушение их дифференцировки, опосредованы Т-лимфоцитами и антигенпрезентирующими клетками, при активации которых изменяются синтез и экспрессия различных хемокинов и цитокинов.

Исследования содержания цитокинов в коже больных псориазом и в сыворотке периферической крови выявили дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами. Однако, данные о соотношении реакций Th1- и Th2-типов иммунного ответа у больных с различными формами псориаза весьма противоречивы. При изучении данных литературы обращает на себя внимание факт, что выявление того или другого типа иммунного ответа различно в зависимости от формы, стадии и длительности течения заболевания.

Комплексное определение содержания в сыворотке крови ИЛ4( интерлейкин 4), ФНОб (фактор некроза опухоли альфа), гИНФ (гамма-интерферон), ИНФб( альфа-интерферон) у больных псориазом может служить маркером степени воспалительной реакции, который определяет глубину патологического процесса, а также является важным критерием, позволяющим индивидуально подойти к назначению у данных больных лекарственных препаратов. Цитокины, являясь медиаторами иммунных реакций, в настоящее время нашли широкое применение в качестве лекарственных средств.

**Целью** настоящей работы было изучение цитокинового состава сыворотки крови больных псориазом в зависимости от стадии псориазического процесса.

### Материалы и методы

Объектом исследования были 37 больных с вульгарным (24), экссудативным (7) и себорейным (6) псориазом. Среди них 20 женщин и 17 мужчин в возрасте от 16 до 79 лет с длительностью заболевания от 3 месяцев до 40 лет. Больные были разделены на 3 группы в зависимости от стадии псориазического процесса: больные, находящиеся в стадии прогрессирования (19), стабилизации (9) и в стадии регресса (9). Сбор материала проводился на базе городского кожно-венерологического диспансера г. Саратова.

Контрольную группу составили 20 доноров с отсутствием грубой соматической патологии в возрасте от 20 до 50 лет.

Исследование содержания цитокинов проводили в крови, полученной из кубитальной вены пациентов.

С целью стандартизации использовали пробирки «Vacurette» с активатором свертывания (кремнеземом) и разделительным гелем, образующим барьер между сывороткой и форменными элементами крови после центрифугирования.

Определение содержания цитокинов в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест», «Новосибирск»: гИНФ, ИЛ4, ФНО $\alpha$ , ИНФ $\beta$ . Результаты выражали в нг/мл.

Для статистического анализа данных применялась программа Statistica 99 Edition. Версия 5,5 А, производитель StatSoft Inc.

**Обсуждение результатов.** Полученные данные показали, что у больных псориазом при прогрессировании поражения кожного покрова усиливается продукция провоспалительных цитокинов. В сыворотке крови увеличивается содержание гИНФ (в 20-25 раз выше нормы) и ФНО $\alpha$  (в 20 раз выше нормы). То есть увеличивается количество молекул цитокинов, участвующих в иммунном воспалении.

При стабилизации процесса происходит снижение содержания гИНФ (он превышает норму в 3,5 раза), практически не меняется количество ФНО $\alpha$ . В стадии регресса кожных высыпаний происходит дальнейшее понижение содержания данных цитокинов.

Содержание ИЛ4 у всех обследованных больных превышало величину нормы в 3-3,5 раза. Подъем уровня гИНФ у больных при прогрессировании заболевания и в периоде стабилизации процесса не было значимым.

Существенное значение в прогрессировании псориазических высыпаний или в развитии иммунного воспаления играет гИНФ, который продуцируется Т-хелперами 1-го типа (Th -1), и усиливая экспрессию молекул адгезии и, следовательно, способствует проникновению активированных клеток в кожу. По-

видимому, гИНФ усиливает продукцию ФНО-альфа и оба цитокина потенцируют эффекты друг друга.

Повышение гИНФ в период обострения псориаза при одновременном значительно меньшем нарастании уровня ИЛ4 можно считать результатом гиперпродукции первого клетками-продуцентами и низкой активности Th-2 составляющей иммунной системы. То есть кожные высыпания при обострении псориаза связаны с накоплением в сыворотке крови типичных воспалительных цитокинов - гИНФ и ФНО $\alpha$ .

Таким образом у больных псориазом при обострении процесса имеет место нарушение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов, преобладание Th-1 клеточного иммунного ответа, провоцирующего распространение кожных высыпаний.

Князева О.А.

### КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ С3 КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ИНКУБАЦИИ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И «ГРУППЫ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА»

ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г.Уфа

Обнаружение и устранение измененных потенциально злокачественных клеток осуществляется с помощью иммунитета: врожденного (неспецифического) и приобретенного (специфического). Однако из-за способности опухолевых клеток к «ускользанию» от иммунологического надзора, неопластические процессы все же в некоторых случаях развиваются. Почему так происходит, пока не совсем ясно, хотя и существует на этот счет немало гипотез [2, 7, 12, 15].

Среди систем неспецифического иммунитета наиболее сложным и многогранным действием обладает система комплемента, в последнее время все чаще рассматриваемая, как один из основных регуляторов специфического иммунитета. Центральным компонентом системы комплемента является белок С3, обладающий структурной особенностью – наличием внутримолекулярной тиоэфирной связи в б-цепи. Благодаря этой связи С3 способен ковалентно присоединяться к акцепторным молекулам [13] и образовывать конформационную форму С3(Н $_2$ О), инициирующую активацию комплемента по альтернативному пути [14].

Модификация белка, или его конформационный переход является одной из наиболее ранних защитных реакций организма [8]. Поэтому исследование изменений конформационной формы С3 при неопластических процессах и заболеваниях, относящихся к группе «онкологического риска» является очень важной задачей и может приблизить к пониманию причин обхода иммунитета опухолевыми клетками.

Таблица 1

**Уровень СЗ(Н<sub>2</sub>О) в процессе инкубации плазмы крови больных раком молочной железы (РМЖ) и «группы онкологического риска»: диффузной (ДМП), узловой мастопатией (УМП) и фиброаденомой (ФА) в сравнении с контролем**

Часы	СЗ(Н <sub>2</sub> О), мкг/мл						
	1,5	3	5	7	9	11	24
Контроль (n=12)	10,06± 0,4	4,43± 0,27	4,05± 0,25	4,3± 0,21	3,96± 0,28	4,12± 0,29	3,23± 0,16
РМЖ (n=15)	3,9± 0,28**	4,1± 0,22	4,3± 0,28	4,1± 0,24	3,9± 0,18	4,3± 0,24	5,0± 0,17**
ДМП (n=12)	4,0± 0,82**	4,0± 0,73	3,1± 0,65	5,0± 0,87	1,8± 0,54*	2,3± 0,63*	2,2± 0,46
УМП (n=10)	3,0± 0,88**	5,0± 0,72	5,5± 0,78	3,5± 0,69	5,0± 0,85	2,4± 0,61*	1,9± 0,49*
ФА (n=9)	4,0± 0,91**	5,0± 0,84	2,6± 0,43*	2,4± 0,54*	2,2± 0,48*	1,7± 0,54*	2,3± 0,37*

Примечание: в сравнении с контролем, \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,001$ .

На рисунке 1 продемонстрировано колебание уровня СЗ(Н<sub>2</sub>О) при инкубации плазмы крови больных

Целью данной работы явилось изучение закономерностей в изменении уровня конформационной формы СЗ компонента СЗ(Н<sub>2</sub>О) у больных раком молочной железы (РМЖ) и пациенток, входящих в «группу онкологического риска»: с диффузной (ДМП), узловой мастопатией (УМП), фиброаденомой (ФА) в сравнении с контрольной группой здоровых женщин при инкубации плазмы крови.

#### **Материал и методы**

Определение уровня СЗ(Н<sub>2</sub>О) проводили в процессе инкубации плазмы венозной крови больных: РМЖ (n=15), ДМП (n=12), УМП (n=10), ФА (n=9) и 12 практически здоровых женщин, принятых за контроль. Каждую пробу крови брали на 0,1 М раствор ЭДТА (рН 7,4) в соотношении 4:1. Затем плазму отделяли центрифугированием при 300g, инкубировали при 37°C в течение 1,5; 3; 5; 7; 9; 11; 24 часов, замораживали и хранили при -70°C. Размораживание проб производили одновременно, непосредственно перед постановкой эксперимента. Уровень СЗ(Н<sub>2</sub>О) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью специфических моноклональных антител (МКА) [6, 9]. В качестве нижних антител использовали мышинные анти СЗ МКА - Н11С3, верхних - G10, взаимодействующие с антигенной детерминантой, экспонированной только на СЗ(Н<sub>2</sub>О). Антитела были получены в ГНЦНИИ особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург. Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики. Достоверность различий между группами оценивали в соответствии с критерием Стьюдента.

#### **Результаты и обсуждение**

Из таблицы 1, в которой представлены данные колебаний содержания СЗ(Н<sub>2</sub>О) при РМЖ, ДМП, УМП и ФА в сравнении с контролем, видно, что во всех группах происходит снижение уровня СЗ(Н<sub>2</sub>О) сразу

же через 1,5 часа инкубации ( $p < 0,001$ ), что не наблюдалось ранее при других неопластических процессах [4, 5]. При дальнейшей инкубации эти отличия имели иной характер. Так при ДМП уровень СЗ(Н<sub>2</sub>О) становился ниже, чем в контроле с 9-ого по 11-ый час инкубации ( $p < 0,05$ ). При УМП - через 11 и 24 часа ( $p < 0,05$ ). При ФА через 3 часа инкубации концентрация СЗ(Н<sub>2</sub>О) достигала контрольного уровня, а затем становилась значительно ниже ( $p < 0,05$ ). При РМЖ через 3, 5, 7, 9 и 11 часов инкубации уровень СЗ(Н<sub>2</sub>О) практически не отличался от контрольного и только к 24 часам примерно в 1,5 раза превышал контроль ( $p < 0,001$ ).

РМЖ, ДМП, УМП и ФА в сравнении с контролем. Видно, что изменение СЗ(Н<sub>2</sub>О) у больных РМЖ и «группы онкологического риска» отличается от здоровых людей и при каждой нозологической форме заболевания имеет свою индивидуальность.

Видимо, изменение уровня СЗ(Н<sub>2</sub>О) происходит вследствие того, что доступ специфических МКА к антигенной детерминанте на СЗ(Н<sub>2</sub>О) открывается под действием различных нуклеофилов, количество которых значительно увеличивается при опухолевых заболеваниях. А также за счет роста активности протеолитических ферментов, таких как трипсин, эластаза, коллагеназа, катепсины [1, 9, 10, 11], гидролитически расщепляющих СЗ компонент [3].

Можно предположить, что одной из причин «ускользания» опухолевых клеток из-под иммунологического надзора является модификация белков, вызванная присоединением различных лигандов, образующихся в результате усиленного распада опухолевых клеток.

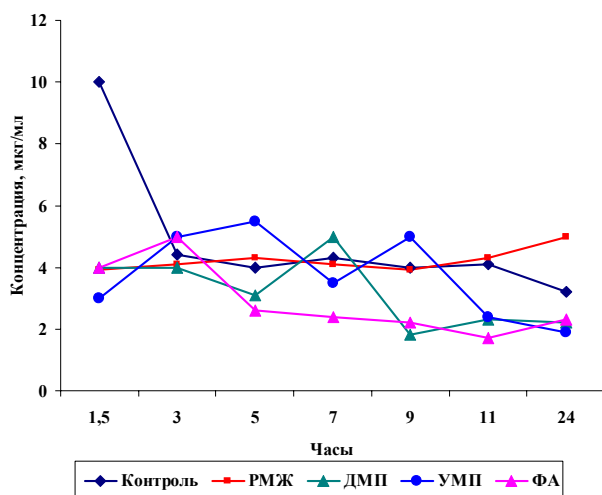


Рисунок 1.Изменение уровня С3(H<sub>2</sub>O) в процессе инкубации плазмы крови больных раком молочной железы (РМЖ) и «группы онкологического риска»: диффузной (ДМП), узловой мастопатией (УМП) и фибroadеномой (ФА) в сравнении с контролем

### Литература

- 1.Акбашева О.Е., Суханова Г.А. Активность протеолитических ферментов и их ингибиторов в плазме крови мышей при опухолевом росте // Бюлл. Экспер. Биол. – 1999. – Т. 128, №7. - С. 69-72.
- 2.Белоусова А.К. Молекулярно-биологические подходы к терапии опухолей. – М.: ВИНТИ, 1993 – 206 с.
- 3.Бельтюков П.П., Симкина Н.Б. Протеолитическое расщепление С3-компонента комплемента эритроцитарной мембраной кролика как возможный способ активации комплемента по альтернативному пути // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2000. - Т. 41, № 6. – С. 384-386.
- 4.Князева О.А., Сакаева Д.Д., Тяготин Ю.В. Конформационные изменения С3 компонента комплемента при хранении крови больных лимфогранулематозом и здоровых людей // Вопросы онкологии.–2000. - Т. 46, №1. - С.58-60.
- 5.Князева О.А., Сакаева Д.Д. С3-компонент комплемента в процессе хранения сыворотки крови больных неходжкинскими лимфомами //Материалы международной научно-практической школы-конференции «Цитокины. Воспаление. Иммуитет» – Санкт-Петербург, 2002. –С.10.
- 6.Рыбакова Л.П., Тяготин Ю.В., Ганапиев А.А. и др. Содержание компонентов комплемента в плазме онкогематологических больных при недостаточности гемопоза // Вопросы онкологии. - 1996. - Т. 42.- № 2. - С. 63-67.
- 7.Соколова Г.Б., Синицин М.В., Кожемякин Л.А. и др. Глутосим в комплексной терапии туберкулеза // Журн. антибиотики и химиотерапия. – 2002. - № 2. – С. 20-23.
- 8.Троицкий Г.В. Дефектные белки:

постсинтетическая модификация. – Киев: Наук. Думка, 1991. – 232 с.

9.Тяготин Ю.В., Рыбакова Л.П., Голота Г.З. и др. Неспецифические изменения системы комплемента при неопластических процессах // Вопросы онкологии. - 2002. - Т. 48. - № 2. - С. 206-210.

10.Amiqnet J.A., Jumener J., Monreal J.I. et al. Serum proteolytic activities and antiproteases in human colorectal carcinoma // J. Physiol. Biochem. – 1998. – V. 54. – P. 9-13.

11.Benitez-Bribiesca L., Martinez G., Ruiz M.T. et al. Proteinase activity in invasive cancer of the breast correlation with tumor progression // Arch. Med. Res. – 1995. – V. 26. – P. 163-168.

12.Matsui W., Smith B., Vala M. et al. Requirement for myeloid growth factors in the differentiation of acute promyelocytic leukemia // Brit. J. Haematol. – 2005. – V. 128. – P. 853-862.

13.Law S.K.A., Dodds A.W. The internal Myllerthioester and the covalent binding properties of the complement proteins C3 and C4 // Protein Sci. – 1997. – V. 6. - P. 263–274.

14.Sahu A., Lambris J.D. Structure and biology of complement protein C3, a connecting link between innate and acquired immunity // J. Immunol. – 2001. – V.180. – P. 35–48.

15.Supino R., Mariani M., Colombo A. et al. Comparativ studies on the effects of doxorubicin and differentiation inducing agents on B16 melanoma cells // Euro J. Cancer. – 1992. – V. 28A. – P. 778-783.

### Капулер О.М., Сарварова Н.З., Камилов Ф.Х. ГЛУТАТИОНОВЫЙ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

ОАО «Косметологическая лечебница», г. УФА  
ГОУ ВПО «Башгосмедуниверситет Росздрава»,  
г. Уфа

Проблема псориаза остается актуальной и обусловлена неуклонным ростом заболеваемости, недостаточной эффективностью существующих методов лечения, преобладанием в структуре заболевания тяжелых форм [3, 4]. Исследованию этиологии и патогенеза псориаза уделяется большое внимание, поскольку их раскрытие позволяет обосновать выбор правильной тактики лечения и добиваться высокой эффективности терапевтических мероприятий. Заболевание характеризуется многообразием факторов, оказывающих влияние на его возникновение и обострения, а псориатические кожные проявления являются итогом воспалительного процесса, связанного со сложными иммунологическими и патохимическими изменениями. Изменения микроциркуляции, воспалительный процесс в пораженных участках кожи, нарушения функции внутренних органов при псориатической болезни сопровождаются интенсификацией перекисного окисления липидов



(ПОЛ) с последующим нарушением мембранных структур клеточных и субклеточных элементов. Активация процессов ПОЛ влечет за собой повышенное использование биоантиоксидантов, активацию ферментативного звена радикальной защиты и, следовательно, при хроническом течении, а псориаз относится к хроническим дерматозам, может снижать способность регулировать липопероксидацию и поддерживать тканевую альтерацию.

Глутатионовая система участвует в детоксикации продуктов ПОЛ, которая опосредована различными биохимическими механизмами [2] и глутатионзависимый путь является одним из важнейших в разрушении первичных и вторичных продуктов ПОЛ.

**Целью** работы стало изучение глутатионового и антиоксидантного статуса у больных псориазом в зависимости от площади поражения кожи, тяжести течения процесса.

**Материал и методы.** Под наблюдением находились 64 больных в возрасте 18-67 лет, в том числе первую группу составили 22 больных с площадью поражения менее 10% кожи (PASI 14,1±3,8); вторую – 21 пациент с распространенным вульгарным псориазом (PASI 19,6±3,6) и третью – 21 больной осложненным течением (псориазическая эритродермия, псориазическая артропатия) или тяжелой пустулезной формой псориаза. У больных при поступлении в клинику (прогрессирующая стадия) определяли активность основных антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1.) [1], каталазы (КФ 1.11.1.6) [5], глутатионпероксидазы (ГПО, КФ 1.6.4.2) [5], содержание общего, восстановленного (GSH) и окисленного (GS-SG)

глутатиона [5, 7], общую антиоксидантную активность плазмы крови (АОА) [6].

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы у больных псориазом в прогрессирующей стадии представлены в таблице 1. У больных в плазме крови снижается активность СОД и каталазы. Уровень ингибирования активности обоих ферментов не коррелирует с индексом PASI. В то же время АОА плазмы крови у обследованных оказалось статистически значимо повышенной. Активность ключевых ферментов антирадикальной защиты в эритроцитах при этом или не отличалась от показателей контроля, или была повышенной. Таким образом, в динамике активности антиоксидантных ферментов – СОД, каталаза и ГПО в зависимости от индекса охвата и тяжести течения псориаза наблюдались своеобразные ножицы: в плазме крови – снижение, в эритроцитах – повышение. Определение глутатионового статуса выявила следующую картину – повышение содержания общего глутатиона и окисленной его формы при ограниченном (1-я группа) и распространенном (2-я группа) псориазе, снижение до уровня контроля у больных тяжелой и осложненными формами заболевания (3-я группа). Уровень восстановленного глутатиона также у больных вульгарным псориазом было повышенным, а у пациентов 3-й группы снижалось (P<0,001). В определенной мере динамика изменений АОА плазмы крови и состояния глутатионового статуса у больных псориазом имеет общую направленность. Аналогичные изменения претерпевает и активность глутатионпероксидазы крови.

**Таблица 1 – Показатели антиоксидантной системы крови у больных псориазом в прогрессирующей стадии**

Показатели	Группы обследуемых			
	Контрольная, n=27	1-я, n=22	2-я, n=21	3-я, n=21
СОД плазмы, ед/мл	12,4±0,28	13,2±0,34 P>0,05	10,5±0,33 P<0,001	9,8±0,37 P<0,001
СОД эритроц., ед/г Hb	299±10,3	379±42,6 P>0,05	346±37,2 P>0,1	372±21,0 P<0,01
Каталаза плазмы, мккат/л	19,1±0,67	13,5±0,83 P<0,001	14,0±0,79 P<0,001	14,8±0,95 P<0,001
Каталаза эритроц., нкат/ г Hb	197±12,9	235±17,0 P>0,1	240±21,5 P>0,1	256±22,4 P<0,05
ГПО, мкмоль/мин*л эритроц.	0,82±0,030	0,97±0,070 P<0,05	0,96±0,069 P>0,05	0,85±0,039 P>0,5
АОА плазмы, % ингибиров.	37,1±1,42	46,8±2,93 P<0,001	50,5±4,43 P<0,001	44,3±2,77 P<0,005
Глутатион общ., мкмоль/г белка	3,30±0,108	4,09±0,276 P<0,02	3,96±0,306 P<0,05	2,80±0,307 P>0,2
GSH, мкмоль/г белка	2,15±0,091	2,56±0,136 P<0,02	2,31±0,092 P>0,5	1,65±0,127 P<0,001
GS-SG, мкмоль/г белка	1,15±0,063	1,53±0,169 P<0,05	1,65±0,147 P<0,01	1,16±0,064 P>0,5

Аналогичные изменения претерпевает и активность глутатионпероксидазы крови. Однако отношение восстановленной и окисленной форм глутатиона при псориазе снижается. Так, коэффициент GSH/GS-SG у здоровых лиц равнялся в среднем 1,869, у больных 1-й группы (при ограниченном вульгарном псориазе) он снижался до 1,673, у пациентов 2-й группы – до 1,400, и третьей группы – до 1,422. Столь существенное снижения соотношения восстановленной и окисленной форм глутатиона свидетельствует в целом о снижении антиокислительной защиты, с превалированием процессов свободнорадикального окисления. При этом, преимущественно страдает ферментативное звено антиокислительной системы плазмы, в то время как неферментативное звено сохраняется. Тенденция к снижению общего содержания глутатиона при тяжелом течении заболевания, возможно, связано с нарушениями функции печени, поскольку преимущественно синтез глутатиона, обнаруживаемого в крови, происходит в гепатоцитах [2]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости при лечении больных псориазом предпринимать меры к восстановлению оксидантно-антиоксидантную систему, включая и глутатионовый статус.

#### Литература

1. Дубинина Е.С., Сальникова Л.А., Ефремова Л.Ф. / Лаб. дело. – 1983. - № 10. – с. 30-33; 2. Кулинский В.И., Колисниченко Л.С. / Уст. биол. химии. – 1990. – т. 110, № 1. – с. 20-33; 3. Кунгуров Н.В., Филимонкина Н.Н., Тузакина И.А. Псориазная болезнь – Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 2002. – 200с.; 4. Охлопков В.А. Клинико-морфологическая характеристика вульгарного псориаза в условиях терапии. – Омск: изд-во ОГМА, 2004. – 166с.; 5. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система (теория, клиническое применение, методы). – Пермь, 1992. – 53с.; 6. Спектор Е.Б., Ананенко А.А., Политова Л.Н. / Лаб. дело. – 1984. -№ 1. –с. 26-28.

Коксин В.П., Мустафин И.Г., Бойчук С.В.\*, Цибулькин А.П.\*\*

**ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ВИРУСНЫХ БЕЛКОВ  
В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ В ПЕРИОД  
РЕПРОДУКЦИИ NL4-3 ШТАММА ВИЧ-1  
(NEF+, NEF-) В ПЕРВИЧНОЙ ФГА-  
АКТИВИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЕ ЛИМФАЦИТОВ  
ЗДОРОВОГО ДОНОРА, ИНФИЦИРОВАННОЙ  
IN VITRO ВИЧ**

*Республиканский центр по профилактике и борьбе  
со СПИД и инфекционными заболеваниями МЗ  
Республики Татарстан, г. Казань,  
Казанский государственный медицинский  
университет, г. Казань\**

*ГОУ ВПО Казанская ГМА Росздрава, г. Казань\*\**

Нами проведены исследования по изучению спектра вирусных белков продуцируемых в культуральную

среду лимфоцитами периферической крови здорового донора, синхронно инфицированных *in vitro* штаммами NLA-4 ВИЧ-1 (nef+, nef-).

Известно, что одним из пусковых механизмов репликации ВИЧ-1 является активация клеток, сопровождающаяся активацией клеточных факторов транскрипции, связывающихся с промоторными участками как собственной ДНК, так и длинных концевых повторов (LTR) провируса ВИЧ-1, интегрированного в геном клетки-хозяина. Это в свою очередь приводит к транскрипции вирусной РНК, являющейся начальным этапом активной сборки вирионов в инфицированных клетках. Поэтому лимфоциты периферической крови доноров, серонегативных по ВИЧ-1, подвергали предварительной активации в течение 72 часов с помощью ФГА (2мкг/мл). В дальнейшем в культуру преактивированных Лф вносили эквивалентные дозы ВИЧ-1 (МОИ= 0.005). Репликацию ВИЧ-1 оценивали по следующим показателям: а) уровень р24<sup>gag</sup> антигена ВИЧ-1, определяемого методом ИФА (EIA р24<sup>gag</sup>, Coulter) в супернатантах культур лимфоцитов; б) количество ВИЧ-инфицированных клеток, определяемое методом проточной цитометрии с использованием mAT к р24<sup>gag</sup> (Coulter).

Выделенные из плазмы крови здорового донора лимфоциты помещали в среду RPMI, содержащую 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота и гистамин, и активировали ФГА (4мг/мл), интерлейкином 2 (10 Ед/мл) в течение 3-х дней, после чего добавляли инфицирующий материал в дозе р24<sup>gag</sup> –100 нг/мл. Спектр антигенов ВИЧ в культуральной среде исследовали на 4-й, 9-й и 13й день после инфицирования первичной культуры лимфоцитов ВИЧ, т.к. срок жизни первичной культуры ограничен приблизительно 15-ю днями. Максимальный уровень репликации ВИЧ-1 (nef+) приходился на 6-й день после ифицирования, а ВИЧ-1 (nef-) на 9 день культивирования. То есть, характер репродукции штаммов идентичен, но скорость репликации штамма nef+ была выше, чем nef-.

Аликвоты культуральной жидкости, взятые через равные промежутки времени (4, 9, 13 дней) осветляли центрифугированием при 3000 об/мин на центрифуге РС-6 в течение 15 минут и в объеме 40 мкл приливали к 80 мкл лизирующей смеси, которая в конечной концентрации содержит 0,125 М трис-НС1 рН 6,8, 5% SDS, 5% б-меркаптоэтанола, 10% глицерина и 0,0012% бромфенолового синего. Перед диск-электрофорезом пробы прогревали в течение 5 минут на кипящей водяной бане. Диск-электрофорез полученного материала проводили в 12,5% ПААГ по классическому методу Лемли (1970). После электрофореза проводили электроперенос фракционированных белков с пластин геля (120x110x1 мм) на мембрану Immobilon-P ("Millipor"). Для расчета молекулярных масс фракций использовали набор маркеров LMW 94-14,4 kD, HMW 212-53 kD ("Pharmacia Biotech"). После блокирования

вакантных мест связывания на мембране с фракционированными пробами мембрану нарезали на стрипы шириной 3 мм для каждой пробы и инкубировали с мышинными моноклональными анти-p25. антителами (АТ) (Кардиологический научный центр МЗ РФ) и контрольной положительной сывороткой для ВИЧ, содержащей антитела ко всем структурным белкам ВИЧ ("Bio-Rad"). При постановке иммуноблотинга использовали антивидовые конъюгаты с щелочной фосфатазой к человеческим ((R5 "Bio-Rad") и мышинным иммуноглобулинам ("BD Biosciences"); хромоген для щелочной фосфатазы R6 ("Bio-Rad").

Качественный состав вирусных белков используемых штаммов ВИЧ-1 (nef+, nef-) в культуральной среде был идентичен и отличался большей концентрацией в случае штамма ВИЧ-1 nef+.

Результаты иммуноблотинга по детекции белков ВИЧ в культуральной среде в процессе репродукции вируса в первичной культуре лимфоцитов с контрольной положительной по ВИЧ сывороткой ("Bio-Rad") показали, что на четвертый день выявлялась двойная фракция с мМ 58-55 кД предшественника структурных белков кора ВИЧ. На девятый день инкубирования отмечалось дополнительное появление на иммуноблотграмме структурных белков кора ВИЧ – p24/25, p18, где основной серодоминантной фракцией являлся p55 (47,8% относительной серологической активности в иммуноблоте). К 13-му дню инкубации инфицированных лимфоцитов в культуральной среде уже отмечалось наличие 4-х белков гена gag ВИЧ, дополнительно за счет второго предшественника структурных белков кора ВИЧ: p 55, p40, p24/25, p18. Главной серодоминантной фракцией в иммуноблотинге был основной структурный белок кора ВИЧ p24/25 (35,2%). Отмечалось увеличение числа сероактивных фракций, которые, по-видимому, являются продуктами клеточного катаболизма отмерших клеток, имеющих перекрестно реагирующие в иммуноблотинге эпитопы: 166кД, 137кД, 93 кД, 36 кД, 30 кД.

Постановка иммуноблотинга с мышинными моноклональными антителами к p24/25, реагирующими в серологических реакциях со всеми основными белками гена gag показало сходный характер наличия белков гена gag в культуральной среде. Так, на 4-й день инкубации инфицированных ВИЧ лимфоцитов в культуральной среде иммуноблотингом выявляется предшественник (p55) структурных белков кора ВИЧ в виде тройной фракции с мМ 58-55 кД. На 9-й день дополнительно выявлялись второй предшественник структурных белков кора ВИЧ p40 и основной структурный белок кора p24/25. К 13-му дню в культуральной среде дополнительно детектировался структурный белок кора ВИЧ p18. Основной серодоминантной фракцией как и в первом случае

являлся полипептид p24/25 (38,29%).

Таким образом, результатами экспериментов по инфицированию первичной культуры нормальных лимфоцитов ВИЧ *in vitro* показано, что в течение 13 дней репродукции вируса отмечается наличие в культуральной среде как неструктурных, так и структурных белков гена gag ВИЧ, спектр и количественное содержание которых меняется во времени, что, по-видимому, обусловлено накоплением в культуральной среде протеолитических ферментов, расщепляющих белки-предшественники до структурных белков кора ВИЧ. Результаты исследований подтверждаются ранее полученными данными по изучению формирования гуморального иммунного ответа организма на ВИЧ-инфекцию (Рязанова Г.А. и др. 2005), где имела место дифференциальная регуляция иммунного ответа хозяина вирусом. В начале развития ВИЧ-инфекции общий пул анти-ВИЧ АТ представляют антитела к предшественнику структурных белков гена gag p55 и основному структурному белку p25, а далее, при нарастании титра общих анти-ВИЧ АТ в ИФА появляются антитела к гликопротеинам ВИЧ (gp160, gp120) и белкам гена pol соответственно.

Поступление клеточных протеаз в культуральную среду может быть связано с гибелью и лизисом неинфицированных лимфоцитов, несущих активационный маркер CD4<sup>+</sup> в результате апоптоза, начинающегося к 6 часам после инфицирования ВИЧ первичной культуры лимфоцитов согласно данным проточной цитофлюорометрии. по определению митохондриального потенциала, экспрессии фосфадилсерина, фрагментации ДНК клеток на тех же экспериментальных моделях, которые свидетельствовали о массовой гибели неинфицированных клеток по механизму апоптоза как в случае ВИЧ-1 nef+, так и ВИЧ-1 nef-. Однако, в условиях *in vitro* в первичной культуре лимфоцитов не представляется возможным изучение более длительных сроков развития инфекции, что связано с естественной гибелью лимфоцитов.

На основании данных проточной цитофлюорометрии и результатов по наличию антигенами в культуральной среде инфицированной первичной культуры ФГА-активированных лимфоцитов можно предположить, что белки гена gag ВИЧ-1, появляющиеся первыми в культуральной жидкости инфицированной первичной культуры лимфоцитов, могут быть факторами, запускающими механизмы апоптоза неинфицированных лимфоцитов, что может являться частью стратегии вируса в борьбе с иммунной системой хозяина посредством "вирусного эндотоксина", продуцируемого инфицированными ВИЧ лимфоцитами.

Лавров О.В., Колеватых Е.П., Опалева С.И.  
**ЗНАЧЕНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В РАЗВИТИИ  
ИММУНО-ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ  
И СТРЕССА**

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров  
Введение.

В настоящее время описано большое количество биологических эффектов биогенных аминов и продолжается научный поиск точек приложения и механизмов их воздействия (1,2,3,4,5). Известна определяющая роль биогенных аминов в развитии таких патологических состояний, как бронхиальная астма, псориаз, иммунопролиферативные заболевания, стрессорные реакции.

В литературе последних лет биогенным аминам отводится большая роль в иммуномодулирующих эффектах (1,3,4,6). Обладая подчас одинаковым механизмом действия на лимфоциты, биогенные амины вызывают очень непохожие реакции в иммунной системе.

Это связано с тем, что рецепторы к отдельным биогенным аминам экспрессируются на различных субпопуляциях лимфоцитов, отличающихся друг от друга не только степенью дифференцировки, но антигенными и функциональными характеристиками.

Уже давно известно, что стрессовые ситуации могут служить причиной подавления иммунных функций организма, например снижения его способности преодолевать инфекции. Имеются многочисленные данные, указывающие на взаимодействие между нервной, эндокринной и иммунной системами. В общем виде два основных пути, посредством которых процессы, происходящие в центральной нервной системе, могут отражаться на иммунной функции, состоят в следующем. Большая часть лимфоидных тканей имеет прямую симпатическую иннервацию – как кровеносных сосудов, проходящих через лимфоидную ткань, так и непосредственно самих лимфоцитов. Нервная система прямо или опосредованно контролирует секрецию различных гормонов, в частности кортикостероидов, гормона роста, тироксина и адреналина (7).

Лимфоциты экспрессируют рецепторы для многих гормонов, медиаторов и нейропептидов.

В литературе имеются данные о влиянии биогенных аминов на функцию вспомогательных клеток иммунного ответа (8). Адреналин снижает цитотоксическую активность перитонеальных макрофагов в отношении опухолевых клеток и клеток, инфицированных вирусом герпеса (9).

Работами L.Lang et al. (10), K.Hellstrand, S.Hermansson (11-15) было установлено наличие рецепторов к гистамину и серотонину на мембране клеток, относящихся к большим гранулярным лимфоцитам.

На этом роль биогенных аминов в физиологических и патогенетических свойствах больших гранулярных лимфоцитов не исчерпывается.

Работами И.П.Балмасовой было показано, что биогенные амины входят в состав гранул этих клеток, а процессы высвобождения и накопления биогенных аминов в гранулах могут характеризовать состояние функциональной активности больших гранулярных лимфоцитов.

В 1990 году Балмасовой И.П. (16) был разработан и предложен нагрузочный тест с моноаминами для определения функциональной активности БГЛ. По предложенной методике лимфоцитарно/макрофагальная фракция гепаринизированной крови человека инкубировалась с адреналином, серотонином и гистамином в концентрации 10<sup>-4</sup> М. Результат учитывался с применением гистохимического метода Севки по различному окрашиванию гранул. Для оценки функционального состояния изучаемой субпопуляции (БГЛ) был предложен суммарный коэффициент содержания биогенных аминов на одну клетку.

Таким образом, установлено, что применение в иммунодиагностике нагрузочных тестов с биогенными аминами дает возможность оценивать функциональную активность больших гранулярных лимфоцитов, а влияние этих веществ на экспрессию фенотипических маркеров лимфоцитов остается пока невыясненным.

Оценка результатов иммунологического мониторинга с определением субпопуляционного состава лимфоидно-макрофагальных клеток крови здоровых людей должна проводиться с учетом пола и возраста обследуемых. Одним из информативных показателей иммунного статуса является количество больших гранулярных лимфоцитов, а также содержание в их гранулах биогенных аминов, которое при определении в нагрузочном тесте отражает аминорегуляторные свойства этих клеток и выражается количественно в форме коэффициента СКА. Количество больших гранулярных лимфоцитов и содержание в них биогенных аминов зависит от пола и возраста обследуемых, корреляционно связано с содержанием CD8<sup>+</sup>- и CD16<sup>+</sup> субпопуляций лимфоцитов в крови. Биогенные амины проявляют иммуномодулирующие качества *in vitro* в форме непосредственного влияния на экспрессию CD-маркеров: адреналин снижает число CD8<sup>+</sup>-клеток и увеличивает число HLA-DR<sup>+</sup>-клеток в тест-системе, серотонин и гистамин угнетают экспрессию CD3-, CD4-, CD8-маркеров. Макрофаги опосредуют влияние биогенных аминов на содержание последних в гранулах БГЛ: в присутствии адреналина и гистамина они уменьшают долю серотонинпозитивных клеток, а в присутствии серотонина снимают угнетающее влияние последнего на содержание в гранулах БГЛ адреналина и гистамина. Функциональное состояние больших гранулярных лимфоцитов, выраженное величиной СКА, является определяющим для проявления аминорегуляторных качеств БГЛ в отношении прочих лимфоидных субпопуляций: избирательная

аминорегуляция у этих клеток в наибольшей степени проявляется при высоких значениях коэффициента, мало зависит от вида амина при его низких значениях и модулирует в значительных пределах в соответствии с видом амина при средних значениях СКА.

На базе Кировской государственной медицинской академии в мае-июне 2006 года проводилось исследование функциональной активности и аминорегуляторных свойств естественных киллерных клеток у лиц юношеского возраста в условиях психоэмоционального стресса.

#### **Цель исследования.**

Целью исследования было изучение психоэмоционального и иммунного статуса здоровых лиц, определение корреляции между содержанием в крови гормонов, нейромедиаторов и различных субпопуляций лимфоидных клеток.

#### **Материалы и методы исследования.**

Обследованы студенты лечебного, педиатрического факультетов и факультета экспертизы и товароведения Кировской ГМА в период с мая по июнь 2006 года. Возраст молодых людей варьировал от 17 до 23 лет. Всего были обследованы 130 человек.

Все обследуемые прошли комплексное обследование, включающее консультативный осмотр терапевта, антропометрию, измерение артериального давления и частоты сердечных сокращений, общий анализ крови, биохимический анализ крови, иммуноферментный анализ с определением уровня ТТГ, кортизола и циркулирующих иммунных комплексов, иммунологическое исследование крови, определение уровня биогенных аминов методом иммуноферментного анализа, а также определение психотипов с помощью ряда психологических тестов в покое (май) и в день экзамена (июнь).

Полученные результаты обрабатывали стандартными методами вариационной статистики с использованием пакета программ прикладного статистического анализа Microsoft для Windows.

#### **Результаты.**

Результаты исследований показали отклонения от нормальных значений практически у всех обследованных студентов по уровням кортизола, инсулиноподобного гормона и гистамина. У 14% юношей уровень кортизола повышен, у 35% - снижен. В группе девушек повышение уровня кортизола выявлено у 4%, снижение – у 41%. Показатели уровня инсулиноподобного гормона повышены среди 12% юношей и 16% девушек, снижены у 9% юношей и у 12% девушек. Значения серотонина в обеих группах находились в пределах нормы у всех обследованных. Выявлено повышение уровня гистамина среди юношей в 97% случаев и среди девушек в 98% случаев. Уровень адреналина находился в пределах нормальных значений практически у всех обследованных (повышение в группе юношей у 6%, в группе девушек у 4%).

Таким образом, корреляционных связей между

количественным содержанием описанных биогенных аминов и гормонов не выявлено, существенных сдвигов в системе биогенных аминов не наблюдается в обследованной группе.

Было обнаружено увеличение числа лиц с повышением количества Т-лимфоцитов после стрессовой ситуации с 15% до 41% у девушек и с 18% до 26% у юношей, в то время как показатели количества В-лимфоцитов оставались относительно стабильными. Снижение количества Т-хелперов до психоэмоционального стресса наблюдалось у 31% девушек и 21% юношей, после – соответственно у 15% и 32%. У 78% девушек и 85% юношей наблюдалось снижение количества НК-клеток после стресса (для сравнения – до стресса уменьшение числа киллерных клеток было у 36% девушек и 47% юношей). Параллельно можно отметить исходно низкий уровень IgA и, наоборот, высокий уровень IgG и IgM.

#### **Литература**

1. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Винокур Л.И., Гордон Б.М., Леонова Л.К., Любовцева Л.А., Сысоева Л.А., Гунин А.Г. Посредническая роль биогенных аминов в тканевых адаптациях иммунного ответа и гормонально - клеточных взаимоотношений // Сб. тр. Адаптационные процессы. - 1992. - С. 54 - 56.
2. Гущин Г.В. Адренергические и холинергические механизмы регуляции функции лимфоидных клеток: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. С.- Петербург, 1992. 36с.
3. Девойно Л.В., Ильюченко Р.Ю. Моноаминергические системы в регуляции иммунных реакций. // Новосибирск: Наука. - 1983. С. 232
4. Корнева Е.А, Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. Л: Наука, 1988. - 251с.
5. Корнева Е.А. Взаимодействие нервной и иммунной систем/; Ростов - н/Д., 1990., С12-17, 52-63.
6. Leucocytes, lymphocytes, activation parameters and cell adhesion molecules in middle-distance runners under different training conditions. AU: Baum-M; Liesen-H; Enneper-J. Int-J-Sports-Med. 1994 Oct; P.46-53.
7. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. - М.: Мир, 2000., с. 246.
8. Brann D. W. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. - 1995. - Vol. 52. - P. 113-133.
9. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. - М.: Мир., 1989. - С. 648, С. 653.
10. Large granular lymphocyte leukemia. A study of nine cases in a Chinese population. AU: Kwong-YL; Wong-KF; Chan-LC; Liang-RH; Chan-JK; Lin-CK; Chan-TK. Am-J-Clin-Pathol. 1995 Jan; P.103-104.
11. Hellstrand R., Hermodsson S. Histamine H2-receptor-mediated regulation of human natural killer cell activity // J.Immunol. - 1986. - Vol.137. - N 2. - P.656-660.
12. Hellstrand R., Hermodsson S. Role of serotonin in the regulation of human natural killer cell cytotoxicity //

- J.Immunol. - 1987. - Vol.139. - N 3. - P.869-875.
13. Hellstrand K., Kjellson B., Hermodsson S. Monocyte-induced down-modulation of CD16 and CD56 antigens on human natural killer cells and its regulation by histamine H2-receptors // Cell-Immunol. - 1991. - Vol.138. - N 1. - P.44-54.
14. Hellstrand K., Kylefjord H., Asea A., Hermodsson S. Regulation of the natural killer cell response to interferon-alpha by biogenic amines // J.Interferon.Res. - 1992. - Vol.12. - N 3. - P.199-206.
15. Hellstrand K., Hermodsson S. Serotonergic 5-HT1A receptors regulate a cell contact-mediated interaction between natural killer cells and monocytes // Scand.J.Immunol. - 1993. - Vol.37. - N 1. - P.7-18.
16. Балмасова И.П. Биогенные амины и функциональная активность больших гранулярных лимфоцитов: Дис. ... докт. мед. наук. - Казань, 1990. - 340 с.

Магомедов М.А., Гуляева С.Ф.,  
Спицын А.П., Царёв Ю.К.

**ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА  
ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА ПЛАЗМЫ  
КРОВИ БОЛЬНЫХ ИБС, ПОСЛЕ  
ПЕРЕНЕСЕННОГО ОСТРОГО КОРОНАРНОГО  
ОСЛОЖНЕНИЯ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава»,  
МУЗ «Кировская городская поликлиника № 6»,  
г. Киров*

В настоящее время накоплен значительный опыт реабилитационно-восстановительного лечения больных ишемической болезнью сердца (ИБС). Во многих странах мира интенсивно ведутся исследования по научному обоснованию главных принципов и методов реабилитации кардиологических больных, по созданию различных вариантов лечебно-тренирующих программ. Как известно, основополагающим моментом в проведении реабилитационных мероприятий у больных ИБС после острых коронарных осложнений (ОКО) являются адекватно подобранные физические нагрузки [1, 2, 5, 8]. Имеется ряд работ, свидетельствующих о благоприятном воздействии физических упражнений на организм больного ИБС [1,5, 8]. Свидетельство к этому кооперативное Российское исследование по изучению эффективности физической реабилитации у больных ИБС, перенесших ОКИ в условиях практического здравоохранения [1].

Требуют дальнейшего изучения и представляет особую актуальность вопросы оценки влияния физических тренировок на липидный спектр у больных ИБС, перенесших ОКИ, на амбулаторно-поликлиническом этапе реабилитации, так как он определяет прогноз больного [7]. Статистическая обработка проводилась с помощью пакета статистических программ «Биостатистика».

Материал и методы исследования: в исследование были включены 120 больных, перенесших ОКИ. Через 2 мес. после развития ОКИ по принципу случайной выборки больные были разделены на основную (60 человека) и контрольную (60 человек) группы, сопоставимые по возрасту и полу. Средний возраст пациентов основной группы составил -  $57,3 \pm 7,8$  года, контрольной -  $58,6 \pm 7,4$  года. Все пациенты основной и контрольной групп получали стандартное медикаментозное лечение с учетом показаний и противопоказаний. В основной группе в дополнение к терапии в течение 6 месяцев проводили физические тренировки по программе, разработанной ГНИЦ ПМ Минздравсоцразвития РФ (Аронов Д. М.). Индивидуальный подбор тренировочной программы осуществляли с учетом функциональной классификации по результатам пробы с дозированной физической нагрузкой (Аронов Д. М. и соавт., 1980) с последующим формированием реабилитационных групп. В качестве самостоятельных форм использовали утреннюю гимнастику и дозированную ходьбу по ровной местности и лестнице по индивидуально разработанной программе в режиме минимальной тренировочной нагрузки.

Целью исследования: Изучить влияние физических тренировок на показатели липидного спектра плазмы крови больных ИБС, после перенесенного острого коронарного осложнения.

При изучении липидного спектра у больных через 2 месяца после ОКО было выявлено повышенное содержание общего холестерина (ОХС), ХС ЛПНП, триглицеридов и пониженное содержание ХС ЛПВП.

Результаты обследования через 2 месяца у больных ИБС после перенесенного острого коронарного осложнения и динамику показателей липидов плазмы крови основной и контрольной групп отражены в таблице.

Динамика показателей липидов плазмы крови в основной группе на фоне стандартной терапии и физических тренировок и стандартной терапии в контрольной отражена в таблице 1.

Примечание: \* - различия по сравнению с исходным уровнем достоверны  $p < 0,05$ ; ^ - различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,05$ ); x- различия по сравнению с исходным уровнем достоверны ( $p < 0,001$ ); #- различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,001$ ); ОХС – общий холестерин, ХС ЛПНП – холестерин липопротеиды низкой плотности; ХС ЛПВП - холестерин липопротеиды высокой плотности; ТГ – триглицериды; ИМТ – индекс массы тела.

Через 2 месяца после ОКО показатели липидов плазмы крови и ИМТ в основной и контрольной группе достоверно не различались, следовательно, группы были сопоставимы.

Через 6 и 12 месяцев стандартной терапии и физических тренировок в основной группе отмечалось достоверное снижение ОХС ( $6,2 \pm 0,19$  через 6 месяцев

Показатели липидного спектра (мм/л)	Основная группа			Контрольная группа		
	2 мес	6 мес	12 мес	2 мес	6 мес	12 мес
ОХС	6,94 ±0,26	6,2 ±0,19#*	4,7±0,11#*	7,16±0,21	7,05±0,18	6,54±0,14
ХС ЛПНП	3,84 ±0,12	3,42±0,10^*	2,86±0,05#*	3,69±0,12	3,56±0,096	3,45±0,08
ХС ЛПВП	0,99± 0,06	1,36±0,05#*	1,55 ±0,04#*	1,02 ±0,05	1,13±0,08	1,21±0,08
ТГ	2,3 ±0,12	1,97±0,08#*	1,71±0,02^*	1,8±0,02	1,78±0,01	1,79±0,09
ИМТ	27,8±0,3	25,9±0,3#*	23,8±0,3#*	28,2±0,3	31,6±0,3	31,8±0,3

Примечание: \* - различия по сравнению с исходным уровнем достоверны  $p < 0,05$ ); ^ - различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,05$ ). □ - различия по сравнению с исходным уровнем достоверны ( $p < 0,001$ ); # - различия с контрольной группой достоверны ( $p < 0,001$ ); ОХС – общий холестерин, ХС ЛПНП – холестерин липопротеиды низкой плотности; ХС ЛПВП - холестерин липопротеиды высокой плотности; ТГ – триглицериды; ИМТ – индекс массы тела.

против 6,94±0,26 через 2 месяца после ОКО и 4,7±0,11 через год исследования, ХС ЛПНП (3,422±0,10 через 6 месяцев 2,86±0,05 через год исследования против 3,84±0,12 в начале исследования) и триглицеридов (1,97±0,08 через 6 месяцев и 1,71±0,02 к 12 месяцам исследования соответственно против 2,3±0,12 в начале исследования). А также отмечалось повышение ХС ЛПВП (1,36±0,05 через 6 месяцев и 1,55±0,04 к 12 месяцам исследования соответственно против 0,99±0,06 в начале исследования). В контрольной группе достоверных изменений не выявлено. Индекс массы тела в основной группе достоверно снизился с 27,8±0,3 до 25,9±0,3 к 6 месяцам тренировок и продолжался снижаться к концу года 23,8±0,3, а в контрольной группе имела тенденция к увеличению с 28,2±0,3 до 31,6±0,3 к 6 месяцам и 31,8±0,3 к концу года.

Данные соответствуют исследованиям других учёных. Так, в исследовании R. F. DeBusk и соавт., а также в Российском кооперативном исследовании, 2006г.[1], в котором у больных после перенесенного ИМ в течение 1 года применялись ФТ и гиполипидемическая терапия, при сравнении с контрольной группой было зафиксировано достоверное снижение уровня ОХС и ХС ЛПНП без выраженных отличий по уровню ТГ и ХС ЛПВП. Приблизительно такие же результаты были получены G. Schuler и соавт. при использовании ФТ и диеты. Однако различие заключалось в том, что снижение уровня ТГ по сравнению с уровнем в контрольной группе оказалось достоверным. В исследовании F. Fletcher и соавт. через полгода домашних тренировок (5 раз в неделю) в сочетании с соблюдением диеты достоверной разницы по уровням ОХС и ХС ЛПНП при сравнении с контрольной группой не выявлено.

Таким образом, полученные в настоящем исследовании данные о динамике липидов плазмы соответствуют исследованиям других учёных. Все это подтверждает известный вывод, что ФТ в сочетании со стандартной медикаментозной терапией включая статины, достоверно уменьшают степень атерогенной дислипидемии, но не могут быть рекомендованы в качестве монотерапии для коррекции дислипидемии.

#### Литература

1. Аронов Д. М., Красницкий В.Б., Бубнова М.Г. Российское кооперативное исследование – Физические

тренировки в комплексной реабилитации и вторичной профилактике на амбулаторно-поликлиническом этапе у больных ИБС, после ОКО. // Терапевтический архив. - том 78. - 2006. - С. 33-37

2. Аронов Д.М., Оганов Р.Г. // Рос. Кардиол. журн. - 2001. - №3. - С.4-9

3. Гаркави Л. Х., Квакша Е. Б., Кузьменко Т. С. // Антистрессорные реакции и активационная терапия. - М., 1998. - 655с.

4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М., 1999. - 459с.

5. Мальчикова С.В., Гуляева С.Ф., Магомедов М.А. Отдаленные результаты реабилитации у больных, перенесших инфаркт миокарда, с использованием ФТ. // Реабилитация и вторичная профилактика в кардиологии. Материалы VII Российской науч. конф. с международным участием, Москва, 15-17 мая 2007. - С. 161.

6. Гуляева С.Ф., Спицин А.П., и др. Модуляция ФТ вегетативной реактивности и адаптации к стрессу. // От диспансеризации к высоким технологиям. // Российский национальный конгресс кардиологов. Материалы конгресса, Москва, 10-12 октября 2006. - С.113.

7. Усманходжаева А, Баширова А.И. Садыкова Г.Р, Таджибаева Х.Х. Спектр фосфолипидов в органах-мишенях при стрессе // Патфизиология и экспериментальная терапия. -1995. - №3. - С6-48.

8. Bellosilo A. // Реабилитация и вторичная профилактика в кардиологии, Материалы IV Российской науч. конф. с международным участием, Москва, 16-18 мая 2001. - IV 2001. - С. 4-8

#### Плаксина А.Г., Чернышев А.К., Высокогорский В.Е. ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ПРОТЕОГЛИКАНОВ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ГНОЙНО- ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Росздрава», г. Омск

Гнойно-воспалительные заболевания у детей являются одной из актуальных проблем детской хирургии. Они представляют собой разновидность инфекционного процесса, возникающего при конфликте между организмом и инфекционным агентом и развивающегося на фоне иммунодефицита (5). Одной из систем, участвующих в патохимических процессах развития гнойно-воспалительных заболеваний, является система межклеточного

матрикса. Углевод-белковые компоненты этой системы выполняют структурную роль, участвуют в процессах связывания различных соединений эндо- и экзогенного происхождения, обезвреживании токсических веществ, участвуя в реакциях конъюгации, межклеточных взаимодействиях, клеточной адгезии, миграции, пролиферации, модуляции биологического ответа на действие различных агентов(1).

Представляет интерес определение уровня компонентов протеогликанов в сыворотке крови при различной степени тяжести гнойно-воспалительных состояний у детей раннего возраста.

С этой целью исследовали сыворотку крови детей раннего возраста (до 3 лет). Контрольную группу составили 15 практически здоровых детей. Исследуемые группы представлены детьми различной степени тяжести (среднетяжелой, тяжелой, крайне тяжелой) гнойно-воспалительных состояний. Определение концентрации глюконовой кислоты (ГК) и гликозаминогликанов (ГАГ) проводили с помощью карбазольной реакции Дитте в модификации Шараева П.Н. (1990).

Для статистической обработки результатов использовались непараметрические критерии (медиана, верхний и нижний квартили, критерий Манна-Уитни – рU) с помощью программы Statistica 6.0.

При исследовании компонентов протеогликанов в сыворотке крови детей обнаружено увеличение уровня ГК и ГАГ при гнойно-воспалительных состояниях. Однако концентрация ГК в сыворотке крови больных в группах со средне-тяжелым и тяжелым состоянием статистически не отличается от показателей контрольной группы (рU=0,057 и рU= 0,053, соответственно). В то же время в группе с крайне тяжелым течением уровень ГК статистически значимо увеличивается в сравнении с показателями контрольной группы на 250 % (рU<0,001) (табл. 1).

При гнойно-воспалительных состояниях в большей степени наблюдалось увеличение концентрации ГАГ. Так, уровень ГАГ в группе со средней степенью тяжести статистически значимо превышает показатели контрольной группы на 162 % (рU=0,048),

Еще в большей степени выявлено увеличение концентрации ГАГ в группе с тяжелым течением на 200 % (рU= <0,001) в сравнении с показателями контрольной группы. В группе с крайне тяжелым течением их концентрация увеличивается в сравнении

с данными контрольной группы на 304 % (рU=<0,001).

Увеличение количества ГК и ГАГ в зависимости от степени тяжести состояния показано при хронической обструктивной болезни легких у взрослых пациентов (2), полиартрите, различных формах поражения опорно-двигательного аппарата (3), при развитии сахарного диабета I и II типов (4). Авторы рассматривают эти изменения как отражение степени участия компонентов межклеточного матрикса в развитии воспалительного процесса, причем уровень метаболитов протеогликанов в сыворотке крови достоверно увеличивается по мере нарастания воспалительных явлений в организме и характеризует остроту и тяжесть заболевания.

Полученные нами результаты свидетельствуют об участии углеводных компонентов протеогликанов в развитии гнойно-воспалительных состояний. Увеличение концентрации ГК и ГАГ в сыворотке крови указывает, вероятно, на преобладание процессов катаболизма протеогликанов и может отражать степень тяжести гнойно-воспалительного состояния.

#### Выводы

1. Выявлено статистически значимое увеличение концентрации глюконовой кислоты и гликозамингликанов в сыворотке крови при гнойно-воспалительных состояниях.
2. Увеличение концентрации компонентов протеогликанов в сыворотке крови отражает степень тяжести состояния организма.

#### Литература

1. Слущкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани/ Слущкий Л.И. - Л.: «Медицина», 1969.- с. 8-13.
2. Вахрушев Я.М. Оценка метаболизма основного вещества соединительной ткани при хронической обструктивной болезни легких/ Вахрушев Я.М., Ермаков Г.И., Шараев П.Н.// Терапевтический архив.- 2006.- № 3.- с.13-16.
3. Бакулев А.Л. Некоторые клинико-биохимические и иммунологические аспекты метаболизма основного вещества соединительной ткани при болезни Рейтера/ Бакулев А.Л., Суворов А.П., Карякина Е.В.// Вестник дерматологии, венерологии.- 1998.- №6.- с.23-26
4. Притыкина Т.В. Углеводно-белковые комплексы сыворотки крови больных сахарным диабетом при злоупотреблении алкоголем: дис. ... канд. мед. наук./ Притыкина Т.В.- Омск, 2005.- с.120
5. Гнойно-воспалительные заболевания у детей: учеб. пособие/ под ред. Б.Н. Давыдова и Н.Г. Румянцевой. - Тверь: РИЦ ТГМА, 2006.- с.7

Табл. 1 Содержание ГК и ГАГ (ммоль/л) в сыворотке крови больных при разной степени тяжести.

Показатели	Контрольная группа		Средняя степень		Тяжелая степень		Крайне тяжелая степень	
	ГК	ГАГ	ГК	ГАГ	ГК	ГАГ	ГК	ГАГ
<b>Me</b>	<b>0,192</b>	<b>0,605</b>	<b>0,360</b>	<b>0,980</b>	<b>0,384</b>	<b>1,210</b>	<b>0,480</b>	<b>1,840</b>
L.q.	0,144	0,432	0,312	0,634	0,180	0,793	0,250	1,210
H.q.	0,348	0,835	0,588	1,790	0,610	1,590	0,860	2,765
<b>N</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>45</b>	<b>45</b>	<b>44</b>	<b>44</b>
<b>pU</b>			<b>0,057</b>	<b>0,048</b>	<b>0,053</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>

Примечание: Me-медиана, L.q.- нижний квартиль, H.q.-верхний квартиль, n- количество случаев, значение рU в сравнении с показателями контрольной группы.



Походенько-Чудакова И.О., Шевела Т.Л., Оганова Е.Г.  
**УРОВНЕНЬ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ CaI+ В  
 СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДО И ПОСЛЕ  
 ПРОВЕДЕНИЯ НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ  
 ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ**

*Учреждение Образования «Белорусский  
 государственный медицинский университет»,  
 Учреждение здравоохранения «9-ая городская  
 клиническая больница г. Минска»,  
 Белорусский Сотрудничающий Центр Европейской  
 Ассоциации черепно-челюстно-лицевых хирургов,  
 Минск, Республика Беларусь*

Кость – обызвествленная ткань, состоящая из клеток, погруженных в твердое основное вещество. Около 30% этого вещества составляют органические соединения в форме коллагеновых волокон. Остальные 70% приходятся на долю неорганических компонентов, главным из которых является гидроксипатит. Его кристаллы, в основном состоящие из кальция и фосфата, могут также включать карбонат, фторид и другие различные минералы в следовых количествах, значения которых варьируют в зависимости от эндо- и экзогенных условий и воздействий. Соли фосфата кальция в костной ткани содержатся, как правило, в двух основных формах: 1) легко обмениваемого пула, находящегося в динамическом равновесии с внеклеточной жидкостью; 2) старой структурной кости, где рассматриваемые соединения содержатся в виде гидроксипатита, кристаллы которого с трудом мобилизуются (подвергаются обмену с внеклеточной жидкостью) (В.П.Торбенко, Б.С.Касавина, 1977; Т.Т.Березов, Б.Ф.Коровкин, 1998; Риггз Б. Лоренс, Л.Джозеф, Ш.Мелтон, 2000). В связи с указанным, вполне закономерно внимание, уделяемое специалистами - медиками, уровню содержания ионов кальция и его соединений в жидкостных средах организма при патологических процессах костной ткани (И.И.Дедов, Е.И.Макарова, Л.Я.Рожинская, 1999; E.P.Frankenburg, S.A.Goldstein, T.W.Bauer et al., 1998). При этом публикации, посвященные изучению параметров кальция в жидкостных средах организма при проведении дентальной имплантации, как в эксперименте, так и в клинике практически отсутствуют, что и определяет актуальность представленного исследования.

**Цель работы** - изучение уровня содержания ионов CaI+ в сыворотке крови до и после проведения непосредственной дентальной имплантации в эксперименте.

**Объекты и методы.** Исследование было выполнено на 37 кроликах породы шиншилла одного пола и массы тела. Все экспериментальные животные были разделены на две группы. Первая группа включала 21 животное, у которых однократно производился забор крови с целью исследования уровня содержания ионов CaI+. Указанная группа являлась контролем. Вторую

группу составили 16 кроликов, которым под внутривенным наркозом 10% раствором тиопентала натрия и инфильтрационной анестезией Sol. Lidocaini 2% - 2 ml. в области операционного поля, были выполнены операции удаления правого центрального нижнего резца с последующей непосредственной дентальной имплантацией с использованием имплантатов системы «Верлайн». В данной группе животных определение уровня содержания ионов CaI+ выполняли в динамике: перед оперативным вмешательством, на 3, 14 и 21 сутки после операции. Для этой цели пробы венозной крови центрифугированием в течение 15 минут разделяли на сывороку (надосадочную фракцию) и кровяной сгусток. Уровень содержания ионов CaI+ устанавливали в сыворотке крови непосредственно после проб крови на фракции при помощи анализатора электролитов АВЛ 984-S фирмы Graz (Австрия). Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики на персональной ЭВМ с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» с определением среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического (m), достоверности различий между средними значениями измеряемых величин оцениваемой по критерию Стьюдента-Фишера (t).

**Результаты.** У животных первой группы уровень содержания ионов CaI+ был  $0,94 \pm 0,01$ . Во второй группе у 13 экспериментальных животных (81%) на 3 сутки после операции указанный показатель равнялся  $0,79 \pm 0,07$ . Данный результат был достоверно ниже исходного уровня ( $p < 0,05$ ). На 14 сутки после вмешательства уровень содержания ионов CaI+ в сыворотке крови начал расти и составил  $0,86 \pm 0,02$ . Однако данный результат продолжал сохранять различие с контролем ( $p < 0,001$ ) и не имел значительных отличий от уровня предшествующего исследования. Интересующий параметр нормализовался только к 21 суткам наблюдения и составил  $1,02 \pm 0,02$ , что достоверно отличалось от исходного значения ( $p < 0,001$ ) и не демонстрировало различий с контролем. Следует подчеркнуть, что воспалительные явления и подвижность имплантата на 21 сутки в данной группе отмечалась у 3 экспериментальных животных (19%). Именно у этих животных уровень содержания ионов CaI+ в сыворотке крови после оперативного вмешательства не претерпевал какой-либо позитивной динамики.

**Вывод.** Изложенный материал дает основания заключить, что уровень содержания ионов CaI+ в сыворотке крови может служить дополнительным информативным прогностическим критерием при проведении дентальной имплантации.

Радомская В.М., Кузнецова О.Ю., Дукович Е.В.,  
Бабичев А.В., Кизирова О.А.  
**ГРУППЫ КРОВИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ  
И ДОНОЗОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

ГОУ ВПО «Самарский ГМУ Росздрава», г. Самара

На большой репрезентативной выборке выявлена взаимосвязь вероятности реализации ряда патологических состояний от групп крови по системе АВО. Установлены некоторые метаболические закономерности, ассоциированные с групповой принадлежностью. На популяционном уровне определен спектр распределения групп крови по системе АВО у клинически здоровых жителей региона: среди мужчин О(І) – 32,9%, А(ІІ) – 34,3%, В(ІІІ) – 22,9%, АВ(ІV) – 9,9%; среди женщин О(І) – 33,3%, А(ІІ) – 34,1%, В(ІІІ) – 23,4%, АВ(ІV) – 9,2%.

Установлено, что среди ВИЧ-инфицированных преобладают лица с О(І) группой крови – 40,3%, при гепатите В с А(ІІ) – 40,4%, при гепатите С с А(ІІ) – 36,0%, сочетанное носительство ВИЧ-инфекции и гепатита С – О(І) – 36,9%. При вирусносительстве гепатитов В и С выявлены особенности метаболизма, обусловленные спецификой возбудителя и групповой принадлежностью крови по системе АВО. При гепатите В при всех группах крови повышено содержание гамма-глобулинов, что не характерно для гепатита С, за исключением доноров с В(ІІІ) группой крови. У них отмечен самый высокий уровень общего белка (+17,1%), креатинина (+41,6%), гипоальбуминемия, не зависящие от типа возбудителя. Метаболической предпосылкой инфицирования у лиц с этой группой крови может служить наиболее низкий уровень общего белка и иммуноглобулинов по сравнению с обследованными с другими группами крови.

Установлено, что наибольший риск заболевания ониомикозом существует у людей с А(ІІ) группой крови, при этом в ротовой жидкости у них наблюдается по сравнению с больными другой групповой принадлежности наиболее высокое содержание мочевой кислоты и самая низкая активность амилазы и лактатдегидрогеназы.

Выяснено распределение больных железodefицитной анемией по группам крови: О(І) – 31,8%, А(ІІ) – 29,1%, В(ІІІ) – 27,0, АВ(ІV) – 12,1%. Наибольший процент пациентов с О(І) группой крови связан с характерным для представителей этой группы дефицитом белковых и минеральных компонентов. При О(І) группе крови определяется повышение активности аланинаминотрансферазы, тенденция к снижению содержания общего белка, альбумина и  $\beta_1$  – глобулинов, увеличению содержания  $\gamma$ -глобулинов. Среди пациентов с тяжелым течением больные со А(ІІ) группой крови составляют большую часть, метаболической предпосылкой такого варианта течения может быть

наименьшее содержание альбумина в крови в норме.

Исследование контингента беременных женщин показало следующее распределение в зависимости от групповой принадлежности крови: при физиологической беременности – О(І) – 30%, А(ІІ) – 34%, В(ІІІ) – 27%, АВ(ІV) – 9%; при осложненной гестозом беременности – О(І) – 29%, А(ІІ) – 43%, В(ІІІ) – 19%, АВ(ІV) – 9%.

Установлено, что гестозы достоверно чаще встречаются у беременных со А(ІІ) группой крови (43%). Особенностью клинического течения беременности у них является высокая встречаемость угрозы прерывания беременности (44%), инфекций, передаваемых половым путем (20%), аномалии родовой деятельности (8%).

При физиологической беременности выявлены на спектрограммах сыворотки крови дополнительные максимумы абсорбции, отражающие появление биологически активных веществ, связанных с гестацией. Клеточный состав крови характеризуется снижением количества тромбоцитов и увеличением числа лейкоцитов. В крови отмечено снижение содержания общего белка (-12%,  $p < 0,05$ ), увеличение содержания железа (+25%,  $p < 0,05$ ).

Выявлено, что метаболическими предпосылками развития гипотрофии плода (37%) при физиологической гестации является снижение содержания гемоглобина в крови женщин с В(ІІІ) группой крови. От беременных с другими группами крови их отличает низкое содержание холестерина в крови. У женщин с АВ(ІV) группой крови, у которых рождались дети только с нормальной массой тела, отмечено минимальное содержание мочевины и более высокий уровень холестерина, в-липопротеинов, что отражает четкое формирование положительного азотистого баланса, обеспечивающего наиболее оптимальные условия внутриутробного развития плода.

С вероятностью 86% гипотрофия плода развивается у беременных с В(ІІІ) группой крови с признаками гестоза и массой тела женщины менее 55 кг.

Следовательно, обоснованным является учет биологических вариаций клинически важных анализов, связанных с различной АВО-принадлежностью крови при оценке метаболического статуса.

Целесообразно также учитывать групповую принадлежность крови при проведении популяционных скрининговых исследований с целью формирования групп повышенного риска реализации патологических состояний.

Реук С.Э., Терёхина Н.А.

**ОСТРОФАЗОВЫЕ БЕЛКИ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ДЕТЕЙ ПРИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ**

ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия Росздрава им. акад. Е.А. Вагнера», г. Пермь

В последние годы наблюдается неуклонный рост числа заболеваний глаз, вызванных вирусом простого герпеса (ВПГ). До 70% от числа всех вирусных кератитов приходится на долю офтальмогерпеса, что сопровождается инфильтрацией роговицы с потерей её прозрачности и понижением остроты зрения.

Проблема неинвазивной диагностики заболеваний глаз в последние годы приобретает особую актуальность. Особое значение это имеет в детской практике, когда диагностика ряда заболеваний, особенно у детей младшего возраста, является трудноразрешимой задачей.

Известно, что слеза играет важную роль в метаболических процессах, протекающих в тканях переднего отдела глаза. Химический состав слезной жидкости изменяется при различных заболеваниях воспалительного характера, затрагивающих роговицу, конъюнктиву и сосудистую оболочку глаза, которые сопровождаются деструкцией роговицы и нарушением проницаемости сосудов конъюнктивы. Белки в слезу в основном секретируются слезными железами. Отмечены возрастные особенности белкового состава слезы взрослых людей. Установлены изменения белкового состава слезы взрослых при герпетическом кератите [2]. Изучение состава слезной жидкости у детей связано с новыми диагностическими возможностями этого заболевания. Изменяется белковый состав сыворотки крови больных герпетическим кератитом, что отражает остроту и тяжесть заболевания; при этом содержание общего белка и альбуминов снижается, а концентрация белков в глобулиновых фракциях увеличивается. Протеинограмма свидетельствует о дезорганизации систем, продуцирующих сывороточные белки.

Целью данной работы явилось изучение содержания белков острой фазы в слезной жидкости детей при герпетическом кератите.

Слезотечение стимулировали поднесенным к носу комочком ваты, смоченным 10% раствором нашатырного спирта. Концентрация общего белка, С-реактивного белка (СРБ), кислого  $\alpha_1$ -гликопротеина (орозомукоида) и церулоплазмينا исследована у 22 детей больных различными формами герпетического кератита и 35 здоровых детей в возрасте от 2 до 14 лет. Общий белок определяли биуретовым методом [5], орозомукоид – методом иммунохимического анализа [3], СРБ – турбидиметрическим методом [4], церулоплазмин – спектрофотометрически по методу [1].

Количество белка в слезе зависит от скорости слезотечения и способа получения слезной жидкости. При микротравме тканей глаза повышается концентрация белка в слезе [2]. В слезной жидкости здоровых детей концентрация общего белка на порядок ниже, чем в сыворотке крови. Различий в концентрации общего белка слезы мальчиков и девочек не обнаружено. Не установлено достоверных отличий концентрации белка в слезной жидкости здоровых детей разного возраста. При герпетическом кератите в слезе в 1,5 раза снижается уровень общего белка в период разгара заболевания ( $p < 0,01$ ), причем как при поверхностных, так и при глубоких формах поражения роговицы ВПГ (рис.1). Уменьшение концентрации общего белка в слезе детей связано, очевидно, со значительным усилением слезотечения при “роговичном синдроме” в период разгара заболевания и истощением секреторных резервов слезной железы. Это подтверждают данные о снижении содержания общего белка в слезной жидкости при герпетическом кератите у взрослых.

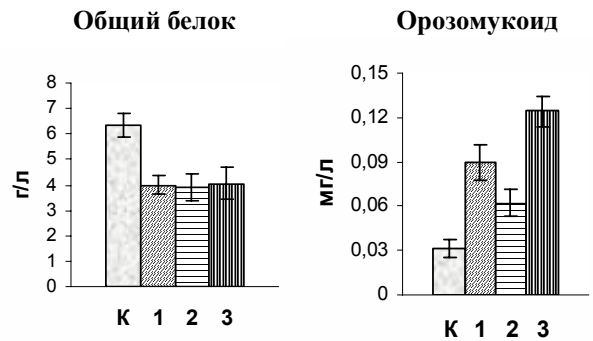


Рис. 1. Содержание белков слезы детей при герпетическом кератите

- К- контроль
- 1 – герпетический кератит
- 2 – древовидный герпетический кератит
- 3 – глубокие формы герпетического кератита

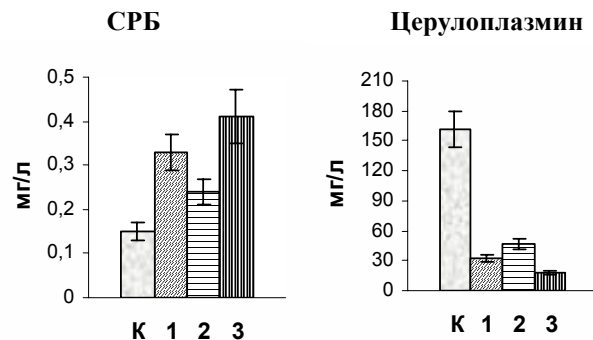


Рис. 2. Содержание белков слезы детей при герпетическом кератите

- К – контроль
- 1 – герпетический кератит
- 2 – древовидный герпетический кератит
- 3 – глубокие формы герпетического кератита

Концентрация орозоумукоида и СРБ в слезной жидкости детей и взрослых в 20 – 50 раз ниже, чем в сыворотке крови. При офтальмогерпесе содержание изученных острофазных белков в слезе детей статистически достоверно увеличивается в 2 – 3 раза по сравнению с контролем (рис. 1, 2).

При анализе по клиническим формам герпетического кератита выявлено, что больных первичным и рецидивирующим древовидным кератитом достоверно увеличивается концентрация СРБ и орозоумукоида в 2 раза, а при глубоком поражении роговицы (метагерпетический кератоиридоциклит с изъязвлением) наблюдается максимальное увеличение содержания этих белков в слезе детей – в 3 – 4 раза по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Высокое содержание орозоумукоида и СРБ в слезной жидкости может считаться прогностически неблагоприятным признаком и отражает интенсивность процессов воспаления роговицы при офтальмогерпесе у детей.

Содержание церулоплазмينا в слезе здоровых детей и взрослых в 2 – 3 раза больше, чем в сыворотке крови. При герпетическом кератите у детей содержание основного антиоксиданта плазмы крови церулоплазмينا в слезной жидкости резко снижается по сравнению с контролем (рис. 2). В наибольшей степени концентрация церулоплазмينا снижается при метагерпетическом иридоциклите с изъязвлением ( $p < 0,01$ ). При исследовании в динамике заболевания после лечения в слезе больных детей концентрация церулоплазмينا увеличивается.

Содержание церулоплазмينا у детей достоверно изменяется не только в слезе герпесинфицированного, но и контрлатерального глаза, что свидетельствует о необходимости лечения обоих глаза при офтальмогерпесе у детей.

Таким образом, поражение роговицы детей вирусом простого герпеса приводит к дисбалансу белкового обмена глаза. При герпетическом кератите в слезе детей резко снижается содержание церулоплазмينا и повышается содержание орозоумукоида и СРБ, что связано с избирательной проницаемостью гематоофтальмического барьера для белков «острой фазы». Эти изменения имеют прогностически неблагоприятное значение, отражают глубину воспаления и степень повреждения роговицы ВПГ.

#### Литература

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.- Минск : Интерпрессервис, 2003.-463 с.

2. Петрович Ю.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии / Ю.А. Петрович, Н.А. Терехина // Вопр. мед. химии.-1990.-Т. 36, № 3.-С. 13-18.

3. Ganrot P.O. Variation of the concentration of some plasma protein in normal adults, in pregnancy woman and in newborn / P.O. Ganrot // Scand. J. Clin. Lab. Invest.-1972.-V. 124, №29.-P. 83-88.

4. Kidmark C.O. The concentration of C-reactive protein in sera from healthy individuals/ C.O. Kidmark // Scan. J. Clin. Lab. Invest.-1972.-V. 124, №29.-P. 407-411.

5. Zamenhoff S. Standards for total serum proteins assays / S. Zamenhoff // Methods enzymology.-1957,- №3.-С. 696-704.

Сухоруков В.П.\*, Попов Д.В.\*\*  
**ВОЗМОЖНОСТИ РУТИННОГО  
БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ  
В ПРАКТИКЕ ОТДЕЛЕНИЯ НЕЙРОРЕАНИМАЦИИ**

\* ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава»,

\*\* МУЗ Кировская ГКБ №1 г. Киров

Оценка тяжести состояния и прогнозирование исхода течения являются одними из первоочередных задач в ведении пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Ключевую роль в этом процессе играют определение неврологического статуса и методы нейровизуализации, в то время как рутинно оцениваемые биохимические показатели плазмы крови остаются критериями тяжести сопутствующей соматической патологии.

Мы попытались оценить связь между некоторыми биохимическими параметрами плазмы и степенью тяжести церебрального инсульта, а также возможность их применения в качестве дополнительных прогностических факторов.

Материалы и методы. Провели ретроспективный анализ историй болезни 78 пациентов (39 выживших и 39 умерших), госпитализированных в отделение реанимации ГБ №1 г. Кирова с диагнозом острого нарушения мозгового кровообращения. Все пациенты получали неврологическую оценку по Скандинавской шкале, диагноз верифицировался клинически и по данным компьютерной томографии. Использовали следующие данные биохимического анализа крови: уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), гликемии, общего белка, билирубина (общей фракции), креатинина, мочевины; оценивали указанные параметры в динамике. Статистический аппарат: критерий Манна-Уитни для разницы средних, критерий Вилкоксона для оценки динамики, множественная регрессия и метод Спирмена для анализа связей, анализ выживаемости (кривые Каплана-Мейера, лог-ранговый тест), ROC-анализ для оценки прогностической значимости. Расчеты проводились с использованием пакета Statistica 6.0 (StatSoft, USA), все данные представлены в виде выборочного среднего  $\pm$  выборочное стандартное отклонение.

Результаты. Группы выживших и умерших больных статистически не различались по возрастному и половому составу. На момент поступления рассматриваемые группы пациентов имели значимые различия по уровням АЛТ ( $35,2 \pm 17,9$  U/L и  $57,9 \pm 36,3$  U/L ( $p < 0,01$ ) для выживших и умерших соответственно) и АСТ ( $39,9 \pm 20,2$  U/L и  $61,7 \pm 37,7$  U/L ( $p < 0,02$ )).

соответственно), по остальным биохимическим показателям выборки не различались. При дальнейшем течении инсульта уровни АСТ и АЛТ имели статистически незначимую тенденцию к повышению у выживших пациентов и снижению у умерших.

При анализе средних значений биохимических показателей за весь период госпитализации исследуемые группы больных достоверно различались по уровням креатинина ( $0,09 \pm 0,02$  мкмоль/л и  $0,11 \pm 0,04$  мкмоль/л для выживших и умерших соответственно), мочевины ( $6,3 \pm 2,0$  ммоль/л и  $9,0 \pm 3,8$  ммоль/л), гликемии ( $5,4 \pm 1,4$  ммоль/л и  $6,1 \pm 1,2$  ммоль/л), АСТ ( $40,1 \pm 21,5$  U/L и  $62,0 \pm 30,6$  U/L) и АЛТ ( $34,6 \pm 18,9$  U/L и  $56,5 \pm 27,2$  U/L),  $p < 0,005$  для всех случаев.

При оценке связи между исследуемыми лабораторными параметрами, степенью тяжести инсульта и длительностью пребывания в стационаре, была установлена достоверная слабая обратная корреляция между уровнем общего белка и продолжительностью стационарного лечения (коэффициент корреляции Спирмена минус  $0,33$ ,  $p = 0,04$ ). Регрессионный анализ показал, что гипопропротеинемия являлась единственным статистически значимым ( $p < 0,01$ ) предиктором длительности пребывания в стационаре. В тоже время ни один из изучаемых параметров не имел достоверной корреляционной связи со степенью тяжести инсульта.

Анализ выживаемости показал, что пациенты, со средней гликемией  $> 6,5$  ммоль/л, имели достоверно большую вероятность летального исхода ( $p = 0,04$ ), как и пациенты с уровнем АЛТ при поступлении  $> 47$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ).

С помощью ROC-анализа установили, что все исследуемые лабораторные показатели имели слабую прогностическую ценность, наибольшей из которых обладали значения АЛТ и мочевины (площади под ROC-кривыми  $0,77$  и  $0,74$  соответственно).

Выводы. Полученные нами результаты свидетельствуют, что из всех рутинно определяемых биохимических показателей плазмы крови для оценки тяжести и прогнозирования течения инсульта может быть использован лишь уровень АЛТ, определенный при поступлении. Представленные данные о связи низкого уровня общего белка с более длительным стационарным лечением и гипергликемией с повышенной вероятностью летального исхода совпадают с результатами многих многоцентровых рандомизированных исследований в этой области.

Ю.В.Сухоруков, Е.П.Сведенцов, И.А.Докшина  
**ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ  
КОМПЛЕКСЫ (ЦИК) И ПАРАМЕТРЫ  
ЕСТЕСТВЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ  
ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ВЫЗДОРОВЛЕНИИ  
БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

*ФГУ «Кировский НИИ гематологии и переливания  
крови», г. Киров*

Современная эрадикационная плановая полихимиотерапия позволяет в большинстве случаев добиваться длительной, более чем 5-летней полной ремиссии острого лейкоза, что рассматривается как онкологическое выздоровление.

Целью настоящего исследования являлось установление уровня ЦИК в сыворотке крови и состояния параметров естественного иммунитета при онкологическом выздоровлении больных острым лейкозом.

Уровень ЦИК в сыворотке крови, согласно ВОЗ (1978), является одним из важнейших тестов при исследовании иммунологического состояния. ЦИК (комплексы антиген-антитело) формируются при нейтрализации экзо- и эндогенных антигенов. Уровень ЦИК в сыворотке крови постоянно контролируется фагоцитозом мононуклеаров крови. Если образование ЦИК выходит из-под контроля фагоцитов, то в сыворотке крови наблюдается повышение уровня ЦИК, что придает им токсические свойства.

Естественный (врожденный) иммунитет является доиммунной формой резистентности организма к появлению в организме антигенов. Это важнейшая система незамедлительной защиты организма от любой антигенной агрессии, в том числе – и от увеличения в сыворотке крови ЦИК.

Исследование проведено у 49 пациентов в состоянии онкологического выздоровления острого лейкоза. Учитывая, что иммунная система окончательно формируется к 15 годам жизни (Р.М.Хайтов, 2006), больные были подразделены на 2 группы: на младшую – 12-14 лет (16 пациентов) и старшую – 15-25 лет (33 пациента). Длительность полной ремиссии в младшей группе составила  $6,53 \pm 0,41$  лет, в старшей –  $10,55 \pm 0,52$  лет. Нормальные величины исследуемых параметров установлены в двух контрольных группах, включавших по 50 здоровых, не болевших ранее острым лейкозом лиц, аналогичных возрастных охватов.

Данные исследования верифицированы статистически.

Установлено статистически достоверное и одинаковое повышение уровня ЦИК в младшей и старшей возрастных группах пациентов. Степень этих иммунологических расстройств составила (при оценке по методу А.М.Земскова и соавт., 2005) в младшей возрастной группе плюс 30%, в старшей – плюс 25,7%.

Эти изменения коррелировали со статистически достоверным и одинаковым снижением параметров естественного иммунитета, характеризующих

фагоцитарную функцию нейтрофилов и резервные возможности фагоцитоза, а именно – со снижением фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН) и фагоцитарного индекса (ФИ). Степень этих иммунных расстройств при оценке по методу А.М.Земскова и соавт. (2005) составила в младшей возрастной группе ФАН минус 19,3% и ФИ минус 21,4%, в старшей возрастной группе соответственно минус 29,9% и минус 19,3%.

Другие исследованные важнейшие параметры естественного иммунитета в обеих группах пациентов не отличались от нормальных величин. Это параметры, характеризующие кислородзависимую фагоцитарную активность нейтрофилов, их кислородзависимую микробицидность (спонтанный НСТ-тест), функциональный резерв этой фагоцитарной активности (НСТ-тест стимулированный и индекс стимуляции), бактерицидную активность сыворотки, способность к опсонизации и хемотаксису гранулоцитов (комплемент), содержание в сыворотке крови мурамидазы - одного из наиболее мощных антибактериальных ферментов (лизоцим), содержание в сыворотке крови белков с широким и выраженным антибактериальным действием (бета-лизины).

Выявленные изменения уровня ЦИК, показателей ФАН и ФИ не были значительными. Они все относились к 1 степени иммунных расстройств, диапазон которой плюс-минус от 1% до 33%. Такие изменения находятся в границах нормальных компенсаторных возможностей иммунной системы. Они не позволят считать больных иммунокомпromетированными и не требуют специальной иммунотерапии (А.М.Земсков и соавт., 2005). Отсутствие иммунодефицита подтверждает и отсутствие повышенной инфекционной заболеваемости пациентов – первого и главного критерия иммунодефицита (З.М.Хаитов, Б.В.Пинегин, 1996).

Тем не менее, выявленные изменения являются объективным доказательством наличия у пациентов снижения функциональных резервов иммунитета. В неблагоприятной ситуации, вызывающей депрессию иммунитета (старение организма, повышенная физическая и ли психическая нагрузка, травмы, хирургические операции и др.), это может способствовать быстрому падению параметров иммунитета до уровня иммунодефицита, что угрожает не только повышенной инфекционной заболеваемостью, но и рецидивом острого лейкоза.

Данные исследования указывают на необходимость динамической не только клинко-гематологической, но и иммунологической диспансеризации пациентов в состоянии онкологического выздоровления острого лейкоза. Иммунологическая диспансеризация позволяет рано диагностировать прогрессирующее снижение иммунитета, что обеспечивает возможность своевременной интенсификации общеукрепляющей терапии и назначения иммунотерапии.

Терёхина Н.А., Владимиров А.А., Заривчацкий М.Ф.  
**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ХОЛЕЦИСТИТЕ**  
ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия Росздрава им. акад. Е.А. Вагнера», г. Пермь

Острый холецистит является самым частым осложнением желчнокаменной болезни. Летальность при хирургическом лечении калькулезного холецистита достигает 4-6%, а в старших возрастных группах 10-26% [1]. В патогенезе воспаления желчного пузыря существенную роль играет интенсификация свободнорадикального окисления. Оперативное вмешательство еще более усугубляет окислительный стресс. В настоящее время в комплексном лечении ряда хирургических заболеваний используется озонотерапия.

**Целью** настоящей работы явилась оценка эффективности озонотерапии при остром холецистите.

Обследовано 67 больных деструктивным холециститом. Все больные были разделены на две группы, сопоставимые по возрасту и полу, тяжести основной и сопутствующей патологии. Первую группу составили 40 пациентов, получавших традиционное лечение деструктивного холецистита. Вторую группу составили 27 пациентов, в комплексном лечении которых в послеоперационном периоде была использована озонотерапия. Контрольную группу составили 67 здоровых доноров. Озонотерапию проводили путем внутривенной инфузии 200 мл озонированного 0,9% раствора хлорида натрия в течение 30 минут после его приготовления, однократно, ежедневно с первых суток послеоперационного периода. Всего выполнялось по 5 процедур каждому больному. Озонирование раствора осуществлялось путем пропускания через него озонкислородной смеси в течение 20 минут с концентрацией озона на выходе из озонатора 30 мг/л. Кровь получали из вены больного за 1 час до операции, на 1, 2 и 8 сутки послеоперационного периода. У пациентов, получавших озонотерапию, кровь для исследования брали через 1 час после окончания инфузии озонированного раствора. В эритроцитах и плазме крови больных деструктивным холециститом за 1 час до операции, в динамике после неё изучали проницаемость эритроцитарных мембран, интенсивность хемилюминесценции, содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, церулоплазмينا. Для оценки интенсивности свободнорадикального окисления был использован хемилюминесцентный анализ плазмы и эритроцитов по методу [4]. Содержание малонового диальдегида, содержание церулоплазмينا изучали по методам [2]. Проницаемость эритроцитарных мембран определяли по методу [3]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Microsoft® Office Excel 2002.

**Результаты.** Флегмонозное изменение стенки желчного пузыря установлено в 45 случаях (67%), гангренозное – в 22 (33%). У больных, получавших озонотерапию, наблюдалась более ранняя нормализация температуры тела. В послеоперационном периоде в группе пациентов, не получавших озонотерапию, осложненное течение отмечено в 3 случаях (7,5%). В группе пациентов, получавших озонотерапию, осложнений течения послеоперационного периода не выявлено. Ни у одного из них не зарегистрировано каких-либо осложнений и от проведения озонотерапии. Послеоперационный и общий койко-день в обеих группах больных не отличался. Клиническая эффективность озонотерапии доказывается более гладким течением послеоперационного периода, ранней нормализацией температуры тела и отсутствием осложнений.

Наиболее наглядными показателями сигнала

хемилюминесценции эритроцитов и плазмы крови в нашем исследовании оказались: максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, светосумма хемилюминесценции, светосумма после максимального значения хемилюминесценции.

До операции изученные показатели хемилюминесценции плазмы и эритроцитов периферической крови больных деструктивным холециститом достоверно превышали контроль (рис. 1) В послеоперационном периоде у пациентов, не получавших озонотерапию, эти показатели оставались повышенными. Исключение составила светосумма хемилюминесценции эритроцитов, которая нормализовалась на 8 сутки после операции. У пациентов, получавших озонотерапию, уже с первых суток послеоперационного периода изученные показатели хемилюминесценции эритроцитов и плазмы крови нормализовались.

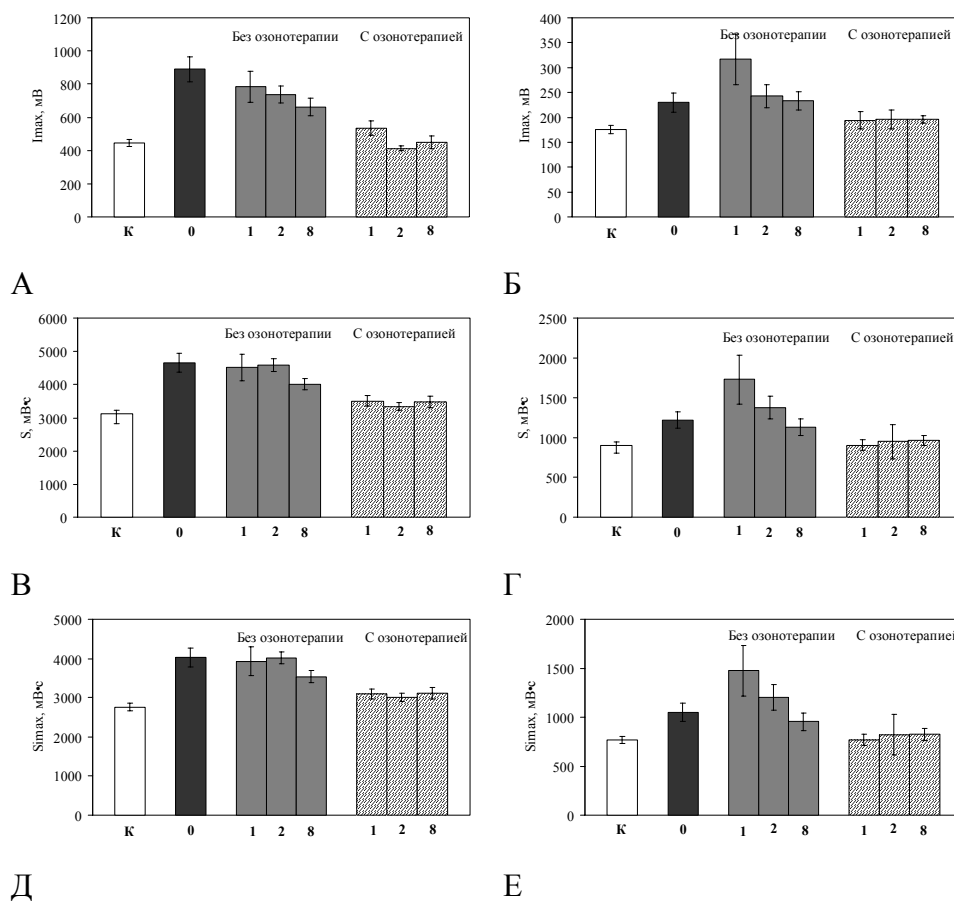


Рис. 1. Хемилюминесценция плазмы и эритроцитов периферической крови больных деструктивным холециститом.

А – максимальное значение интенсивности хемилюминесценции плазмы;

Б – максимальное значение интенсивности хемилюминесценции эритроцитов;

В – светосумма хемилюминесценции плазмы;

Г – светосумма хемилюминесценции эритроцитов;

Д – светосумма после максимального значения хемилюминесценции плазмы;

Е – светосумма после максимального значения хемилюминесценции эритроцитов;

К – контроль, 0 – до операции, 1 – первые сутки после операции, 2 – вторые сутки после операции, 8 – восьмые сутки после операции.

Нормализация интенсивности хемилюминесценции эритроцитов периферической крови больных, получавших озонотерапию, свидетельствует об увеличении перекисной резистентности мембран эритроцитов.

Содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в плазме и эритроцитах крови больных деструктивным холециститом до операции было достоверно выше контроля. В послеоперационном периоде содержание диеновых конъюгатов в плазме и эритроцитах пациентов, не получавших озонотерапию, оставалось повышенным, а у лиц, получавших озонотерапию, эти показатели нормализовались уже на 2 сутки. Таким образом, установлено достоверное увеличение содержания показателей окислительного стресса в эритроцитах и плазме крови больных деструктивным холециститом до операции и на первые сутки после неё. Проницаемость эритроцитарных мембран больных деструктивным холециститом до операции не отличалась от контроля. На первые сутки послеоперационного периода в обеих группах больных проницаемость эритроцитарных мембран снижалась. На вторые и восьмые сутки у пациентов, не получавших озонотерапию, проницаемость мембран оставалась сниженной. У больных, получавших озонотерапию, проницаемость эритроцитарных мембран нормализовалась уже на вторые сутки после операции.

Содержание церулоплазмينا оказалось увеличенным у всех больных деструктивным холециститом до операции [5]. У пациентов, не получавших озонотерапию, содержание церулоплазмينا оставалось достоверно повышенным на 8 сутки послеоперационного периода. У пациентов, в комплексном лечении которых был использован озон, содержание церулоплазмينا к 8 суткам нормализовалось.

Таким образом, у больных деструктивным холециститом происходит интенсификация процессов перекисного окисления липидов, сопровождающаяся повышением содержания неферментативного антиоксиданта церулоплазмينا. При деструктивном холецистите озонотерапия, наряду с клинической эффективностью, способствует нормализации в эритроцитах и плазме крови процессов свободнорадикального окисления и содержания церулоплазмينا.

#### Литература

1. Заривчацкий М.Ф. Применение озонотерапии при остром холецистите в послеоперационном периоде / М.Ф. Заривчацкий, Н.А. Терёхина, А.А. Владимиров // Пермский медицинский журнал, 2006.- Т.23, №3.- С. 34-40.
2. Камышиников, В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В2 т. Т.2.- 2-е изд.- Минск, 2003.- 463 с.
3. Колмаков В.Н. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран в

диагностике хронических заболеваний печени / В.Н. Колмаков, В.Г. Радченко // Терапевтический архив.- 1982, №2.- С. 59-62.

4. Кузьмина Е.И., Овчинников В.А., Шахов Б.Е. Изучение дислипидемий и перекисного окисления липидов у больных атеросклерозом различной локализации / Е.И. Кузьмина, В.А. Овчинников, Б.Е. Шахов // Перекисное окисление липидов и антиоксидантная терапия при ишемической болезни сердца.- Горький, 1988.- С. 44-50.

5. Терёхина Н.А. Антиоксидантный статус больных холелитиазом / Н.А. Терёхина, М.Ф. Заривчацкий, А.А. Владимиров, В.В. Хлебников // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2006.- Т.16, №1.- С. 65.

#### Терёхина Н.А., Заривчацкий М.Ф., Солдатенко Н.В. НОВЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ

ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия Росздрава им. акад. Е.А. Вагнера»,  
г. Пермь

Механическая желтуха развивается в результате нарушения оттока желчи из-за наличия препятствия. Доброкачественная механическая желтуха развивается у 15-40% больных с желчнокаменной болезнью [1]. Причинами доброкачественной желтухи являются желчнокаменная болезнь и камни внепеченочных желчных протоков, панкреатит, доброкачественные стриктуры протоков, стеноз большого дуоденального сосочка. Злокачественная механическая желтуха является результатом опухоли желчного пузыря, внутрипеченочных и внепеченочных желчных протоков, поджелудочной железы.

Проблема диагностики и лечения больных механической желтухой остается одной из основных в хирургии. Это обусловлено: многообразием причин, вызывающих механическую желтуху, длительными сроками догоспитального периода, тяжелым состоянием больных, не позволяющим выполнять одномоментные радикальные операции, преобладанием пожилых больных с сопутствующей патологией. Около 90% больных механической желтухой до поступления в хирургический стационар длительное время находятся на амбулаторном обследовании, на лечении в инфекционных больницах с подозрением на желтуху вирусной этиологии [2]. Длительный желтушный период повышает вероятность развития осложнения в до- и послеоперационном периоде. Летальность при хирургических вмешательствах у больных механической желтухой составляет 15-30%, что значительно выше, чем у больных с ликвидированной механической желтухой до операции [1]. Поэтому особенно важным является ранняя диагностика механической желтухи.

Целью исследования явилась разработка метода



неинвазивной диагностики механической желтухи с использованием слезы для ускорения и упрощения проведения анализа. Биохимический анализ слезной жидкости ранее был использован для диагностики сахарного диабета, уремии, подагры, герпетического кератита, острого панкреатита и других заболеваний [3,4,5,9].

**Материалы и методы.** Было обследовано 18 больных механической желтухой, которые лечились в хирургическом отделении КМСЧ №1 г. Перми в возрасте от 50 лет до 81 года. 8 больных было с механической желтухой, вызванной злокачественными опухолями различной локализации и 10 человек с механической желтухой, обусловленной наличием камней во внепеченочных желчных протоках. Диагноз устанавливали на основании анамнеза, клинических проявлений заболевания, данных лабораторных, ультразвукового обследования, фиброгастродуоденоскопии, эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии. Компьютерная томография проводилась в 6 случаях. Определение активности щелочной фосфатазы, г-глутамилтранспептидазы проводили в трех биологических жидкостях: крови, слезе и моче. Слезную жидкость собирали по методу [6]. В качестве контроля была использована кровь, слеза и моча 19 здоровых людей. Определение активности щелочной фосфатазы проводили по методу [7]. Определение активности г-глутамилтрансферазы проводили по методу [8].

**Результаты и обсуждение.** Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови доноров в 2 раза выше, чем в слезной жидкости и в 12 раз выше, чем в моче. Активность ЩФ во всех биологических жидкостях больных достоверно превышала контроль. В сыворотке крови пациентов со злокачественной механической желтухой активность фермента была выше контроля в 15 раз, с доброкачественной желтухой – в 11 раз. В моче больных активность ЩФ была выше в 3 раза по сравнению с донорами, причем у больных со злокачественной механической желтухой – в 4 раза, а доброкачественной – в 2 раза. В слезе больных механической желтухой активность ЩФ превышала контроль в 5 раз. Активность г-глутамилтранспептидазы (г-ГТП) во всех биологических жидкостях больных достоверно превышала контроль. В сыворотке крови больных активность этого фермента была выше в 48 раз, при этом у пациентов со злокачественной механической желтухой – в 80 раз, а с доброкачественной – в 22 раза выше контроля. В моче пациентов активность г-ГТП оказалась выше контроля в 7 раз, причем у больных со злокачественной механической желтухой – в 7 раз, а с доброкачественной – в 6 раз. Активность г-ГТП в слезе больных была выше активности г-ГТП слезы здоровых людей в 6 раз: у больных со злокачественной механической желтухой – в 7 раз, а доброкачественной – в 4 раза.

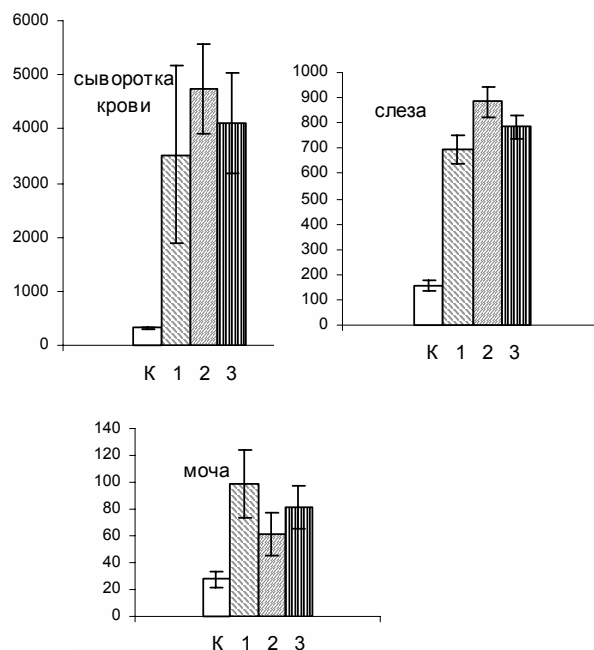


Рис. 1. Активность щелочной фосфатазы в биологических жидкостях больных механической желтухой (нмоль/(с·л)).

К- доноры, 1- больные механической желтухой желчнокаменной этиологии, 2- больные механической желтухой опухолевой этиологии, 3- больные механической желтухой.

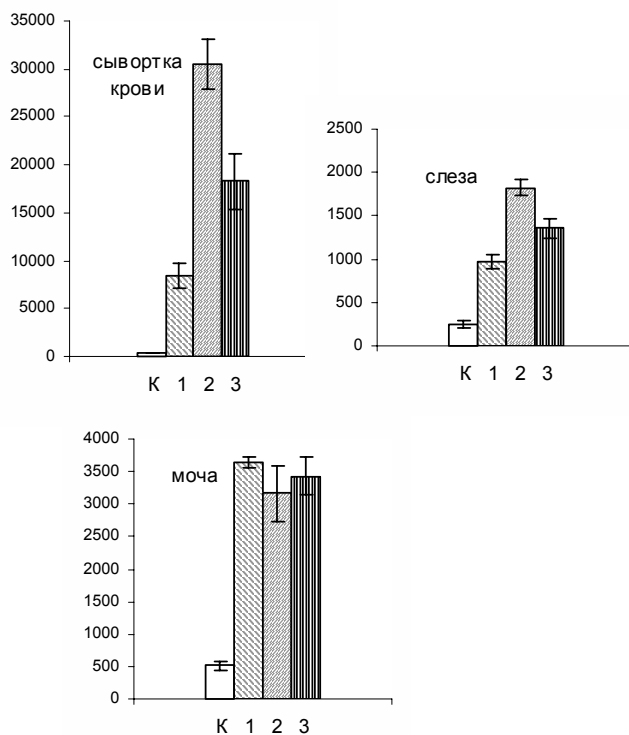


Рис. 2. Активность г-глутамилтранспептидазы в биологических жидкостях больных механической желтухой (нмоль/(с·л)).

К- доноры, 1- больные механической желтухой желчнокаменной этиологии, 2- больные механической желтухой опухолевой этиологии, 3- больные механической желтухой.

Таким образом, во всех биологических жидкостях больных механической желтухой установлено повышение активности щелочной фосфатазы и г-глутамилтранспептидазы. При этом при желтухе опухолевого генеза активность ферментов-показателей холестаза была выше, чем при доброкачественной желтухе.

Нами разработан новый способ неинвазивной диагностики механической желтухи по ферментативному анализу слезной жидкости. Новизна разработанного способа заключается в том, что у больного активность ферментов-показателей холестаза определяется не в крови, а в слезе. Ферментативный анализ слезы проще и быстрее, так как не требует забора крови из вены и получения сыворотки. Предлагаемый способ обеспечивает высокую точность диагностики. Способ прост, надежен и доступен для использования в клинических лабораториях.

#### Литература.

1. Иванов Ю.В. Механическая желтуха: диагностический алгоритм и лечение / Ю.В. Иванов, С.М. Чудных // Лечащий врач.- 2002.- №7-8, С. 76-78.
2. Лукичев О.Д. Диагностика и лечение механической желтухи / О.Д. Лукичев, В.Г. Ившин, Г.А. Старченко, В.М. Королев // Хирургия.- 1990.- №1.- С. 10-14.
3. Петрович Ю.А. Биохимия слезы и ее изменение при патологии (обзор) / Ю.А. Петрович, Н.А. Терехина // Вопросы медицинской химии.- 1990.- №3.- С. 13-18.
4. Терехина Н.А. Активность амилазы в диагностике панкреатита // Н.А. Терехина, В.В. Хлебников // Клиническая лабораторная диагностика, 2002.- №9.- С. 28.
5. Терехина Н.А. Диагностическая ценность анализа слезы при уремии, урикемии и холестеринемии / Н.А. Терехина, Ю.А. Петрович // Клиническая лабораторная диагностика.- 1994.- №6.- С. 17-18.
6. Терехина Н.А. Влияние метода сбора слезной жидкости на ее состав / Н.А. Терехина, Ю.А. Петрович, Р.А. Багуева // Лабораторное дело.- 1989.- №6.- С. 27-30.
7. Bessey O.A. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum // O.A. Bessey, O.H. Lowry, M.J. Brock / J. boil. chem. 1946.- V. 164.- №1.- P. 321-329.
8. Kulhanek V. Comparison of four methods for the estimation of gammaglutamyltranspeptidase activity in biological fluids // V. Kulhanek, D. Dimov / Clin. Chem. Acta.- 1967.- V. 12.- №2.- P.-271-277.
9. Terekhina N. A. Antioxidants of tear in viral infection // N.A. Terekhina, Y.A. Petrovich, S.E. Reuk / Clin. Chem. Lab. Med.- 2003.- V.41, Special Supplement.- P.191. (Barselona).

Царькова Л.А.  
**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ  
ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ  
АЛКОГОЛЬНЫХ ПАНКРЕАТИТАХ**

МУЗ ГК Больница скорой медицинской помощи №2  
г. Омска

Панкреатиты являются серьезным осложнением злоупотребления алкоголем. В последние годы отмечено, что смертность от алкогольного панкреатита на 36 % превышает смертность в популяции в целом [4]. Современные изучения показали, в последние годы было выявлено, что изоформа цитохрома P450 2E1, участвующая в окислении этанола в печени, также присутствует в ткани поджелудочной железы и более того, она активируется после приёма алкоголя [2]. Это привело авторов к заключению о том, что ацинарные клетки поджелудочной железы могут метаболизировать алкоголь так же, как и гепатоциты. Кроме того, в экспериментальных исследованиях было показано, что алкоголь вызывает оксидантный стресс в поджелудочной железе [2,4,6].

Активация свободнорадикального окисления (СРО) нарушает структуру и функции клеточных мембран и сопровождается интенсивным выходом в кровь панкреатических ферментов и первичных метаболитов перекисного окисления липидов [6].

Целью работы явилось сравнение диагностической эффективности показателей СРО и эндотоксикоза при острых панкреатитах алкогольной этиологии.

На базе хирургических отделений МУЗ ГК БСМП №2 г. Омска нами были обследованы в динамике 153 пациента. Из них: 67 пациентов - с острым панкреатитом алкогольной этиологии (ОАП), 51 пациент – с острым билиарным панкреатитом (ОБП), 35 человек практически здоровых лиц – контрольная группа (КГ). В группу больных с алкогольным панкреатитом включались лица, злоупотребляющие алкоголем, частота потребления алкоголя у них составляла не менее трёх раз в неделю.

Уровень ВНиСММ определяли в плазме крови, моче и на эритроцитах по методу Малаховой М.Я. [5] при разных длинах волн на спектрофотометре СФ-46. Интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) характеризовали по показателям хемилюминесценции сыворотки крови после индуцирования свечения пероксидом водорода и сульфатом железа. Использовался биохемилуминометр БХЛ-06М. Активность СОД, ГПО, Г-6-ФДГ определяли кинетическим методом на биохимическом анализаторе.

Результаты исследования свидетельствуют об активации процессов СРО, так как светосумма хемилюминесценции увеличена при ОАП на 123 % и на 98% выше нормы при тяжелой форме ОБП по сравнению с контрольной группой (p < 0,001). На 3-и, 6-

е сутки эти показатели несколько снижались (на 30-50%), но сохранялись повышенными и к 14-м суткам пребывания в стационаре.

При исследовании активности ферментов антиоксидантной защиты было выявлено значительное снижение показателей СОД до  $117,25 \pm 2,37$  ед./мл крови максимально на 3-и сутки у пациентов с ОАП тяжёлой степени, что в 1,6 раза ниже показателей в контрольной группе ( $p < 0,01$ ), и в 1,1 раза показателей 2-ой группы ( $p > 0,05$ ). Также на 3-и сутки максимальное снижение отмечалось ГПО (в 2-3 раза) и Г-6-ФДГ (в 1,5 раза) по сравнению с контролем. В 1-е сутки поступления в стационар активность СОД, ГПО была достоверно более снижена у пациентов с алкогольными панкреатитами, на 32% относительно контрольной группы и на 21% относительно 2-ой группы ( $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о большем истощении АОС у пациентов с ОАП.

Значительная активация СРО при снижении активности ферментов АОЗ может привести к активации процессов катаболизма при ОАП, что подтверждается также увеличением концентрации ВНиСММ.

У пациентов с острыми панкреатитами алкогольной этиологии тяжёлой степени при поступлении в стационар отмечалось максимальное повышение суммарной концентрации ВНиСММ в плазме крови до  $59,75 \pm 1,05$  ед., что в 5,2 раза превышало показатели контрольной группы ( $p < 0,01$ ) и в 1,2 раза - показатели в группе пациентов с ОБП ( $p > 0,5$ ). Коэффициент К-1, отражающий отношение концентрации ВНиСММ в плазме крови к концентрации ВНиСММ эритроцитов, составил  $1,54 \pm 0,055$  (при показателях в контрольной группе  $0,52 \pm 0,008$ ). Отмечалось достоверное увеличение концентрации ВНиСММ эритроцитов до  $38,7 \pm 0,52$  ед. при поступлении в группе пациентов с тяжёлыми деструктивными формами ОАП по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ) и пациентами с ОБП до  $30,2 \pm 0,73$  ед. ( $p < 0,05$ ). Максимально уровень ВНиСММ эритроцитов повышался на 3-и, 6-е сутки в обеих группах до  $49,9 \pm 1,53$  ед. и  $43,2 \pm 2,75$  ед. соответственно. Обращает на себя внимание повышение элиминации ВНиСММ почками, о чём свидетельствует увеличение в 3,7 в группе ОАП и 3,2 раза в группе ОБП по сравнению с контрольной группой коэффициента К-2 (отношение концентрации ВНиСММ в моче к сумме концентраций ВНиСММ в плазме и эритроцитов).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при ОАП наблюдаются более выраженные изменения, чем при ОБП, показателей хемилюминесценции, активности ферментов АОЗ и уровня ВНиСММ, что должно учитываться при дифференциальной диагностике панкреатитов и оценке степени тяжести заболевания.

#### Литература

1. Apte M. V., Wilson J.S. et al. Ethanol- induced alterations in messenger RNA levels correlate with glandular content of pancreatic enzymes. // *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.*- 1995.-Vol. 125.-P. 634-640.

2. Haber P.S., Wilson J.S. et al. Ethanol oxidation by pancreatic acinar cells is comparable to that of hepatocytes. // *Gastroenterology* 1995. – Vol. 39. – P. 1351-1366.

3. Беляков Н.А. с соавт. Концентрация в крови и биологическая активность молекул средней массы в критических состояниях // *Анест. и реанимат.* -1987.- №8 – С.41-44.

4. Запороженко Б.С., Шишлов В.И. Патогенетические механизмы панкреатита и синдрома полиорганной недостаточности // *Вестник морской медиц.* – 1999. - №4. – С. 41-44.

5. Малахова М.Я., Соломенников А.В. и соавт. Метаболический статус организма : метод регистрации, клиническое использование и интерпретация результатов // *Экстрем. состояния и посттравматическая патология : Сб. Трудов Новосибирского мед. ин-та.* - Новосибирск. 1989. – С.89-91.

6. Niederau C., Niederau M., et al. Effects of antioxidants and free radical scavengers in three different models of acute pancreatitis // *Pancreas.*-1992/-Vol.7,№4.-P.486-495.

Шараев П.Н., Парулава Н.Ш., Хобга Ю.В.,  
Кошикова С.В.

#### **ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛАЗ В СПЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЕ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ**

*ГОУ ВПО «Ижевская государственная  
медицинская академия Росздрава», г.Ижевск*

В последние годы особую значимость приобретает проблема мужского бесплодия, развитие которого связано с заболеваниями половых органов, врожденными патологиями, а также инфекционными поражениями половых путей. Накоплен большой материал, характеризующий особенности и роль клеточного состава, а также белковых, липидных и углеводных соединений эякулята при мужском бесплодии. В диагностике без явных причин мужского бесплодия все больше стали использовать биохимические методы исследования спермальной жидкости. При этом все большее значение приобретает установление нарушений функций различных желез мужской репродуктивной системы.

Целью данной работы явилось сравнительное исследование активности ферментов б-N-ацетилглюкозаминидазы (КФ 3.2.1.50), в-N-ацетилгалактозаминидазы (КФ 3.2.1.53) и б-маннозидазы (КФ 3.2.1.24) в спермальной плазме практически здоровых мужчин, а также при

астенозооспермии и азооспермии. На базе МУЗ «4-я горбольница г.Ижевска» было обследовано 28 практически здоровых мужчин (в возрасте 19-46 лет) и 64 мужчин (в возрасте 21-47 лет) с приобретенными формами экскреторного бесплодия. Через 15-60 мин после эякуляции сперма подвергалась центрифугированию (2000 об/мин, 10 мин). В полученные спермальные плазмы добавляли фосфатного буфера (0,15 М, рН 6,0). В спермальных плазмах практически здоровых мужчин нами в среднем было обнаружено  $446,4 \pm 0,19$ ,  $39,4 \pm 14,2$  и  $41,9 \pm 9,0$  мкмоль/ч/л активности б-N-ацетилглюкозаминидазы, в-N-ацетилгалактозаминидазы и б-маннозидазы соответственно. Активность б-N-ацетилглюкозаминидазы, в-N-ацетилгалактозаминидазы и б-маннозидазы при астенозооспермии повышалась на 46,2, 16,7 и 22,3% соответственно. При азооспермии эти показатели снижались в различной степени.

Известно, что исследованные нами ферменты б-N-ацетилглюкозаминидаза, в-N-ацетилгалактозаминидазы и б-маннозидазы в спермальной плазме являются лизосомальными ферментами. В связи с этим повышенный уровень активности этих ферментов в условиях слабой кислотности указывает на возрастание интенсивности катаболических реакций в исследуемой плазме. Эти ферменты, наряду с другими гликозидазами - сиалидазой и фукозидазой при астенозооспермии могут участвовать в процессах избыточного расщепления части углеводовных цепей с поверхности гликопротеинов, снижая вязкость спермальной плазмы, а также изменяя свойства рецепторных зон поверхности сперматозоидов. Снижение активности исследованных ферментов в спермальной жидкости при азооспермии можно связать недостаточным их синтезом, либо их распадом.

Из представленных результатов исследований можно сделать вывод, что исследование активности ферментов в эякуляте позволяет получать объективные показатели о нарушениях функции мужской репродуктивной системы.

Шешунова М.Г., Кудрявцев В.А., Еликова Е.П.,  
Цапок П.И., Чупраков П.Г., Шилов О.И.

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ  
ПРИ ФОТОТЕРАПИИ СИНИМ СВЕТОМ  
СЕЗОННЫХ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ**  
ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

**Введение.** В настоящее время известны аффективные расстройства, связанные с недостаточным поступлением видимого света в осенне-зимний период, особенно в области коротковолновой части спектра (Острянина Н.Л., 2002). Эти расстройства проявляются нарушением

сна, усилением аппетита с влечением к сладкой пище, снижением эмоционального фона, усилением утомляемости, нарушением умственной работоспособности и требуют разработки эффективных методов лечения (Цапок П.И. и др., 2006). С другой стороны, показано, что электромагнитное излучение в диапазоне 456-498 нм представляет собой видимый синий свет и находит применение в клинической практике (Цапок П.И. и др., 2005).

**Цель исследования.** Изучить клинический эффект и лабораторные показатели метаболизма при фототерапии синим светом (воздействие некогерентного оптического излучения в диапазоне 456-498 нм) для профилактики и реабилитации сезонных аффективных расстройств.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное клиничко-биохимическое исследование на 30 добровольцах. Воздействовали некогерентным оптическим излучением в диапазоне 456-498 нм на область проекции сонных артерий, питающих головной мозг. Источниками излучения являлись 10 твердотельных излучателей (светодиодов), которые закрепляли с двух сторон шеи. Первые три процедуры проводили с минимальной продолжительностью 4-8 мин с дальнейшим увеличением до 15-20 мин. Во время курса лечения после 5-й процедуры делали перерыв на 2 дня для формирования ответной реакции организма на некогерентное облучение. Воздействие осуществляли в утренние часы; курс лечения состоял из 10 сеансов. Анализировали течение, клинические проявления сезонных расстройств и биохимические данные крови в динамике: перед проведением сеансов фототерапии и после окончания курса лечения.

Материалом для биохимического исследования служила кровь из локтевой вены. Забор производили в утренние часы натощак, в пробирки для взятия крови фирмы «Vacutaner» (США), в качестве консерванта использовали раствор этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в концентрации 1 мг/мл. В работе использованы информативные и современные биохимические методы исследования метаболизма липидов, состояния процессов липопероксидации (ЛПО) и активности антиоксидантной системы (Камышников В.С., 2000; Терехина Н.А., Петрович Ю.А., 2005). Тотальные липиды (ТЛ) определяли по реакции с сульфифосфованилиновым реактивом; содержание общего холестерина (ХС) и его фракций – эстерифицированного, свободного, а также в составе липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) – по реакции с хлорным железом по методу Златкиса-Зака; триацилглицериды (ТАГ) – стандартным набором реактивов фирмы «Lachema» (Чехия). Для изучения процессов перекисного окисления липидов использовали спектрофотометрическое определение первичных продуктов ЛПО, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-ап), при длине волны

Таблица 1

**Показатели липидного обмена в сыворотке крови в динамике применения синего света (X+Sx)**

Показатели	До	После
ТЛ, г/л	6,35±0,28	6,22±0,37
ХС, ммоль/л	5,23±0,29	4,47±0,23
ХС-ЛПВП, ммоль/л	1,52±0,06	1,89±0,08
ХС-ЛПНП, ммоль/л	3,62±0,22	3,12±0,16
ТАГ, ммоль/л	1,32±0,17	0,88±0,16

Таблица 2

**Состояние процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты в сыворотке крови в динамике применения синего света (X+Sx)**

Показатели	До	После
Интенсивность ХЛ за 30 с, имп.	689,2±70,9	452,7±42,4
Интенсивность ХЛ за 60 с, имп.	1432,4±73,2	1127,8±65,9
Максимальная вспышка ХЛ, имп.	115,9±8,4	94,0±6,2
ДК, усл.ед.	0,84±0,11	0,57±0,10
ТБКап, мкмоль/л	3,24±0,21	1,87±0,22
ЦП, мг/л	148,2±10,2	194,4±12,0

535 нм. Определение первичных продуктов ЛПО производили путем измерения интенсивности хемилюминесценции (ХЛ), инициированной пероксидом водорода в присутствии избытка ионов двухвалентного железа за 30 и 60 сек, а также по интенсивности максимальной вспышки ХЛ (Im) за исследуемое время на хемилюминометре Emilite el 1105. Измеряли также интенсивность ХЛ липопротеиновых фракций (ХЛ-ЛПНП и ХЛ-ЛПВП). (Цапок П.И., Галкин А.А., 1998) Антиоксидантную активность (АОА) оценивали методом ХЛ по показателю светосуммы (S) за 60 сек; ее величина указывает на содержание радикалов, находящихся в конце свободнорадикальных реакций, поэтому обратно пропорциональна АОА. Кроме того, оценку активности антиоксидантной системы давали по отношению Im/S.

Из элементов системы антиоксидантной защиты сыворотки крови определяли содержание церулоплазмينا модифицированным методом с парафенилендиамином; уровень аскорбиновой кислоты - колориметрическим методом с динитрофенилгидразинным реактивом; альфа-токоферола - с альфа-пиридилдиацетилем. Липидную фракцию для определения диеновых конъюгатов (ДК) экстрагировали гептан-изопропаноловой смесью. В гептановой фазе измеряли количество ДК при длине их максимального поглощения (233 нм) на спектрофотометре СФ-46.

Полученный цифровой материал обработан статистически. Достоверность пазницы определяли по t-критерию Стьюдента. Учитывали результаты со степенью достоверности не ниже 95% ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Отмечен существенный положительный эффект применения фототерапии воздействием некогерентным оптическим излучением в диапазоне 456-498 нм (синим светом): у всех пациентов установлено повышение эмоционального статуса, нормализация сна (92% наблюдений), снижение повышенного аппетита (в 87% наблюдений) и повышение умственной работоспособности (92%

наблюдений).

Данные по нормализации психического статуса и состояния эмоциональной сферы, а также результаты самодиагностики самочувствия, активности и настроения (САН) нашли подтверждение при изучении биохимических показателей крови. Фототерапия сопровождалась торможением повышенных процессов ЛПО на фоне активации антиоксидантной системы (повышение церулоплазмينا на 31%). При этом выявлен антисклеротический эффект - снижение количества общего холестерина (ХС) и фракции ХС-ЛПНП и параллельное повышение фракции ХС-ЛПВП.

**Вывод.** Фототерапия синим светом может быть предложена для профилактики и реабилитации сезонных аффективных расстройств.

**Литература**

1. Остринина Н.Л. К проблеме сезонных (осеннее-зимних) депрессий // Психиатрия и психофармако-терапия. - 2002. - Т.4, №4. - с. 33-34.
2. Цапок П.И., Кудрявцев В.А., Еликова Е.П., Чупраков П.Г., Кожевников А.Ю. Способ лечения сезонных аффективных расстройств // Патент на изобретение RU 2289453 С2 (28.02.05) Опубликовано 20.12.2006. Бюл. №35.
3. Цапок П.И., Шешунова М.Г., Еликова Е.П., Кудрявцев В.А. Биохимическая оценка клинического применения оптического излучения спектрального диапазона 440-495 нм // Материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Самарского государственного медицинского университета «Новая идеология в единстве фундаментальной и клинической медицины» - Самара: Содружество Плюс. - 2005. - с.448-451.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В двух томах. - Минск: Беларусь, 2000. - 463 с.
5. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система. - Пермь, 2005. - 57 с.
6. Цапок П.И., Галкин А.А. Хемилюминесцентный метод определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови // Информационный листок

75-98 Кировского ЦНТИ. – Киров: ЦНТИ, 1998. – 3 с.

Эпштейн А.М.

**УРОВЕНЬ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ИЗОНИАЗИДА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЪЗМ ЛЕГКИХ, НАХОДЯЩИХСЯ В ПИНЕТЕНЦИАРНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров*

Общеизвестно, что эффективность применения химиотерапевтических средств обусловлена скоростью их всасывания, характером связывания с белками, распределением в тканях, взаимодействием с рецепторами и органеллами клеток, метаболизмом и временем выведения. В частности, фармакокинетику изониазида в значительной степени определяет N-ацетилтрансфераза, осуществляющая конъюгационные метаболические превращения путем ацетилирования аминогруппы, входящей в состав его молекулы. Изониазид в ацетилированной форме гораздо менее активен терапевтически, иначе ацетилирование – эффективный механизм инактивации этого препарата (Харрис Г., 1973). Действительно, вскоре после начала широкого применения изониазида для лечения туберкулёза было выявлено, что скорость его инактивации (ацетилирования) у больных неодинакова. Это в свою очередь ведет к поливалентности химиотерапевтического эффекта и появлению у определенной категории (медленных ацетиляторов) побочных токсических синдромов (Hughes H.B, 1953). Сообщения о результатах изучения уровня ацетилирования изониазида у больных туберкулёзом немногочисленны, хотя выявлено, что скорость ацетилирования зависит от генетических (Тенцова А.И., 1981) и средовых факторов (Косенков К.У., Байнашиева Т.И., 1984). В этой связи весьма актуально изучение скорости ацетилирования изониазида у такой трудно поддающейся лечению группы больных туберкулёзом как лица, находящиеся в исправительных учреждениях, в целях проведения коррекции химиотерапии и уточнения тактики лечения.

Метод определения скорости ацетилирования изониазида основан на выявлении соотношения уровня свободного (активного) изониазида к уровню связанного (ацетилированного) в суточной моче после приёма тест-дозы препарата (0.45). Свободный изониазид в кислой среде образует с ванадиевокислым аммонием цветное комплексное соединение, интенсивность окраски которого определяется фотоэлектрокалориметрически. Коэффициент скорости ацетилирования «К» выводится исходя из процентного содержания фракций по отношению к принятому количеству. При значениях «К» от 0 до 1 индивидуум медленный ацетилятор, от 1 до 7 – быстрый, свыше 7 – быстрейший.

По вышеописанной методике скорость ацетилирования изониазида определена у 50 больных туберкулёзом легких мужчин европеоидной расы, находящихся на лечении в отделении легочной хирургии больницы УИН УВД Кировской области. В

основном это были молодые люди до 45 лет (84%), отягощенные вредными привычками: курением (94%), частым употреблением крепкого чая (92%), злоупотреблением алкоголем (30%). Более 5 лет в местах лишения свободы провели 36(72%). По формам туберкулеза больные подразделялись следующим образом: очаговый – 4(8%), туберкуломы – 21(42%), инфильтративный – 19(38%), фиброзно-кавернозный и кавернозный – 6 (12%). Выраженные признаки активно текущего процесса, представленные в виде выраженных признаков интоксикации, кашля и данных рентгенологического обследования, отмечены у 29(58%). У 6 течение туберкулеза осложнилось развитием пиопневмоторакса с последующим формированием тотальной эмпиемы плевры. Микобактерии туберкулёза в мокроте выявлены у 21(42%), у 18(36%) – двухстороннее распространенное поражение лёгких. Все больные до поступления в хирургическое отделение прошли курсы химиотерапии различной длительности.

После изучения уровня ацетилирования выявлена следующая картина: 34 быстрых ацетиляторов (68%), 7 – быстрейших (14%) и 9 – медленных (18%).

Из 9 медленных ацетиляторов у 7 отмечены туберкуломы, локализовавшиеся в пределах двух сегментов на фоне стабилизированного туберкулезного процесса и у 2 – инфильтративный туберкулёз, в одном случае осложненный формированием острой эмпиемы плевры справа. Микобактерии туберкулеза в мокроте найдены у 3 больных. Побочные явления при приеме изониазида отметили семеро, у пятерых в виде болей в области желудка, двое жаловались на возникновение головных болей. Клинический эффект достигнут у всех больных. Страдающие туберкуломами успешно прооперированы, им выполнены экономные резекции легких без каких-либо осложнений. Больным инфильтративным туберкулёзом проведен курс внутривенной химиотерапии изониазидом в дозе 0.6 в 400.0 мл изотонического раствора в сочетании с внутримышечным введением канамицина 1.0 и пероральным приёмом этамбутола 0.9-1.2. Эмпиема плевры ликвидирована дренированием с последующим промыванием полости антисептиками с введением антибактериальных препаратов. В результате лечения достигнуто рассасывание участков инфильтрации, прекращение бактериовыделения.

Самая большая группа – 34 быстрых ацетилятора была представлена следующими формами туберкулёза: туберкуломы – 12, очаговый туберкулёз – 3, инфильтративный с распадом – 14, фиброзно-кавернозный – 3, кавернозный – 1. Распространенный туберкулёз с поражением обоих легких имел место у 13 (3 – фиброзно-кавернозный, 10 – инфильтративный). Активно текущий процесс в сочетании с выделением микробактерий отмечен у 23, в том числе у 7 больных с туберкуломами. Развитие эмпиемы плевры как

осложнение течения туберкулёза зафиксировано у 3. Частичные резекции легких успешно проведены 11 больным с туберкуломами (1-отказ) и 1 больному с кавернозным туберкулёзом. У больных очаговым туберкулезом клинический эффект медикаментозного лечения был уже получен до поступления в отделение легочной хирургии, показаний для оперативного лечения не было, в виду отсутствия признаков распада и небольшого объёма поражения. 8 больным с распространенным инфильтративным туберкулёзом, наряду с проведением внутривенного капельного введения изониазида (0.6), применены внутрилегочные инстилляци канамицина (0.2-0.25) при помощи игольноструйного инъектора ИСИ-1 в течении двух месяцев. В результате лечения у 6 больных удалось достичь уменьшения инфильтрации, исчезновения полостей распада и симптомов интоксикации, а также прекращения бактериовыделения. Эмпиемы были санированы после промывания полостей через дренаж. В целом клинический эффект от примененного лечения наблюдали только у половины больных.

Группа быстрейших ацетиляторов – 7 больных: туберкулома – 1, очаговый туберкулез – 1, инфильтративный – 3, фиброзно-кавернозный – 2. Активно текущий туберкулёз с наличием бактериовыделения имел место у 5, в том числе распространённый у 2. Эмпиемы плевры отмечены также у 2. Трём больным по поводу туберкуломы, очагового и инфильтративного туберкулёза после подготовки проведены экономные резекции легких. У остальных эффекта от проводимой химиотерапии достичь не удалось. Эмпиемы были санированы, но в легких остались изменения в виде участков инфильтрации с полостями распада.

Различия по возрасту, длительности заболевания и времени нахождения в местах лишения свободы между группами ацетиляторов были недостоверны.

**Таким образом,** большинству туберкулёзом легких, находящихся в исправительных учреждениях, присуща высокая скорость ацелирования изониазида, что в свою очередь затрудняет проведение эффективной химиотерапии, сопровождается тяжелым клиническим течением и ведет к формированию распространенных деструктивных форм заболевания. Это диктует необходимость выработки индивидуальной тактики лечения с учетом скорости ацелирования и чувствительности ВК к антибактериальным препаратам, широкого проведения хирургического лечения туберкулёза быстрым ацетилятором при наличии показаний, а также применение этой группе больных внутрилегочных инстилляций антибактериальных препаратов под высоким давлением при помощи аппарата ИСИ-1.

Якупов Т.Р., Хазипов Н.З., Коксин В.П.\*  
**ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИТЕЛ ПРОТИВ  
ВЛКРС В ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ С  
АНТИГЕНАМИ ВИЧ**

*Казанская государственная академия  
ветеринарной медицины, г.Казань  
Республиканский центр по профилактике и борьбе  
со СПИД и инфекционными заболеваниями МЗ  
Республики Татарстан, г.Казань\**

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) – Bovine leukemia virus (BLV) относится к семейству Retroviridae. Вместе с вирусами Т-клеточного лейкоза человека (HTLV – 1 и 2), ВЛКРС относится к особой группе, обозначенной типом E.

В структуре ВЛКРС обнаружено 6 основных белков с М.м. от 10 до 51 Кд. Четыре негликолизированных белка (p10, p12, p15, p24) составляют сердцевину вириона, причем белок p24 присутствует в наибольшем количестве. Два крупных белка являются гликопротеидами. Один из них (gp51) расположен на поверхности вириона, другой (gp30) – трансмембранный белок (Schmidt T. et al., 1984). Оболочка ВЛКРС содержит два основных белка: gp60 (гликопротеин поверхности вириона) и p30 (мембранный белок) (Schulz A.M. et al., 1984).

ВЛКРС обладает выраженной антигенной активностью. В организме крупного рогатого скота антитела вырабатываются преимущественно на структурные белки вириона. У зараженных животных в крови циркулируют антитела к p24, p15, p12, p10, gp30 и gp51. Однако диагностическое значение имеют антитела против gp51 и p24 ВЛКРС. В настоящее время большинство серологических реакций, применяемых в диагностике лейкоза крупного рогатого скота, направлены на выявление анти-gp51 антител.

В ряде работ как отечественных, так и зарубежных исследователей отмечается генетическое и антигенное родство ВЛКРС с вирусами Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1 и 2). Известно, что пробы сыворотки крови крупного рогатого скота с антителами против p12, p15 и p24 ВЛКРС дают перекрестную реакцию в иммуноблоте с p24 HTLV-1 (Marićujana K. et al., 1989). Установлена статистически достоверная гомология в первичной структуре между p24 ВЛКРС и p24 вируса Т-клеточного лейкоза человека (Москалин Р. и др., 1996). Обнаружена также высокая гомология трансмембранного белка p30 с таковыми ретровирусом В, С типов и HTLV-1 и 2. Однако наиболее близок к ретровирусам человека по генетической структуре провирус ВЛКРС (Сюрин В.Н. и др., 1998).

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) является ретровирусом, значительно отличающимся от вируса Т-клеточного лейкоза человека. По сравнению с HTLV-1 геном ВИЧ содержит несколько дополнительных генов. Считают, что главный белок сердцевинки ВИЧ – p24 не имеет аналогов у других ретровирусом (Тарантул В.З., 2005). Установлено, что ВИЧ стоит ближе всего к лентивирусам, вызывающим тяжелые хронические инфекции у копытных животных.

Таблица

Считают также, что ВЛКРС в большей степени, чем другие вирусы имеет генетические и биологические сходства с ВИЧ. Это сходство подтверждено и по характеристике образующегося синцития (I.Chi, 1985).

Учитывая высокую изменчивость и близко генетическое родство ретровирусов изучение антигенного родства ВЛКРС с вирусом иммунодефицита человека представляет научно-практический интерес.

Целью наших исследований являлось определение активности и спектра антител против ВЛКРС сывороток крови крупного рогатого скота в иммунохимических реакциях с антигенами ВИЧ.

В исследованиях были использованы пробы сывороток крови полученные от коров с положительной реакцией на лейкоз по реакции иммунной диффузии. Иммуноферментный анализ исследуемых проб сывороток крови проводили с использованием «Набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС)» производства НПО «Нарвак». Всего исследовано 249 проб сывороток крови. Все пробы в иммуноферментном анализе показали положительные реакции на лейкоз. Учет результатов реакции проводили согласно инструкции диагностического набора.

На следующем этапе работы нами проведены исследования по изучению активности противолейкозных антител в пробах сывороток крови коров к антигенам ВИЧ-инфекции человека. Для этого методом случайной выборки отобрали 25 проб сыворотки крови коров. Иммуноферментный анализ проводили с использованием «Тест-системы иммуноферментной для выявления антител к вирусам иммунодефицита человека 1 и 2 типов» производства ЗАО «Вектор-бест». 16 проб сывороток крови крупного рогатого скота показали положительную, а 9 проб - отрицательную реакции в тест-системе ИФА к ВИЧ. У положительно реагирующих сывороток титры антител к антигенам ВИЧ были в пределах 1:2 - 1:256. Титры специфических антител на gp51 ВЛКРС в ИФА на лейкоз этих же проб составляли от 1:9 до 1:729. На основании полученных результатов по ИФА на лейкоз сыворотки крови разделили на три группы: 1) с титрами специфических антител 1:9 – слабореагирующие, 2) среднеагирующие, титры в пределах 1:27 – 1:81 и 3) сильнореагирующие, с титрами антител - 1:243 - 1:729

Исходя из полученных результатов можно сказать, что между титрами антител против gp51 ВЛКРС и титрами антител реагирующих белками ВИЧ, в сыворотках крови коров больных лейкозом, закономерной взаимосвязи не просматривается. Более того, некоторые пробы из первой группы (с низкими титрами противолейкозных антител) обнаруживают более высокие титры антител в ИФА на ВИЧ антигены.

Изучение спектра антител в исследуемых пробах сывороток крови коров проводили методом иммуноблоттинга. Иммуноблоттинг проводили на тест-системе «New LAV BLOT» фирмы Bio Rad (США). Тест основан на принципе непрямого иммуноферментного анализа, выполняемого на нитроцеллюлозной мембране-стрипе, содержащей как структурные, так и неструктурные белки ВИЧ. Денситометрию

№ проб	Результаты ИФА		Результаты иммуноблота			
	Титры АТ на gp51 ВЛКРС	Титры АТ реагирующих с АГ ВИЧ	p40	p55	p24	p34
1	1:9	1:8	+			
2	1:9	1:8	+			
3	1:9	1:64	+			
4	1:27	1:32	+		+	
5	1:27	1:8	+			
6	1:27	1:16	+			
7	1:27	1:256	+		+	
8	1:81	1:64	+		+	
9	1:81	1:2	+		+	
10	1:243	1:64	+	+	+	
11	1:729	1:64	+	+	+	
12	1:729	1:256	+	+		
13	1:729	1:64	+	+	+	+
14	1:729	1:256	+	+	+	
15	1:729	1:64	+	+		
16	1:729	1:64	+		+	

результатов иммуноблоттинга проводили в отраженном свете на сканере «Sharp Ix-330». В анализе денситограмм была использована программа «Image Master ID Prime» фирмы «Pharmacia Biotech». (Таблица)

Как видно из таблицы во всех пробах сыворотки крови обнаружены антитела реагирующие с белком предшественником структурных белков кора ВИЧ – p40.

В шести из семи наиболее сероактивных при ИФА на лейкоз пробах (№№ 10 - 16) обнаружены антитела к белку предшественнику ядерных белков гена gag - p55. Кроме того, в пяти из них (№№ 10, 11, 13, 14, 16) содержатся антитела реагирующие с основным белком кора ВИЧ – p24. В одном случае (проба №13) выявлены антитела реагирующие с p34 ВИЧ.

Из проб второй группы (среднеагирующие в ИФА на лейкоз) в четырех случаях также обнаруживаются антитела реагирующие с p24 и ни одна проба не показывает положительные реакции с белками p55 и p34 ВИЧ. В пробах сывороток крови коров из первой группы детектированы только антитела реагирующие с белком p40 ВИЧ. На основании результатов исследований можно сказать, что в организме больных лейкозом коров происходит образование перекрестно-реагирующих антител с белками ВИЧ. Однако, следует отметить, что четкой зависимости между активностью противолейкозных антител в тест-системе ИФА на ВИЧ и спектром этих антител в иммуноблоте ВИЧ не отмечалось. Так, в пробах №3 и №13 титры антител реагирующих с антигенами ВИЧ одинаковые – 1:64. Однако по спектру антител они резко отличаются.

Обобщая полученные результаты можно сделать вывод о том, что, во-первых, увеличение титра антител против gp51 ВЛКРС в крови у больных лейкозом коров не всегда сопровождается увеличением титра противолейкозных антител к антигенам ВИЧ. Во-вторых, на разных стадиях развития иммунитета при лейкозе крупного рогатого скота спектр свободно циркулирующих в сыворотке крови антител меняется. В третьих, антитела против антигенов ВЛКРС перекрестно реагируют с антигенами как неструктурных (p55, P40), так и структурного (p24/25) белков гена gag ВИЧ в иммунохимической реакции.



**Раздел 3**  
**БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ**  
**ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ**  
**И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ**  
**КОРРЕКЦИИ**

Александрова О.И.  
**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ**  
**АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ**  
**ЗООТОКСИНОВ**  
**В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ**  
**БАРОМЕТРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ**  
ГОУ ВПО «Нижегородская государственная  
медицинская академия Росздрава»,  
г. Нижний Новгород

В наше время при возрастании частоты стрессовых ситуаций и обусловленного ими массового падения резистентности организма и уровня здоровья населения проблема повышения устойчивости к неблагоприятным факторам среды приобретает особую остроту. Известно, что яды пчелы медоносной и жабы зеленой при многократном введении в нетоксичных дозах оказывают радиозащитное действие в отношении системы крови, в основе которого, как полагают, лежат механизмы неспецифической адаптационной реакции активации (Корягин, Ерофеева, 2004). В связи с этим логично предположить, что данные зоотоксины могут проявлять адаптогенные свойства и при гипоксии.

Целью работы являлось изучение адаптогенных свойств пчелиного и жабьего ядов в условиях кратковременной барометрической гипоксии при предварительном многократном введении в

нетоксичных дозах.

Эксперимент проводили на белых нелинейных крысах – самцах массой 250-300 г (n=7). Яды вводили внутривентриально в течение 7 дней в дозе 0,1 мг/кг в сутки. Животным контрольных групп вводили растворители ядов (физиологический раствор для пчелиного яда, 12% этанол для яда жабы). Через сутки после окончания инъекций животных контрольных и опытных групп, а также животных группы «гипоксия» (без инъекций) в течение 30 минут подвергали барометрической гипоксии (условная высота 8000 м). Интактные животные не подвергались никаким воздействиям, их показатели принимались за условную норму. Сразу после гипоксии в крови определяли уровень конечных продуктов ПОЛ – диеновых, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, малонового диальдегида (МДА), а также содержание лактата, пирувата и активность ЛДГ. Через 12 часов после гипоксии унифицированным гемоглобинцианидным методом определяли количество гемоглобина, фотометрически - количество эритроцитов; содержание лейкоцитов в крови подсчитывали в камере Горяева, количество клеток костного мозга в бедренной кости определяли по методу Горизонтова с соавт. (1983).

Исследование показателей системы крови через 12 часов после эксперимента выявило, что количество лейкоцитов при гипоксии достоверно увеличивалось на 39%, что является универсальным показателем стресс-реакции (Табл. 1.) (Гаркави и др., 1998). Вероятно, лейкоцитоз в периферической крови объясняется выходом этих клеток из костного мозга (уровень клеток костного мозга ниже в группе «гипоксия» на 41% по сравнению с интактными животными). Гипоксия достоверно увеличивала количество эритроцитов на

Табл. 1

Влияние пчелиного яда (0,1 мг/кг \* 7 суток) на некоторые показатели системы крови у крыс при многократном введении перед гипоксией (8 тыс. м в течение 30 мин)

Показатели	Интактные	Гипоксия	Гипоксия + физ. Р-р	Гипоксия + пчел. яд, 0,1 мг/кг
Лактат	1.731±0.294	3.071±0.370*	4.259±0.902*	3.483±0.432*
Пируват	0.261±0.030	0.208±0.021	0.193±0.029	0.207±0.021
Лактат/пируват	7.051±1.640	15.300±2.030*	23.500±6.453*	17.160±1.881*
Диеновые конъюгаты, отн. ед. оп. пл.	1.047±0.063	0.856±0.09	1.024±0.013	0.995±0.096
Триеновые конъюгаты, отн. ед. оп. пл.	0.462±0.031	0.393±0.018	0.547±0.079	0.505±0.046
Основания Шиффа, отн. ед. оп. пл.	0.082±0,014	0.038±0,006*	0.098±0,018#	0.336±0,087*#+
Гемоглобин, г/л	120.00±7,45	132.91±6,06	134.73±2,54	136.41±3,65
Эритроциты, кл/мл (*10 <sup>6</sup> )	3.19±0,17	3.37±0,10	3.48±0,14	3.34±0,11
Лейкоциты, кл/мл (*10 <sup>3</sup> )	19.87±2.28	27.60±2.41*	20.88±1.85#	18.37±0.59#
Кол-во клеток кос. мозга в бедренной кости (*10 <sup>6</sup> )	8.88±0,61	5.25±0,25*	5.20±0,26*	7.77±0,61#+

Примечание: \* - p<0.05 – достоверность различия по отношению к интактным животным; # - p<0,05 – по отношению к группе «гипоксия»; + - p<0,05 – по отношению к контролю.

21 % и концентрацию гемоглобина на 18% (Табл.2). Предварительное введение пчелиного яда достоверно снижало количество лейкоцитов по сравнению с группой «гипоксия» и соответствовало уровню лейкоцитов интактных животных (Табл.1.). Количество клеток костного мозга в группе, животным которой вводили пчелиный яд, было выше, чем в группах «гипоксия» и контрольной группе на 48%.

Гипоксия снижала уровень оснований Шиффа (Табл.1.) по сравнению с интактными животными. Это может быть объяснено длительностью барометрического воздействия (30 минут), когда первая волна активации продуктов ПОЛ уже прошла (10-15 минут), и фиксируется вторая фаза реакции – снижение ПОЛ ниже исходного уровня, обусловленная активацией антиоксидантной системы (Барабой, 2005). При этом, согласно Барабою (2005), чем сильнее стресс, тем быстрее возникает всплеск ПОЛ и глубже величина спада. У группы «гипоксия+пчелиный яд», по-видимому, увеличение интенсивности ПОЛ развивается сравнительно медленнее, чем в крови животных группы «гипоксия».

Наблюдалась тенденция к снижению диеновых и триеновых конъюгатов гидроперекисей липидов пчелиным ядом по сравнению с контрольной группой. Диеновые и триеновые конъюгаты не являются стойкими соединениями, они очень быстро превращаются в основания Шиффа, поэтому уровень оснований Шиффа, вероятно, является более информативным.

Изучение углеводного обмена сразу после гипоксии на уровне организма показало, что при гипоксии значительно увеличивалось соотношение лактат/пируват за счет увеличения уровня лактата, что свидетельствует об ингибировании цикла Кребса и дыхательных процессов (Дудченко, Лукьянова, 2004). В то же время у опытных животных не удалось выявить достоверного адаптогенного эффекта пчелиного яда в отношении углеводного обмена: наблюдалась лишь тенденция к снижению соотношения лактат/пируват по сравнению с контролем.

Предварительное введение яда жабы, наоборот, увеличивало количество лейкоцитов по сравнению с интактными животными и контролем, и это свидетельствует о стрессовой реакции на введение яда жабы. Существенных различий в концентрации гемоглобина и эритроцитов при введении яда жабы по сравнению с контролем обнаружено не было.

Уровень МДА достоверно увеличивался при состоянии гипоксии, что связано с активацией ПОЛ, обусловленной в первую очередь такими факторами, как образование активных форм кислорода, накопление восстановленных форм пиридиннуклеотидов, возрастание прооксидантной системы. Уровень МДА во всех гипоксических группах достоверно не различался.

Введение яда жабы резко тормозило активность супероксиддисмутазы по сравнению с контролем, гипоксической группой, и даже по сравнению с интактными животными. Вероятно, это свидетельствует о резко истощении антиоксидантной системы в организме. Таким образом, антиоксидантного эффекта яд жабы не проявлял.

Яд жабы интенсивно повышал концентрацию сукцинатдегидрогеназы по сравнению с контролем и группой «гипоксия», что свидетельствует об активации альтернативного пути получения энергии в клетках. При введении яда жабы наблюдалась тенденция к уменьшению уровня ЛДГ по сравнению с группой «гипоксия».

Таким образом, пчелиный яд проявляет ряд адаптогенных свойств в отношении кратковременной барометрической гипоксии, что выражено в изменении показателей перекисного окисления липидов и физиологических показателей системы крови. Яд жабы, напротив, не оказывает такого действия, однако обладает энергостимулирующим эффектом.

#### Литература

1. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. Киев: Фитосоцицентр, 2006. 424 с.

2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. М., 1998.

3. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. М., 1983. 240 с.

4. Дудченко А.М., Лукьянова Л.Д. Триггерная роль энергетического обмена в каскаде функционально-метаболических нарушений при гипоксии // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. М., 2004. С. 51-84.

5. Корягин А.С., Ерофеева Е.А. Исследование адаптогенных свойств животных ядов к действию повреждающих факторов (на примере ионизирующей радиации) // Поволжский экологический журнал. 2004. №2. С. 52-58.

Афоница С.Н., Бовбас Е.И., Угольников Т.В.  
**ВЛИЯНИЕ АДАПТАЦИИ К БАРОКАМЕРНОЙ  
ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА  
СОСТОЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ  
У БОЛЬНЫХ С ВЕГЕТО-СОСУДИСТОЙ  
ДИСТОНИЕЙ**

ГОУ ВПО «Оренбургская государственная  
медицинская академия», г. Оренбург

В последние годы значительно возрос интерес к вопросам лечения и профилактики сосудистых заболеваний головного мозга, являющихся одной из основных причин инвалидности и смертности людей молодого и среднего возраста. Наряду с внедрением новых лекарственных препаратов ведется поиск наиболее физиологических методов лечения, основанных на реализации потенциальных возможностей организма. Учитывая успешное применение адаптации к гипоксии в лечении нарушений церебральной гемодинамики, аритмий, гипертонической болезни представляло интерес изучить влияние периодического действия гипобарической гипоксии на состояние регуляторных систем у больных с вегето-сосудистой дистонией (ВСД). Известно, что в реализации механизма вегетативной дисфункции у больных с ВСД важная роль принадлежит состоянию гипофизарно-надпочечниковой и симпато-адреналовой систем. В связи с этим целью настоящего исследования было изучение уровня экскреции адреналина и норадреналина, а также определение содержания в крови 11-ОКС и гистамина у больных с ВСД до и после курса баротерапии.

Адаптацию к высотной гипоксии создавали путем ежедневного пребывания больных в многоместной барокамере «Урал-1» в течение 3,5 часов на высоте 2000м на протяжении 22 дней. В двух сериях наблюдений – до начала курса адаптации и сразу после его завершения - у больных ВСД флюоресцентным методом исследовали содержание общих 11-ОКС, гистамина в плазме крови, а также величину экскреции

адреналина и норадреналина с мочой. Очистка и разделение катехоламинов осуществлялось путем ионообменной хроматографии на колонках, заполненных «Dowex - 50».

Результаты проведенных исследований показали, что у больных с ВСД до проведения баротерапии отмечалось снижение уровня экскреции с мочой адреналина ( $2,5 + 0,22$  мкг/сут против  $6,5 + 0,4$  мкг/сут в контроле), норадреналина ( $5,4 + 0,6$  мкг/сут против  $9,8 + 0,7$  мкг/сут в контроле), а также уменьшение в плазме крови концентрации гистамина ( $0,015 + 0,003$  мкг/мл против  $0,04 + 0,002$  мкг/мл в контроле). Вместе с тем, содержание 11-ОКС в плазме крови больных ВСД существенно не отличалось от количества его в крови здоровых людей.

После курса баротерапии у больных с ВСД наблюдалось повышение экскреции с мочой норадреналина до  $10,5 + 0,3$  мкг/сут, происходило не столь выраженное, но все-таки увеличение экскреции с мочой адреналина до  $3,0 + 0,4$  мкг/сут. При исследовании функциональной активности гипофизарно-надпочечниковой системы у больных ВСД в ходе бароадаптации существенных изменений уровня 11-ОКС не выявлено. Возможно, это объясняется низкой реактивностью гипофизарно-надпочечниковой системы, обусловленной длительным течением заболевания (более трех лет). Не выявлено также в процессе баротерапии у больных с ВСД и существенных изменений в концентрации гистамина в крови.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что в патогенезе вегето-сосудистой дистонии важное место отводится нарушению функции симпато-адреналовой системы. Адаптация к прерывистой высотной гипоксии приводит к повышению активности симпато-адреналовой системы у больных с вегето-сосудистой дистонией, что способствует нормализации вегетативной реактивности и позволяет рекомендовать использование этого метода для коррекции нарушений психовегетативного звена при данной патологии.

Бондаренко А.Л., Цапок П.И., Любезнова О.Н.  
**ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО  
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ  
ЛАЙМ-БОРРЕЛИОЗОМ**

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) лежит в основе патогенеза многих заболеваний. Изучение данных процессов позволяет судить о степени тяжести болезни, прогнозировать развитие осложнений, рецидивов и затяжного течения. В последние годы изучению патогенетических механизмов Лайм-боррелиоза уделяется много внимания. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы при остром Лайм-боррелиозе.

Нами было обследовано 120 пациентов с диагнозом острый Лайм-боррелиоз. Возраст больных колебался от 15 до 60 лет, в среднем составив 45,90,7 лет. Из исследуемой группы были исключены лица с сопутствующей хронической патологией, такой как гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, кардиомиопатии, хронические заболевания печени, суставов, полинейропатии различного генеза, сахарный диабет, так как данные заболевания влияют на оксидантную и антиоксидантную систему организма. Мужчины составили 51,3%, женщины - 48,7%.

Группу сравнения составили 30 практически здоровых лиц в возрасте от 19 до 60 лет.

Состояние процессов ПОЛ и антиоксидантной системы организма оценивали с помощью индуцированной хемилюминесценции. Нами определялись максимальный показатель фотовспышки  $I_m$ , показатель светосуммы  $S$  за 60 сек. и показатель активности антиоксидантной системы (отношение  $I_m/S$ ).

У пациентов при поступлении в стационар наблюдалась достоверная интенсификация процессов ПОЛ и снижение активности антиоксидантной системы плазмы крови в сравнении с группой контроля ( $I_m$ : 143,3±4,0 и 107,5±8,0;  $p < 0,001$ ,  $S$ : 2563,6±72,4 и 940,8±132,1;  $p < 0,001$ ,  $I_m/S$ : 0,056±0,004 и 0,108±0,007;  $p < 0,001$ ).

Увеличение амплитуды максимальной вспышки ( $I_m$ ) свидетельствует о накоплении большого количества свободных радикалов в плазме крови. Одновременно с этими процессами начинает активироваться антиоксидантная система организма (увеличение светосуммы  $S$  пропорционально увеличению амплитуды), но в дальнейшем происходит её срыв и быстрое истощение, что приводит к замедлению процесса обезвреживания имеющихся свободных радикалов (увеличение светосуммы  $S$  в 2,2 раза больше, чем увеличение амплитуды процесса). О значительном снижении активности АОС организма также говорит достоверное снижение показателя отношения  $I_m/S$  у обследованных пациентов.

Таким образом, в начальном периоде острого Лайм-боррелиоза наблюдается резкая активация хемилюминесценции, что свидетельствует об усилении процессов ПОЛ. Это приводит к повреждению клеток на уровне мембран. Активность антиоксидантной системы также увеличивается, но не в достаточной степени, чтобы обезвредить все образовавшиеся свободные радикалы.

Мы сравнили показатели хемилюминесценции у пациентов с острым Лайм-боррелиозом в период разгара болезни и в период ранней реконвалесценции

В результате мы получили, что по мере затухания инфекционного процесса показатели ПОЛ достоверно снижаются (амплитуда  $I_m$ : 112,8±4,3 и 143,3±4,0;  $p < 0,001$ ). Показатели светосуммы и активности антиоксидантной системы также имеют тенденцию к

нормализации и направленность к показателям контрольной группы, но все же они достоверно от них отличаются ( $S$ : 2050,4±81,5 и 940,8±132,1;  $p < 0,001$ ,  $I_m/S$ : 0,060±0,002 и 0,108±0,007,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует об истощении и недостаточной эффективности антиоксидантной системы организма. Это может служить показанием к назначению антиоксидантной терапии у пациентов с острым Лайм-боррелиозом.

Нами не было получено достоверных отличий при сравнении показателей хемилюминесценции у пациентов с легкими и среднетяжелыми формами острого Лайм-боррелиоза ( $I_m$ : 142,6±6,1 и 150,9±6,6 имп/сек;  $p > 0,05$ .  $S$ : 2533,0±121,6 и 2716,1±113,1 имп/60сек;  $p > 0,05$ ).

При изучении показателей хемилюминесценции у пациентов в зависимости от наличия кожных поражений (клещевая мигрирующая эритема), нами были зарегистрированы следующие результаты. При безэритемной форме наблюдается более выраженная интенсификация процессов липопероксидации, чем при эритемной форме болезни ( $I_m$ : 154,5±5,9 и 139,4±4,7 имп/сек;  $p < 0,05$ .  $S$ : 2807,2±139,9 и 2504,6±78,4 имп/60сек;  $p < 0,05$ ). В тоже время антиоксидантная система организма активизируется в равной степени, так как показатель её активности одинаков при обеих формах острого Лайм-боррелиоза (0,058±0,002 и 0,058±0,004 усл.ед;  $p > 0,05$ ).

В период реконвалесценции исследуемые показатели у пациентов с эритемной и безэритемной формами инфекции достоверно не отличались, но они не достигали показателей нормы.

Заслуживают внимания данные, которые были получены при сравнении показателей хемилюминесценции в плазме крови у пациентов с различными видами эритем. В дебюте болезни усиление процессов ПОЛ происходит в одинаковой степени при различных видах эритем, а в период реконвалесценции наблюдается достоверное снижение показателей. В то же время у пациентов со сплошной эритемой наблюдается выраженное истощение антирадикальной защиты организма, о чем свидетельствует достоверное снижение показателя её активности ( $I_m/S$ ). При кольцевидной эритеме, наоборот, в период реконвалесценции нами была зарегистрирована активация показателей защитной антиоксидантной системы, и как результат - адекватный биохимический ответ, свидетельствующий о выздоровлении организма. Необходимо отметить, что показатель активности ( $I_m/S$ ) в период реконвалесценции был достоверно выше у пациентов с кольцевидной экзантемой, чем со сплошной.

Таким образом, мы можем предположить, что развитие сплошной эритемы является неблагоприятным признаком в плане хронизации инфекции, поэтому данным пациентам необходима адекватная антиоксидантная терапия в дополнение к этиотропному и патогенетическому лечению, а также тщательное диспансерное наблюдение.

У пациентов с наличием регионарного лимфаденита, остаточных явлений в виде пигментации или шелушения, показатели ПОЛ и АОС достоверно не отличались от больных с отсутствием этих симптомов.

Таким образом, мы проанализировали динамику показателей индуцированной хемилюминесценции при остром Лайм-боррелиозе, и на основании этого можно сделать ряд выводов. В разгар заболевания происходит выраженная интенсификация процессов ПОЛ и угнетение показателей антиоксидантной системы плазмы крови. В динамике болезни активность процессов липопероксидации снижается, однако полного восстановления антирадикальной системы не происходит вследствие её истощения. Наличие сплошной эритемы в клинике острого Лайм-боррелиоза возможно является фактором риска прогредиентного течения Лайм-боррелиоза.

Бондаренко А.Л., Савиных М.В., Костяев А.А.,  
Ежова Н.Л.

#### СПЕЦИФИКА ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ В+С

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике, лечении и профилактике гепатотропной вирусной инфекции, эта проблема далека от своего решения. Данное обстоятельство связано с широким распространением и глобальной тенденцией к росту инфицированности гемоконтактными вирусными гепатитами. Общие пути заражения обуславливают возможность сочетания HBV+HCV-инфекции. В настоящее время сохраняется устойчивая тенденция к увеличению заболеваемости хроническим гепатитом В+С. Одной из причин развития хронических форм вирусных гепатитов считается неполноценность иммунного ответа, которая, в свою очередь, может быть обусловлена изменением процессов перекисного окисления липидов в мембранах лимфоцитов. Целью нашего исследования было дать патогенетическую оценку интенсивности липопероксидации в мембранах лимфоцитов у больных хроническим гепатитом В+С.

#### Материалы и методы исследования

Нами было обследовано 45 человек с хронической микст-инфекцией В и С (31 мужчина, 14 женщин). Среди них минимальная и слабовыраженная активность процесса выявлена у 30, умеренная и высокая – у 15 пациентов. Маркеры репликации обоих вирусов отсутствовали у 29 человек, репликация только HCV обнаружена у 4, только HBV – у 7, одновременное выявление репликативной активности HBV и HCV-инфекции выявлено у 5 заболевших. С целью установления характера воздействия опийной интоксикации на иммунокомпетентные клетки отдельно изучены показатели липидной пероксидации в лимфоцитах у 12 больных, употребляющих

внутривенные наркотики. Для определения физиологических колебаний ПОЛ обследовано 26 первичных доноров соответствующего возраста и пола.

Оценка процессов свободнорадикального окисления осуществлялась при поступлении больных в стационар на высоте клинической картины заболевания. Для определения физиологических колебаний ПОЛ в лимфоцитах обследовано 26 первичных доноров аналогичных по полу и возрасту с группой больных. Хемилюминесцентный анализ функциональной активности лимфоцитов крови проводили по методу P. De Sole et al. в модификации (1983). Хемилюминесценцию лимфоцитарной взвеси, инициированную перекисью водорода, оценивали в течение 100 сек на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL3604 (СКТБ «Наука», Красноярск). Регистрацию результатов и управление хемилюминесцентным анализатором осуществляли через микро ЭВМ IBM/PC/AT. Расчетные показатели:

· **S** – площадь под кривой за 100 с. Параметр характеризует полную интенсивность светоизлучения за время исследования, размерность –  $mV$ .

· **I max / S** – безразмерный параметр, характеризующий полную относительную интенсивность излучения за время измерения.

· **Tg  $\angle$ б, (t)** – тангенс угла наклона кривой к оси времени. Параметр, характеризующий максимальную крутизну спада кривой, со знаком (-). Размерность –  $mV / c$ . В скобках указано время, когда этот параметр рассчитан.

Все этапы обработки данных выполнены на ЭВМ с помощью соответствующего пакета программ (Excel, Biostat).

#### Результаты и обсуждение

У всех пациентов с хроническим гепатитом В+С наблюдалась активация липопероксидации в лимфоцитах. Светосумма сигнала, свидетельствующая о концентрации прооксидантов в конце цепи свободнорадикальных реакций, превышала нормальные показатели в 1,5 раза ( $747,82 \pm 166,58$  и  $409,89 \pm 57,54$  соответственно). Длительно протекающий инфекционный процесс негативным образом сказался на состоятельности системы антиоксидантной защиты, что отразилось в увеличении времени наступления максимального снижения сигнала и снижении абсолютной величины угла максимального снижения ( $12,1 \pm 2,7$  с и  $-1,95 \pm 0,26$  против  $5,22 \pm 0,31$  с и  $-2,21 \pm 0,23$  в группе сравнения).

Степень наблюдающихся сдвигов зависела от активности хронического микст-гепатита. Так, у пациентов с минимальным и слабовыраженным цитолизом показатели, характеризующие интенсивность процессов ПОЛ в мембранах лимфоцитов - индекс максимальной светимости и

светосумма свечения, - практически не отличались от таковых в группе сравнения ( $12,59 \pm 2,29$  и  $418,5 \pm 106,43$  против  $14,8 \pm 1,88$  и  $409,89 \pm 57,54$  соответственно), что указывало на достаточно низкую скорость протекания свободнорадикальных реакций. Однако время наступления максимального снижения сигнала увеличивалось, а скорость снижения светимости, наоборот, уменьшалась ( $8,1 \pm 1,67$  с,  $-1,77 \pm 0,28$  и  $5,22 \pm 0,31$  с,  $-2,21 \pm 0,23$  соответственно), что говорило о развивающемся дефиците компонентов антиоксидантной системы.

Условия для развития оксидантного стресса возникают если скорость образования свободно-радикальных продуктов превышает способность организма их элиминировать. Данный феномен мы наблюдали при умеренной и высокой активности хронического гепатита В+С, когда имела место дезорганизация систем перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита. В этом случае выявлялась значительная интенсификация процессов перекисного окисления липидов мембран иммунокомпетентных клеток, что проявилось трехкратным увеличением светосуммы свечения ( $1406,47 \pm 426,53$ ) по сравнению, как с группой контроля ( $409,89 \pm 57,54$ ,  $p < 0,001$ ), так и с минимальной активностью хронического гепатита ( $418,5 \pm 106,43$ ,  $p < 0,001$ ). Максимальная амплитуда сигнала также значительно возростала ( $24,67 \pm 5,77$ ) и имела достоверные различия с группой больных с минимальным цитолизом ( $12,59 \pm 2,29$ ,  $p < 0,01$ ). У пациентов с высокой активностью хронической микст-инфекции В и С увеличение светосуммы превышало рост амплитуды сигнала, что свидетельствовало о значительном истощении антиоксидантной системы, проявляющемся в достоверном снижении коэффициента  $I \text{ max}/S$  ( $0,02 \pm 0,002$ ) по сравнению, как с группой контроля ( $0,04 \pm 0,006$ ,  $p < 0,01$ ), так и с больными с минимальной активностью процесса ( $0,04 \pm 0,003$ ,  $p < 0,01$ ).

Таким образом, несмотря на несомненно большую выраженность воспалительных процессов в печени и повышенную перекисацию при гепатитах с высоким цитолизом не происходит адекватного повышения деятельности антиоксидантных ферментов, что, очевидно, является отражением глубоких дизадаптационных процессов при данной патологии.

Также мы оценили зависимость процессов липидной перекисации в мембранах лимфоцитов от репликативной активности вирусов. У пациентов с отрицательной индикацией в крови маркеров репликации HBV и HCV была выявлена тенденция к повышению скорости протекания реакций перекисления липидов в лимфоцитах по сравнению с группой контроля ( $S: 510,67 \pm 146,94$  и  $409,89 \pm 57,54$ ). Система антирадикальной защиты компенсировала развивающийся дефицит антиоксидантных компонентов - индекс  $I \text{ max}/S$  сопоставим с аналогичным показателем в группе сравнения

( $0,04 \pm 0,003$  и  $0,04 \pm 0,006$ ,  $p > 0,05$ ). У пациентов с наличием в сыворотке анти-HCV Ig M при отсутствии маркеров репликации HBV также имело место минимальное повышение интенсивности реакций перекисления липидов в мембранах клеток ( $S: 462,04 \pm 179,33$ ,  $I \text{ max}: 15,49 \pm 5,46$  против  $409,89 \pm 57,54$  и  $14,8 \pm 1,88$  соответственно в группе практически здоровых лиц). Однако отмечалась тенденция к снижению коэффициента  $I \text{ max}/S$  ( $0,03 \pm 0,005$  и  $0,04 \pm 0,006$  соответственно), в комплексе характеризующего эффективность противорадикальной защиты, что свидетельствовало о развивающемся дефиците ресурсов антиоксидантной системы. Репликация HBV сопровождалась самой значительной интенсификацией процессов липоперекисации при одновременном истощении антиоксидантной системы лимфоцитов - светосумма свечения была максимальной ( $1794,51 \pm 855,0$ ) и достоверно отличалась от группы контроля ( $409,89 \pm 57,54$ ,  $p < 0,001$ ), а отношение амплитуды светового сигнала к площади светосуммы наименьшей ( $0,02 \pm 0,005$ ). Выраженный дефицит компонентов системы противорадикальной защиты подтверждало существенное увеличение времени максимальной скорости снижения сигнала ( $30,94 \pm 15,58$ ), достоверно отличающееся, как от практически здоровых лиц ( $5,22 \pm 0,31$ ,  $p < 0,001$ ), так и других групп сравнения (HCV«-»HBV«-»:  $9,32 \pm 1,75$ ; HCV«+»HBV«-»:  $4,5 \pm 0,63$ ; HCV«+»HBV«+»:  $7,95 \pm 3,2$ , везде  $p < 0,05$ ). При наличии маркеров репликации обоих вирусов интенсивность процессов перекисного окисления липидов была повышенной ( $S: 886,58 \pm 324,61$ ), но, тем не менее, она не достигала значений, как при репликации только HBV. Коэффициент  $I \text{ max}/S$  в этой группе составил  $0,02 \pm 0,002$ , что было в 2 раза ниже по сравнению с практически здоровыми лицами ( $0,04 \pm 0,006$ ) и с больными с отсутствием репликативной активности вирусов ( $0,04 \pm 0,003$ ). Данные изменения указывают на уменьшении резервов системы антирадикальной защиты.

Таким образом, у больных с хронической микст-инфекцией В и С наблюдается дезадаптация в деятельности защитных механизмов, особенно выраженная при репликации HBV. Воспалительные процессы в печени приводят к генерации активных форм кислорода, инициирующих процессы перекисного окисления липидов. На фоне истощения антиоксидантной системы это становится причиной и условием прогрессирования заболевания за счет повреждающего действия свободных радикалов. Кроме того, повышение активности некоторых факторов защиты, в частности супероксиддисмутазы, оказывает противовоспалительный эффект и при нарушении этого механизма наблюдается прогрессирование патологического процесса.

У пациентов с неотягощенным наркологическим анамнезом имело место минимальное усиление процессов липоперекисации ( $S: 502,14 \pm 119,83$ ) при

сохранной компетентности системы антиоксидантной защиты – коэффициент  $I_{\max}/S$  не отличался от такового в группе сравнения ( $0,04 \pm 0,003$  и  $0,04 \pm 0,006$  соответственно). У внутривенных наркоманов наблюдалась значительная активизация процессов перекисного окисления липидов лимфоцитов, что выражалось в достоверном повышении площади светосуммы сигнала ( $1423,46 \pm 516,74$ ) по отношению к донорам ( $409,89 \pm 57,54$ ,  $p < 0,001$ ) и лицам без наркотической зависимости ( $502,14 \pm 119,83$ ,  $p < 0,01$ ). В то же время система антиоксидантной защиты уже не в состоянии компенсировать возникающие изменения, что находит подтверждение в достоверном увеличении времени максимального убывания сигнала ( $23,63 \pm 9,14 - 5,22 \pm 0,31$  (контроль),  $p < 0,001$ ;  $7,91 \pm 1,39$  (лица без в/в наркомании),  $p < 0,001$ ) и снижении коэффициента  $I_{\max}/S$  ( $0,02 \pm 0,003$ ,  $p < 0,01$  по отношению к обеим группам сравнения). Истощение антиоксидантной системы замедляет процессы репарации печени, что является дополнительным фактором, способствующим прогрессированию заболевания.

Таким образом, при хронической микст-инфекции В и С происходит усиление перекисного окисления липидов мембран иммунокомпетентных клеток, что отражает универсальность активации свободнорадикальных процессов в лимфоцитах при гипоксии и воспалении. Хроническая вирусная инфекция отрицательным образом сказывается на компетентности системы противорадикальной защиты, причем степень патологических сдвигов зависит от активности хронического гепатита. Фактором значительного усиления процессов перекисного окисления липидов в мембранах лимфоцитов является репликация HBV. В случае репликации обоих вирусов интенсивность липопероксидации менее выражена, что находит подтверждение в предположении о взаимном ингибировании инфекционных агентов, однако поражение системы антирадикальной защиты значительно и сопоставимо с таковой при репликации только HBV. Внутривенная наркомания негативно влияет на патологический процесс, вызывая глубокое повреждение антиоксидантной системы, и способствует прогрессированию заболевания.

#### Выводы

1. С увеличением степени активности хронической HBV+HCV-инфекции наблюдается усиление перекисного окисления липидов и истощение факторов антиоксидантной защиты в мембранах лимфоцитов.

2. Репликация HBV повышает липопероксидацию мембран иммунокомпетентных клеток у больных с хроническим гепатитом В+С.

3. Внутривенная наркомания потенцирует развивающийся дефицит антиоксидантной системы при хронической микст-инфекции В и С.

Вавилова Т.П., Китаев В.А., Пушкина А.В.,  
Шишкин С.В.

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В КОСТНОЙ ТКАНИ ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТЕЙ

Московский государственный медико-  
стоматологический университет, г. Москва

Регенерация органов и тканей остаётся одной из актуальных проблем в современной медицине. Среди прочих вопросов, связанных с восстановлением тканей, особое место занимает регенерация костной ткани. Восстановительные процессы плоских костей имеют важное значение в стоматологии, где большинство заболеваний и поражений прямо или косвенно связаны с патологией челюстей. Актуальность этой проблемы заключается также в том, что частота осложнений при травмах костей лицевого скелета и дентальной имплантации остаётся высокой. Чаще всего посттравматические осложнения (Богатов В.В., Неупокоев Н.Н., 1998) и дезинтеграция дентальных имплантантов наблюдается на нижней челюсти (Китаев В.А., 2007). Такое положение связывают, как правило, с поздним обращением пациентов, с изменением иммунного статуса организма, расстройством микроциркуляции и нервной трофики, видом повреждения костной ткани при травме (Корж Г.М., 1989; Неробеев А.И., 1969; Стефанцев Н.М., 1983; Мустафаев М. с соавт., 1998). Вместе с тем в литературе практически не встречаются исследования, в которых уделяется внимание особенностям метаболизма костной ткани верхней (ВЧ) и нижней челюсти (НЧ). Образование кости проходит либо по эндохондральному (НЧ) либо по интрамембранному (ВЧ) пути остеогенеза (Gartner P.L. и Hiatt J.L., 1997). Сформированная кость состоит из плотного компактного коркового вещества и менее плотной, но метаболически более активной трабекулярной части. В костной ткани постоянно происходит процесс ремоделирования, что важно для сохранения ее качества (Blair H.C., 1998). При этом остеокласт-опосредованная резорбция кости находится в равновесии с остеобласт-опосредованным неоosteогенезом (Schwartz Z. с соавт., 1997) и системно регулируется как гормонами, так и локальными факторами, в частности, цитокинами (Schwartz Z. и др., 1997; Blair H.C., 1998; Raisz L.G., 1999).

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось исследование содержания различных белков и ферментов, участвующих в ремоделировании костной ткани верхней и нижней челюстей.

**Материалы и методы.** У 114 человек (58 мужчин и 56 женщин) в возрасте от 18 до 72 лет ( $46 \pm 11$ ), нуждающихся в дентальной имплантации, получали костную ткань ВЧ и НЧ, используя костную ловушку, из места предполагаемой установки дентального имплантанта. Полученную ткань измельчали в ступке при  $+4^{\circ}\text{C}$ , к полученному гомогенату для устранения

крови из образцов добавляли 1 мл 0,9% раствора NaCl, встряхивали на вортексе и центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин, при +4°C. Супернатант удаляли, а 10 мг осадка разводили в 200 мкл буфера, предназначенного для разведения образцов в соответствующей коммерческой ИФА тест-системе. Затем, материал вновь центрифугировали 10 мин при 10000 об/мин, и в полученном супернатанте определяли количество общего белка по методу Бредфорд. Количественное определение зимогена матриксной металлопротеиназы-1 (ММП-1), тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем. Активность кислой фосфатазы определяли по скорости преобразования р-нитрофенилфосфата в р-нитрофенол при pH=4,8. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

**Результаты и обсуждение.** По нашим данным, минимальное количество белка в образцах, забранных из верхней и из нижней челюстей, составило соответственно 3,31 и 4,05 мг/мл, а максимально определяемое содержание белка в костной ткани верхней и нижней челюсти, составило 7,11 и 7,45 мг/мл. Рассчитанное среднее количество белка в кости, полученной из НЧ, было статистически достоверно выше по сравнению с содержанием белка в костях верхней челюсти ( $p < 0,01$ ).

Содержание проММП-1 в костной ткани ВЧ находилось в пределах от 3,15 до 5,95 нг/мг, составив в среднем  $4,42 \pm 0,87$  нг/мг. В то же время содержание проММП-1 в нижней челюсти варьировало в большем диапазоне от 2,36 до 8,07 нг/мг, и составило в среднем  $4,82 \pm 3,00$  нг/мг. И хотя отсутствуют статистически значимые различия в количестве проММП-1 в кости ВЧ и НЧ ( $p = 0,06$ ), все же можно говорить о более высокой концентрации проММП-1, определяемой в нижней челюсти.

Количество ингибиторов проММП-1 в костной ткани верхних челюстей находилось в пределах от 750 до 1846 нг/мг, составив в среднем  $1279 \pm 400$  нг/мг. В то же время содержание ТИМП-1 в ткани нижних челюстей колебалось от 849 до 2132 нг/мг, составив в среднем  $1140 \pm 350$  нг/мг. Уровни ингибиторов проММП-1 нижней челюсти были статистически достоверно ниже, уровней ТИМП-1 в верхней челюсти ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, полученные данные о количестве проММП-1 и ТИМП-1 свидетельствуют не только о наличии этих белков в костном гомогенате челюстей, но и о значительных колебаниях этих показателей, как в верхней, так и в нижней челюстях. При этом имеются определенные отличия в содержании каждого белка в зависимости от челюсти. Поэтому для оценки возможного протеолиза и его ингибирования в костной ткани, нами предложен коэффициент, отражающий

соотношение количества ТИМП и проММП-1. Для образцов костной ткани, полученной из ВЧ, значения коэффициента ТИМП/проММП колебались от 161 до 584, составив в среднем  $302 \pm 130$ . Для образцов, полученных из кости НЧ, значения коэффициента ТИМП/проММП находились в диапазоне от 128 до 409, составив в среднем  $279 \pm 89$ . Как демонстрируют полученные данные, значения соотношения ТИМП к проММП в большинстве случаев были выше в образцах костной ткани, полученных из верхней челюсти. Вместе с тем, статистически достоверной разницы выявлено не было.

Активность кислой фосфатазы (КФ) в экстрактах костной ткани была невысока. Средние уровни активности кислой фосфатазы в образцах кости, полученной из ВЧ, равнялись 0,030 МЕ/г (min 0,006, max 0,182), в образцах кости, полученных из НЧ, эти значения составили, соответственно, 0,01 (min 0,004, max 0,099). При этом активность КФ в костной ткани, полученной из ВЧ была статистически достоверно выше, чем в костной ткани, полученной из НЧ ( $p = 0,04$ ).

Таким образом установлено, что костная ткань нижней челюсти отличается более высоким содержанием водорастворимых белков, снижением количества ингибиторов проММП-1 и сниженной активностью кислой фосфатазы.

Вострикова Н.Ю\*, Сухоруков В.П.\*\*, Бойко Е.Р.\*\*\*  
**ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ РЕАМБЕРИНОМ,  
 КАК ФАКТОР ПРЕДОТВРАЩАЮЩИЙ ПЕРЕХОД  
 ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА  
 В ПАНКРЕОНЕКРОЗ**

\*МУ Вуктыльская ЦРБ, Вуктыл, Республика Коми.

\*\* ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г.Киров

\*\*\* Коми филиал ГОУ ВПО «Кировская ГМА»

в г.Сыктывкаре

Алкоголизация населения в стране в последние годы достигла катастрофических масштабов, на этом фоне увеличилась заболеваемость острым алкогольным панкреатитом, который часто переходит в панкреонекроз. Летальность от алкогольного панкреонекроза составляет 80%. Крайне важно в интенсивной терапии острого алкогольного панкреатита использование антиоксидантов, прерывающих запуск ПОЛ, тем самым предотвращающих переход отечной формы панкреатита в панкреонекроз.

**Цель исследования:** показать влияние интенсивной терапии реамберином на предотвращение перехода острого отечного панкреатита алкогольной этиологии в панкреонекроз.

Этанол в организме метаболизируется по трем основным путям: алкогольдегидрогеназой, каталазой, микросомальной этанолюксилирующей системой, с образованием активных форм кислорода, запускающие перекисное окисление, подавляет митохондриальные энергопродуцирующие процессы,



что при тяжелом алкоголизме приводит к тотальной гипоксии и дефициту энергии. Острый панкреатит, алкогольного генеза, вызывает прогрессирующий инфекционно-воспалительный эндотоксикоз, усугубляет гипоксию и дефицит энергии. Убедительно установлено, что токсический эффект этанола уменьшается при использовании антиоксидантов. Реамберин (производство НТФФ «Полисан», г. Санкт-Петербург) активирует антиоксидантную систему ферментов, тормозит процессы ПОЛ в ишемизированных органах, способствует утилизации жирных кислот и глюкозы клетками, нормализует кислотно-щелочной баланс и газовый состав крови, что при своевременном и адекватном применении обрывает панкреатит на отечной форме.

**Клинический материал и методы:** объектом исследования были 2 группы больных острым алкогольным панкреатитом по 10 человек, стандартизированных по времени поступления в стационар (не более 36 часов), по физическому статусу по шкале ASA, с заболеванием средней и тяжелой степени тяжести. Контрольная группа получала стандартную терапию острого панкреатита, опытная группа получала впервые 3-5 суток, в зависимости от тяжести заболевания Реамберин. У всех обследованных лиц в утреннее время строго натощак в вакутайнеры забиралась кровь из локтевой вены. Сразу после забора кровь центрифугировали, эритроциты отделяли от плазмы, трижды быстро отмывали холодным 0,9 % раствором хлорида натрия с последующим центрифугированием при 3000 об/мин, после чего эритроциты немедленно замораживали при -18°C. В плазме крови производилось определение метаболитов свободно-радикального окисления (СРО), имеющих специфические пики поглощения. С использованием спектрофотометра «Ultraspec-3000», PharmBiotech (Великобритания) исследовалось: содержание первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) при длине волны 232 нм; итоговых продуктов ПОЛ - кротонного альдегида (КА) – 220 нм; содержание молекул средней массы (МСМ) – 254 нм, как показателя повреждения активных форм кислорода (АФК) белковых продуктов. С использованием флюориметра «Флюорат-АБЛФ» (Россия) исследовалось содержание Шиффовых оснований (ШО), как маркера повреждающего эффекта конечных продуктов ПОЛ на полипептиды – длина возбуждения 420 нм и испускания – 460 нм. Флюориметрически исследовалось содержание природных антиоксидантов - витамина Е - длина возбуждения 292 нм, регистрации – 320 нм; витамина А – 335 нм и 460 нм, соответственно.

В гемолизатах эритроцитов определяли активность эритроцитарных антиоксидантных энзимов: супероксиддисмутазы (СОД) - по количеству нитроформазана, продукта восстановления нитротетразолия (в % торможения восстановления нитротетразолия) [3]; глутатионпероксидазы (ГП) - по скорости окисления глутатиона в присутствии

гидроперекиси третичного бутила. Концентрацию восстановленного глутатиона до и после инкубации определяли колориметрически и рассчитывали активность ГП [4]. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по скорости окисления восстановленного НАДФН [7]. В работе использовались реактивы фирмы «Sigma» (США).

Кровь забиралась в первые сутки ( сразу при поступлении больного, через 30 минут после инфузии Реамберина), на третьи сутки (до и после инфузии Реамберина), на седьмые сутки, на четырнадцатые сутки с момента поступления больного и на тридцатые сутки.

**Результаты исследования:** Содержание ДК (первичных продуктов ПОЛ) и КА (конечного продукта ПОЛ) у всех пациентов с острым алкогольным панкреатитом при обращении было повышенным. После инфузии реамберина через 30 минут содержание продуктов ПОЛ снижалось у лиц опытной группы. К третьим суткам (к моменту купирования основных клинических симптомов, абстинентного синдрома) содержание ДК и КА сохранялось повышенным у больных контрольной группы и значительно снижалось у больных опытной группы, к 7 суткам (завершению дезинтоксикационной терапии) в контрольной группе отмечен рост продуктов ПОЛ, в то время как у больных опытной группы эти показатели снижались.

Уровень природных антиоксидантов у больных острым алкогольным панкреатитом (витамины А и Е) исходно ниже нормы, снижался в динамике у больных контрольной группы, приходя в норму в среднем к 30 суткам и повышался у больных опытной группы после инфузии Реамберина, достигая нормы в среднем к 14 суткам.

Показатели антиоксидантной системы (СОД, ГП, ГР) у больных контрольной группы восстанавливались в среднем к 14 суткам, у больных опытной группы в среднем к 7 суткам. В первые и третьи сутки показатели АОС отличались до и после инфузии Реамберина, в сторону усиления ферментативной активности после введения искусственного антиоксиданта.

У двух больных контрольной группы развился геморрагический панкреонекроз (с массивным нарастанием ДК, КА, ШО, МСМ, в последствии приведший к летальному исходу у одного больного). В опытной группе выздоровели все больные, реконвалесценция на 1-2 суток раньше контрольной группы.

**Выводы:** Применение антиоксидантов значительно уменьшает количество ПОЛ, приводит к более раннему восстановлению антиоксидантной системы.

Применение Реамберина при остром алкогольном панкреатите обосновано, так как обрывает запуск панкреонекроза на отечной форме.

Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Зубова И.В.,  
Гергель Н.И.,

Виноградова Л.Н., Мякишева Ю.В.

### **ГРУППЫ КРОВИ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ ВАРИАбельНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ**

*ГОУ ВПО «Самарский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Самара*

В многопрофильной медицине существуют проблемы, решение которых значимо для всех ее отраслей. Они, как правило, носят фундаментальный характер. Стремительное развитие биохимии, протеомики, молекулярной биологии обеспечило прогрессивное углубление знаний о механизмах, лежащих в основе жизнеспособности, самоподдержании здоровья. Проблемы, связанные с экологической ситуацией сегодняшнего дня, визуализируют тесную взаимосвязь организма человека со средой обитания, аргументируя в очередной раз неразрывное единство индивида, вида, вещества и энергии, земного и космического, гармоничного единства живых организмов, нарушаемого агрессивными факторами различной природы. Совместимость человека с непрерывным единством окружающей среды обеспечено общностью структурных элементов и процессов, происходящих в них. Уникальная антигенная неповторимость индивидуума создает устойчивость вида в целом.

Одним из кардинальных индивидуальных признаков организма является его групповая специфическая принадлежность. Известно, что гликопротеины, подобные групповым антигенам человека, широко представлены во всей иерархии живого – от бактериальных возбудителей до приматов, включая человека. Контакт в процессе естественного отбора с этими веществами обусловил, очевидно, дифференцировку антиген-антительного представительства в организме человека: те, у кого нет антигенов А и В, имеют альфа- и бета-антитела, а у имеющих антигены отсутствуют антитела.

В дополнение к этому наиболее высокий по сравнению с другими биологическими видами полиморфизм генов иммунного ответа, входящих в главный комплекс гистосовместимости у человека предопределил его преимущественное развитие, обеспечив этому виду дополнительные возможности для выживания и защиты от бактериальной, вирусной инфекции, аллергенов, генетически опосредованных нарушений.

В организме человека существует множество генетически обусловленных, наследуемых факторов крови, образующих системы антигенов: более 20 эритроцитарных, антигены гистосовместимости лейкоцитов, тромбоцитарные, белков крови и другие презентированные на мембранах клеток Групповые антигены эритроцитов, характеризующиеся широким

структурным и функциональным разнообразием, служат не только маркерами групп крови, но выполняют рецепторную роль для эндогенных и экзогенных лигандов, реализуя тем самым регуляторную, транспортную функцию, сохраняют постоянство внутренней среды, характерное для данного организма. Учитывая такую определяющую роль антиген-антительного представительства в формировании молекулярных процессов возникает вопрос о существовании взаимосвязи группоспецифической принадлежности в системе АВО с особенностями метаболизма, структурными и функциональными показателями клеток крови, наличии конституциональных метаболических предпосылок характерного нарушения здоровья, преимущественного для носителей различных групп крови.

Сотрудниками кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой СамГМУ получена база данных по ключевым показателям белкового, липидного, углеводного, минерального обменов, раскрывающая метаболические особенности сыворотки и ротовой жидкости, структурно-функциональные признаки клеток крови, ассоциированные с групповой принадлежностью крови в системе АВО. В сопоставлении с ней проанализирован массив результатов, полученный при изучении различных нозологических форм и состояний, аргументированы метаболические и морфологические предикторы риска их развития, обоснована новая концепция диагностического процесса.

Новое направление в клинической биохимии, клинко-лабораторной диагностике, основанное на индивидуализации референтных величин с учетом групп крови пациента, составлением индивидуального метаболического и иммунологического паспорта здоровья раскрывает перспективы донозологической диагностики и мониторинга эффективности лечения. Фундаментальный аспект полученных результатов – новые сведения о биологических коррелятах: взаимосвязь генетически детерминированных факторов группоспецифичности крови с метаболическими и морфологическими свойствами крови, ротовой жидкости содержанием и активностью в них молекул - маркеров, поступающих в биологические жидкости организма из тканей и визуализирующих его состояние.

Очевидно, группу крови можно рассматривать как визитную карточку, по которой можно с раннего детства оценить и прогнозировать валеологические перспективы индивидуума.

**Голощанов А.П., Камилев Ф.Х.**  
**БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ**  
**ЦИТОПАТОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ**  
**ЭКОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**  
**ФАКТОРОВ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ**

*Муниципальное учреждение «Научно-исследовательская генетическая лаборатория»,*

*СФ УГНТУ, г.Стерлитамак;*

*ГОУ ВПО «Башкирский ГМУ Росздрава», г. Уфа*

Город Стерлитамак находится в южной зоне Республики Башкортостан, в которой представлена нефтедобыча, нефтепереработка и развитая химическая промышленность. Основными источниками загрязнения городской атмосферы являются пять крупных химических предприятий и две ТЭЦ. По данным [5], в начале 1990-х годов количество выбрасываемых в атмосферу предприятиями г.Стерлитамака специфических загрязнителей в абсолютном выражении составляло более 13 тыс. тонн. В структуре выбросов ароматические углеводороды составляли 19,3%, аммиак 13%, бензин 7,1%, хлорпроизводные - 4,6%. Более 6 тыс. тонн специфических вредных выбросов не были идентифицированы.

Кроме того, результаты долговременных экологических исследований демонстрируют, что для Республики Башкортостан характерно многолетнее загрязнение окружающей среды и пищевых продуктов полихлорированными дибензодioxинами (ПХДД) и дибензофуранами (ПХДФ)[4], которые имеют высокую токсичность и отличаются чрезвычайной кумулятивной и биологической активностью [14, 15, 17, 18].

Так, плотность выбросов загрязняющих веществ на 1 га территории г.Стерлитамака является самой высокой среди городов и составляет 9,715 т. (в расчете на 1 жителя - 0,363 т.), г. Салавата - 7,966 т. (на 1 жителя

-0,534 т), г. Мелеуза - 6,516 т. (на 1 жителя - 0,330 т), Уфы - 4,639 т. (на 1 жителя - 0,328 т). Очень высокий уровень загрязнённости атмосферного воздуха г.Стерлитамака связан, в первую очередь, с деятельностью находящихся на его территории предприятий энергетического, химического, нефтехимического комплексов и транспорта, количеством и составом выбрасываемых загрязняющих веществ, метеоусловиями рассеивания выбросов в атмосфере (Таблицы 1, 2) [2].

С целью выявления наиболее загрязнённых жилых зон и оценки потенциального экологического риска для населения г.Стерлитамака проводилось комплексное биохимическое исследование детей, проживающих в различных районах г.Стерлитамака. В качестве биомаркеров химического загрязнения были использованы биохимические показатели неспецифической резистентности, прошедшие апробацию и рекомендованные для использования в натуральных исследованиях [10, 13]. Планирование и проведение исследований, выбор районов и выделение «модельных» групп детей проведены в соответствии с рекомендациями [6, 7]. Для исследования были отобраны дети 1 и 2 групп здоровья, родившиеся в городе, проживающие в данном районе и посещающие детские комбинаты, расположенные вблизи постов Башгидромета. Были выделены 7 детских комбинатов в 6 районах города, расположенных в радиусе 0,5 км от стационарных постов Башгидромета. Характеристика загрязнений атмосферного воздуха в 5 районах города, за исключением контрольного, определялась на основе данных Башгидромета.

Исследовалось состояние систем детоксикации в 1990, 1994, 1998 г. у детей 5-летнего возраста, проживающих в различных по уровню загрязнения

Таблица 1.

Выбросы вредных веществ в атмосферу г.Стерлитамака (тыс. тонн) [2]

Годы	1998	1999	2000	2001	2002
Всего по городу, в т. ч.	109,8	103,5	102,0	99,0	103,0
от стационарных источников	79,1	68,4	61,5	65,1	64,0
от транспортных средств	30,7	35,1	40,5	33,9	33,2

Таблица 2.

Комплексная оценка загрязнения воздушного бассейна в 2-х городах Республики Башкортостан в 2002 году [2]

Город	Индекс	Уровень загрязнения
Уфа	СИ 7,9 НП,% 8,1 ИЗА 11,2	Высокий, определяется концентрациями бенз(а)пирена и диоксида азота
Стерлитамак	СИ 17 НП,% 8,6 ИЗА 12,2	Очень высокий, определяется концентрациями хлористого водорода и диоксида азота

атмосферного воздуха районах г.Стерлитамака.

В результате биохимического мониторинга систем детоксикации детского населения города установлено (таблица 3.) хроническое увеличение активности ацетилэстеразы, (фермент структурирован в мембраны микросом) в моче детей-дошкольников по сравнению с верхней границей возрастной нормы для данного биохимического показателя (15-25 нмоль/мл/мин) [9], что свидетельствует о нарушении проницаемости микросомальных мембран клеток тубулярного эпителия нефрона и «выходе» в межклеточное пространство и мочу структурированного в мембраны микросом фермента, а также об активации микросомального окисления, вызываемого гидрофильными ксенобиотиками. Необходимо отметить, что верхняя граница нормы для данного биохимического показателя превышена во всех изученных районах г.Стерлитамака, что обусловлено, на наш взгляд, хроническим неблагоприятным воздействием факторов городской среды на организм во всех районах.

Также установлено, что имеет место повышенная активность лизосомальной бета-галактозидазы по сравнению с возрастной нормой данного показателя (1,28-1,66 нмоль/мл/мин) [9] у детей, проживающих в всех городских районах, в том числе удаленных от химических промзон г.Стерлитамака. Повышенная активность фермента может быть обусловлена нарушением проницаемости лизосомальных мембран клеток тубулярного эпителия почек [20,21].

В ходе исследований осенью 1994 г. выявлено усиление процессов липопероксидации в районе 1, наиболее подверженном химическим выбросам. Не установлено значимых различий между уровнями малонового диальдегида в моче у детей, проживающих в остальных районах г.Стерлитамака: за исключением 3-го, во всех районах города верхняя граница нормы (0,8-2,2 нг/мл) превышена в 1,5-2 раза. Это подтверждает установленную в 1990 г. закономерность: у жителей г.Стерлитамака: процессы ПОЛ усилены, о чем можно судить по накоплению малонового диальдегида (верхняя граница его содержания была превышена в 1,3-2,2 раза), что может свидетельствовать об индукции процессов перекисного окисления липидов в организме детей, проживающих в г.Стерлитамаке, в результате образования органических перекисей при окислении гидрофобных молекул монооксигеназами [8], или возникновения радикальных форм ксенобиотиков в процессе их биотрансформации [16, 19].

Весной 1998 г. в ходе аналогичного биохимического исследования (таблица 4.) был отмечен повышенный уровень активности свободной малатдегидрогеназы в плазме у детей, проживающих в районах 1, 3, 4 (по сравнению с контролем и с верхней границей возрастной нормы для данного показателя – 0,42 – 0,53 мкмоль/мл/мин). Это свидетельствует об увеличении проницаемости митохондриальных мембран и выходе ферментов в кровь, а также о дискоординации процессов цикла Кребса и дихотомического окисления глюкозы.

Таблица 3

Биохимические показатели мочи детей-дошкольников г.Стерлитамака (М + m<sub>x</sub>)

Район	Год Исследования	Сезон	Кол-во детей	АЭ	?-ГАЛ	МДА
				(нмоль/мл/мин)		(нг/мг)
Контроль	1990	Весна	36	34± 7	0,28± 0,10	3,8± 1,3
	1990	Осень	25	34± 5	3,03± 0,49	1,3± 0,2
	1994	Осень	15	52±10	1,6± 0,2	2,43± 0,32
1	1990	Весна	25	68± 7***	0,44± 0,13	4,7± 0,7
	1990	Осень	20	42± 11	2,47± 0,56	0,8± 0,2
	1994	Осень	18	44± 10	2,4± 0,5	3,80± 0,60*
2	1990	Весна	18	17± 3***	0,32± 0,10	2,7± 0,7
	1990	Осень	13	-	3,21± 0,67	1,2± 0,3
	1994	Осень	21	42± 9	2,2 ± 0,6	2,69± 0,55
3	1990	Весна	20	48± 7	0,48± 0,12	4,3± 0,8
	1990	Осень	20	25± 5	1,48± 0,22**	0,9± 0,1
	1994	Осень	16	41± 7	12,6± 7,3***	1,90± 0,31
4	1990	Весна	21	41± 7	3,65± 0,63***	1,2± 0,2**
	1990	Осень	15	-	5,4± 2,3***	3,64± 0,65**
	1994	Осень	25	38± 6	-	2,9± 0,5
5	1990	Весна	20	-	-	-
	1990	Осень	14	24 ± 3*	2,45 ± 0,59*	0,7 ± 0,1*
	1994	Осень	13	54 ± 11	3,4 ± 1,4	4,40± 1,01*

**Примечания:** АЭ – ацетилэстераза; ?-ГАЛ - ?-галактозидаза;

МДА - малоновый диальдегид; - отсутствие данных; \*\*\* - P< 0,001; \*\* - P<0,01; \* - P<0,05 - статистическая значимость различий по сравнению с контролем

Таблица 4

Биохимические показатели плазмы детей г.Стерлитамака в весенний период (M + m<sub>x</sub>)

Район	N	Плазма			Слюна	
		МДГ мкмоль/мл/мин	АЭ мкмоль/мл/мин	?-ГАЛ нмоль/мл/мин	АЭ мкмоль/ мл/ мин	МДА нг/мл
Контроль	36	0,30 ± 0,12	1,86 ± 0,14	4,0 ± 2,0	9 ± 1	2,33 ± 0,18
1	25	0,83 ± 0,15***	2,61 ± 0,25 ***	24,0 ± 7,0***	13 ± 1**	2,95 ± 0,16**
2	18	0,43 ± 0,07	2,73 ± 0,28	16,6 ± 9,3 ***	10 ± 1	2,36 ± 0,17
3	20	0,77 ± 0,05***	1,71 ± 0,20	0,9 ± 0,2	12 ± 1	3,20 ± 0,21***
4	21	0,83 ± 0,05***	2,01 ± 0,26	7,0 ± 2,0	13 ± 2**	2,96 ± 0,24**
5	20	0,35 ± 0,04	2,15 ± 0,19	16,0 ± 3,0	13 ± 2	2,93 ± 0,33

Примечание: достоверность различий по сравнению с контролем \*\* - P &lt; 0,01; \*\*\* - P &lt; 0,001;

АЭ – ацетилэстераза; МДГ – малатдегидрогеназа; ?-ГАЛ – ?-галактозидаза; МДА – малоновый диальдегид

Параллельно проведенный анализ активности ацетилэстеразы у детей, проживающих в районе №2, достоверно (в 1,4 раза) превысил уровень контроля. Необходимо отметить, что верхняя граница нормы для данного показателя (0,49 – 0,53 мкмоль/мл/мин) превышена во всех исследованных районах. Это свидетельствует о лабильности (высвобождении) мембраноструктурированного микросомального фермента с выходом его в кровь, и, следовательно, о значительных повреждениях мембранных структур гепатоцитов.

Весной 1998 г. уровни активности свободной бета-галактозидазы у детей, проживающих в 1 и 2 районах, достоверно превышали уровень этого показателя в контрольном районе. Это свидетельствует, по-видимому, о лабильности лизосомальных мембран и попадании фермента во внеклеточное пространство и позволяет предположить гепатотоксическое действие факторов окружающей среды.

Необходимо подчеркнуть возможное негативное влияние на процессы липопероксидации, установленных в 1990 г. изменений в гормональном балансе населения города (Данные ОАО «Городского экологического центра «Техноэкология»»), свидетельствующих о напряжении системы «гипофиз-надпочечники». Они выражаются, по-видимому, в развитии стрессорной реакции - резистентности, и, как следствие, приводит к повышенному образованию глюкокортикоидов в коре надпочечников, на фоне истощения функциональных резервов синтеза АКГТГ в гипофизе, а также снижении базальных уровней трийодтиронина и тестостерона.

Продолжительное повышение активности ацетилэстеразы в плазме и моче детей свидетельствуют о сохранении сильной нагрузки ксенобиотиками на организм человека во всех изученных районах г.Стерлитамака, а также о возможном гепато и нефротоксическом действии факторов городской среды (индукция микросомальных ферментов).

Установлено также, что во всех изученных районах города, а также контрольном отмечается усиление активности микросомальной ацетилэстеразы, индукция

перекисного окисления липидов (по содержанию малонового диальдегида) в слюне.

Данные метаболические сдвиги, по-видимому, вызваны воздействием химических факторов внешней среды, поскольку уровни активности фермента в контрольном районе и районе 5, наиболее удаленном от северной промзоны, не превышает возрастную норму.

Сохраняющиеся на протяжении ряда лет стойкие изменения указанных тестов свидетельствуют, по-видимому, о мембранотропных, цитопатогенных эффектах химических факторов в печени и почках и, следовательно, об их гепатотоксическом и нефротоксическом действии на организм человека во всех районах города [8, 12, 13].

Полученные результаты подтверждают, на наш взгляд, высокую информативность и целесообразность использования данной системы биомаркеров при оценке степени экологического риска для организма человека, осуществлении биомониторинга здоровья населения в городе с развитой химической промышленностью [1, 3, 11].

#### Литература

1. Гичев Ю.П. Загрязнение окружающей среды и здоровье человека (печальный опыт России). // Новосибирск.-2002.-230 С.

2. Государственный доклад «О состоянии окружающей природной среды Республики Башкортостан в 2002 году»./ Уфа.- 2003.- 101 С.

3. Джангозина Д.М. Цитогенетические и клеточно-молекулярные изменения при воздействии некоторых производственных факторов (обзор литературы)// Медицина труда и промышленная экология.- № 11.- 2002.- С.20-24.

4. Итоговый отчет 1995 г. по результатам выполнения Республиканской программы «Диоксин»./ Стерлитамак -1995.- 120 С.

5. Комплексная оценка состояния окружающей среды и здоровья населения г.Стерлитамака/ Под ред. проф. Аскарковой Я.Н. –Уфа. -1991. -280 С.

6. Корнеев Ю.Е. Методологические основы системы сбора, обработки и представления данных об изменениях в состоянии здоровья населения, связанных с загрязнением окружающей природной среды//

Гигиена и санитария. -1984.- №6.- С.26-28.

7. Корнеев Ю.Е., Даутов Ф.Ф. Методические вопросы количественной оценки влияния загрязненной атмосферы на состояние здоровья детского населения// Гигиена и санитария. -1982.- №6.- С.26-28.

8. Лукьянова Л.Д. Гепатоцит: Функционально-метаболические свойства. // М.-1985.- С.14.

9. Меркурьева Р.В., Лебедева Н.Т., Шпилевский Н.Н. и соавт. К обоснованию нормативных уровней некоторых биохимических показателей на примере детей 7-8 лет. // Гигиена и санитария. - 1985.- № 11. -С. 19-20.

10. Методические указания к оценке по системе биохимических, морфологических, иммунологических и физиологических показателей ранних изменений функциональных реакций организма человека при воздействии факторов окружающей среды. /Под ред. акад. АМН СССР Сидоренко Г.И., проф. Меркурьевой Р.В. Пермь, Москва.-1986.-С.7-39.

11. Мухамбетова Л.Х. Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды. (Под ред. Рахманина Ю.А.)//М.-2001.-С.27-36.

12. Сидоренко Г.И., Можаяев Е.А. Санитарное состояние окружающей среды и здоровье населения. / М.- 1987.-215 С.

13. Современные биохимические методы в гигиене окружающей среды /Под ред. академика АМН СССР Сидоренко Г.И., Меркурьевой Р.В.- М.- 1982. -140 С.

14. Федоров Л.А. Диоксины как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. // М.- Наука-1993.- 266 С.

15. Цирлов И.Б. Хлорированные диоксины: биологические и медицинские аспекты. // Новосибирск.- 1988.-200 С.

16. Grover Ph. Glutathione S-transferases in detoxication.// Biochem. Soc. Transact.-1982.-Vol.10.- № 2. - P.72 - 73.

17. Kaiser R.E. Fundamental problems of environmental analysis.// Abst. Intern. symp. chromatogr. and mass spectrometry in environmental analysis.- St.Peterburg.-Russia. 1994.- P.5 - 6.

18. Khamitov R.Z., Maystrenko V.N. Chlorinated dioxins and dibenzofurans – first results of systematic monitoring of Bashkortostan Republic.// Organo-halogen Compounds.- 1994.- Vol.20.- P.145-146.

19. Weddle C.C., Hornbrook K.R., McCay P.B. Lipid peroxidation and alteration of membrane lipids in isolated hepatocytes exposed to carbon tetrachloride.// J.Biol.Chem.-1976.- Vol.251.- № 16.- P.4973 - 4978.

20. Yoshida M., Sunaga M., Hara I. et al. Elevation of urinary N-acetyl-?-D-glucosaminidase and ?-Galactosidase Activities in Workers with Long-Term Exposure to Aromatic Nitro-Amino Compounds.// Bull. Environ. Contam. Toxicol. -1989.- 43 -P.1-8.

21. Yoshida M., Hara I. Elevation of some urinary enzyme activities in rats administered with aromatic nitro-amino compounds. //J.Toxicol.Sci.13.-1990.- p.331.

Гунбина Л.И., Иванов С.В., Сухоруков В.П.

### **СОВРЕМЕННЫЙ ЭНЕРГОПРОТЕКТОР РЕАМБЕРИН В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С «СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ»**

*Кировский областной эндокринологический диспансер, г.Киров,*

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г.Киров*

Как известно, ампутации нижних конечностей (НК) у пациентов с сахарным диабетом (СД) производятся в 17 – 45 раз чаще, чем у лиц без нарушений углеводного обмена. Согласно результатам различных исследований периферическая полинейропатия и атеросклеротическое поражение артерий НК являются основными причинами образования язвенных дефектов стоп (Синдром диабетической стопы (СДС)) у больных СД.

**Цель исследования:** улучшение эффективности лечения СДС за счёт включения в традиционные схемы терапии препарата Реамберин (Р).

**Материалы и методы:** больные СД тип 1 и тип 2 с гнойно-некротическими осложнениями НК, относящиеся к 3-4 стадии по классификации WAGNER. Длительность основного заболевания в среднем 18 лет. 99 больных получали традиционное лечение, а 57 – тоже лечение, усиленное инфузиями Р. Все пациенты соответствовали по гендерной принадлежности, возрасту, тяжести заболевания и наличию осложнений. Традиционная схема лечения включала: антибиотикотерапия направленного действия с учётом чувствительности и состава флоры раневого отделяемого, сахароснижающая терапия, диета, местная терапия язвенного дефекта. Инфузии Р в основной группе проводились ежедневно внутривенно, капельно № 5-10.

**Результаты:** чувство усталости в ногах, боли в области язвенного дефекта, неприятные ощущения в икроножных мышцах при ходьбе уменьшились после 3-5 инфузий Р (в контроле уменьшения этой симптоматики наступило на 6-10 сутки). Ампутации НК не выполнялись в обеих группах больных за время нахождения в стационаре.

#### **Выводы.**

1. Р включённый в традиционные схемы лечения СДС обладает выраженным лечебным эффектом.

2. При лечении язвенно-некротического процесса Р способствует более быстрому купированию проявлений ишемии нижних конечностей и периферической полинейропатии.

Еликов А.В., Цапок П.И.  
**СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ  
 ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОЙ  
 ЗАЩИТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ У СПОРТСМЕНОВ**  
 ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Профессиональная спортивная подготовка требует максимальной мобилизации всех адаптационных возможностей организма и нередко граничит с поломкой компенсаторно-приспособительных механизмов. В тоже время, не менее важной является необходимость обеспечить эффективный тренировочный процесс, при котором нередко используются нагрузки максимальной и субмаксимальной интенсивности [1,2]. Исходя из вышесказанного, функциональное состояние спортсмена во время подготовки к соревновательному процессу и восстановительный период после него требует объективных критериев оценки, что в свою очередь невозможно при исследовании без воздействия возмущающего фактора. Особый интерес представляет изучение механизмов адаптации на клеточном уровне, что в определенной мере представляется возможным при исследовании биохимических процессов в эритроцитах. Существуют различные точки зрения о представлении эритроцита в качестве универсальной клеточной мембраны [3,4]. Нами, в серии опытов на животных, показана достоверно высокая степень корреляции между отдельными показателями в эритроцитах и внутренних органах – участниках функциональной системы, обеспечивающей двигательный акт [5]. Состояние процессов липопероксидации (ЛП) и антиоксидантной защиты (АОЗ), по нашему мнению, является одним из ключевых факторов не только ограничивающим физическую работоспособность, но и обеспечивающим качество восстановительного периода. Характер мышечной деятельности, без

сомнения оказывает влияние на процессы ЛП и АОЗ, что лежит в основе долговременной адаптации к определенному виду спортивной деятельности.

Изучение процессов ЛП и АОЗ непосредственно в эритроцитах в процессе выполнения умеренной физической нагрузки у спортсменов различной специализации и степени тренированности явилось целью настоящей работы.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное обследование 76 спортсменов мужского пола в возрасте от 18 до 25 лет. Контрольную группу составили 15 практически здоровых нетренированных студентов-добровольцев, занимающихся физической культурой только в объеме вузовской программы, включающей 2 двухчасовых занятия в течение недели. Распределение испытуемых по группам было следующим: 1 – нетренированные; 2 – ациклические виды спорта, массовые разряды; 3 – ациклические виды спорта, высокие разряды; 4 – циклические виды спорта, массовые разряды; 5 – циклические виды спорта, высокие разряды. Физическая нагрузка дозировалась в виде велоэргометрии и составила у разных групп 13500-27000 кгм в течение 30 минут. Забор крови из локтевой вены проводился до и спустя 5 и 30 минут после работы на биостенде. Цельную кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Биохимические исследования проводили в плазме крови и эритроцитах, трижды отмытых физиологическим раствором. В эритроцитарной массе, обработанной специальным способом, определяли следующие показатели, характеризующие процессы ЛП и АОЗ: интенсивность хемилюминесценции (светосумма за 30 и 60 сек, максимальная вспышка), уровень диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), осмотическую устойчивость эритроцитов к гемолизу, а показателем системы АОЗ служили: общая

Таблица 1  
 Показатели МДА и ДК в эритроцитах до и спустя 5 и 30 мин после выполнения дозированной физической нагрузки ( $X \pm Sx$ )

Группы	МДА (мкмоль/г липидов)			ДК (У.Е./г липидов)		
	до нагрузки	через 5 мин	через 30 мин	до нагрузки	через 5 мин	через 30 мин
I n=15	7,10 ±0,58	10,46 ±0,84*	11,97 ±0,92*	0,36 ±0,02	0,44 ±0,03*	0,48 ±0,03*
II n=20	5,47 ±0,45	6,73 ±0,54*	7,28 ±0,61*	0,26 ±0,02	0,31 ±0,03	0,34 ±0,02*
III n=19	9,34 ±0,84	10,54 ±0,88	9,23 ±0,76	0,47 ±0,03	0,42 ±0,03	0,51 ±0,04
IV n=18	5,24 ±0,46	6,54 ±0,58*	6,47 ±0,51*	0,28 ±0,02	0,26 ±0,03	0,32 ±0,03
V n=14	12,45 ±0,97	6,67 ±0,53*	7,39 ±0,64*	0,75 ±0,05	0,45 ±0,03*	0,53 ±0,04*

\*- различия статистически достоверны

Таблица 2

Показатели АОА и АРА в эритроцитах до и спустя 5 и 30 мин после выполнения дозированной физической нагрузки ( $X \pm Sx$ )

Группы	АОА (Пик/светосумма за 30 с.)			АРА (% ингибирования)		
	до нагрузки	через 5 мин	через 30 мин	до нагрузки	через 5 мин	через 30 мин
I n=15	0,103 ±0,004	0,078 ±0,002*	0,078 ±0,003*	48,9 ±2,3	39,5 ±1,9*	37,2 ±2,0*
II n=20	0,110 ±0,004	0,092 ±0,004*	0,095 ±0,003*	54,8 ±2,3	47,4 ±2,0*	48,7 ±2,1*
III n=19	0,098 ±0,003	0,084 ±0,002*	0,088 ±0,002*	42,3 ±1,8	38,4 ±1,9*	40,6 ±1,5
IV n=18	0,113 ±0,003	0,101 ±0,003*	0,103 ±0,003*	58,6 ±2,7	52,4 ±2,5*	53,3 ±2,3*
V n=14	0,086 ±0,002	0,079 ±0,002	0,083 ±0,003	39,2 ±1,6	37,4 ±2,1	38,6 ±1,8

\*- различия статистически достоверны

антиоксидантная активность (АОА), антирадикальная активность (АРА), а также ферментативная активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатион-пероксидазы, глутатионредуктазы, на фоне исследования количества общего белка, общего холестерина, тотальных липидов, фосфолипидов. Результаты исследования подвергнуты статистической обработке.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные, представленные в таблицах 1 и 2, свидетельствуют о зависимости протекания процессов ЛП и АОЗ от характера двигательной активности испытуемого.

В состоянии покоя у спортсменов массовых разрядов, по сравнению с нетренированными лицами, происходит снижение процессов ЛП, что связано с активацией системы АОЗ. В тоже время, у высококвалифицированных спортсменов наблюдалась значительная активация процессов ЛП, на фоне снижения АОА. Данное явление мы связываем с необходимостью усиленного обновления клеточных мембран, что необходимо для поддержания высокого уровня адаптации к физическим нагрузкам. Кроме того, коэффициент фосфолипиды/холестерол у высококвалифицированных спортсменов был существенно выше по сравнению со спортсменами массовых разрядов и нетренированными лицами. После дозированной физической нагрузки и в восстановительном периоде наблюдали разнонаправленные сдвиги. У контрольной группы и спортсменов массовых разрядов отмечалось усиление процессов ЛП и снижение АОЗ, тогда как у спортсменов высоких разрядов наблюдалась противоположная динамика. Не исключается возможность использования высокотренированным организмом промежуточных продуктов ЛП в качестве источника энергии. Данное явление в большей степени выражено у спортсменов циклических видов спорта.

**Заключение.** Полученные данные можно использовать для контроля за функциональным состоянием спортсмена во время тренировочного и соревновательного процесса и рекомендовать применение антиоксидантов в комплексной терапии у лиц с острым физическим перенапряжением.

#### Литература

1. Белоцерковский З.Б., Любина Б.Г., Борисова Ю.А. Гемодинамическая реакция при статических и динамических нагрузках у спортсменов// Физиология человека. – 2002. – Т.28, №2. – с. 89-94.
2. Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. и др. Управление аэробной тренировкой с помощью индивидуальных физических нагрузок// Физиология человека. – 2005. – Т.31, №4. – с. 131-133.
3. Дубовская Л.В., Антонова В.И. и др. Использование метода определения проницаемости эритроцитарной мембраны для мочевины с целью выявления токсического действия циклогексилнитрата/ Гигиена и санитария. – 1990. - №2. – с. 83.
4. Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран и сорбционная способность эритроцитов –

оптимальные критерии тяжести эндогенной интоксикации// Анестезиология и реаниматология. – 1993. - №5. – с.66.

5. Еликов А.В., Цапок П.И. Свободнорадикальные процессы при мышечной деятельности //Биохимия: от исследования молекулярных механизмов – до внедрения в практику и производство: Материалы научно-практической конференции биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири (26-28 ноября 2003 г., г. Оренбург) – Оренбург: ФГУП ИПК «Южный Урал». - 2003. – с. 222-224.

Еликова Е.П., Цапок П.И.

### КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ ПРИ ПОЗДНИХ ДЕПРЕССИЯХ У ЖЕНЩИН

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Активное обращение исследователей в последние десятилетия к изучению депрессивных расстройств обусловлено широкой распространенностью депрессивных состояний. Ежегодно каждый четырнадцатый человек в мире заболевает депрессией. В среднем каждый пятый хотя бы раз в жизни переносит депрессивный эпизод. Современная демографическая ситуация в Российской Федерации характеризуется ростом старших возрастных групп в общем составе населения. Депрессии – одна из двух, наряду с деменциями, основных форм психической патологии позднего возраста. Распространенность депрессий в период старения в 2 раза и более превышает распространенность депрессий в молодом и среднем возрасте. Женщины страдают в 2 раза чаще, чем мужчины, Это касается и большой депрессии, и дистимических нарушений. Депрессия – состояние мультифакторной этиологии, включающее генетические, биохимические, гормональные, психологические и социальные компоненты. Особенно важным этиопатогенетическим аспектом в развитии депрессий у женщин является связь их эмоционального состояния с нейроэндокринной системой, обеспечивающей менструально-генеративную функцию. Эта связь наиболее отчетливо прослеживается в критические периоды гормональной перестройки.

Депрессивные расстройства часто остаются незамеченными врачами соматического профиля и недостаточно осознаются самими пациентами. Депрессивная симптоматика у лиц позднего возраста может быть расценена как психологически понятная, являющаяся следствием жизненной ситуации или соматического заболевания. Было обнаружено, что при первичном обращении к врачу депрессия регистрируется лишь в 20% случаев и при дальнейшем обследовании эта цифра увеличивается до 27% (Н.Г. Koenig et al., 1989).



Приводимые в литературе данные относительно частоты депрессий в позднем возрасте довольно противоречивы и оцениваются в широком диапазоне - от 0,5 до 60% (Э.Я. Штернберг, 1977; С.И. Гаврилова, 1984; Ф.Ф. Дж. Яничак и соавт., 1999). Это можно объяснить целым рядом факторов: различиями, существующими во взглядах на характер и границы психических расстройств в периоды пресениума и сениума, использованием разных методик в диагностировании депрессии, наличием сопутствующих соматических расстройств, значительным количеством принимаемых лекарственных препаратов, огорчениями и потерями, присущими этому возрастному периоду и т.д.

Многофакторность этиопатогенеза поздних депрессий требует освещения с позиции системного подхода. Необходимой предпосылкой для решения вышеуказанного является комплексное исследование клинко-патогенетических закономерностей терапевтической динамики депрессий с учетом взаимодействия биологических и клинических факторов. Диагностика состояний депрессии базируется на комплексной основе с учетом результатов клинко-биохимического анализа. Ведь глубокие основы патологических процессов могут быть поняты на клеточном и молекулярном уровнях при изучении метаболизма химических веществ, а также ферментов, катализирующих биохимические процессы в организме и гормонов, выполняющих регуляторную функцию. В то же время, определение даже значительного количества биохимических показателей, хотя и позволяет получить представление о характере нарушения обменных процессов при патологии, часто требует биохимических комбинаций исследований метаболизма и проведения функциональных проб. Наибольшую ценность при этом имеют биохимические синдромы – строго закономерные сочетания нарушенных звеньев того или иного метаболического процесса, а также биохимические комбинации исследования метаболизма и функциональных проб.

**Целью исследования** было провести комплексное изучение клинических и биохимических и показателей при поздних депрессиях у больных женского пола и выделить биохимические синдромы при депрессивных расстройствах.

**Методы исследования:** клинко-психопатологический с использованием специальной психопатологической карты; клинко-терапевтический с применением шкал тревоги и депрессии Гамильтона; биохимический с изучением показателей липидограммы и состояния оксидантно-антиоксидантного баланса; статистический.

Обследовано 78 больных женского пола в возрасте 64,4±2,5 лет с картиной рекуррентного депрессивного расстройства. В качестве контроля обследовано 35 женщин аналогичного возраста без психических расстройств.

Материалом для биохимического исследования

служила кровь, полученная пункцией из локтевой вены, в количестве 7,0 мл в пробирки для взятия крови фирмы «Vacutanet» (США), в качестве консерванта служил раствор этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) в концентрации 1 мг/мл. ВЧ работе использованы классические и современные биохимические методы исследования [Камышников В.С., 2000]. Тотальные липиды (ТЛ) определяли по реакции с сульфифосфованилиновым реактивом; уровень общего холестерина (ХС) и его фракций – эстерифицированного, свободного, а также в составе липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) – по реакции с хлорным железом по методу Златкиса-Зака; триацилглицеролы (ТАГ) – стандартным набором реактивов фирмы «Lachema» (Чехия). О состоянии процессов липопероксидации (ЛПО) судили по интенсивности индуцированной пероксидом водорода хемилуминесценции (ХЛ) в присутствии избытка ионов Fe<sup>2+</sup>, определяемой с помощью хемилуминометра Emilite EI 1105. Определяли общую светосумму [S] за 30 и 60 сек, среднюю скорость реакции за каждые 10 сек измерения и максимальную вспышку интенсивности ХЛ за время измерения (I<sub>max</sub>) [Цапок П.И., Галкин А.А., 1998]. Определяли также конечные продукты ЛПО, с которыми дает реакцию 2-тиобарбитуровая кислота (ТБК-ассоциированные продукты – ТБК-ап) спектрофотометрически при длине волны 535 нм. В плазме крови изучали содержание диеновых конъюгатов (ДК), экстрагированных гептан-изопропаноловой смесью; в гептановой фазе измеряли количество ДК при длине их максимального поглощения (233 нм) на спектрофотометре СФ-46. Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики. Средние величины вычисляли параметрическими методами, достоверность разницы определяли по t – критерию Стьюдента. Учитывались результаты со степенью достоверности не ниже 95% (p<0,05).

**Результаты.** Выявлены клинические особенности течения депрессивных расстройств у пожилых женщин, которые характеризовались наличием у всех пациенток признаков меланхолии; в 72% случаев – симптомов тревоги.

Больные в процессе терапии были разделены на две группы в зависимости от возраста манифестации депрессии: с ранним началом (первый эпизод возник в возрасте до 60 лет) и с поздним началом (первый эпизод возник после 60 лет). В 55,2% случаев заболевание манифестировало в возрасте от 45 до 59 лет, в 37,3% - в возрасте от 60 до 69 лет и в 7,5% - в возрасте 70 лет и старше. Длительность его у большинства составила более 10 лет. Показатели качества жизни были ниже, чем в среднем у населения России.

Манифестация позднего подтипа чаще провоцировалась соматическими расстройствами, частота расстройств познавательной сферы составила 78%, изучение семейного анамнеза на предмет

наличия депрессивных расстройств выявил наследственную отягощенность в 32,8% наблюдений.

В первой группе клинико-синдромальная структура депрессивного состояния была представлена тревожными (52%), меланхолическими (33%) и анергическими (15%) проявлениями. В клинической картине преобладали тревожные и ипохондрические черты. Во второй группе клинические варианты депрессивного расстройства (тревожный, меланхолический, анергический) были представлены соответственно в 35%, 40% и 25% наблюдений.

Определение обеспеченности организма пожилых витаминами выявило во всех группах достоверное снижение тиамина, альфа-токоферола и аскорбата по сравнению с женщинами репродуктивного возраста, что коррелировало со сдвигами биохимических показателей метаболизма. Обнаружено, что такие критерии как уровень общего белка, среднемолекулярных пептидов (СМП), ТЛ, ЛНПН, ТАГ, ХС и его фракций ХС-ЛПНП и ХС-ЛПВП, показатели свободнорадикального окисления и процессов ЛПО наиболее полно коррелировали с клиническими проявлениями депрессивных расстройств.

При этом выраженность снижения обеспеченности организма витаминами сопровождалась соразмерным повышением в сыворотке крови уровня показателей первичных и конечных продуктов ЛПО. Выявлена также высокая информативность метаболических синдромов: нарушения эндокринно-регуляторной функции, нарушения окислительно-восстановительных процессов и энергетического обмена, а также развития алиментарной недостаточности. Характерно, что синдром липидной перекисидации неуклонно прогрессирует в результате нарастания, как интенсивности процессов ЛПО, так и дефицита факторов АОЗ при депрессивных расстройствах у пожилых.

#### **Вывод.**

Использование биохимического мониторинга процессов метаболизма открывает новые возможности для анализа механизмов развития депрессий у пожилых, направлено на улучшение диагностики и профилактики заболеваний.

#### **Литература**

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной практике. В 2-х томах. – Минск: Беларусь, 2000. – 963 с.
2. Цапок П.И., Галкин А.А. Хемилюминесцентный метод определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови // Информационный листок №75-98 Кировского ЦНТИ. – Киров: ЦНТИ, 1998. – 3 с.
3. Еликова Е.П., Цапок П.И. Клинико-биохимические особенности депрессий позднего возраста // Материалы научной сессии Пермской государственной медицинской академии. – Пермь: ПГМА. – 2000. – с.58.

4. Еликова Е.П. Исследование обмена липидов при когнитивно-бихевиоральной психотерапии в комплексном лечении поздних депрессий // Вестник РГМУ. – М.: РГМУ. – 2004. – № 3(№3). – с. 156.

5. Цапок П.И., Еликова Е.П. Экоциальные факторы и метаболические синдромы при формировании депрессий позднего возраста // Паллиативная медицина и реабилитация. М. – 2003. – № 4. – С. 40.

Жаворонок Т.В., Петина Г.В., Стариков Ю.В., Степová Е.А., Рязанцева Н.В., Агеева Т.С.

#### **УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ *IN VITRO***

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г.Томск*

Чрезмерное образование активных форм кислорода (АФК) при остром воспалении способствует формированию окислительного стресса (ОС), изменяет функциональное состояние фагоцитирующих клеток и индуцирует их апоптоз. Несмотря на множество исследований по изучению молекулярных событий, вовлечённых во взаимодействие АФК с флогеном и тканями, удивительно небольшое внимание уделено эффекту этих метаболитов непосредственно на эффекторные клетки острого воспаления – нейтрофилы. Защиту от повреждающего действия АФК и поддержание редокс-потенциала клетки реализует система антиоксидантов, существенный вклад в которую вносит многокомпонентная система глутатиона (GSH).

**Цель:** оценить вклад компонентов системы глутатиона в поддержание редокс-состояния нейтрофилов у больных внебольничной пневмонией (ВП) и при ОС *in vitro*.

**Материалы и методы.** Обследовано 33 больных ВП в возрасте от 18 до 50 лет (в среднем 34,6±4,1 г.). Из них 21 пациент был с альвеолярным типом лёгочного инфильтрата ткани (ВП<sub>а</sub>), 12 – с интерстициальным (ВП<sub>и</sub>). Тип инфильтрата верифицирован по данным компьютерной томографии высокого разрешения, проводимой на гамма-камере «Омега 500» («Technicare», США-Германия). Группу контроля составили 20 практически здоровых доноров (ЗД) того же возраста. Нейтрофилы выделяли из венозной крови на двойном градиенте Ficoll-Paque плотностью 1,077 и 1,093 г/см<sup>3</sup> («GE Healthcare», Швеция) и культивировали 18 ч при 37°С и 5 % CO<sub>2</sub>, ОС в клетках ЗД индуцировали добавлением 5 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Для исследования особенностей формирования тиол-дисульфидного (ТД) равновесия при реализации антиоксидантной защиты (АОЗ) нейтрофилов (в условиях ОС *in vitro* и у больных ВП) клетки инкубировали с блокатором SH-групп N-

этилмалеимидом (NEM) или с их протектором 1,4-дителиоэритритолом (DTE) в концентрации 5 мМ. На лазерном проточном цитометре Epics XL («Beckman Coulter», Франция) находили внутриклеточное содержание АФК, реагирующих с диацетатом дихлорфлюоресцеина, («Sigma», США). Определяли продукцию нейтрофилами гидроксил-радикалов (ОН<sup>•</sup>) по разрушению модельного субстрата 2-дезоксид-рибозы («MP», США) и активность в клетках миелопероксидазы (МП) с учётом преобразования ферментом о-фенилендиамина («MP», США). Оценивали состояние системы GSH в нейтрофилах: содержание GSH и глутатион-дисульфида (GSSG) – циклическим кинетическим методом, белковосвязанного глутатиона (белок-SSG) – после высвобождения с помощью боргидрида Na («Sigma», США), активность глутатион-зависимых ферментов – пероксидазы (ГП) с учётом способности энзима катализировать реакцию GSH («MP», США) с гидроперекисью т-бутила («MP», США) и редуктазы (ГР), используя НАДФ-Н-зависимое («GERBU», Германия) преобразование GSSG («MP», США). Концентрацию белка в пробах определяли методом Бредфорда. Для статистического анализа данных использовали критерий Вилкоксона и ранговый критерий Манна-Уитни, критический уровень значимости при проверке статистических гипотез задавался величиной 0,05.

**Результаты и обсуждение.** В острый период ВП возрастала продукция ОН<sup>•</sup> (p<0,01) нейтрофилами в среду инкубации с одновременным увеличением внутри-клеточного количества АФК (p<0,05) и повышением в клетках активности МП, нарабатывающей ионы ClO<sup>-</sup> (p<0,05). Увеличение продукции АФК нейтрофилами коррелировало с усилением выраженности инфильтрации паренхимы лёгких и клинической картиной заболевания, однако активность МП в этих клетках была одинаковой у больных ВПа и ВПи. Аналогичная картина активации окислительных процессов в нейтрофилах регистрировалась *in vitro* при моделировании ОС в культурах клеток ЗД. Усиленная продукция АФК активированными нейтрофилами в окружающую среду при остром воспалении способствует элиминации флоггена. Однако и в случае ВП, и при ОС *in vitro* параллельно регистрировался факт накопления АФК в самих эффекторных клетках острого воспаления. NEM и DTE в острый период ВП не влияли на проявления активности МП и в целом на продукцию АФК нейтрофилами.

Продуцируя большое количество АФК, нейтрофильные лейкоциты сами становятся их мишенью, и в первую очередь объектом окислительной модификации (ОМ) являются SH-содержащие белки. При моделировании ОС и у больных ВП фиксировался дисбаланс в работе глутатион-зависимой системы нейтрофилов. Это выражалось угнетением активности ГП (p<0,05), вне зависимости от характера лёгочного инфильтрата, а снижение уровня GSH (p<0,05) и

интегрального показателя GSH/GSSG, характеризующего ёмкость ТД-потенциала, больше выражено у больных ВПа. GSH, выступая акцептором ОН<sup>•</sup> и синглетного кислорода, значительно снижает цитотоксическое и деструктивное действие АФК. Одновременно GSH является кофактором ГП и глутатион-S-трансферазы, которым принадлежит ведущая роль в защите мембран путём детоксикации гидропероксидов.

Возрастание количества GSSG (p<0,05) в нейтрофилах пациентов с ВП (и при ОС *in vitro*) сочеталось с недостаточной активностью ГР (p<0,05), которая регенерирует SH-потенциал клетки. Соответственно, в клетках оказались угнетены возможности к восстановлению дисульфидных шивков, способствующих ингибированию ключевых SH-содержащих ферментов. Переход HS/SS – репарируемый момент в процессах ОМ белков, а другие варианты не подлежат репарации. Поэтому соотношение HS/SS тиоловых групп и их буферная ёмкость (способность к обратимой ОМ) являются важными критериями неспецифической резистентности клеток. Одним из механизмов АОЗ белков от необратимых последствий ОС могло стать активное связывание GSH с SH-группами белковых молекул с образованием белок-SSG, концентрация которого в нейтрофилах возрастала (p<0,05), как в случае ВП, так и при культивировании клеток ЗД с добавлением 5 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Блокада NEM свободных SH-групп способствовала повышению уровня GSSG, снижению индекса GSH/GSSG, дополнительному ингибированию ГП, что более выражено в случае ВПа. Усиление восстановительного потенциала SH-групп DTE в большей мере сказывалось у пациентов с ВПи, как в отношении активности ГП, так и в плане поддержания тиолдисульфидного равновесия в эффекторных клетках острого воспаления. Динамика изменения продуктов обратимой ОМ белков определяет редокс-состояние и резервно-адаптационные возможности нейтрофилов в условиях ОС.

**Заключение.** Несмотря на клинически более выраженные проявления ВПа, одинаковые нарушения пероксидазной активности могут формироваться в нейтрофилах и при ВПи, что указывает на значимость вовлечения интерстиция лёгких в процесс воспаления при ВП. ОМ белковых компонентов в системе GSH и снижение буферной ёмкости ТД-потенциала нейтрофилов может выступать ранним маркёром ОС и механизмом усугубления патологических процессов при ВП. Истощение резервов АОЗ и повышение уровня АФК, повреждающих функциональные белки, приводят к созданию ситуации дисбаланса редокс-регуляции клеток-эффекторов острого воспаления, что может снижать эффективность их функционирования и способствовать элиминации из организма.

Желтышев Е.Н., Барсуков А.К.  
**ПОЛУЧЕНИЕ FAB- И Fc-ФРАГМЕНТОВ  
ПОДКЛАССОВ IgG БЫКА**

ГОУ ВПО «Удмуртский государственный  
университет», г. Ижевск

Fab- и Fc-фрагменты находят широкое применение в качестве объектов при выполнении структурно-функциональных исследований. Эпитопное картирование, расшифровка механизма действия комплемента, разработка фундаментальных основ конструирования идиотипических вакцин предполагает в качестве этапа наработку особо чистых форм фрагментов IgG. Аналогичные требования предъявляются к производству иммуноферментных конъюгатов из поликлональной иммуносыворотки, специфичной к Fc-фрагментам IgG.

**Материалы и методы**

На первой стадии хроматографического фракционирования с использованием KM-целлюлозы осуществляли разделение подклассов IgG быка. В транзитном и десорбируемом пиках концентрировались IgG1 и IgG2 соответственно. IgG1 обогащенную фракцию подвергали анионообменной хроматографии в условиях сорбции целевого белка, который после десорбции очищали эксклюзионной хроматографией на Сефадекс G-200. Таким же образом в эксклюзионной хроматографии получали мономерную форму IgG2. В наиболее краткой форме условия хроматографического выделения и очистки представлены: катионообменной хроматографией на KM-целлюлозе, стартовый буфер – 0,01 М натрий-фосфатный буфер pH 6,5, десорбирующий раствор – 0,5М NaCl; анионообменная хроматография на ДЭАЭ – целлюлозе, стартовый буфер – 0,01 М Трис-HCl буфер pH 8,0 и 8,3, десорбирующий раствор – 0,5М NaCl; эксклюзионная хроматография в 0,9% растворе NaCl.

*Протеолиз подклассов иммуноглобулина G быка.*

Протеолиз подклассов иммуноглобулина G проводили папаином ( $M_r=21$  кДа, 12000 ME, Мерс, Германия) в 0,05 М натрий-фосфатном буфере с pH 7,4, содержащем 0,9% хлорид натрия. При активном перемешивании в буфер добавляли в-меркаптоэтанол до конечной концентрации в образце 0,1% и 0,25 М раствор Трилона Б до конечной концентрации в образце 1 мМ. Образец инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Реакцию протеолиза останавливали добавлением йодацетамида до конечной концентрации 0,001 М. Йодацетамид до указанной концентрации добавляли также во все буферы, используемые на последующих стадиях.

*Анионообменная хроматография.* Использовали хроматографические колонки 2,27см<sup>2</sup>\*20см; 4,91см<sup>2</sup>\*60см. Сорбент – микрогранулярная ДЭАЭ-целлюлоза (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Стартовый раствор – 0,01М Трис-HCl буфер pH 8,6, десорбирующий раствор – 0,5М NaCl.

*Катионообменная хроматография.* Проводили

на хроматографической колонке 2,27см<sup>2</sup>\*20 см. Сорбент – KM-целлюлоза (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция) использовали для концентрирования Fab-фрагментов и очистки Fc-фрагментов. Стартовый буфер – 0,01М Na-ацетатный буфер pH 5,0, десорбирующий – 2 М NaCl + 0,1М Трис-HCl pH 8,0.

*Эксклюзионная хроматография.* Проводили на хроматографических колонках 4,67см<sup>2</sup>\*82см; 19,3см<sup>2</sup>\*82 см, 1,88см<sup>2</sup>\*60см. Использовали сорбенты Sephadex G-200 и Sephadex G-150 (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция). Разделение проводили в 0,9% растворе NaCl с добавлением 0,005% мертиолята.

*Иммуноэлектрофорез по Грабар-Уильямс.* Электрофорез проводили в 1% агарозном геле с использованием 0,1М Трис-барбиталового буфера pH 8,6. Стекла окрашивали раствором амидочерного 10 Б (Мерс, Германия).

*Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ).* Электрофорез в ПААГ проводили в диссоциирующих и диссоциирующих восстанавливающих условиях по методике Дэвиса-Лэмбли в 10 % геле. Чистоту фрагментов IgG оценивали по локализации и числу окрашенных фракций. При необходимости определения количественного фракционного состава проводили измерение оптической плотности зон белка в треке геля денситометром (Radelkis, Венгрия).

**Результаты и обсуждение**

*Протеолиз подклассов IgG быка.* Использовали соотношение белок/фермент в пределах: 100:1; 400:1, 800:1, 1200:1, 1500:1, 2000:1. Полноту протеолиза оценивали электрофорезом в ПААГ, белками-стандартами служили бычий сывороточный альбумин и образцы особо чистых и конформационно нативных форм IgG. На основании анализа полученных результатов в последующих экспериментах использовали соотношение белок/фермент – 800:1 для IgG первого и второго подклассов.

*Фракционирование фрагментов протеолиза.* В предварительных экспериментах гидролизаты IgG фракционировали на геле сефадекса G-200 в колоночном варианте. Профиль хроматографического процесса на уровне пулированных фракций анализировали электрофорезом в ПААГ. Кроме того, результаты эксклюзионной хроматографии позволили в количественных критериях оценить эффективность протеолиза при оптимальном соотношении IgG/папаин.

Для получения индивидуальных фракций, обогащенных соответственно Fab- и Fc-фрагментами использовали анионообменную хроматографию в режиме сорбции Fc-фрагмента.

Фракционирование Fc-целевой фракции осуществляли на KM-целлюлозе в режиме сорбции примесных белков. Транзитный пик, обогащенный Fc-фрагментами концентрировали сорбцией на ДЭАЭ-целлюлозе, при этом примесные белки выходили в транзитном пике. После десорбции целевую фракцию подвергали эксклюзионной хроматографии на Сефадекс G-150.

Fab-обогащенную фракцию после десорбции с КМ-целлюлозы выделяли с помощью эксклюзионной хроматографии на геле сефадекса G-150.

*Идентификация примесных белков в составе образцов Fab- и Fc-фрагментов.* По результатам иммуноэлектрофореза в составе образцов Fc- и Fab-фрагментов регистрируются примесные белки. Характеристику примесных белков проводили в ПААГ-электрофорезе. Результаты сканирования электрофореграм позволяют заключить, что примесь представлена белком с молекулярной массой около  $100 \pm 10$  кДа, содержание которого в образцах не превышает 2-4% от суммарного белка. По предварительным данным примесный белок сформирован из различных субфрагментов гидролиза IgG.

#### **Заключение**

Разработана оригинальная схема фракционирования Fab- и Fc-фрагментов IgG быка. Преимущество изложенной технологии препаративной наработки фрагментов заключается в минимальном представительстве хроматографических стадий и сопряженных сорбентов. При этом чистота целевых продуктов колеблется в пределах 96-98%.

Зорин М.Г., Терехин Г.А., Решетников В.И.

#### **АДСОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА И АНТИТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САПРОПЕЛЯ**

ГОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия Росздрава им. акад. Е.А. Вагнера»,  
г. Пермь

При экзо- и эндотоксикозах в комплексе лечебных и профилактических мероприятий широко используются сорбционные технологии. С учетом простоты применения и доступности особенно привлекателен метод энтеросорбции. Несмотря на тот факт, что в настоящее время перечень синтетических и природных энтеросорбентов достаточно широк, необходимость дальнейшего поиска и создание более эффективных препаратов с сорбционными свойствами сохраняет свою актуальность. В связи с этим представляют интерес сапропелевые лечебные грязи, образованные в результате отмирания растительных и животных организмов при активном воздействии микрофлоры. В составе сапропеля обнаружены витамины, ферменты, аминокислоты, фосфолипиды, минеральные вещества [2, 3], выявлена антитоксическая

активность сапропеля при острых отравлениях фосфорорганическими соединениями [1, 4].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение адсорбционных свойств и антитоксической активности сапропеля озера Молтаево (Свердловской области) на модели хронической интоксикации карбофосом.

**Материал и методы исследования.** In vitro спектрофотометрическим методом исследовали адсорбционные свойства сапропеля, полисорба и полифепана по отношению к двум маркерам: красителю метиленовому синему и альбумину. Антитоксическую активность сапропеля исследовали на модели хронической интоксикации карбофосом. Опыты проведены на 100 крысах, которые были разделены на четыре группы: первая – интактные животные (контроль), крысам второй группы вводили карбофос, крысам третьей группы вводили сапропель, а животным четвертой группы сочетали введение карбофоса и сапропеля. Карбофос в дозе 0,2 LD<sub>50</sub> и сапропель в дозе 2000 мг/кг вводили исследуемым животным внутривенно ежедневно в течение 30 дней. Интервал между введением яда и сапропеля составил 30 минут. Антитоксический эффект сапропеля оценивали по выживаемости, динамике гибели и изменению массы тела животных. Рассчитывали среднюю продолжительность жизни животных по Пригге (сумма обратных величин продолжительности жизни умерших животных, деленная на общее число животных в группе. От полученного частного брали обратную величину).

**Результаты исследований.** При обработке раствора метиленового синего сапропелем зафиксирован самый высокий процент извлечения красителя из раствора –  $154,7 \pm 5,5$  мг/г. Адсорбционная способность сапропеля по метиленовому синему оказалась почти в 4 раза выше, чем у полисорба ( $39,9 \pm 15,5$  мг/г) и полифепана ( $40,2 \pm 13,9$  мг/г). Метиленовый синий является универсальным маркером, позволяющим оценить сорбционную способность адсорбентов к средномолекулярным ксенобиотикам. При обработке сапропелем 0,5% водного раствора белка показатель извлечения альбумина составил  $92,0 \pm 7,2$  мг/г. Полисорб и полифепан обладают более высокой белоксвязывающей способностью. Показатель извлечения альбумина из раствора полисорба -  $256 \pm 5,7$  мг/г, из раствора полифепана -  $114,7 \pm 21,2$  мг/г (табл. 1).

Таблица 1.

Адсорбционная способность исследуемых сорбентов

Объект	Влажность (%)	Адсорбционная способность (мг/г)	
		По метиленовому синему	по альбумину
Полифепан (с.01032003)	59,2	$40,2 \pm 13,9$	$114,7 \pm 21,2$
Полисорб (с.01042001)	5,8	$39,9 \pm 15,5$	$256,6 \pm 5,7$
Сапропель	-	$154,7 \pm 5,5$	$92 \pm 7,2$

Исследования показали, что после введения карбофоса животные погибали, как правило, в течение первой недели. Средняя продолжительность жизни составила 19,1 суток при 30% гибели животных. В третьей и четвертой исследуемых группах гибели крыс не наблюдали, что свидетельствует о защитном действии сапропеля.

У интактных крыс наблюдали положительную динамику веса. При взвешивании животных на 30 сутки изменения массы носили достоверный характер. Введение крысам карбофоса в дозе 0,2 LD50 привело к отсутствию положительной динамики массы тела. Ежедневное введение крысам сапропеля в дозе 2000 мг/кг не вызывает гибели животных. При этом, динамика веса животных носит выраженный положительный характер. Вес крыс на 30 сутки достоверно отличался от исходного и в 1,2 раза превышал вес животных интактной группы. При сочетанном введении карбофоса и сапропеля наблюдали отсутствие гибели животных и положительную динамику веса крыс.

Таким образом, сапропель обладает выраженными адсорбционными свойствами, при длительном внутрижелудочном введении нетоксичен и обеспечивает выраженный защитный эффект при хронической интоксикации карбофосом.

#### Литература

1. Зорин М.Г. Эффективность естественных энтеросорбентов при интоксикации фосфорорганическими соединениями / М.Г. Зорин, Г.А. Терёхин // Тез. докл. конф. «Человек и лекарство». - 2005. - С.614

2. Карелина О.А. Биохимические свойства грязевых отложений некоторых минерализованных озёр Сибири. / О.А. Карелина, Н.К. Джабарова Т.М. Тронева, Е.Ф. Левицкий // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. - 2005. - №1. - С.31-33.

3. Матис Е.Я. Каротиноиды иловых и сапропелевых лечебных грязей и их антиокислительные свойства. / Е.Я. Матис, А.О. Опалинская // Актуальные вопросы курортологии и физиотерапии: Мат. науч. практ. конф. - Томск, 1997. - С.44-46.

4. Терёхина Н.А. Влияние сапропелевых грязей на показатели окислительного стресса и антиоксидантной защиты при остром отравлении карбофосом / Н.А. Терёхина, М.Г. Зорин, Г.А. Терёхин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2007. - №1. - С.6-7.

## Камакин Н.Ф., Колодкина Е.В. ТРОФОСИСТЕМЫ И ИХ ФЕРМЕНТНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Изучены особенности гомеостазирования инкретируемых пищеварительными железами гидролитических ферментов у женщин при беременности, пути реализации ферментного гомеостаза, анаболическая и регуляторная роль гидролаз (пепсиногена, амилазы, липазы, щелочной фосфатазы) и трансаминаз (АСТ и АЛТ) в системе «Мать – плод, новорожденный ребенок».

В трофобластическом питании принимают участие инкретируемые в кровь пищеварительными железами беременной женщины ферменты, соучаствующие в гистоллизе (аутолизе) участка слизистой оболочки матки и имплантированной оплодотворенной яйцеклеткой (Аршавский И.А.).

Гематотрофное питание, сопровождающее весь внутриутробный период развития плода, обеспечивается нутриентами и ферментами материнского организма, которые участвуют в аутолитическом пищеварении (Уголев А.М., Коротько Г.Ф.).

Амниотрофное питание осуществляется в желудочно-кишечном тракте плода, заглатывающего околоплодную жидкость с содержащимися в ней нутриентами (Аршавский И.А.), гидролизующимися рекретируемыми в нее гидролазами за счет аутолиза (Коротько Г.Ф.).

После рождения ребенка связь его с материнским организмом остается посредством молозивно-лактоотрофного питания, т.е. доставкой в дигестивный аппарат и субстратов, и ферментов в составе молозива и молока кормящей матери для осуществления аутолитического пищеварения у ребенка (Мирзакаримов У.М.).

Смешанное, а затем дефинитивное питание индуцируют развитие собственного пищеварения за счет ферментов пищеварительных желез организма ребенка.

Появляющееся после рождения ребенка симбионтное пищеварение ферментами сапрофитной микрофлорой кишечника вносит существенный вклад в обеспечение трофических и пищеварительных процессов развивающегося организма и его адаптации к условиям гетеротрофного питания.

Транспортно-энергетические процессы сопровождаются с участием щелочной фосфатазы и трансаминаз (Рослый И.М.). В транспептидации играют роль пепсины (оген).

Экзотрофия и эндотрофия взаимосвязаны между собой посредством пищеварительного (внутрикишечного) гомеостаза (Гальперин Ю.М.), поддерживаемого процессами секреции, рекреции, ресекреции и экскреции электролитов, белков (в том числе ферментов) и других полимеров в сочетании с

непрерывным всасыванием нутриентов и воды. В анаболизме мономеров участвуют пепсиноген (аминокислоты), амилаза (глюкоза), липаза (жиры и жирные кислоты).

Таковы онтогенетические основополагающие аспекты проблемы трофологии плода и новорожденного, объединяющие вопросы питания и пищеварения развивающегося организма, которые изучены нами у небеременных, беременных и кормящих матерей.

Установлены механизмы гомеостаза гидролаз, заключающиеся в изменении величины инкреции пищеварительных ферментов в кровь (по их активности в сыворотке), в экскреции ферментов из организма ренальными (почками) и экстраренальными (кишечник) путями, рекреции и ресекреции гидролаз слюнными железами, а также ретенцией и утилизацией их в организме беременных женщин и плода. Данные будут представлены в докладе.

Каменских Т.Г., Захарова Н.Б., Андрейченко О.А.,  
Никитина В.В., Слюзова О.В., Лашкова В.Л.

**ИММУНОПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ  
РЕТИНОПАТИИ**

*ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»,  
г. Саратов*

Своевременное начало лечения диабетической ретинопатии (ДР) при диабете требует своевременного направления больного к офтальмологу, адекватного офтальмологического обследования и оценки степени риска прогрессирования пролиферативной ретинопатии на основе результатов клинических и биохимических исследований. Исследования последних лет показывают, что развитие пролиферативной ретинопатии у больных СД 1 или 2 типа сопровождается явлениями ишемии, отеком сетчатки, нарастанием дистрофических изменений в сетчатке и хориоидеи, сопровождающихся нарушением микроциркуляци. В исследованиях последних лет показано, что в основе развития ДР у больных СД лежат не только метаболические нарушения, но и развитием иммунологического дисбаланса, что особенно актуально при организации диспансерного наблюдения т своевременного направления пациентов с прогрессирующей пролиферативной ретинопатией на оперативное лечение.

Учитывая, что цитокины, как эндогенные модуляторы, регулирующие воспаление на всех стадиях и определяющие его специфический и неспецифический компоненты, выполняют одну из центральных функций в обеспечении иммунной защиты глаза проведено исследование по установлению факторов риска развития и прогрессирования ДР с учетом роли

иммунорегуляторных систем защиты глаза. С целью пересмотра терапевтической и оперативной стратегии ДР при СД1 и СД2 типа проведено изучение диагностического значения показателей метаболизма и иммунорегуляторных процессов в периферической крови. Комплексное обследование проведено у 100 больных (200 глаз), страдавших диабетической ретинопатией. С СД 1 типа - 50 больных, с СД 2 типа – 50 больных, а также 30 практически здоровых лиц. Исследовали состояние углеводного обмена (глюкоза эритроцитов и плазмы, гликолизированный гемоглобин), активность ПОЛ и АОС, липидный профиль крови и содержание окисленных ЛПНП, уровень СРБ, цитокиновый профиль сыворотки крови. Исследования проведены на биохимическом и иммуноферментном анализаторах Stat Fax с использованием реактивов фирмы «Вектор Бест» »Новосибирск, Diasys Diagnostic Systems GmbH, “Medicodia AB” Oxidized LDL ELISA, Sweden.

С целью пересмотра терапевтической и оперативной стратегии лечения диабетической ретинопатии (ДР) при СД1 и СД2 типа проведено изучение диагностического значения показателей метаболизма и иммунорегуляторных процессов в периферической крови. Комплексное обследование проведено у 100 больных (200 глаз), страдавших диабетической ретинопатией. С СД 1 типа - 50 больных, с СД 2 типа – 50 больных, а также 30 практически здоровых лиц. Исследовали состояние углеводного обмена (глюкоза эритроцитов и плазмы, гликолизированный гемоглобин), активность ПОЛ и АОС, липидный профиль крови и содержание окисленных ЛПНП, уровень СРБ, цитокиновый профиль сыворотки крови. Исследования проведены на биохимическом и иммуноферментном анализаторах Stat Fax с использованием реактивов фирмы «Вектор Бест» »Новосибирск, Diasys Diagnostic Systems GmbH, “Medicodia AB” Oxidized LDL ELISA, Sweden.

Установлено, что у больных СД 1 типа и СД 2 типа уже на стадии активной ДР (нарастание количества твердых экссудатов, макулярный отек, рецидивирующий гемофтальм) нарушение метаболических и иммунорегуляторных процессов имели в своей основе гипергликемию, высокий уровень НвА1с, активацию ПОЛ и дислиппротеидемию, связанную с подъемом содержанием ОХС и окЛПНП. На этом фоне в сыворотке увеличивалось содержание группы провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , гИНФ, ИЛ1 $\nu$ , ИЛ6, ИЛ8) и СРБ.

То есть тяжесть и активность клинически выявляемых нарушений на глазном дне у пациентов с ДР связаны с такими проявлениями атеросклеротического процесса, как подъем уровня ХС и окЛПНП, усиление процессов ПОД и выброс в кровотоки повышенного количества

провоспалительных цитокинов. Одним из постоянных маркеров данных процессов можно считать увеличение содержания СРБ. При нарастании в сыворотке крови провоспалительных цитокинов и СРБ у больных с СД1 и 2 типа на фоне ДР необходима дополнительная коррекция показателей углеводного обмена и терапия с использованием иммуномодуляторов и ангиопротекторов. Использование лазерокоагуляцию сетчатки желательна после снижения содержания провоспалительных цитокинов и СРБ.

Факторами риска развития и прогрессирования ДР у обследованных нами пациентов были длительность сахарного диабета более 10 лет, повышенный уровень артериального давления, наличие нефропатии, уровень гликозилированного гемоглобина более 9%, повышение уровня окисленных ЛПНП, холестерина, МДА, высокие уровни ИЛ-1 (более 12 пг/мл), ИЛ6 (более 40 пг/мл), ФНО альфа (более 85 пг/мл), СРБ (более 6 мг/мл) сыворотки.

Даже при высокой остроте зрения у части больных сахарным диабетом отмечались тяжелые проявления ДР, именно поэтому больные сахарным диабетом всегда требуют качественной диспансеризации с применением комплексного обследования.

Полученные данные позволяют отнести активацию провоспалительной программы у больных с ДР к особой форме воспаления сетчатки или ретиниту. Это вполне возможно один из универсальных механизмов ответной реакции сосудистой стенки на воздействие неблагоприятных факторов. Его наличие необходимо учитывать при организации обследования и определении тактики лечения пациентов с СД1 и СД2 типа и ДР в клинике глазных болезней.

Камилов Ф.Х., Шакиров Д.Ф.  
**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ  
 КОРРЕКЦИЯ В ОРГАНИЗМЕ У РАБОЧИХ,  
 ПОДВЕРГНУТЫХ КОМПЛЕКСНОМУ  
 ВОЗДЕЙСТВИЮ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ  
 ФАКТОРОВ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ  
 И НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ  
 ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
 медицинский университет Росздрава», г. Уфа

В последнее десятилетие отмечается повышенный интерес к выяснению общих закономерностей и молекулярных механизмов токсического действия различных соединений. Необходимость патохимического подхода объясняется тем, что в современных условиях на организм действует комплекс негативных факторов, отличающихся по характеру, механизму и степени вредного влияния. Более того, ускоренное внедрение в производство новых технологий, материалов, способов обработки и т.д. ведёт к постоянному росту мало изученных вредных

воздействий с непредсказуемыми отдалёнными последствиями. Продукты нефтехимической, нефтеперерабатывающей промышленности проникая респираторным путём в организм, несомненно, оказывают влияние на клеточные мембраны, в том числе и эритроцитарные. Их воздействия в начальных стадиях носят компенсаторный характер, в дальнейшем происходят структурно-функциональные повреждения липидного компонента биологических мембран, меняется активность ряда ферментов и систем детоксикации, рецепторов, транспортных белков и др., что приводит к срыву адаптационно-компенсаторных механизмов, становится причиной и молекулярной основой развития патологии. Поэтому, **целью настоящего исследования** явилось изучение состояния свободно-радикального окисления (СРО), кислотной и осмотической резистентности у 288 работников нефтехимической промышленности, контактирующих с органическими растворителями и хлорированными углеводородами.

**Материал и методы.** Кровь для исследования брали из кубитальной вены в центрифужную пробирку с гепарином. Часть крови использовали для подсчёта эритроцитов и изучения их осмотической стойкости, а другую - для определения кислотной резистентности. В плазме крови эритроцитах, слюнной жидкости и моче определяли количество ДК (диеновые конъюгаты), МДА (малоновый диальдегид) и ШО (основание Шиффа), в эритроцитах содержание АТФ, АДФ, АМФ, активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - и  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ -зависимых АТФаз, гексокиназы (ГК), фосфофруктокиназы (ФФК), пируваткиназы (ПК), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (ГАФДГ), альдолазы, каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), пероксидазы, глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), количество SH-групп и уровень глутатиона (GSH) восстановленного и окисленного, содержание витаминов Е и С в плазме и сыворотке крови, в эритроцитах и моче, интенсивность хемилюминесценции (ХЛ), индуцированной ионами  $\text{Fe}^{+2}$  в плазме крови, слюне и моче. Все обследуемые с учётом интенсивности воздействия поллютантов были разделены на группы А и Б, в каждой группе по три подгруппы. В **группу А** вошли лица, имеющие ингаляционный контакт только с парами бензина-растворителя марки БР-1: 1-я подгруппа - административно-управленческий аппарат, работающие на производстве вне контакта с химическими веществами; 2-я подгруппа - рабочие, имеющие ингаляционный контакт только с парами бензина с периодичностью воздействия 3-5 раза в неделю. В эту подгруппу вошли лица с ранними проявлениями неблагоприятных производственных факторов. У них были обнаружены субъективные и/или объективные симптомы, в том числе и лабораторные не менее, чем в трёх системах (критических), которые не могли составить



очерченный клинический симптомокомплекс. Прежде всего, эти изменения в биохимических показателях крови, в клеточном составе периферической крови в различных сочетаниях; 3-я подгруппа - рабочие, имеющие постоянный комбинированный контакт с парами бензина в течение 5 лет и более. Эту подгруппу составили лица с подозрением на хроническую профессиональную интоксикацию, когда совокупность отдельных синдромов различной степени выраженности укладывалась в клинику хронической интоксикации. В **группу Б** вошли лица, имеющие ингаляционный комбинированный контакт со смесью бензина-растворителя марки БР-1 с хлорированными углеводородами: 1-я подгруппа - административно-управленческий аппарат; 2-я подгруппа - рабочие, имеющие комбинированный контакт со смесью бензина с хлорированными углеводородами с периодичностью воздействия 3-5 раза в неделю; 3-я подгруппа - рабочие, имеющие постоянный комбинированный контакт со смесью бензина с хлорированными углеводородами в течение 5 лет и более. В обеих основных подгруппах действие химических веществ сочетается с факторами физической природы: физическое напряжение, повышенный уровень шума, вибрация, переохлаждение и др. Контрольную группу составили лица, не связанные в своей профессиональной деятельности с химическим производством.

**Результаты и обсуждение.** У лиц, подвергшихся в процессе профессиональной деятельности воздействию неблагоприятных факторов производственной среды в плазме крови и эритроцитах, слюне и моче обнаруживаются существенные сдвиги изучаемых показателей. Так, в эритроцитах, плазме крови, слюне и моче обследованных 2-й, и особенно, 3-й подгрупп обеих групп выявляется накопление продуктов ПОЛ - ДК, МДА и ШО, в то время, как в 1-й подгруппе статистических проявлений в состоянии липопероксидации в отличие от контроля не обнаруживается. На фоне усиления процессов ПОЛ в эритроцитах и слюне у обследованных 2-й подгруппы группы А и Б отмечается активация каталазы, СОД, пероксидазы, Г-S-T, ГП, ГР (табл. 1), Г-6-ФДГ и  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -зависимой АТФазы, снижение ГК, ФФК, ПК,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ -АТФазы, а у лиц 3-й подгруппы обеих групп, на фоне повышение  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -стимулируемой АТФазы, каталазы, пероксидазы, СОД и Г-6-ФДГ, угнетение ферментативной активности, а содержание витаминов Е и С в плазме и сыворотке крови, и моче не отличается от данных контрольной группы. Количество SH-групп в плазме крови у обследованных лиц обеих групп существенно меняется: общая фракция SH-групп увеличивается, белковая часть SH-групп при этом снижается, а небелковая - напротив, повышается, уровень глутатиона восстановленного уменьшается, окисленного увеличивается. Показатели хемилюминесценции (ХЛ) плазмы крови и слюны у

обследованных лиц статистически значимо выше, чем контрольные величины, а интенсивность свечения мочи снижается.

Эритроциты у обследуемых лиц обладают повышенной резистентностью к кислотному гемолитику. Она выражается в уменьшении количества гемолизированных эритроцитов на раннем этапе (2,5-4,0 мин) по сравнению с контролем, а на более позднем этапе экспозиции (5-6 мин) - в его увеличении. На эритрограммах это проявляется смещением пика наибольшего лизиса эритроцитов вправо, т.е. в сторону повышения кислотно-резистентности. КРЭ вполне закономерно изменяется в зависимости от стажа. Наибольшую резистентность имеют эритроциты у лиц 2-й подгруппы, где число статистически значимо отличается от контрольных показателей КРЭ и возрастает до 9. В 3-й подгруппе происходит некоторое снижение показателей КРЭ и число статистически значимо различных величин становится равным 5, в то время как в 1-й подгруппе оно равно 1. Изучение ОРЭ у обследованных выявило, что количество разрушенных эритроцитов при действии гипотонического раствора (0,38% NaCl) во 2-й подгруппе статистически превышает исходное значение, а в 3-й подгруппе оно резко возросло. Именно в этих группах, согласно ранее опубликованным нами данным, регистрируются в эритроцитах наиболее существенные колебания количества мет- и сульфгемоглобинов, ионов Na, K, Ca, Mg и Pn.

В течение года 106 человек прошли лечебно-оздоровительный курс без отрыва от производства на базе санатория «Радуга». При поступлении, в ходе профилактического лечения и перед выпиской исследовалась в крови и моче интенсивность ХЛ. При организации лечебно-оздоровительных мероприятий, направленных на предупреждение возникновения метаболических сдвигов, изменения реактивности, повышения сопротивляемости организма рабочих к воздействию неблагоприятных химических и физических производственных факторов, особое внимание уделялось немедикаментозным способам лечения: фитотерапии, мануальной- и игло-, рефлексотерапии, а также использованию имеющихся в профилактории комплекса современных физиотерапевтических процедур, фотария, солярия. Лечебная физкультура сочеталась применением разнообразных тренажеров, беговой электронной дорожки. Широко использовались различные виды массажа, углекислые, йодобромные, хвойные ванны, лечебные грязи, также применялись более 80 наименований лекарственных трав, собранных в экологически чистых регионах. Они использовались в виде сложных коктейлей, настоев, специальных ингаляций и ванн. Дополнительно при ингаляции применялись различные масла: абрикосовое, оливковое, эвкалиптовое, гвоздичное, укропное, масло шиповника, а также мёд, прополис, настои трав.

В ходе лечения были отмечены следующие

Таблица 1

Изменение активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах обследованных лиц.

Статистические Показатели	Исследуемые показатели					
	Каталаза	Супероксиддисмутаза	Пероксидаза	Глутатион-пероксидаза	Глутатион-редуктаза	Глутатион-S-транс-фераза
	усл. ед.	усл. Ед./мг · Нв	ммоль/мг · Нв/мин			
<b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА (n=44)</b>						
M±m	25,5±1,2	1,24±0,04	33,1±1,3	16,2±0,84	8,66±0,38	10,12±0,46
<b>Группа А</b>						
<i>1-я подгруппа (n=25)</i>						
M±m	26,1±1,6	1,27±0,06	32,8±1,1	15,9±0,65	8,54±0,36	10,27±0,52
P	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5
<i>2-я подгруппа (n=36)</i>						
M±m	29,4±1,5	1,45±0,09	37,2±1,5	18,1±0,42	9,92±0,49	11,48±0,49
P	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
<i>3-я подгруппа (n=33)</i>						
M±m	31,9±2,5	1,69±0,14	44,2±4,2	19,8±1,51	11,4±1,01	13,50±1,26
P	<0,02	<0,005	<0,01	<0,05	<0,001	<0,01
<b>Группа Б</b>						
<i>1-я подгруппа (n=25)</i>						
M±m	26,1±1,6	1,27±0,06	32,8±1,1	15,9±0,65	8,54±0,36	10,27±0,52
P	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5
<i>2-я подгруппа (n=44)</i>						
M±m	36,3±2,4	1,81±0,14	45,1±3,7	21,6±1,91	11,2±1,01	14,62±1,25
P	<0,001	<0,001	<0,005	<0,01	<0,001	<0,001
<i>3-я подгруппа (n=42)</i>						
M±m	18,4±1,3	0,93±0,07	26,5±1,7	13,4±0,52	7,47±0,44	8,64±0,44
P	<0,001	<0,001	<0,005	<0,005	<0,05	<0,02

характерные изменения в интенсивности хемилюминесценции плазмы крови, слюны и мочи: при поступлении и в процессе лечения показатели ХЛ крови, слюны и мочи оставались в пределах физиологической нормы, что свидетельствует о высоких адаптационно-метаболических возможностях и эффективности механизмов, компенсирующих внешние воздействия на процессы СРО; в ходе лечения отмечалось отклонение показателей ХЛ: либо повышение (9,2%), либо снижение (7,2%). Этот факт можно рассматривать как реакцию на изменившиеся условия, физиотерапевтические и медикаментозные воздействия. Обычно уровень ХЛ крови, слюны и мочи перед выпиской пациента возвращался к исходным величинам, что указывает на сохранность резервных возможностей организма; при низкой интенсивности ХЛ мочи удавалось добиться нормализации показателей в 67% случаев, оставалась низкой у 33%. Среди последних в 18% случаев впервые выявлены сопутствующие заболевания - сахарный диабет, гипертоническая болезнь, гломерулонефрит и др.; у лиц с высокой интенсивностью свечения крови и слюны в момент поступления, снижение показателей ХЛ в ходе лечения, наблюдалось у 69,4%, у остальных отмечалось обострение, имевшихся хронических воспалительных заболеваний. Все рабочие с изменённым уровнем ХЛ крови, слюны и мочи и были взяты на учёт, им было рекомендовано повторные исследования в течение месяца после завершения профилактических мероприятий.

Хемилюминесценция крови, слюны и мочи позволяет оценить ранние, ещё компенсированные в определённой мере изменения организма работников, выявить преморбидное состояние. ХЛ крови, слюны и

мочи выступает как неспецифический скрининговый тест, отражающий изменение гомеостаза. Исследуя ХЛ крови, слюны и мочи в процессе лечения удаётся контролировать состояние физиологических и метаболических процессов, оценить влияние на них различных физиотерапевтических и медикаментозных воздействий, выявить индивидуальную чувствительность пациентов. Следовательно, есть основания считать, что изменения интенсивности ХЛ мочи, слюны и крови может служить достаточно веским критериально-диагностическим признаком, позволяющим судить о состоянии СРО у лиц с острой и хронической интоксикацией химическими загрязнителями окружающей среды.

Камилов Р.Ф., Шакиров Д.Ф., Кудрявцев В.П.

#### **КИСЛОТНАЯ И ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ**

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

Продукты производства нефтехимической, химической и нефтеперерабатывающей промышленности, проникая респираторным путём в организм, несомненно, оказывают влияние на клеточные мембраны и, в первую очередь, эритроцитарные. Их воздействие, по-видимому, может изменять морфофункциональные свойства мембран эритроцитов и вызывать сдвиги в состоянии кислотной и осмотической резистентности эритроцитов.

**Материалы и методы.** Изучение кислотной и осмотической резистентности эритроцитов проведено у 295 работников, контактирующих с ароматическими и хлорированными углеводородами и органическими

растворителями. Возраст обследованных от 20 до 50 лет, по профессиям операторы, машинисты, слесари и лаборанты-женщины.

Кровь для исследования брали из кубитальной вены в центрифужную пробирку с гепарином. Часть крови использовали для выделения количества эритроцитов и изучения их осмотической стойкости, а другая для определения кислотной резистентности. После центрифугирования и декантирования плазмы эритроциты исследовали.

Осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ) изучали по методу Waugh и Asherman (1938) в модификации Н. Л. Василевской (1955) и Cohen (1958) путём определения оптической плотности растворов гемоглобина, получающихся в результате разрушения эритроцитов в серии гипотонических растворов хлорида натрия, позволяющей получить кривые динамики гемолиза.

Определение кислотной резистентности эритроцитов (КРЭ) проводили методом эритрограмм, предложенным И. И. Гительзоном и И. А. Терсковым (1959). Для исследования кислотной резистентности в фотометрическую кювету вносили 4 мл физиологического раствора, содержащего 0,004 М HCl и 0,02 мл эритроцитов. Первые показания экстинкции снимали ровно через 30 секунд после внесения эритроцитов. Затем через каждые 30 секунд снимали показания до прекращения уменьшения экстинкции. По полученным величинам строили кислотные эритрограммы.

Все обследуемые были разделены на 3 группы с учётом интенсивности воздействия химических загрязнителей: 1-я группа - работающие на заводе вне контакта с химическими веществами в течение пяти лет; 2-я группа - рабочие, имеющие контакт с

химическими веществами, с периодичностью воздействия 2-3 раза в неделю в течение 3-х лет (группа риска); 3-я группа - рабочие, имеющие с ними постоянный контакт в течение 3-5 лет; контрольную группу составили лица, не связанные в своей профессиональной деятельности с химическим производством.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ «Statgraphics».

**Результаты и обсуждение.** Исследования, проведённые у лиц, подвергшихся в процессе профессиональной деятельности воздействию химических загрязнителей показывают, что эритроциты обследуемых обладают повышенной резистентностью к кислотному гемолизу. Она выражается в уменьшении процента гемолизированных эритроцитов на раннем этапе (2,5-4,0 мин) по сравнению с контролем, а на более позднем этапе экспозиции (5-6 мин) в их увеличении. Суммарно на эритрограммах это проявляется смещением пика наибольшего лизиса эритроцитов вправо, т.е. в сторону повышения кислотной резистентности. КРЭ вполне закономерно изменяется в зависимости от стажа. Наибольшую резистентность проявляют эритроциты у лиц 2-й группы (стаж 0-3 года), где число статистически достоверно отличающихся показателей КРЭ от контроля возрастает до 9. В 3-й группе (стаж 3-5 лет) происходит некоторое снижение показателей КРЭ и число статистически различимых величин становится 5, в то время как в 1-й группе она равна 1 (табл. 1).

В воздухе рабочей зоны [3] постоянно присутствуют в значительных концентрациях химические загрязнители, и можно предположить, что эти вещества оказывают влияние на мембрану

Таблица 1

**Кислотная резистентность эритроцитов у обследуемых групп**

Время экспозиции (мин)	Контрол. Группа	Обследованные группы	1-я группа (стаж 0-5 лет)	2-я группа (стаж 0-3 года)	3-я группа (стаж 3-5 лет)
0,5	1,6±0,2	1,7±0,2	1,6±0,2	1,8±0,2	1,8±0,2
1,0	1,8±0,2	2,0±0,3	1,8±0,2	2,2±0,4	2,0±0,4
1,5	2,4±0,4	1,9±0,2	2,0±0,4	1,8±0,2	2,0±0,4
2,0	4,6±0,6	3,4±0,1**	3,8±0,6	3,1±0,3**	3,3±0,6
2,5	9,4±0,9	7,4±0,4**	8,7±0,3	6,2±0,9**	7,5±0,8
3,0	15,1±1,2	12,2±0,7**	13,6±0,5	10,5±1,5**	12,4±0,7*
3,5	18,5±1,6	14,5±1,0**	15,3±0,7*	13,4±1,3**	14,7±1,1*
4,0	16,2±1,1	13,2±0,8**	14,9±0,6	12,6±1,1**	12,2±1,7*
4,5	12,4±1,0	13,4±0,8	13,1±1,1	11,9±0,8	15,1±1,6
5,0	8,7±0,8	10,5±0,4**	9,8±0,9	11,5±0,8**	10,2±1,2
5,5	5,1±0,5	8,7±0,9***	6,3±0,7	10,1±1,5***	9,7±1,1***
6,0	2,6±0,4	5,1±0,6***	3,1±0,4	6,4±0,6***	5,9±0,8***
6,5	1,5±0,3	2,5±0,3**	2,2±0,5	2,7±0,4**	2,5±0,6
7,0	0,7±0,2	1,1±0,4	0,8±0,3	1,4±0,5	1,1±0,3
7,5	0,4±0,1	0,6±0,2	0,5±0,2	0,7±0,2	0,6±0,2
8,0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,2±0,1	0,4±0,2	0,3±0,1
8,5	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0
9,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0

Примечание. Здесь и в таблице 2 Р-статистически значимо по сравнению с контрольной группой (\* - P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001)

Таблица 2

Количество разрушенных эритроцитов (млн/мм<sup>3</sup>) у обследуемых групп

Показатель	Контрол. группа	1-я группа (стаж 0-5 лет)	2-я группа (стаж 0-3 года)	3-я группа (стаж 3-5 лет)
Общее количество эритроцитов	4,4±0,10	4,6±0,11	4,5±0,10	4,3±0,09
Количество разрушенных эритроцитов	2,4±0,10	2,4±0,08	3,8±0,11*	3,2±0,10*

эритроцитов и понижают их чувствительность к кислотному гемолизу. Подобные изменения КРЭ могут свидетельствовать, что в первые годы работы в условиях производства происходят наиболее существенные сдвиги, отражающие реакции приспособления к вредным производственным факторам, в то время как при длительном контакте, по всей вероятности, происходит адаптация к вредностям производства. Эти колебания могут быть связаны либо прямым воздействием химических загрязнителей на мембрану эритроцитов, что может привести к изменению химического состава липидов мембраны, либо на ферменты, участвующие в поддержании физиологического уровня перекисного окисления липидов, или на ферменты, обеспечивающие нормальную проницаемость мембран

Изучение ОРЭ у обследованных выявило, что количество разрушенных эритроцитов при действии гипотонического раствора (0,38% HCl) во 2-й группе превышало исходное значение на 58%, тогда как в 3-й группе оно возросло до 133% (табл. 2). Именно в этих группах, по ранее опубликованным данным, регистрируются в эритроцитах наиболее существенные колебания количества АТФ, изменения активности гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), глицеральдегидфосфатдегидрогеназы (ГАФДГ), альдолазы, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>- и Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>-зависимых АТФаз, содержания MetHb, ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> и Pn [1,2]. Эти сдвиги выражались в падении уровня АТФ, снижении активности гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>-АТФазы, в увеличении активности Г-6-ФДГ, ГАФДГ, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы, накоплении ионов Na<sup>+</sup>, Pn и уменьшении катионов Mg<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup> и Ca<sup>+2</sup>.

Таким образом, несмотря на специфические особенности действия химических загрязнителей, нами обнаружены ряд общих закономерностей реакции эритроцитов:

- изменение структуры мембраны эритроцитов и повышение чувствительности к осмотическому и кислотному лизису;
- изменение в составе катионов в результате нарушения проницаемости мембран;
- изменение активности гликолитических и пентозофосфатных ферментов;
- уменьшение содержания АТФ, что в свою очередь рассматривается как одна из причин нарушения проницаемости мембран;

- определение КРЭ и ОРЭ у рабочих может служить маркером морфофункционального состояния эритроцитов при воздействии вредных производственных факторов.

**Литература**

1. Салахов Р.А., Камилев Ф.Х., Фархутдинов Р.Р., Мамин И.Р. Энергетический статус эритроцитов у работников производства пиромеллитового диангидрида // Здравоохранение Башкортостана. - 1998. - № 5-6. - С.20-26.
2. Шакиров Д.Ф., Камилев Ф.Х., Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Изменения биохимических показателей эритроцитов у рабочих производства пиромеллитового диангидрида // Медицина труда и промышленная экология. - 1998. - № 9. - С.22-26.
3. Шакиров Д.Ф., Камилев Ф.Х., Фархутдинов Р.Р., Лиховских В.А. Условия труда и состояние здоровья у рабочих, занятых в производстве пиромеллитового диангидрида // Гигиена и санитария. - 1998. - № 2. - С.19-22.

Камилев Р.Ф.

**МИТОХОНДРИЙ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАТОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ, ШИРОКО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ И НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа*

Внутренняя мембрана митохондрий является комплексным и чувствительным объектом исследования для оценки токсического эффекта. Высокая чувствительность мембраны обусловлена тесной взаимосвязью между состоянием мембранного барьера и синтезом АТФ, сопряжённого с окислением субстратов в дыхательной цепи. Известно, что различные химические загрязнители при поступлении в организм и изменяя метаболизм клеток могут способствовать нарушению энергетического метаболизма. К ним, прежде всего, следует отнести алкалоиды, микотоксины, поверхностно-активные вещества, алкилирующие агенты, канцерогены, ароматические и хлорированные углеводороды органические растворители и др. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что эти факторы влияя прямым или косвенным путём вызывают изменения проницаемости митохондриаль-

ных мембран и активности мембранно-связанных ферментов митохондрий, тем самым воздействуя на процессы окислительного фосфорилирования способствуют их нарушению. С учётом вышеизложенного, нами было предпринято изучение влияния ароматических углеводов (бензол, диангидрид 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты, 1,2,4-три-метил- и 1,2,4,5-тетраметилбензолы), хлорированных углеводов (дихлорметан, 1,2-дихлорэтан), органических растворителей (бензин-растворитель марки БР-1, диоксан-1,4) на функциональное состояние митохондрий, выделенных из ткани лёгких, печени, почек, головного мозга и сердца на биоэнергетические процессы, протекающие в митохондриях, на состояние монооксигеназной системы в микросомах лёгких, печени, почек и процессы ПОЛ в лёгких, печени, почках, головном мозге и сердце у экспериментальных животных.

**Материал и методы исследования.** В эксперименте на белых беспородных крысах массой 180-220 г моделировано многократное 4-х часовое ингаляционное воздействие бензола, диангидрида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты, 1,2,4-триметил- и 1,2,4,5-тетра-метилбензолов, диоксана-1,4 и дихлорэтана-1,2 в концентрации 10,0 мг/м<sup>3</sup>, бензин-растворителя марки БР-1 в концентрации 100,0 мг/м<sup>3</sup> и дихлорметана в концентрации 50,0 мг/м<sup>3</sup>. Животных забивали декапитацией на 1-2-3-4-е месяцы после поступления поллютантов. Контрольные животные находились в тех же условиях, но без воздействия экотоксикантов.

Митохондрии из гомогенатов лёгких, печени, почек и головного мозга выделяли методом дифференциального центрифугирования после измельчения и гомогенизации охлаждённой ткани в среде выделения, взятых в соотношении 1:8. Среда выделения содержала 250 мМ сахарозы, 2 мМ этилендиаминтетраацетата, 10 мМ триоксиметиламинометана, рН 7,4. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 800 g, а супернатант - 10 мин при 8500 g и температуре 4°C. Осадок митохондрий ресуспендировали в среде выделения до создания концентрации митохондриального белка 100 мг/мл. В среду инкубации, содержащую 70 мМ KCl, 5 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 10 мМ сукцината, вносили 0,02-0,03 мл суспензии митохондрий и изучаемые ксенобиотики, растворённые в 0,01 мл 100% этанола, создавая концентрации исследуемых соединений от 10<sup>-6</sup> до 10<sup>-4</sup> М. В исходной суспензии и после добавления ксенобиотиков *in vitro* изучали состояние митохондрий фазово-контрастным микроскопом, а также содержание первичных, промежуточных и конечных продуктов ПОЛ, адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), активность митохондриальных НАД-зависимых дегидрогеназ, сукцинатдегидрогеназы (СДГ), глутаматдегидрогеназы (ГДГ), малатдегидрогеназы (МДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [4]. Концентрацию продуктов ПОЛ - гидроперекисей ГП, диеновых и

триеновых конъюгат (ДК и ТК), малонового диальдегида (МДА) и Шиффовых оснований (ШО) определяли общепринятыми методами [1], содержание адениловых нуклеотидов - с помощью стандартных наборов «Test combination АТФ» и «Test combination АДФ/АМФ» фирмы «Boehringer Mannheim» (ФРГ). За два часа до забоя животным внутрибрюшинно вводили 2<sup>14</sup>С-глицин, 6<sup>14</sup>С-глюкозу, 8<sup>14</sup>С-аденозин из расчёта 1,56 Мбк и <sup>32</sup>P-ортофосфат Na в дозе 0,86 Мбк на 100 грамм массы животного. Выделение адениловых нуклеотидов из тканей проводили методом, предложенным [3]. Включение радиоактивных соединений в состав адениловых нуклеотидов определяли на автоматическом жидкостном сцинтилляционном счётчике «Изокап-300» и выражали в имп/мин/мкМ нуклеотида. Для выделения микросомальной фракции лёгкие, печень и почки перфузировали *in situ* охлаждённым 1,15% раствором KCl. Фракцию микросом из тканей получали путём ультрацентрифугирования постмитохондриального надосадка в центрифуге VAC 601 при 105000 g в течение 1 часа. Осадок ресуспендировали в 0,154 моль/л KCl, приготовленном на трис-HCl буфере (рН 7,4). Состояние системы микросомальных монооксигеназ оценивали по содержанию цитохромов P<sub>450</sub> и b<sub>5</sub>, редуктаз НАДФ-Н-цитохром P<sub>450</sub> и НАД-Н-цитохром b<sub>5</sub>, реакции N-деметилирование амидопирин и n-гидроксилирование анилина. Разница оптической плотности (E) между максимумом поглощения при длине волны 450 нм и минимумом при l=490 нм (КМЭ=91·10<sup>3</sup> моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>) служила показателем содержания цитохрома P<sub>450</sub>. Разницу значений E между минимумом при длине волны 408 нм и максимумом при l=425 нм (КМЭ=64·10<sup>3</sup> моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>) использовали в качестве показателя содержания цитохрома b<sub>5</sub>. Содержания цитохромов P<sub>450</sub> и b<sub>5</sub> определяли по методу T. Omura and R. Sato (6), а НАДФ-Н-цитохром P<sub>450</sub> и НАД-Н-цитохром b<sub>5</sub> редуктаз согласно методике, предложенной С.Н. Willams and H. Kamin (227). Все спектральные измерения проводили на двухлучевом двухволновом спектрофотометре «Хитачи-557» и выражали в нМоль на 1 мг белка [202]. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ «Statgraphics».

**Результаты исследования.** Результатами исследований было выявлено, что при многократном 4-х часовом ингаляционном поступлении поллютантов в изучаемой концентрации в тканях лёгких, печени, почек, головного мозга и сердце у подопытных крыс наблюдаются весьма существенные сдвиги в состоянии ПОЛ. Так, спустя месяц после воздействия экотоксикантов в лёгких, печени, почках, головном мозге и сердце регистрируется статистически значимое увеличение содержания первичных, промежуточных и конечных продуктов ПОЛ - ГП, ДК и ТК, МДА и ШО. Накопление их происходит на протяжении всего периода исследования, с определённой стабилизацией на 3-й месяц ингаляции.

Одним из характерных проявлений усиления процессов ПОЛ является нарушение выработки и потребления энергии. Как известно, процессы генерации энергии тесно связаны с внутренней мембраной митохондрий, состояние которых в значительной степени зависит от интенсивности процессов ПОЛ. И действительно, как показали данные, полученные нами, спустя месяц ингаляции в тканях лёгких, печени, почек, головного мозга и сердце у подопытных крыс, определяется существенное падение уровня АТФ. Оно минимально на 4-й месяц исследования. Понижение содержания основного макроэрга сопровождается изменением соотношений двух других компонентов адениловой системы и накоплением нуклеотидного фонда. Повышение пула адениловых нуклеотидов в тканях, по всей видимости, свидетельствует об интенсификации их новообразования. Это предположение вполне закономерно, поскольку нами при исследованиях синтеза адениловых нуклеотидов *de novo* по включению радиоактивного углерода из глицина, глюкозы, аденозина и радиоактивного фосфора из ортофосфата натрия в структуру АТФ, АДФ и АМФ установлено существенное увеличение удельной радиоактивности моно-, ди- и трифосфорных производных аденозина. Эти данные подтверждают факт усиления новообразования производных аденилового ряда. При исследовании *in vitro* суспензии митохондрий с внесёнными ксенобиотиками концентрацией от  $10^{-6}$  до  $10^{-4}$  М регистрируется набухание митохондрий с различной амплитудой. При этом выявляются контрационные циклы набухания митохондрий, как малой, так и большей амплитудой, что по нашему мнению, обусловлено видом и интенсивностью влияния. Малые изменения, по всей видимости, тесно связаны с чередованием различных окислительно-восстановительных процессов в митохондрии, т.е. с окислительным фосфорилированием, а изменения большей амплитуды обусловлены дефицитом энергии. Частота малых изменений выше по сравнению с большим сдвигом. Набухание митохондрий следует рассматривать, прежде всего, как первичную реакцию приспособления к экзогенным воздействиям. В дальнейшем происходит сморщиванию (сокращение) митохондрий, что связано с синтезом АТФ. В этот момент они высоко проницаемы для адениннуклеотидов. Повышение уровня последних существенно зависит от степени набухания, и чем оно сильнее, тем выше концентрация адениловых нуклеотидов. Отмечается тесная корреляционная взаимосвязь между изменением состояния митохондриальных мембран и интенсивностью процессов ПОЛ, о чём свидетельствует значимое снижение содержания ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран и накопление продуктов ПОЛ. Последнее, происходит в результате окисления экзогенных соединений, а также непосредственно на фосфолипидном слое мембран [1]. Изменения активности митохондриальных ферментов при этом

имеет разнонаправленный характер. Так, на фоне существенного нарастания активности СДГ и ЛДГ, отмечаемое в течение всего срока исследования параллельно обнаруживается падение глутамат- и малатдегидрогеназной активности и НАД-зависимых дегидрогеназ. Одновременно в микросомах, выделенных из тканей лёгких, печени и почек регистрируется на протяжении всего периода исследования статистически значимое нарастание активности системы метаболизма ксенобиотиков - скорости N-деметилирования амидопирина, п-гидроксилирования анилина и цитохромов - P<sub>450</sub> и b<sub>5</sub>. Эта ферментная система играет важную роль в метаболизации, как эндогенных (стероидные гормоны, холестерин, жирные и желчные кислоты, простагландины), так и экзогенных (подавляющее большинство ксенобиотиков) субстратов, и её функциональное состояние полностью зависит от целостности мембранных структур эндоплазматического ретикулума.

Таким образом, в результате исследований установлено, повышение отдачи адениннуклеотида митохондриями после добавки ксенобиотиков *in vitro*, а также выявлено существенное повышение количество продуктов ПОЛ, указывающее на мембраноповреждающее действие исследуемых веществ. Это свидетельствует о деструкции исследуемыми поллютантами мембран митохондрий, что приводит в дальнейшем к сопряжению окисления и фосфорилирования. Выявленные изменения *in vitro* после добавки 1,2,4,5-тетраметилбензо-ла указывают на меньшее накопление продуктов ПОЛ по сравнению с таковым, чем при добавки диангидрида 1,2,4,5-бензолтетракарбоновой кислоты и 1,2,4-триметилбензола и тем более при добавки бензина-растворитель марки БР-1, дихлорметана, дихлорэтана-1,2 и диоксана-1,4.

В заключение необходимо отметить значимость модельных исследований *in vitro*, как важного связывающего звена с предпатологическими изменениями *in vitro*, когда ещё имеют место обратимые ранние реакции организма. При экспериментальном моделировании исследованные биохимические параметры - набухание митохондрий, отдача адениннуклеотида и накопление продуктов ПОЛ в митохондриях могут рассматриваться, как ранние предпатологические реакции при оценке токсичности веществ. С учётом полученных сведений, определение ГП, ДК и ТК, МДА и ШО можно рассматривать как достаточно специфические показатели для данной тест-системы.

#### Литература

1. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. - М., 1972. - С.236-249.
2. Карузина И.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика её окислительных систем / И.И. Карузина, А.И. Арчаков // Современные

методы в биохимии. - М., 1977. - С.49-62.

3. Киреев М.М. Полумикрометод определения кислотоэкстрагируемых нуклеотидов в органах мелких лабораторных животных / М.М. Киреев, В.Д. Конвай // *Вопр. мед. химии.* - 1979. - № 3. - С.352-354.

4. Методы исследований в профпатологии (биохимические) / Под ред. О.Г. Архиповой. - М., - 1988.

5. Ahokas J. Characterisation of BR-hydroxylase of Trout liver / J. Ahokas, O. Pelkonen, N. Karki // *Cancer Res.* - 1977. - Vol.37. - P.3737-3743.

6. Omura T. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. 11 solubilisation, purification, properties / T. Omura, R. Sato // *J. Biol. Chem.* - 1964. - Vol.239. - N.7. - P.2379-2385.

Коршунов Д.А., Хазанов В.А.

**ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ**

*ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, г.Томск*

Достаточное обеспечение энергией является необходимым условием полноценного функционирования всех систем организма. На основе митохондриальных субстратов в последнее десятилетие были разработаны регуляторы энергетического обмена, способные оптимизировать процессы энергообеспечения, устраняя энергетический дефицит благодаря способности восстанавливать и поддерживать активность быстрого метаболического кластера митохондрий. При увеличении нагрузки на систему энергопродукции процессы окисления переключаются от полного цикла Кребса на преимущественное окисление наиболее мощного ФАД-зависимого субстрата – сукцината. Его окисление по быстрому пути в результате сопряжения с процессами переаминирования обеспечивает прирост продукции АТФ - универсального стабилизатора, препятствующего деградации митохондрий [6, 8].

Известно, что окислительный стресс и окислительное повреждение митохондрий являются этиологическими факторами развития различных заболеваний и старения. В силу этого, митохондрии могут служить центральным барометром для оценки жизнеспособности клеток [9, 12-14].

С другой стороны развитие многих заболеваний связано с повреждением мембран клеток, которое приводит к нарушению их функциональной активности. Поврежденные клетки не в состоянии вырабатывать достаточное количество энергии. В многочисленных исследованиях показано, что введение в организм фосфолипидов стимулирует регенерацию клеточных мембран, тормозит деструкцию клеток, улучшает их функции и метаболизм [1-3].

В литературе отсутствуют данные о совместном

действии фосфолипидов и митохондриальных субстратов, хотя по имеющимся данным цитопротективное действие на фоне достаточного энергообеспечения может приводить к высокоэффективному адаптивному ответу системы, подвергшейся токсическому воздействию и истощению. Учитывая различный механизм действия препаратов фосфолипидной природы и митохондриальных субстратов, при совместном применении можно ожидать потенцирования их защитного действия.

Целью работы являлось исследование влияния митохондриальных субстратов на терапевтическое действие природных фосфолипидов при экспериментальной патологии печени, вызванной тетрахлорметаном.

Эксперименты проводили в зимне-весенний период на 72 беспородных белых мышах массой 20-30 г. Животные находились в стандартных условиях вивария, в параллельно исследуемых группах (по 6 мышей), имели одинаковую массу тела, контролируемую взвешиванием для коррекции вводимой дозы препаратов. Животные получали в течение 5 дней внутрижелудочно комплекс, состоящий из митохондриальных субстратов и фосфолипидов. Янтарную кислоту (ЯК) (50 мг/кг) и яблочную кислоту (ЯБК) (75 мг/кг) вводили в виде суспензии на 1% крахмальной слизи, экстракт фосфолипидов из биотехнологического материала (50 мг/кг) в виде раствора на подсолнечном масле. На 6 сут. мышам внутрибрюшинно вводили 10% масляный раствор тетрахлорметана в дозе 1,28 мл/кг ( $LD_{50}$ ). Через 7 сут. после введения тетрахлорметана мышам декапитировали под эфирным наркозом. Для исследований использовали гомогенат печени.

Функциональное состояние системы энергопродукции оценивали полярографическим методом с помощью закрытого электрода Кларка по скорости потребления кислорода в различных метаболических состояниях по Чансу [10]. Рассчитывали скорость потребления кислорода митохондриями до ( $V_{4n}$ ), во время ( $V_3$ ) и после ( $V_{40}$ ) фосфорилирования экзогенной АДФ ( $1 \cdot 10^{-4}$  М), а также время фосфорилирования. Вычисляли коэффициенты стимуляции дыхания ( $СД = V_3/V_{4n}$ ), дыхательного контроля ( $ДК = V_3/V_{40}$ ) и сопряженности окислительного фосфорилирования (АДФ/О). Среда инкубации: КСl ( $1,2 \cdot 10^{-1}$  М), Непес-буфер ( $0,1 \cdot 10^{-1}$  М), ЭДТА ( $0,2 \cdot 10^{-3}$  М),  $KH_2PO_4$  ( $0,2 \cdot 10^{-2}$  М, рН – 7,2). В качестве субстратов окисления использовали сукцинат ( $1 \cdot 10^{-3}$  и  $5 \cdot 10^{-3}$  М), глутамат и малат (по  $3 \cdot 10^{-3}$  М). В работе использовали ингибитор аминотрансфераз – аминоксиацетат (АОА,  $0,2 \cdot 10^{-2}$  М), а также ингибитор СДГ – малонат ( $2 \cdot 10^{-3}$  М).

Антиоксидантные свойства оценивали по активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени животных. Об активности судили спектрофотометрически по изменению концентрации малонового диальдегида, являющегося конечным продуктом перекисидации липидов, содержанию

диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Статистическую обработку результатов проводили при помощи непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Изменения, обнаруженные нами у животных при развитии гепатита, вызванного тетрахлорметаном, свидетельствуют о высокой интенсивности липопероксидации. Функциональное состояние энергопродукции в митохондриях печени характеризовалось значительным снижением скоростей фосфорилирования во всех метаболических состояниях, но преимущественно окисления ФАД-зависимых субстратов. Уменьшалось сопряжение окислительного фосфорилирования в состояниях нагрузки на СДГ. Происходило увеличение времени фосфорилирования, снижение ДК. Эти данные указывает на истощение системы энергопродукции и снижение жизнеспособности гепатоцитов при интоксикации тетрахлорметаном [4, 6-8].

При защите фосфолипидами и в сочетании с ЯК происходило торможение процессов липопероксидации. При этом сочетание фосфолипидов с ЯК обеспечивало достижения нормальных величин измеряемых показателей. Также наблюдалась нормализация функционирования митохондрий печени, выраженная в полноценной сохранности кинетических параметров дыхания и сопряженности окислительного фосфорилирования.

При применении фосфолипидов с ЯК и ЯБК наблюдалось снижение эффективности работы митохондрий и высокая активность перекисного окисления липидов в печени животных. Как известно, ЯБК является НАД-зависимым субстратом, и можно предположить, что повышение активности окисления липидов происходит за счет образования АФК, так как их продукция значительно увеличивается, если транспорт электронов ограничен появлением большого протонного градиента на внутренней митохондриальной мембране. Возможно также, что разобщение процесса окислительного фосфорилирования, сопровождающееся повышением образования АФК, связано с перенапряжением энергопродукции на фоне окисления сукцината, образование которого увеличивается за счет переаминирования [8]. Применение малых доз ЯК оказывает сильное активирующее воздействие на клетки и весь организм. При повышении же дозы ЯК увеличивается вероятность гиперактивации СДГ на уровне митохондрий [5]. Такой эффект проявляется в силу гормоноподобного действия ЯК за счет наличия рецептора в клетке [11].

Таким образом, применение ЯК в сочетании с природными фосфолипидами является обоснованным, так как обеспечивает эффективное функционирование митохондрий, препятствует активации ПОЛ.

#### Литература

- 1.Белобородова Э.И. Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Влияние гепатозащитных средств на антиоксидантную функцию печени // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. – 2000. - № 10/11. – С. 75-77.
- 2.Венгеровский А.И. Гепатопротективное действие фракции высокополярных липидов эплира / А.И. Венгеровский, А.С. Саратиков // Бюл. эксперим. мед. – 2002. – Приложение № 1. – С. 38-40
- 3.Гундерманн К.Й. Новейшие данные о механизмах действия и клинической эффективности эссенциальных фосфолипидов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. - № 2. – С. 21-24.
- 4.Кондрашова М.Н., Григоренко Е.В., Бабский А.М. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий. – Новосибирск: Наука, 1987. – 145 с.
5. Кондрашова М.Н. Гормоноподобное действие янтарной кислоты // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2002. - № 1. – С. 24-32.
- 6.Кондрашова М.Н. Классификация лекарственных средств с учетом их действия на митохондриальные процессы // Регуляторы энергетического обмена: Материалы симпозиума / ГУ НИИ Фармакологии ТНЦ СО РАМН. – М.: Томск, 2003. – С. 18-30.
- 7.Кондрашова М.Н. Структурно-кинетическая организация цикла трикарбоновых кислот при активном функционировании митохондрий. – Биофизика М., 1989. – 510 с.
- 8.Кондрашова М.Н. Трансаминазный цикл окисления субстратов в клетке как механизм адаптации к гипоксии. – М., 1989. 114 с.
- 9.Enns G.M. The contribution of mitochondria to common disorders // Mol. Genet. Metab. – 2003. – Vol. 80, № 1. – P. 11–26.
- 10.Chance B.C. The interaction of energy and electron transfer reactions in mitochondria // Journ. Biol. Chem. – 1961. – Vol. 236, № 5. – P. 1534–1584.
- 11.He W., Mlao F., Lin D. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-proteincoupled receptors // Nature. – 2004. – Vol. 429, № 2. – P. 188-193.
- 12.Fariss M.W. Vitamin E therapy in Parkinson's disease // Toxicology, – 2003. – Vol. 189, № 1. – P. 129–146.
- 13.Kishikawa T., Edelstein D., Du X.L. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycemia damage // Nature. – 2000. – Vol. 404, № 5. – P. 787–790.
- 14.Pessayre D. Mitochondrial injury in steatohepatitis // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2004, № 16. – P. 1095–1105.



Косых А.А.  
**БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ  
 ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ  
 И ПРИ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ  
 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ**

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Печень по своей структуре является паренхиматозным органом, поэтому количество соединительной ткани в нормальной печени очень невелико. Однако при хронических воспалительных процессах ее содержание может значительно увеличиваться с формированием фиброза и цирроза. Поэтому изучение механизмов фиброгенеза и обратимости патологического состояния является актуальной задачей как теоретической, так и практической медицины.

Исследования проводились на крысах линии «Вистар» в норме и при воспроизведении патологии путем введения тетрахлорметана (CCl<sub>4</sub>). В ткани печени определяли содержание коллагеновых белков (КБ) по гидроксипролину, неколлагеновых белков (НКБ) по тирозину, общих гликопротеидов (ГП) по гексозамину. Исследование данных показателей проводили в предварительно выделенных фракциях печеночного гомогената: нейтральносолеорастворимой (НСРФ), цитратрастворимой (ЦРФ), щелочнорастворимой (ЩРФ) и нерастворимой (НРФ). Под НКБ имели в виду растворимые экстрацеллюлярные белки, специфичные для основного вещества соединительной ткани, нерастворимые экстрацеллюлярные белки, отличные от коллагена и эластина, являющиеся по своей химической структуре глико- и мукопротеинами (Л.И. Слущкий, 1969). Кроме того, в печени определяли содержание протеогликанов по глюкуроновой кислоте (ГУК). У животных определяли активность лизосомальных ферментов: кислой фосфатазы и катепсина Д, а также по расщеплению радиоактивного C<sup>14</sup>-коллагена общую коллагенолитическую активность ткани печени.

Известно, что образование межклеточного матрикса связано с деятельностью, в основном, клеток соединительной ткани. Поэтому одним из показателей функциональной активности соединительнотканых клеток принято считать содержание ДНК в ткани печени, косвенно отражающую пролиферативную активность этих клеток. При раздельном определении ДНК ядерной суспензии гепатоцитов (ДНК<sub>г</sub>) в общей ДНК гомогената по полученной разнице можно судить о содержании ДНК в непаренхиматозных клетках (ДНК<sub>нк</sub>) и их соотношении (Косых А.А., 1992). По нашим данным, ДНК<sub>нк</sub> составляет 0,75 мг/г сырой ткани, а ее доля в общей ДНК гомогената - 31,5%, что согласуется с данными Д.Н. Маянского (1981) по относительному содержанию непаренхиматозных клеток в печени – около 30%.

Небольшому количеству соединительной ткани в нормальной печени соответствует низкое содержание основных ее компонентов, определяемых

биохимическими методами. Среднее содержание гидроксипролина в сухой обезжиренной ткани печени крыс равно 1,48±0,06 мг/г (в расчете на КБ – 1,09±0,05%), содержание тирозина – 24,63±0,04 мг/г (в расчете на НКБ – 0,5±0,02 %), содержание гексозаминов – 4,62±0,26 мг/г, содержание ГУК – 26,0±0,38 мг/г.

При исследовании растворимости КБ в нормальной печени крыс в различных солевых растворах было обнаружено 88% нерастворимого (НРК) и щелочнорастворимого (ЩРК) коллагена. Фракция нейтральносолеорастворимого коллагена (НСРК) составила 6,4%, цитратрастворимого (ЦРК) – 5,9%. Относительное содержание различных фракций КБ изменяется в течение суток, хотя его общее содержание изменяется незначительно. Содержание НСРК обнаруживает четкую закономерность изменений в течение суток с двумя пиками в 4 часа и 16 часов, причем к 16 часам его содержание увеличивается в 3 раза по сравнению с предыдущим сроком. К 20 часам его уровень снижается до первоначального и сохраняется без изменений до 24 часов. Вслед за повышением синтеза НСРК в печени повышается уровень ЩРК и НРК. Относительная амплитуда суточных изменений была наибольшей для НСРК (± 63,6%), а самой низкой для общего коллагена (±19,3%). Эти данные свидетельствуют, с одной стороны, о высокой лабильности КБ за счет его растворимых фракций, с другой – о наличии гомеостатических механизмов, поддерживающих постоянство общего коллагена печени. Поэтому за фазой усиления синтеза КБ фибробластами и фибрилообразования в межклеточном пространстве наступает период спада коллагенсинтетической деятельности клеток и резорбции уже образовавшихся КБ.

Вторым важным компонентом соединительной ткани являются ГП. Их содержание в норме в течение суток оказалось более динамичным, чем КБ. Основную массу гексозаминов составляют гексозамины нейтральносолеорастворимой (НСРГ) и щелочнорастворимой (ЩРГ) фракций. Среднее суточное количество их соответственно составляет 46,2% и 42%. На долю гексозаминов нерастворимой (НРГ) фракции приходится в среднем 2,6%, а цитратрастворимых (ЦРГ) гексозаминов – 9,2%. Максимум синтеза НСРГ приходится на 8 часов, его доля составила 59,7%, а наименьшей – в 20 часов (26,5%). Доля ЩРГ была наибольшей в 20 часов (59,7%), а наименьшей - в 8 часов (26,4%). Доля ЦРГ была самой большой в 20 часов, а наименьшей – в 16 часов; доля НРГ достигла максимума в 8 часов и снизилась к 20 часам. В связи с этим общее содержание гексозаминов в течение суток имело два значительных подъема - в 8 часов (самый высокий) и в 20 часов. Следовательно, в течение суток в печени наблюдается один пик синтеза НСРГ в 8 часов, который обуславливает последовательный переход в течение 12 часов гексозаминов в ЦРГ и ЩРГ.

Так же как и для КБ отмечена большая амплитуда суточных колебаний содержания ГП. Для НСРГ она составила  $\pm 65,2\%$  от среднесуточного уровня; для ЦРГ -  $\pm 72,8\%$ ; для ШРГ -  $\pm 61,9\%$ ; для НРГ -  $\pm 154\%$ ; для общих ГП -  $\pm 43,3\%$ . Эти данные свидетельствуют о высокой лабильности ГП печени, принимающих участие в различных метаболических процессах. Нерастворимая фракция, составляющая, в основном, волокнистый матрикс, содержится в очень небольшом количестве.

При сравнении суточной динамики КБ и ГП просматривается отчетливая обратная взаимосвязь между ними. В часы максимального синтеза ГП синтез НСРК резко снижен, а в часы максимального синтеза КБ синтез ГП минимален. Эти данные позволяют заключить, что синтез этих биополимеров происходит разобщенно по времени со сдвигом фаз. Известно, что основную часть межклеточного матрикса синтезируют фибробласты, имеющие для этого генетически детерминированный специализированный аппарат. Судя по полученным данным, этот аппарат в клетке работает строго синхронно, включая вначале синтез ГП, затем КБ.

Изучение содержания тирозина в различных фракциях печеночного гомогената показало, что более половины всего тирозина находится в НСРФ (58,0%). Содержание тирозина в ЦРФ составило 35,5%, а в НРФ всего 3,0%. Синтез тирозина в клетках печени происходит из фенилаланина, поэтому его высокая концентрация в нейтральносолевых растворах свидетельствует об активном синтезе гепатоцитами этого биологически важного предшественника тиреоидных гормонов и катехоламинов (адреналина и норадреналина). Низкое содержание тирозина в НРФ указывает на низкое количество структурных ГП в нормальной печени.

Общая активность кислой фосфатазы в печени крыс равна  $3,0 \pm 0,05$ , неседиментируемая активность -  $0,6 \pm 0,08$ . Доля свободной активности в общей составляет 20%. Общая активность катепсина Д равна  $4,9 \pm 0,36$ , неседиментируемая активность -  $1,2 \pm 0,18$ , а доля неседиментируемой активности в общей составила 24,4%. Коллагенолитическая активность ткани печени составила  $0,55 \pm 0,05$  ЕД.

В начальной стадии токсического воспаления, вызванного  $CCl_4$  (5 инъекций), в печени повышается общее содержание ДНК, при этом в большей степени за счет ДНК<sub>нк</sub> (44,2%), ДНК<sub>р</sub> почти не изменяется. В результате этого в печени усиливается синтез КБ на 13% и ГП на 47%. Под влиянием  $CCl_4$  в печени нарушается синтез тирозина. Его содержание снижается на 26,5%.

Таким образом, ранние изменения в печени под влиянием  $CCl_4$  существенным образом касаются не только функции гепатоцитов, но и соединительной ткани. В ответ на повреждение гепатоцитов усиливается функциональная активность клеток соединительной ткани, возрастает продукция КБ и ГП.

После 11 инъекций  $CCl_4$  наблюдаются отчетливые компенсаторные реакции в печени, направленные на восстановление нарушенного гомеостаза. Снижается по сравнению с начальным периодом интоксикации содержание общей ДНК, хотя ее уровень сохраняется достоверно выше нормального ( $P < 0,05$ ). Резко возрастает ДНК<sub>р</sub> (на 42% по сравнению с нормой). В результате снижается доля ДНК<sub>нк</sub> до 18%. В этот период в печени определяется повышенное содержание гексозаминов и низкий уровень тирозина. Содержание КБ продолжает увеличиваться.

При хроническом токсическом гепатите (20 инъекций  $CCl_4$ ) доля ДНК<sub>нк</sub> несколько увеличивается до 32,8%, заметно активизируется их функция. Содержание КБ увеличивается на 34% по сравнению с интактными животными. Через 3 суток после окончания инъекций  $CCl_4$  доля НСРК составляет 25,2% общего количества коллагена (в норме - 14,7%). Достоверно выше нормы, как в относительных, так и в абсолютных значениях, была фракция ШРК, а доля НРК снизилась до 44,4%. Общее количество КБ в печени имело тенденцию к повышению и в течение суток изменялось незначительно. В утренние часы происходит повышение доли растворимых фракций, а доля НРК уменьшается до 37,4%. Наибольшее повышение общего коллагена наблюдается в 16 часов, а снижение - в 8 часов. Абсолютная амплитуда суточных колебаний НСРК уменьшилась по сравнению с нормой в 2,6 раза. Следовательно, при хроническом гепатите в печени накапливаются незрелые КБ. Значительная часть вновь синтезированных КБ распадается под действием коллагенолитических ферментов еще до образования нерастворимых фибриллярных форм. Общая активность кислой фосфатазы при хроническом гепатите возрастает в 2,3 раза, неседиментируемая - в 2,6 раза. Общая активность катепсина Д увеличивается в 1,74 раза, а неседиментируемая активность - в 2,4 раза, составляя 39,1% от общей.

При хроническом гепатите усиливается биосинтез ГП. Общее количество гексозаминов в печени увеличивается в 2,3 раза и имеет два выраженных подъема в 8 и 20 часов, при этом доля растворимых фракций составляет 63,9%, а их содержание превышает в 3,2 раза норму. Максимум синтеза НСРГ приходится на 8 и 20 часов (у интактных крыс один максимум в 8 часов). Наибольшее содержание НРГ приходится на дневные часы, а не на ночные, как в норме.

Таким образом, при хроническом гепатите происходит активация клеток соединительной ткани, при этом наряду с увеличением общего содержания КБ и ГП в печени, увеличивается доля растворимых форм. Нарушается суточный биоритм основных компонентов соединительной ткани - КБ и ГП. Содержание тирозина остается ниже нормальных значений.

У животных с хроническим гепатитом эти нарушения слабо подвергаются регрессу даже после

прекращения введений  $CCl_4$ . Через 1 сутки происходит повышение ДНК<sub>т</sub>, но при высоком значении ДНК<sub>ннк</sub>, составляющей 50% от общей ДНК печени. Через 2-е суток эти соотношения, в основном, сохраняются, а к 3 суткам происходит увеличение количества ДНК<sub>т</sub> и снижение ДНК<sub>ннк</sub>, в результате чего ее доля уменьшается до 18%. Через 7 суток содержание ДНК<sub>ннк</sub> вновь увеличивается. Только через 1 месяц содержание ДНК в печени приближается к норме.

Полученные данные по динамике ДНК в основном, коррелируют с активностью лизосомальных ферментов и с содержанием КБ. Высоким показателям ДНК соответствует, в основном, высокая активность катепсина Д и кислой фосфатазы. Содержание КБ у данных животных в течение 60 суток наблюдения сохранялось высоким, кроме 4 и 7 суток.

Дальнейшее продолжение инъекций  $CCl_4$  способствует углублению возникших нарушений и усилению продукции межклеточного вещества. После 24 инъекций  $CCl_4$  в печени достоверно повышается содержание КБ, сохраняется высоким содержание ГП и сниженное количество тирозина. Характерно то, что в этот период вновь повышается содержание ДНК в печени, в основном за счет ДНК<sub>ннк</sub>. Ее доля увеличивается до 49,5%. После 37 инъекций  $CCl_4$  в печени возрастает содержание ДНК<sub>т</sub>. Доля ДНК<sub>ннк</sub> оказалась равной 34,9%. Эти данные свидетельствуют о повышении активности гепатоцитов, направленной на поддержание клеточного гомеостаза. Высокая активность клеток фибробластического ряда привела к повышенному синтезу межклеточного вещества. Содержание КБ и ГП увеличивается более, чем в 2,5 раза по сравнению с нормой, сохраняется низкое содержание тирозина.

Через 125 суток от начала введения  $CCl_4$  (66 инъекций) в печени формируется выраженный фиброз, переходящий в цирроз. Содержание в ней КБ более, чем в 2 раза, а ГП более, чем в 3,5 раза превышает нормальные значения. Доля ДНК<sub>ннк</sub> составила 69,6%. Остается низким содержание тирозина. Увеличение числа инъекций  $CCl_4$  до 90 (5,5 месяца 4 раза в неделю) вызывает массовую гибель животных (72,8% по сравнению с животными, получавшими  $CCl_4$  в количестве 66 инъекций). По степени выраженности цирротических изменений животные данной группы были разделены на 2 подгруппы: умеренно выраженный и резко выраженный цирроз.

У животных с умеренно выраженным циррозом общее содержание КБ в печени достоверно ( $P < 0,01$ ) увеличивается по сравнению как с нормой, так и с хроническим гепатитом. Обращает на себя внимание высокий уровень НРК (57,3%), а доля растворимых фракций составляет 27,8% (при хроническом гепатите – 25,2%). Эти данные свидетельствуют об активации фибробластов, синтезирующих КБ, и отложения межклеточного коллагена.

У животных с резко выраженным циррозом печени общее содержание КБ оказалось значительно

выше (в 1,45 раза выше, чем у крыс с умеренно выраженным циррозом). Особенно резко повышается уровень НРК, превышая уровень у интактных крыс почти в 3 раза. При этом в печени сохраняется высокое содержание НСРК, однако, его доля снижается до 20,4%.

Таким образом, у крыс с резко выраженным циррозом снижается растворимость КБ, повышается зрелость коллагеновых волокон и происходит стабилизация патологического процесса на более высоком метаболическом уровне соединительной ткани.

Изучение растворимости ГП в печени при разной степени выраженности цирроза не выявило существенной разницы как в относительных, так и в абсолютных величинах растворимых и нерастворимых фракций. Содержание ГП в печени при циррозе разной степени выраженности не отличалось и от значений, полученных у крыс с хроническим гепатитом. Содержание тирозина в печени крыс также достоверно не отличалось в группах с разной степенью выраженности цирроза. Доля растворимых и нерастворимых фракций была практически одинаковой. Однако обращает на себя внимание значительное по сравнению с нормой, увеличение тирозина в нерастворимой фракции. Это указывает на повышение доли структурных ГП в печени, составляющих большую часть соединительнотканного межклеточного матрикса. Количество тирозина в НРФ при циррозе увеличено в 6,5 – 7,5 раз по сравнению с нормой, а его доля возросла с 3% в норме до 8,2 – 9,5 % при циррозе. Содержание ГУК у животных с циррозом печени было выше нормы в 1,6 раза ( $P < 0,01$ ).

Увеличение ДНК<sub>ннк</sub> в цирротически измененной печени сочетается с увеличением активности лизосомальных гидролаз. Общая активность кислой фосфатазы увеличивается почти в 3 раза, а неседиментируемая активность в 3,5 раза, что составляет 23,6% от общей. Общая активность катепсина Д возрастает более, чем в 4 раза, а неседиментируемая – в 4,6 раза. При этом доля свободной активности увеличивается только в 2,9 раза по сравнению с нормой.

Эти данные показывают, что увеличение активности лизосомальных ферментов связано, в основном, с увеличением числа клеток, богатых гидролитическими ферментами, имеющих нормальный лизосомальный аппарат. Выход ферментов в цитоплазму и межклеточное пространство ограничен, расщепление субстратов происходит внутриклеточно путем эндоцитоза. В то же время коллагенолитическая активность ткани печени заметно снижается.

Таким образом, при циррозе резко тормозится катаболизм зрелых КБ, а увеличение в органе фибробластов способствует активному синтезу КБ и ГП, формированию коллагеновых фибрилл. При циррозе печени, по С.М. Lariège (1965), осуществляется «длинный» путь метаболизма КБ. Основная масса НСРК превращается в НРК, который накапливается в печени при сниженной активности коллагенолитических ферментов.

Кравченко А.А., Кириличев А.И., Никоноров А.А.  
**К ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ  
АНТИОКСИДАНТНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ  
ЦИКЛОХОРИОИДАЛЬНЫХ ОТСЛОЕК У  
БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ АНТИГЛАУКОМАТОЗНЫХ  
ОПЕРАЦИЙ**

*ГОУ ВПО «Оренбургская государственная  
медицинская академия Росздрава», г. Оренбург*

Одним из серьёзных осложнений, возникающих наиболее часто после антиглаукоматозных операций (АГО), является циклохориоидальная отслойка (ЦХО) [Б.Н.Алексеев, С.Ф.Писецкая, 1983; Л.В.Мироненко, 1996; Е.Г.Михеева и др., 1999; Б.Ф.Черкунов и др., 2002].

Опасность развития ЦХО опосредована и заключается в возможности формирования гониосинехий, более быстрого прогрессирования катаракты, развития вялотекущего увеита со стойкой гипотонией, развития передней ишемической оптикопатии. Эти осложнения могут в отдалённые сроки после операции привести к появлению вторичной глаукомы, прогрессирующему снижению остроты зрения, субатрофии глаза [А. Э. Бабушкин, 1991; E. Chihara et al., 1993, P. U. Dugel с соавт., 1997, B. Edmunds et al., 2002], что, несомненно, требует поиска путей профилактики ЦХО после АГО.

Известно, что посттравматические увеиты, нередко сопровождающиеся ЦХО, протекают на фоне выраженной перекисидации липидов биологических мембран в совокупности с изменением активности ферментов антиоксидантной системы - каталазы, супероксиддисмутазы [Г. А. Винькова, 2001; Н. С. Дудник, 2004]. Отмечена также целесообразность антиоксидантной терапии, по сравнению с традиционной противовоспалительной и десенсибилизирующей, у пациентов с травматическими увеитами [И. Г. Долгова и др., 1999].

Имеются наблюдения, раскрывающие роль активации перекисного окисления липидов в развитии иридоциклитов после антиглаукоматозных операций, и отмечающие явный терапевтический эффект при использовании антиоксидантов [Н.М.Сергиенко и др., 1992].

Таким образом, нерегулируемая активация свободно-радикального окисления (СРО) в тканях глаза, по-видимому, может лежать в основе развития ЦХО у больных, оперированных по поводу первичной глаукомы. В связи с этим применение биоантиоксидантных препаратов представляется весьма перспективным для профилактики и лечения (без повторного хирургического вмешательства) этого осложнения, как способ, посредством которого устраняется одно из значимых звеньев данного патологического процесса.

**Материалы и методы**

В исследовании приняли участие 58 больных офтальмологических отделений (№ 1 и № 2) ГУЗ «Оренбургская областная клиническая больница»,

которым выполнялась фистулизирующая АГО – глубокая склерэктомия с базальной иридэктомией. Все больные были распределены на 2 группы: I группа (35 человек) – больные, поступившие на оперативное лечение по поводу некомпенсированной глаукомы и получавшие в качестве предоперационной подготовки традиционные препараты – инстилляции дексаметазона, диакарб 0,25 г внутрь – 1 таблетка за 1 день до операции и 2 таблетки в день операции (за 2 часа), II группа (23 человека) – больные, получавшие в качестве профилактики послеоперационной ЦХО, помимо указанных, антиоксидантный препарат – гистохром (рег. № 99/91/6) парабульбарно по 1,0 мл за день до операции, в день операции и в течение 3 дней после операции – в общем 5 инъекций. Контрольная группа включала 25 пациентов, идентичных по возрасту, у которых глаукома не была подтверждена.

Клинические наблюдения включали специфические офтальмологические сведения: стадия глаукомы, показания для оперативных вмешательств, данные остроты зрения, офтальмоскопии, биомикроскопии, периметрии, гониоскопии, уровень внутриглазного давления при поступлении и непосредственно в день операции, эффект консервативной терапии при возникновении ОСО, изменение объективных (биомикроскопия, УЗИ) и субъективных (острота зрения, поля зрения,) данных, количество дней, через которое развивалась ЦХО, а также время её регрессии, время пребывания больного в стационаре; и дополнительные данные - сопутствующая патология, паспортные данные.

Клинико-инструментальное обследование включало 2-х мерное ультразвуковое исследование глазного яблока до, и после операции при подозрении на ЦХО. Во время ультразвукового исследования определяли локализацию ОСО, её высоту, распространенность.

Лабораторные исследования включали в себя биохимический анализ сыворотки крови и слёзной жидкости.

Взятие крови у больных осуществлялось в утренние часы натощак в день оперативного лечения, а затем на 3 и 5 сутки после операции из вены в количестве 6-7 мл. Взятие слёзной жидкости производилось сразу же после забора крови. Эта процедура осуществлялась при помощи стеклянного микрокапилляра после вдыхания паров нашатырного спирта. Слеза набиралась из нижнего конъюнктивального свода только под контролем целевой лампы для исключения микроповреждений в количестве до 0,2 мл.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по концентрации: первичных (диеновых конъюгатов- ДК); вторичных (сопряжённые кетотриены - СКТ); конечных (шиффовые основания - ШО) и ТБК-реагирующих веществ (ТБК-РВ) продуктов липоперекисидации, определяемых по И.А.Волчегорскому (2000).

Состояние АОС, обеспечивающей защиту клеточных мембран от действия агрессивных форм кислорода, оценивали по активности основных ферментов антирадикальной защиты клетки – каталазы (К) и супероксиддисмутазы (СОД).

Данные, полученные в результате исследования, были подвергнуты статистической обработке параметрическим методом вариационной статистики по критерию Фишера-Стьюдента путем подсчета средней арифметической (М), среднего квадратичного отклонения (s), средней ошибки средней арифметической ( $m_M$ ) и средней ошибки средней величины ( $m\%$ ). Достоверность полученных различий между средними величинами определяли при помощи вычисления средней ошибки разности, степени достоверности - по таблице Стьюдента-Фишера.

### Результаты и их обсуждение

Как видно из данных, представленных в табл. 1, до операции, у больных без ЦХО и с ЦХО отмечалось повышенное содержание продуктов ПОЛ в СЖ. Концентрация ДК в первой подгруппе превышала контроль на 62,7% (P<0,05), СКТ на 8,7% (P>0,05), ШО на 3,75% (P>0,05). У пациентов с ОСО концентрация

ДК превышала норму на 54,3% (P<0,05), СКТ на 45,7% (P<0,05), ШО на 4,2% (P>0,05). Концентрация ТБК-РВ была в пределах нормы в обеих подгруппах. Наиболее существенные различия внутри исследуемой группы наблюдались в концентрации СКТ – 34,1% (P<0,05). Т.о., полученные данные об активации ПОЛ в интактном глаукомном глазу, подтверждающие исследование Ю. С. Краморенко (1992), Б. Т. Бузрукова с соавт. (2003), Г. Г. Зиангировой (2003), несомненно, свидетельствуют о важной роли активации свободнорадикального окисления в развитии глаукоматозного процесса.

К 5 суткам наблюдений исследуемые показатели в подгруппе без осложнения приближались к норме, а в другой (с осложнением) продолжали превышать показатели контрольной группы, что, по-видимому, свидетельствовало о важной роли нерегулируемой активации ПОЛ и в развитии ЦХО.

В сыворотке крови (табл. 2) до операции достоверных различий между подгруппами не наблюдалось, хотя практически все показатели были выше нормы.

Таблица 1

Показатели ПОЛ в слезной жидкости у больных оперированных по поводу глаукомы на фоне традиционной профилактической терапии (1-я группа).

Сроки исследования	Показатели перекисного окисления липидов							
	Больные без ЦХО (n=19)				Больные с ЦХО (n=16)			
	ДК	СКТ	ШО	ТБК-РВ	ДК	СКТ	ШО	ТБК-РВ
	Отн. ед. экстинкции/мл			Мкмоль/л	Отн. ед. экстинкции/мл			Мкмоль/л
	(M±m)			(M±m)	(M±m)			(M±m)
Контроль (n=25)	0,44±0,01	0,27±0,01	0,04±0,005	0,58±0,06	0,44±0,01	0,27±0,01	0,04±0,005	0,58±0,06
до операции	0,716±0,043**	0,293±0,017**	0,042±0,003	0,467±0,022	0,679±0,073**	0,393±0,027**	0,038±0,005	0,492±0,061
3 сутки	0,798±0,045**	0,365±0,022**	0,051±0,005	0,588±0,051	0,771±0,073**	0,441±0,044**	0,049±0,005	0,621±0,054
5 сутки	0,620±0,033**	0,321±0,018**	0,045±0,003	0,523±0,042	0,733±0,081**	0,454±0,049**	0,047±0,004	0,583±0,049

\* - достоверное отличие от контроля (p<0,05);

\*\* - достоверное различие между группами (p<0,05)

Таблица 2

Показатели ПОЛ в сыворотке крови у больных оперированных по поводу глаукомы на фоне традиционной профилактической терапии (1-ая группа)

Сроки исследования	Показатели перекисного окисления липидов							
	Больные без ЦХО (n=19)				Больные с ЦХО (n=16)			
	ДК	СКТ	ШО	ТБК-РВ	ДК	СКТ	ШО	ТБК-РВ
	Отн. ед. экстинкции/мл			Мкмоль/л	Отн. ед. экстинкции/мл			Мкмоль/л
	(M±m)			(M±m)	(M±m)			(M±m)
Контроль (n=25)	0,546±0,02	0,22±0,01	0,035±0,005	4,2±0,09	0,546±0,02	0,22±0,01	0,035±0,005	4,2±0,09
до операции	0,736±0,019*	0,308±0,012*	0,035±0,002	4,972±0,355	0,797±0,030*	0,311±0,020*	0,033±0,002	5,844±0,276*
3 сутки	0,806±0,027*	0,346±0,015*	0,042±0,002*	5,994±0,378*	0,837±0,052*	0,339±0,030*	0,037±0,004	6,160±0,430*
5 сутки	0,606±0,021*	0,346±0,017*	0,038±0,003	5,253±0,202*	0,846±0,057**	0,356±0,021*	0,036±0,003	5,994±0,334*

\* - достоверное отличие от контроля (p<0,05);

\*\* - достоверное различие между группами (p<0,05).

На 3 сутки после операции в 1-ой подгруппе содержание СКТ превышало контроль на 57 %, ШО на 20 %, ТБК-РВ на 43 %, во второй - СКТ на 54 %, ШО на 6 % и ТБК-РВ на 47 % соответственно. Важно отметить, что различий между подгруппами на этих сроках наблюдения выявлено не было. На 5 сутки различий в изучаемых показателях между подгруппами также не наблюдалось. Таким образом сыворотка крови, как интегральный показатель общего состояния организма, несомненно свидетельствует о дисбалансе между про-, и антиоксидантными системами у больных, оперированных по поводу глаукомы, но при данной офтальмопатологии может рассматриваться только как дополняющая результаты исследования слёзной жидкости, способной, несомненно, более точно отразить локальное состояние внутриглазного метаболизма.

Учитывая роль ферментов антиоксидантной системы (АОС) в стабилизации процессов ПОЛ, в слёзной жидкости была измерена активность СОД и каталазы. Было показано, что до операции в СЖ активность СОД была повышена в 6,5 раза у больных 1-ой подгруппы и в 6 раз у больных 2-ой подгруппы, а каталазы в 3,5 и в 3,3 раза соответственно, однако между подгруппами отличий не наблюдалось ( $P>0,05$ ). В послеоперационном периоде сохранялось значительное повышение активности обоих ферментов относительно нормы. При этом у больных с ЦХО активность каталазы и СОД превышали соответствующие показатели больных без ЦХО на 18% и 10% на 3 сутки и на 27% и 6% на 5 сутки после операции.

Поскольку об эффективности ферментативной системы антирадикальной защиты можно судить по стабилизации процессов ПОЛ и, при этом, повышение мощности СОД и К у больных без ОСО приводило к заметному уменьшению уровня продуктов липопероксидации (ДК на 27%, СКТ на 14 %, ШО на 13 %, ТБК-РВ на 12 %), то у больных с ЦХО динамика практически отсутствовала – уровень ДК снизился на 5%, ТБК-РВ на 7%, а СКТ и ШО не изменился, возникла необходимость коррекции СРО антиоксидантными препаратами. Для этого был выбран гистохром, хорошо зарекомендовавший себя при лечении гемофтальмов различной степени давности и, что важно, у больных глаукомой [В.Я.Мельников, 1996; В.А.Алехина, 1999].

Результаты исследования показали, что у больных 2-й группы, получавших в качестве профилактики послеоперационной ЦХО, помимо традиционной терапии, антиоксидантный препарат – гистохром, наблюдается значительное снижение, по сравнению с 1-й группой, в СЖ продуктов липопероксидации в послеоперационном периоде, что существенно отразилось на количестве осложнений. Так во II группе количество отслоек сосудистой оболочки (4,2 %) было на порядок ниже, чем у пациентов I группы (46%). При этом с повышением остроты зрения выписано наибольшее количество больных II группы (33%), а в I-й – 26 %.

Важно отметить, что применение антиоксиданта «Гистохром» в пред-, и послеоперационном периоде в качестве профилактики ЦХО сократило и пребывание пациентов в клинике. До 7 дней во II группе провели 96% больных, в то время как в I – 80%.

Таким образом, учитывая важную роль активации СРО в развитии послеоперационных осложнений в виде ЦХО, назначение, помимо традиционных мероприятий, антиоксиданта «Гистохром», значительно снижает вероятность её возникновения и, следовательно, сокращает возможность развития поздних послеоперационных осложнений (прогрессирование катаракты, вторичная глаукома, стойкая гипотония, вялотекущий увеит и др.), снижает количество дней, проведенных в стационаре, и уменьшает необходимость повторных хирургических вмешательств.

Кудрявцев В.П., Шакирова Э.Д., Абзалов Р.Р., Шакиров Д.Ф.

#### **КИСЛОТНЫЕ ЭРИТРОГРАММЫ У ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГНУТЫХ ИНГАЛЯЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ХЛОРИРОВАННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа*

Эритрограммы, подобно лейкоформуле, позволяют рассматривать распределение всей совокупности эритроцитов по отдельным группам клеток, имеющих различную плотность и физиологический возраст. Распределение отдельных групп эритроцитов по кислотной стойкости определяется физико-химическими свойствами и составом отдельных компонентов мембран - липидов и белков. Нарушения функций мембран во многих случаях не только результат, но и первооснова патологических изменений в клетке и организме в целом.

**Целью настоящего исследования** явилось изучение эритрограммы у крыс, подвергнутых воздействию хлорированных углеводородов и органических растворителей.

**Материал и методы исследования.** В эксперименте на белых беспородных крысах массой 180-220 г моделировано острое и хроническое 4-х часовое ингаляционное воздействие хлорированных углеводородов и органических растворителей (бензинрастворитель марки БР-1 в концентрации 100,0 мг/м<sup>3</sup>, дихлорметан в концентрации 50,0 мг/м<sup>3</sup>, 1,2-дихлорэтан и 1,4-диоксан в концентрации 10,0 мг/м<sup>3</sup>). Животных забивали декапитацией на 1-3-5-7 и 14-е сутки после затравки, а также на 1-2-3-4-е месяцы после поступления ксено-биотиков. Контрольные животные находились в тех же условиях, но без воздействия экотоксикантов.

**Результаты и обсуждение.** Данные, полученные при остром и хроническом ингаляционном воздействии экотоксикантов в испытуемой концентрации показали, при изучении осмотической резистентности эритроцитов (ОРЭ) у подопытных крыс в зависимости от чувствительности к осмотическому лизису были выявлены три группы эритроцитов: высоко-, слабо- и среднерезистентные. Высокорезистентные эритроциты - молодые, недавно выброшенные в кровяное русло клетки, а слаборезистентные - старые клетки. Дисперсия свойств высокорезистентной группы эритроцитов у подопытных крыс была в 1,5-3,5 раза выше, чем у интактных. Общий сдвиг вариационной кривой для высоко- и слаборезистентных форм эритроцитов в опыте значимо выявляется в зависимости от вида и интенсивности воздействия на 3-5-е сутки после однократного воздействия экотоксикантов, а при многократном - через месяц. При этом наблюдается снижение верхней границы резистентности эритроцитов при общем увеличении числа циркулирующих эритроцитов, что, бесспорно, является компенсаторной реакцией на токсическое воздействие. Существенное увеличение числа слаборезистентных форм эритроцитов в опыте свидетельствует об интенсивном износе эритроцитов у подопытных крыс из-за изменений в структуре их мембран. При изучении кислотной резистентности эритроцитов (КРЭ) в той же концентрации однократно на 1-3-и сутки и многократно на 1-й месяц в зависимости от вида и интенсивности воздействия регистрируются сдвиги гемолизной кривой влево, а в дальнейшем этот сдвиг нарастает, а, следовательно, сокращается время гемолиза 50% клеток. Абсолютные показатели интактных животных колебались в следующих пределах:  $V_{max}$  - 0,47-0,50% клеток/сек, 50 - 448-474 сек, 100 - 750-780 сек. Выброс в кровь эритроцитов из депо отмечается уже через сутки после воздействия экотоксикантов, что регистрируется по накоплению доли физиологически молодых клеток. Максимальная скорость гемолиза снижается при остром воздействии на 25% по отношению к контролю для бензина марки БР-1, на 16% для дихлорметана, на 21% и 22% для 1,2-дихлорэтана и 1,4-диоксана, а при хроническом - на 43% для бензина, на 28% для дихлорметана, на 33% и 36% для дихлорэтана и 1,4-диоксана. Снижение максимальной скорости гемолиза сопровождается удлинением времени наступления гемолиза 50% клеток при влиянии паров дихлорметана и диоксана-1,4 и 100% клеток - паров дихлорэтана и бензина. При воздействии паров дихлорметана эти показатели нарастают незначительно, а пары бензина, дихлорэтана и диоксана-1,4 - напротив, вызывают более быстрый гемолиз. Следовательно, прочность мембран эритроцитов периферической крови после поступления ксенобиотиков, особенно, бензина марки БР-1 снижается, что подтверждается также и более низким содержанием эритроцитов в крови. Через сутки после попадания экотоксикантов в организм

максимальная скорость гемолиза возрастает и приближается контрольным цифрам. Нарастание максимальной скорости гемолиза происходит на фоне повышенного содержания эритроцитов в периферической крови, что подчёркивает снижение прочности мембран всей совокупности эритроцитов, т.к. эритроцитоз вызван в основном, выбросом из депо физиологически молодых клеток, которые характеризуются высокой стойкостью к гемолизу. Стойкая эритропения, отмечаемая через месяц после ингаляции экотоксикантов, указывает на истощение резервов депо эритроцитов. Эритропения, вероятно, способствует стимуляции эритропоэза, что подтверждается увеличением доли физиологически молодых форм эритроцитов, характеризующихся повышенной стойкостью к гемолизикам. Время полного гемолиза эритроцитов за счёт физиологически молодых клеток, увеличивается через месяц после поступления экотоксикантов соответственно на 43%, 28%, 33% и 36% по отношению к контролю.

Пары бензина-растворителя в концентрации 100,0 мг/м<sup>3</sup> во всём исследуемом диапазоне через сутки при однократном и через месяц при многократном поступлении в организм вызывает стойкую лейкопению. Пары бензина изменяют распределение эритроцитов по устойчивости к действию гемолизика: максимальная скорость гемолиза была снижена с 0,52% клеток/сек (интактные животные) до 0,24% клеток/сек, а время полного гемолиза возрастает соответственно с 760 до 880 сек. Так как время установления максимальной скорости гемолиза по отношению к норме не изменялась, можно предположить, что пары бензина в концентрации 10,0 мг/м<sup>3</sup> не вызывают существенных изменений и прочности мембран эритроцитов, а удлинение времени полного гемолиза клеток происходит за счёт выброса молодых клеток из депо, что подтверждается некоторой тенденцией к повышению содержания эритроцитов в периферической крови. Более высокие концентрации бензина безусловно вызывают снижение кислотной стойкости, что было зарегистрировано через сутки после воздействия концентрации 50,0 мг/м<sup>3</sup>. Отсутствие существенных изменений эритрограмм через сутки после воздействия в концентрации 10,0 мг/м<sup>3</sup>, очевидно, отражает равновесие процессов выброса физиологически молодых клеток, стойких к гемолизу, из депо, и общего снижения устойчивости эритроцитов периферической крови.

Изучение действия паров дихлорэтана и диоксана-1,4 в диапазоне доз 0,01-0,1 и 1,0 мг/м<sup>3</sup> показывает, что только концентрация 10,0 мг/м<sup>3</sup> вызывает, как статистически значимое увеличение содержания лейкоцитов и эритроцитов, так и существенные сдвиги в гемолитической стойкости эритроцитов. Время гемолиза 50 и 100% клеток было увеличено соответственно на 21% и 22%, 33% и 36% по сравнению с контролем, а максимальная скорость гемолиза снижена и установлена на 40 секунд позже, что

обусловлено, по-видимому, выбросом эритроцитов из депо, о чём свидетельствует, как накопление числа эритроцитов в периферической крови, так и повышение устойчивости мембран эритроцитов к действию гемолитика. Повышение устойчивости мембран отражается сдвигом кривой гемоллиза вправо, что характеризует повышение прочности мембран всей совокупности эритроцитов.

Эритрограммы при действии дихлорметана в концентрации 50,0 мг/м<sup>3</sup> полностью соответствуют изменениям гемолитической стойкости эритроцитов при действии паров дихлорэтана в концентрации 10,0 мг/м<sup>3</sup>, через сутки при однократном воздействии и через месяц при многократном поступлении, что позволяет говорить о возможности мембранно-протеинового эффекта дихлорметана в концентрации 50,0 мг/м<sup>3</sup>, а увеличение концентрации до 100,0 мг/м<sup>3</sup> приводит к значительному снижению стойкости всей популяции эритроцитов, что проявляется в сокращении времени наступления максимальной скорости Гемоллиза на 28% и времени полного гемоллиза на 21% по сравнению с интактными животными.

Таким образом, однократное воздействие экотоксикантов приводит к изменениям в периферической картине крови, которые отражают как общую реакцию организма на местное действие экотоксикантов (адаптивный выброс эритроцитов и лейкоцитов), так и действие на клеточном уровне, которое характеризуется изменением устойчивости мембран эритроцитов к кислотному гемоллизу. Кислотные эритрограммы отражают влияние токсикантов на мембраны эритроцитов, что выражается в их изменении, проявляющиеся уже на ранних сроках воздействия.

Лебедева Е.Н., Красиков С.И., Лейзерман В.Г., Романов С.В.

**ВЛИЯНИЕ АДАПТАЦИИ К  
НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА  
ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС  
И СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА У ЛИЦ С  
ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА**

*ГОУ ВПО «Оренбургская государственная  
медицинская академия Росздрава», г. Оренбург*

На смену традиционным представлениям о жировой ткани как о пассивном энергетическом резерве пришло понимание ее роли как метаболически и гормонально активного органа. Значительный интерес к научным исследованиям по проблеме ожирения предопределило выделение из жировой ткани ряда биологически активных пептидов, названных адипоцитокинами (адипокинами). Наиболее изученным из них является лептин - гормон жировой ткани, открытый в 1994 году, важнейшей функцией которого является контроль энергетического

баланса, пищевое поведение и поддержание постоянной массы тела. Однако, как показывают исследования, при ожирении в большинстве случаев отмечается гиперлептинемия и лептинорезистентность, механизмы развития которых пока еще неясны (Панков Ю.А., 2003). Остаются неизвестными и механизмы действия других адипокинов (в частности, адипонектина) на метаболические процессы в обмене основных энергетических источников – липидов и углеводов.

Особый интерес представляет изучение тех изменений метаболической и гормональной активности жировой ткани, которые могут быть вызваны немедикаментозными методами воздействия, в частности, при адаптации к прерывистой гипоксии.

Целью настоящего исследования было оценить влияние адаптации к периодической нормобарической гипоксии на показатели углеводного и липидного обмена, а также уровень гормонов у лиц с избыточной массой тела.

В исследование были включены пациенты клиники адаптационной терапии Оренбургской государственной медицинской академии, которые прошли курс лечения методом адаптации к прерывистой нормобарической гипоксии в течение 24 дней. Адаптацию проводили в соответствии с методическими рекомендациями (3).

Для определения основных биохимических и гормональных показателей у всех обследованных лиц забирали кровь из локтевой вены в утренние часы натощак (после 12-часового голодания). Содержание общего холестерина (О ХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триацилглицеринов (ТАГ), общего белка, мочевой кислоты в сыворотке крови определяли с помощью автоматического биохимического анализатора COBAS Integra-400 plus (Швейцария – Германия). Содержание холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле Friedwald. Также рассчитывали коэффициент атерогенности по методу Климова А.Н. (1998). Содержание в сыворотке крови инсулина, тестостерона, лептина определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов DRG Diagnostics (США), адипонектина – «Bio Vendor»(Cheshia) на оборудовании фирмы Multiscan MS (Финляндия).

Состояние углеводного обмена оценивалось в соответствии с рекомендациями ВОЗ (1998г). Содержание глюкозы крови определяли глюкозоксидазным методом. Инсулинорезистентность оценивали по косвенным показателям - уровню базальной инсулинемии, индексу Caro, индексу НОМА -IR и индексу QUICKI (4).

Результаты проведенных исследований



показывают, что у лиц с избыточной массой тела (ИзМТ) до проведения курса адаптации отмечается достоверно более высокое содержание лептина и инсулина, и более низкое значение адипонектина, чем у лиц контрольной группы, без существенных различий по уровню тестостерона.

Таким образом, полученные нами данные указывают, что избыточная масса тела сопровождается существенным изменением в гормональном статусе и основных метаболических показателей.

Курс нормобарической гипоксии приводит к достоверному снижению уровня лептина, как у здоровых лиц, так и в группе лиц с ИзМТ. Также наблюдалось снижение инсулинемии в контроле на 16%, а в группе лиц с ИзМТ на 29%. Противоположно изменялся уровень адипонектина, особенно выраженным было его повышение у здоровых лиц (на 43%), несколько ниже – у лиц с ИзМТ (на 10%).

Отмеченная нормализация гормонального спектра сопровождалась соответственными изменениями показателей углеводного и липидного метаболизма. Так, влияние нормобарической гипоксии на метаболические показатели проявилось в снижении уровня глюкозы крови у лиц с ИзМТ и нормализации липидных показателей: в случае их низких значений они возрастали, а при более высоких, соответственно, снижались. Эти изменения, тем не менее, находились в пределах физиологических норм.

Для выявления инсулинорезистентности определялись индекс НОМА (IR, QUICKI) (4).

Полученные данные представлены в таблице.

Показатель	Лица с ИзМТ		Литература
	До курса	После курса	
Снижение индекса QUICKI, а также повышение индекса Саго (1991)	0,75	0,81	1. Липанов И.М. А. Новый гормон – адипонектин. // Вестник АМН, 2006, в. 9-10, с. 99-104
Индекс НОМА – IR (1985)	2,4	1,78	2. Панков Ю.А. Лептин – новый гормон в эндокринологии. // Успехи физиологических наук, 2003, т.34, в. 2, с. 3-20.
QUICKI (2000)	0,58	0,58	3. Прерывистая нормобарическая гипоксическая стимуляция неспецифической резистентности организма в профилактике и снижении инвалидности (методические рекомендации) М., 1997.
Проведение курса нормобарической гипоксии, снижая инсулинемию, обращает в состояние	0,52	0,59	4. Витебская А.В., Васюкова О.В. Диагностика инсулинорезистентности у детей. // Проблемы эндокринологии, 2006, т.52, №6, с.39-41.

инсулинорезистентности, причем эти изменения касаются лиц с ИзМТ, но не всегда сопровождаются резкими изменениями массы тела.

Объяснение полученных результатов – нормализация углеводного и липидного обмена, а также гормонального статуса у лиц с избыточной массой тела может быть связано с явлением синтропии в действии указанных гормонов. В организме действие

гормонов является взаимно зависимым и для проявления действия одного необходимо сохранение молекулярных механизмов проведения сигналов других гормонов, синтропичных первому. Подобный эффект синтропии лептина и инсулина был описан в эксперименте (Ю.А.Панков, 2006). Аналогичные взаимоотношения существуют и в действии инсулина и адипонектина. Чем слабее функционируют молекулярные механизмы проведения гормонального сигнала адипонектина (вызванные дефицитом гормона или его рецепторов), тем в большей степени снижается эффективность действия инсулина на обмен веществ.

Полученные данные указывают, что избыточная масса тела сопровождается весьма существенными изменениями в гормональном статусе и основных метаболических показателей. Снижение при нормобарической гипоксии уровня лептина и увеличение уровня адипонектина могут приводить к нормализации метаболического действия инсулина, т.е. преодолению взаимосвязанной и взаимообусловленной лептино- и инсулинорезистентности.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют рекомендовать адаптацию к нормобарической гипоксии для снижения инсулинорезистентности, которая на фоне избыточной массы тела может усугублять течение многих неинфекционных заболеваний: ИНСД, сердечно-сосудистой, легочной и сахарного диабета.

- Литература
1. Липанов И.М. А. Новый гормон – адипонектин. // Вестник АМН, 2006, в. 9-10, с. 99-104
  2. Панков Ю.А. Лептин – новый гормон в эндокринологии. // Успехи физиологических наук, 2003, т.34, в. 2, с. 3-20.
  3. Прерывистая нормобарическая гипоксическая стимуляция неспецифической резистентности организма в профилактике и снижении инвалидности (методические рекомендации) М., 1997.
  4. Витебская А.В., Васюкова О.В. Диагностика инсулинорезистентности у детей. // Проблемы эндокринологии, 2006, т.52, №6, с.39-41.

Мазина Н.К., Абрамова Т.В., Вохмянина Т.Г.,  
Ефимова М.О., Зуев О.В., Хазанов В.А.

**ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ  
ЭНЕРГОПРОТЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ ЯНТАРНОЙ  
КИСЛОТЫ ПРИ ОФТАЛЬМОПАТОЛОГИИ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров  
Кировская городская офтальмологическая больница,  
Кировская областная клиническая больница,  
ГУ Социального обеспечения Кировский дом-  
интернат для престарелых и инвалидов, г. Киров  
ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск*

Новое направление фармакологии, возникшее на рубеже третьего тысячелетия – биоэнергетическая фармакология, изучает и разрабатывает способы медикаментозной коррекции нарушенных функций органов и систем через влияние на активность клеточных систем энергопродукции – митохондрий (МХ). В настоящее время основными средствами, оптимизирующими (регулирующими) функции МХ органов и тканей, вовлеченных в патологический процесс, являются регуляторы энергетического обмена (РЭО), содержащие субстраты цикла трикарбоновых кислот (янтарную, глутаминовую, яблочную кислоты и их соли), или их композиции с кофакторами биологического окисления (никотинамидом, пиридоксином, рибофлавином), биофлавоноидами.

Системный подход к изучению объемных массивов экспериментальных данных, реализованных в многофакторном анализе, и мета-анализ результатов контролируемых клинических исследований, проведенных в условиях рандомизации с соблюдением критериев включения-исключения, позволил доказать системное действие этих препаратов по типу полиорганной энергопротекции. Множественная (полипотентная) фармакодинамика РЭО (антигипоксическое, антиоксидантное, противоишемическое, антиацидотическое, антиоксическое действие) проявляется в виде повышения резистентности организма при широком спектре патологических состояний (болезнях органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, репродуктивных систем женщин и мужчин, опорно-двигательного аппарата, системы пищеварения, при инфекционных болезнях).

Полноценное функционирование органов зрения является одной из ведущих составляющих качества жизни человека в любом возрасте. В начале третьего тысячелетия приходится констатировать, что образ жизни и поведенческие стереотипы современного технократического общества крайне отрицательно влияют на важнейшую сенсорную функцию. Среди стремительно накапливающихся факторов, неблагоприятных для зрения, - недостаток микроэлементов и витаминов в пище, рост ксенобиотической нагрузки фармацевтического, бытового и промышленного происхождения, широкое распространение теле-, видеоаппаратуры и

компьютеров в быту, в процессе учебы и на производстве, явления депопуляции с преобладанием лиц пожилого возраста. Миопию, катаракту, глаукому, синдром «сухого глаза» относят к болезням цивилизации вследствие роста их распространенности среди населения развитых стран. В основе этих патологических состояний специалисты отчетливо прослеживают нарушения нейро-гуморальной регуляции и трофики, гипоксию и энергодефицит, активизацию свободнорадикальных процессов в важнейших структурах глаза.

Арсенал средств, позволяющих фармакологически влиять на функции органов зрения, весьма ограничен. Позитивные результаты чаще достигаются с помощью немедикаментозных неинвазивных и инвазивных вмешательств, которые могут ограничивать пациента (очки, контактные линзы), либо травматичны, чреваты осложнениями, требуют сложного оборудования и высокой квалификации медперсонала (оперативные вмешательства, протезирование, лазерные технологии).

Исходя из системной фармакодинамики РЭО и учитывая нарушение процессов энергообеспечения тканей глаза при перечисленных «офтальмопатологиях цивилизации», мы предположили, что посредством фармакологической коррекции энергетического обмена можно добиться позитивных сдвигов в функционировании органа зрения.

Для энерготропной фармакологической коррекции функций органа зрения применяли РЭО янтарь-антиокс (ЯА), содержащий янтарную кислоту (ЯК). Препарат зарегистрирован в качестве лекарственного средства (Регистрационный № ЛС-002722) и обладает антиоксидантным, антигипоксическим, антиоксическим действием. Под наблюдением находилось 194 пациента с различными формами офтальмопатологии. Из них - 60 пациентов с миопией в возрасте от 24 до 60 лет, 61 пациент с катарактой и показаниями к имплантации интраокулярных линз в возрасте от 50 до 84 лет, и 73 пациента с нарушениями остроты зрения и проявлениями синдрома «сухого глаза» в возрасте от 55 до 95 лет. Все группы случайным образом были разделены на симметрично гетерогенные по возрасту и полу пары подгрупп, пациенты одной из которых получали РЭО (основная) по 1 таблетке 3 раза в день, в другой (контрольной) – плацебо в том же режиме. РЭО назначали следующими курсами: при катаракте в течение 1,5 месяцев до операции, при синдроме «сухого глаза» по 2 месяца, при миопии – 1 месяц. В качестве критериев эффективности РЭО использовали количественные характеристики специфических для каждой офтальмопатологии показателей, а также частоту осложнений, частоту позитивных сдвигов в группах сравнения. Помимо этого оценивали различия общеклинических показателей, характеризующих состояние сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, общий и биохимический анализ крови и мочи.

После приема ЯА при синдроме «сухого глаза» наблюдались тенденции к повышению остроты зрения и снижению внутриглазного давления (ВГД). В основной группе доля пациентов с оптимальным ВГД-ОД увеличивалась с 62% до 74%, ВГД-ОС – с 58% до 74% ( $\chi^2=12,4$ ;  $p=0,047$ ), тогда как в контроле частотные характеристики этого показателя не менялись. Доля пациентов с усилением выработки слезной жидкости (согласно пробе Ширмера) в обоих глазах на фоне ЯА возрастала на 12%-14% ( $\chi^2=26,9$ ;  $p=0,008$ ), тогда как в контроле – на 6-8%. В основной группе доля пациентов со значениями САД>140 мм рт. ст. уменьшалась с 39% до 15% ( $\chi^2=21,1$ ;  $p=0,01$ ), тогда как в группе контроля составила 36% и 39%. Доля пациентов с ДАД>90 мм рт.ст. под влиянием ЯА снижалась с 16% до 5% ( $\chi^2=10,7$ ;  $p=0,049$ ), а в контрольной группе - с 14% до 12%. Согласно изменчивости параметров общего анализа крови и мочи мы сделали вывод об улучшении реологических свойств крови, усилении иммуногенеза, улучшении О<sub>2</sub>-транспортной функции крови, усилении диуреза, позитивных метаболических сдвигов (выведения оксалатов и фосфатов из организма). Достоверное уменьшение доли пациентов со снижением индекса работы сердца ( $\chi^2=26,3$ ;  $p=0,01$ ) отражало снижение потребности организма в кислороде и повышение устойчивости сердечно-сосудистой системы к физиологической гипоксии под влиянием ЯА.

Изменения совокупности показателей, характеризующих функции сердечно-сосудистой системы, органов зрения, метаболические процессы, свидетельствовали о благотворной направленности действия ЯА на организм пожилых пациентов и уменьшению явлений возрастной офтальмопатологии. Системный характер фармакодинамики ЯА по типу полиорганной энергопротекции обеспечил тенденции к увеличению остроты зрения, снижению внутриглазного давления, оптимизацию выработки слезной жидкости. Благодаря действию ЯА нивелировались зависимые от возраста проявления синдрома «сухого глаза».

При миопии после курса ЯА, в отличие от плацебо, наблюдалась тенденция к повышению остроты зрения (ОЗ) независимо от степени миопии. По данным компьютерной периметрии чувствительность сетчатки на фоне ЯА также повышалась, достигая при миопии 1-й степени нижнего порога нормы. На 2D-развертках у всех пациентов основной группы объективно наблюдали увеличение площади светлых участков, обозначающих зоны сетчатки с максимальной чувствительностью, по сравнению с исходным состоянием. Ограничительная лазеркоагуляция, которая проводится при миопии в случаях сопутствующей периферической хориоретинальной дистрофии, является травмирующим вмешательством, дополнительно снижающим чувствительность сетчатки в зонах воздействия лазерного луча.

Чувствительность этих зон в дальнейшем восстанавливается медленно. Но на фоне приема ЯА после ограничительной лазеркоагуляции наблюдали не только восстановление, но и существенное улучшение чувствительности сетчатки по сравнению с ее состоянием до вмешательства. Протективное действие ЯА при осложненной миопии, вероятно, реализуется несколькими путями: на уровне микроциркуляторного русла в области чувствительных структур глаза вследствие гормоноподобного действия ЯК по сигнальному типу, коррекции функций систем энергопродукции в зонах пониженной фоторецепции на сетчатке, оптимизации процессов регуляции энергетического обмена в центральной и периферической нервной системе.

При экстракции катаракты и имплантации искусственного хрусталика ЯА оказывал позитивное влияние на регенерацию и функциональное состояние эндотелия роговицы. Полуторамесячный прием препарата перед операцией способствовал статистически значимому увеличению плотности эндотелия (ПЭ) на 6,8% ( $p<0,01$ ). В группе контроля достоверных изменений этого показателя до операции не наблюдали.

Оперативное вмешательство и имплантация приводили к существенному снижению ПЭ у пациентов обеих групп. Однако, в основной группе потеря ПЭ по сравнению с исходным уровнем составила в среднем 152 клеток/мм<sup>2</sup> ( $p<0,001$ ), а у пациентов контрольной группы – 189 клеток/мм<sup>2</sup> ( $p<0,001$ ). При отсутствии энергопротекции процесс регенерации в послеоперационный период существенно замедлялся и ПЭ у пациентов контрольной группы приближалась к пороговым значениям. В противоположность этому в послеоперационной группе, получавшей ЯА, ПЭ оказалась на 7,2% ( $p<0,05$ ) выше, чем в контрольной, и относительно мало отличалась от исходного уровня ПЭ, свойственного пациентам в начале клинических наблюдений. Помимо указанных показателей, у сравниваемых групп были обнаружены достоверные отличия еще по ряду позиций. Так, частота избыточного снижения ПЭ (более чем на 9%) в основной группе составила 31%, а в группе контроля – 62% ( $p=0,047$ , по  $\chi^2$ -критерию). Частота осложнений в виде раздражения конъюнктивы, кератопатии и отека роговицы в основной группе была на 41% ниже, чем в контроле, что соответствовало критерию ( $> 25%$ ) клинической значимости эффекта и свидетельствовало об усилении кератопротекторной послеоперационной терапии ЯА.

Таким образом, энергопротектор ЯА, содержащий ЯК, в силу множественной фармакодинамики и полиорганной энергопротекции, реализуемой на уровне МХ, обеспечивает энергетическую поддержку метаболических процессов в разных системах организма, в том числе и в тканях глаза. Это сопровождается повышением остроты

зрения, чувствительности сетчатки, снижением внутриглазного давления, ускорением процессов регенерации в сетчатке после повреждения лазером, существенно снижает потери эндотелиальных клеток роговицы и уменьшает частоту осложнений после экстракции катаракты.

Мазина Н.К., Карпова Е.М., Цапок П.И., Косых А.А.,  
Новичков Е.В., Хоробрых В.Г., Караваев С.А.,  
Караваева А.В., Чигарских А.С., Мазин Н.В.,  
Новоселова О.Г., Хуршкайнен Т.В., Чукичева И.Ю.,  
Кучин А.В., Шешунов И.В.

**СКРИНИНГ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ  
СОЕДИНЕНИЙ ПО СОСТОЯНИЮ  
ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ  
И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ  
ВОРГАНИЗМЕ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров  
ГУ НИИ химии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар*

Прогресс технократического общества в третьем тысячелетии сопровождается глобальным загрязнением окружающей среды и запредельными ксенобиотическими нагрузками на организм человека. На их фоне действие лекарственных средств может непредсказуемо искажаться (снижаться, усиливаться, терять эффективность, сопровождаться нежелательными реакциями со стороны различных органов и систем). Поэтому особую важность приобретают препараты с полипотентным (многофункциональным) типом действия, иррадирующим на разные уровни биологической интеграции организма.

Природные и синтетические биологически активные вещества с полипотентным типом действия и множественной позитивной фармакодинамикой являются актуальными объектами исследований, на которых смыкаются интересы современной биохимии и фармакологии. Хорошо известно, что время на преодоление пути биологически активного вещества от описания физико-химических свойств до лекарственного средства может составить десятилетия. Помимо этого требуются большие организационные и материальные затраты, которые не гарантируют ожидаемого результата и чреватые издержками этического характера.

Известны многочисленные случаи изъятия из фармацевтического оборота лекарств, разработанных для применения по ограниченному списку показаний, однако проявивших в клинике новые неблагоприятные свойства, о которых не было известно на доклиническом этапе разработки препаратов. В связи с этим возникает необходимость быстрой и всесторонней оценки биологических свойств новых веществ на самых ранних этапах исследований. Задача усложняется зависимостью биологического эффекта (благоприятного и неблагоприятного) от дозы вещества, пути его введения и сопутствующих

компонентов (растворителя, наполнителя и др.), от вида биомодели и ее физиологического состояния (нормопатология), от предполагаемого механизма реализации. Очевидно, что окончательное заключение о биологической эффективности новых веществ должно учитывать все перечисленные аспекты и факторы, прежде чем начнется разработка лекарственных форм и их клинические испытания. Таким образом, необходим системный подход к скринингу и описанию характеристик новых фармакологически активных веществ естественного и искусственного происхождения.

Нами разработаны алгоритмы применения системного анализа в виде единого комплекса методов математико-статистического моделирования для оценки биологической активности новых веществ на разных уровнях биологической интеграции организма по показателям тканевой биоэнергетики и состояния свободнорадикальных процессов. При этом мы исходили, из того, что с одной стороны гармоничное согласование аэробной биоэнергетики является основой выполнения гомеостатических функций и поддержания резистентности организма к неблагоприятным воздействиям. С другой - дисфункции митохондрий, гипоксию и энергодефицит, дисрегуляцию и активизацию свободнорадикальных процессов относят к типовым патологическим процессам.

Согласно предлагаемому подходу в синхронных экспериментах каждый объект группы сравнения описывается по множеству показателей. Оцениваются параметры активности митохондрий разных тканей и клеток, показатели прооксидантной и антиоксидантной системы, параметры функциональной активности гомеостатических систем *in vivo* при тестирующих воздействиях, моделирующих патологический процесс.

Теоретической основой для содержательной интерпретации данных явились принципы группировки массивов данных, методы планирования эксперимента и многофакторного анализа, основанного на редукции матриц множественных корреляций и ковариаций разнородных и разнонаправленных признаков, характеризующих процесс взаимодействия нового вещества с организмом биомодели. В качестве критериев адекватности оценки мы используем ряд приемов:

- сопоставление устойчивости моделей при факторном анализе реальных массивов данных, и массивов, сформированных с помощью генератора случайных чисел;
- метод главных компонент с выделением минимального количества латентных переменных, поглощающих более 70% дисперсии массива;
- факторизацию массивов данных с перебором наиболее информативных показателей, оказывающих наибольшие факторные нагрузки (свыше 0,5) на латентные переменные;
- представление объектов исследования в

координатах наиболее информативных главных компонент.

Содержательная интерпретация результатов по оценке биологической эффективности, а также безопасности новых веществ исходит из принципа максимального подобия (или дифференциации) групп объектов, описанных по совокупности исследованных признаков при условии соблюдения критериев адекватности математико-статистической модели.

Меньшикова И.А., Щепанский В.О.,  
Рамазанова Л.М.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИАКАЛЬЦИКА  
ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО  
МОДЕЛИРОВАННОГО  
ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА**

ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
медицинский университет Росздрава» г. Уфа

Эстрогены играют важную роль в формировании скелета растущего организма и в предотвращении потерь костной массы. Они важны для развития полового диморфизма скелета, набора пика костной массы, поддержания минерального гомеостаза в течение репродуктивного периода [7].

Эстрогены могут оказывать действие на предшественников остеобластов, увеличивая пролиферацию и дифференциацию остеобластов. Эстрогеновые рецепторы обнаружены также на изолированных остеокластах; показано, что эстрогены замедляют резорбтивную активность этих клеток. Влияние эстрогенов на остеокласты ведет к уменьшению костной резорбции на трабекулярных поверхностях губчатой кости и эндокортикальных поверхностях кортикальной кости [7].

Дефицит эстрогенов в период менопаузы является решающим фактором в развитии остеопороза. Гипоэстрогения ведет к уменьшению продукции кальцитонина, что, в свою очередь, усиливает костную резорбцию. Другой не прямой механизм развития остеопении связывают с изменением продукции кальцитриола – 1,25 (ОН)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> – самого активного метаболита витамина D, что отражается на активности 1α гидроксилазы в почках: снижается синтез кальцитриола и уменьшается всасывание кальция в кишечнике. При дефиците эстрогенов костная ткань

становится более чувствительной к рассасывающему действию паратгормона, активируется синтетическая активность макрофагов (ИЛ-1, -6, -11; ФНОα и β), которые могут быть предшественниками остеокластов [4].

В течение последних лет проведено значительное число исследований, посвященных терапии остеопороза. Лечение подавляющим большинством антиостеопоретических препаратов приводит к увеличению минеральной плотности костной ткани различных участков скелета. Однако поскольку основная цель лечения остеопороза – снижение частоты остеопоретических переломов, то адекватными являются исследования, в которых оценивалось снижение частоты переломов костей. [1, 3, 5].

Кальцитонин является полипептидным гормоном, который секретируется парафолликулярными С-клетками щитовидной железы и обладают способностью снижать уровень кальция сыворотки крови путем угнетения костной резорбции и канальцевой реабсорбции кальция. В настоящее время одним из распространенных препаратов для лечения заболеваний костной ткани является миакальцик – кальцитонин лосося. Миакальцик взаимодействует со специфическими рецепторами на остеокластах, что приводит к уменьшению их активности. Огромным достоинством миакальцика, которое выделяет его в ряду других препаратов для лечения остеопороза, является его анальгезирующее действие [8].

**Цель работы:** изучить в эксперименте на крысах-самках метаболизм костной ткани в условиях гипоэстрогении и на фоне коррекции метаболических изменений миакальциком.

**Материалы и методы.** В эксперименте на животных отработана модель остеопороза при «гипоэстрогении». Опыт по воспроизведению модели постменопаузального остеопороза был проведен на 100 беспородных крысах массой 210-265г путем двусторонней овариоэктомии. Были сформированы 3 группы с различными сроками наблюдения: 1, 2 и 3 месяца. Первая группа – интактные, вторая – контрольная (крысы после овариоэктомии), третья – опытная.

Крысы опытной группы получили внутримышечно миакальцик в дозе 1ЕД/100г три раза в неделю, что соответствует терапевтической дозе препарата у людей [2], в сочетании с солями кальция.

**Влияние терапии миакальциком на содержание оксипролина и ГАГ  
в костной ткани у овариоэктомированных крыс, (M ± m)**

	ГРУППА ЖИВОТНЫХ						
	ИНТАК-ТНЫЕ	1 МЕСЯЦ		2 МЕСЯЦА		3 МЕСЯЦА	
		КОНТР.	ОПЫТ	КОНТР.	ОПЫТ	КОНТР.	ОПЫТ
СО, Мкмоль/100г	63±4,1	44,3±1,6*	51,1±1,93*	63,1±2,93	65,2±4,3	100,2±8,1*	78,17,2*
БСО, Мкмоль/100г	391±20,0	411±25,1	530±35*	336±18,1*	387±17,1	408±35,1	430±51,2
ГАГ, Мкмоль/г	1698±352,8	1352,8±189	569,3±213,6*	930,4±235,8	2044±380,36	1341,61±183,1	1772,57±267,22

\*) P<0,05

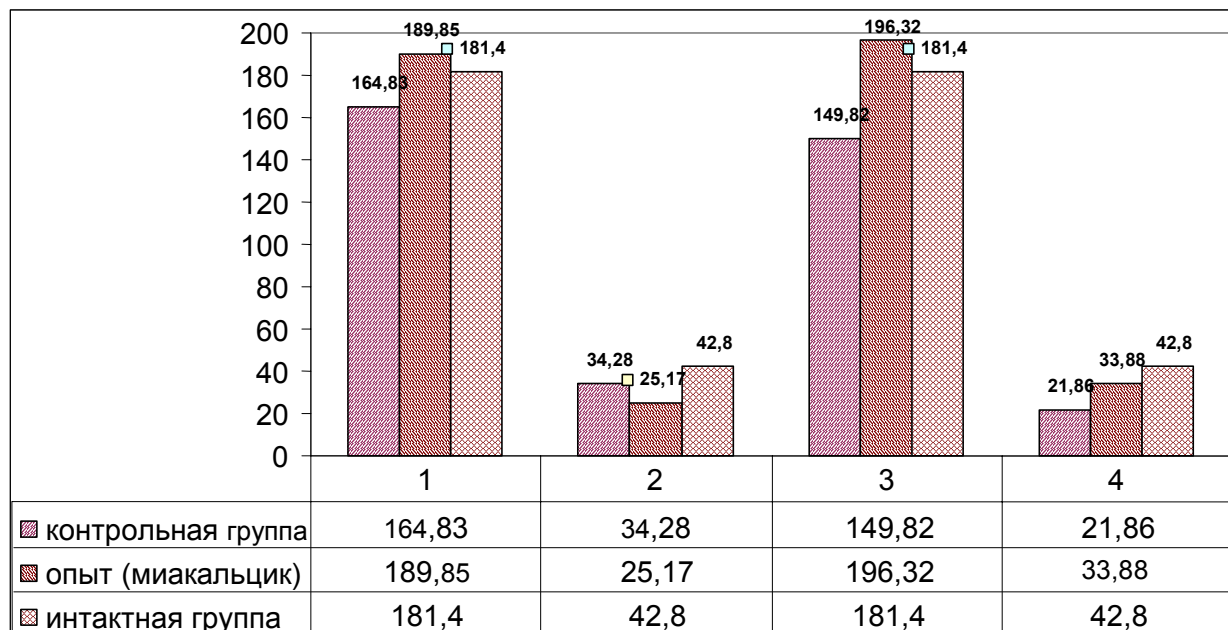


Рис. 1. Прочность (мегаПа) трубчатых костей у овариоэктомированных крыс при лечении миакальциком (1,3 испытание на изгиб через 2 и 3 месяца; 2,4 испытание на сдвиг через 2 и 3 месяца).

Для наблюдения за изменением костного метаболизма при гипострогении в сроки 1, 2, 3 месяца после операции использовались следующие методы: в образцах костной ткани (эпифиз трубчатых костей) определяли содержание свободного (СО) и белковосвязанного (БСО) оксипролина, как показателя метаболизма основного белка соединительной ткани коллагена, также была исследована костная ткань на содержание гликозаминогликанов(ГАГ) [6]; в образцах костной ткани после деминерализации проводили гистологическое изучение биоптатов при окрашивании гематоксилином – эозином и по Ван Гизону; с помощью динамометрических машин оценивали механическую прочность трубчатой кости.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что у крыс после овариоэктомии наблюдается повышение концентрации СО в контрольной группе (таблица 1). Содержание оксипролина, связанного с белками при этом не претерпевает существенных изменений даже к третьему месяцу после операции. В группе крыс, получавших миакальцик, начиная со второго месяца наблюдения уровень СО соответствует контрольным величинам.

Увеличение уровня оксипролина и ГАГов в гомогенатах костной ткани крыс после овариоэктомии свидетельствует об интенсификации обмена коллагена, что наблюдается при деструкции соединительной ткани.

Гистологическое исследование биоптатов костной ткани крыс после овариоэктомии, показывает, что уже через месяц после операции появляются признаки остеопороза. В большей степени они выражены в диафизе кости и в меньшей – в эпифизе. На третий месяц наблюдения деструкция и резорбция костей

усиливаются, что приводит к полному разрушению кости. На фоне терапии миакальциком наблюдается ремоделирование и регенерация костной ткани, в основном, по хондрогенному типу.

Доказательство эффективности применения миакальцика на состояние костной ткани у крыс после овариоэктомии получили при исследовании прочности трубчатых костей с помощью динамометрических машин (рисунок 1).

Использование миакальцика приводит к сохранению прочности костной ткани как при испытании кости на изгиб, так и на сдвиг через 2 месяца после операции.

**Заключение.** Овариоэктомия у крыс на 2-3 месяца приводит к развитию остеопороза, что подтверждается гистологической картиной и увеличением СО и ГАГов. Использование миакальцика в терапии остеопороза, у овариоэктомированных животных ингибирует интенсивность резорбтивных процессов, способствует сохранению структуры и механической прочности костной ткани.

**Литература**

1. Беневоленская Л.И. Миакальцик (кальцитонин лосося) для интраназального введения в лечении и профилактике остеопороза. Остеопороз и остеопатии, 1999.-№2.-9-17с..
2. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма.-Челябинск, 2000.-167с.
3. Рожинская Л.Я., Марова Е.И., Мищенко Б.Л. и др. Лечение тяжелой формы постменопаузального остеопороза кальцитонином: применение интраназального миакальцика в интермиттирующем режиме. Остеопороз и остеопатии, 1999.-№3.-23-27с.;

4. Сметник В.П., Наумов А.В. Постменопаузальный Остеопороз. Неотложная терапия.-№1-2.-2004.-3010с.

5. Спиртус Т.В., Бакулин А.В., Беневоленская Л.И. Клиническое исследование препарата миакальцик. Тез. докл. 1-го Росс. Симп. по остеопорозу.- Москва, 1995.-117-118с.

6. Шараев П.Н., Иванов В.Г., Рябов В.И. и др. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани. Информационное письмо.- Ижевск, 1989.-15с.

7. Raish G.- Triangle- 1988.-Vol.27(1/2).-p.5-10.; 8. Silverman S., Azria M., 2002.

Меньшикова И.А., Рамазанова Л.М., Бикметова Э.Р., Щепанский В.О., Нуретдинова Э.У.

### **ВЛИЯНИЕ БИВАЛОСА НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

*ГОУ ВПО «Башгосмедуниверситет Росздрава», г.Уфа*

Наиболее активное влияние на процессы костного ремоделирования, наряду с кальциемическими гормонами, оказывают половые гормоны. Помимо основного действия, связанного с развитием и функционированием женской репродуктивной системы, эстрогены непосредственно или опосредовано участвуют в формировании скелета, окостенении эпифизов длинных трубчатых костей в пубертатном возрасте, регуляции костного метаболизма. Наличие рецепторов к эстрогенам установлено во всех клеточных элементах костной ткани [5]. На тканевом уровне эстрогены тормозят резорбцию, на органном они поддерживают баланс процессов костного ремоделирования и массу кости у женщин. Ингибирование резорбции костной ткани осуществляется различными механизмами: подавлением эффекта паратиреоидного гормона, задержкой формирования остеокластоподобных клеток из гемопоэтических бластных клеток; регуляцией секреции остеокластами гидролитических энзимов (катепсинов L и B,  $\beta$  – глюкуронидазы, лизоцима, щелочной фосфатазы); ингибированием синтеза остеобластами ИЛ -1, -6, ФНО -  $\alpha$ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и стимуляцией ими продукции трансформирующего фактора роста – бета, инсулиноподобного фактора роста – 1, оксида азота; индуцированием экспрессии и - РНК остеокальцина; увеличением количества, размеров остеокластов, выработки ими фактора, ингибирующего резорбтивную активность остеокластов; стимуляцией разрушения остеокластов [4, 7, 8]. Прогестерон также оказывает действие на кость, стимулируя пролиферацию остеобластов, активируя в них синтез ростовых факторов (инсулиноподобный фактор роста – 2, трансформирующий фактор роста – бета и др.), остеокальцина и др., а также контролируя формирование в клетках костной ткани рецепторов к

эстрогенам и другим регуляторным молекулам [2]. Однако дефицит эстрогенов у женщин в период менопаузы является ведущим фактором развития остеопороза. Постменопаузальный остеопороз является наиболее распространенной формой и составляет более 80% всех видов остеопороза.

Лечение и профилактика постменопаузального остеопороза направлены на нормализацию костного ремоделирования, прекращение потери костной массы и представляется довольно сложной задачей. Прием препаратов кальция и витамина Д является обязательным компонентом любой терапевтической схемы лечения остеопороза. Достаточно широко используется при лечении постменопаузального остеопороза гормонозаместительная терапия, которая все же имеет целый ряд противопоказаний и побочных эффектов [2], ограничивающих ее возможности. Среди препаратов нового поколения, стимулирующих костеобразование и подавляющих резорбцию костной ткани обращает внимание строция реналат (Бивалос). Препарат считается эффективным средством первого ряда для лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом.

**Целью** работы явилось изучение влияния бивалоса на метаболизм органического матрикса костной ткани при экспериментальном постменопаузальном остеопорозе.

**Материал и методы.** Исследования проведены на 90 крысах – самках массой 210-265г. У части животных (60 самок) вызвали постменопаузальный остеопороз путем двусторонней овариэктомии. Оперированные самки крыс были разделены на 2 группы: опытную и контрольную. Крысы опытной группы получили внутривенно бивалос в дозе 17 мг/100 г, что соответствует терапевтической дозе препарата у людей [1]. Животные обеих групп, а так же интактные крысы забивались на 1, 2 и 3 месяца после операции. В образцах костной ткани (эпифизы трубчатых костей) определяли содержание свободного (СО) и белковосвязанного оксипролина (БСО), как показателя метаболизма основного белка соединительной ткани коллагена и гликозаминогликанов [3]. Кроме того оценивали с помощью динамометрической машины прочность трубчатых костей. Образцы костной ткани после деминерализации подвергали гистологическому исследованию при окрашивании гематоксимом-эозином и по Ван Гизону.

**Результаты и обсуждение.** Овариэктомия приводит у животных к увеличению в костной ткани уровня свободного оксипролина, статистически значимому к 3-му месяцу наблюдения (таблица 1). Содержание оксипролина, связанного с белками костного матрикса при этом не претерпевает существенных изменений даже к третьему месяцу после овариэктомии. У оперированных самок при этом в кости снижается содержание гликозаминогликанов, что также характеризует превалирование резорбтивных процессов.

Таблица 1

**Влияние терапии бивалосом на содержание оксипролина и гликозаминогликанов (ГАГ) в костной ткани у овариоэктомированных крыс (M±m)**

Показатели	Интактные крысы, n=15	Группы животных					
		1 месяц		2 месяца		3 месяца	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
СО, мкмоль/100г	57,4±2,40	44,4±1,63	51,2±1,40	60,0±2,95	67,4±3,60	100,2±8,31*	81,7±1,60**
БСО, мкмоль/100г	398±20,0	411±25,8	399±32,0	336±18,0*	465±37,0***	408±35,0	520±48,0***
ГАГ, мкмоль/г	1618±171	1353±109*	834±167***	1123±136*	2385±347***	1342±183	961±133*

\*) - P<0,05 с контролем, \*\*) - P<0,05 между контрольной и опытной группами.

Лечение животных, подвергнутых овариоэктомию, бивалосом приводит к определенным изменениям метаболизма костной ткани. Обращает внимание, что у подопытных крыс в костях через 3 месяца снижается уровень свободного оксипролина, повышается содержание БСО (P<0,02). Эти результаты свидетельствуют о подавлении резорбции коллагена в губчатой ткани кости. Регенеративные процессы в костной ткани, протекающие по типу хондрогенной регенерации вероятно имеют волнообразный характер. Так, через 1 месяц после оперативного удаления яичников концентрация ГАГ у подопытных животных существенно снижается как по сравнению с интактной группой крыс, так и контрольной группой, не получавших после операции препарат. На 2-й месяц наблюдения содержание глюкуроанов в кости повышался, и к концу третьего месяца вновь падает.

Гистологическое изучение характера изменений костного матрикса выявило, что у овариоэктомированных животных развивается активный остеолит, который к 2-3-му месяцу после овариоэктомию приводит к развитию остеопороза. В костной ткани обнаруживается большое количество центров резорбции с образованием полостей или лакун в центральных (гаверсовых) каналах. Морфологические признаки остеопороза и животных контрольной группы появляются уже через 1 месяц после оперативного удаления яичников: лизис остеоидного вещества с расслаиванием костных пластинок и образованием щелей различной величины, количество которых увеличивается к 2-му месяцу наблюдения с нарушением четкости архитектоники костной ткани. Через 3 месяца после овариоэктомию кость становится выражено пористой и похожей на губчатое вещество.

Трабекулы костного вещества окрашиваются неравномерно, в них вкраплены участки с явлениями некроза, располагающиеся по краям и центру трабекулы и имеющие разную форму и величину. Наблюдается истончение и разрывы трабекул.

При лечении оперированных крыс бивалосом наблюдается существенное торможение и снижение описанной картины катаболизма костной ткани. Выявляются участки активной перестройки и регенерации, осуществляемому, в основном, по хондрогенному типу.

На эффективность применения реналати стронция на состояние костной ткани у овариоэктомированных самок указывают и данные, полученные при исследовании прочности трубчатых костей с помощью динамометрической машины (таблица 2).

Использование бивалоса приводит к сохранению прочности костной ткани как при испытании кости на изгиб, так и на сдвиг через 2 месяца после операции, а на изгиб и через 3 месяца после оперативной менопаузы.

**Заклучение.** Овариоэктомию у самок крыс ко 2-3 месяцу приводит к развитию остеопороза с активацией резорбтивных процессов в костной ткани, что подтверждается увеличением свободного оксипролина и снижением уровня гликозаминогликанов при относительно стабильной концентрации коллагена.

Использование бивалоса в терапии остеопороза у овариоэктомированных животных ингибирует интенсивность резорбтивных процессов, способствуя сохранению структуры и механической прочности костной ткани, снижая катаболизм основного белка костного матрикса – коллагена.



**Литература**

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000. – 167с.
2. Сметник В.П. /Руководство по климактерии. По ред. В.П. Сметника, В.И. Кулакова. – М., 2001. – 506с.
3. Шараев П.Н., Иванов В.Г., Рябов В.И. и др. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани: Информ. письмо. – Ижевск, 1989. – 15с.
4. Cosman F., Shen V., Xie F. et al. /Ann. Intern. Med. – 1993. – v. 118. – p. 337-343.
5. Komn B.S., Terpening C.M., Benz D.J. et al. /Science. – 1988. – v. 241. – p. 81-84
6. Meunier P.J., Roux C., Seeman E. et al. /N. Engl. J. Med. – 2004. – v. 350. – p. 459-468.
7. Judd J., Kremer M., Oursler M. /Calcif. Tissue Int. – 1995. – v. 56, suppl. 1. – S. 25-26.
8. Slater M., Patava J., Kingham K. et al. /Am. J. Physiol. – 1994. – v. 267, № 6. – E 990-E 1001.

Мирсаева А.Р.

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа*

Высокая частота псориаза, неуклонный рост заболеваемости, особенно тяжелых его форм, существенное снижение качества жизни у большинства больных, развитие у них психологических и социальных проблем – все это придает вопросам изучения участия разнообразных системных нарушений и терапии данного дерматоза большую актуальность (М.М.Хобейш, 2005). В литературе достаточно много сведений по изучению различных сторон патогенеза псориаза. Тем не менее, многие аспекты, касающиеся механизмов его возникновения, остаются неясными. Устойчивый характер дерматоза, по мнению Л.В.Силиной (1992), разнообразные нарушения функций (обменных, вегетативных, нервно-психических и др.) в патогенезе псориаза косвенно указывают на существование патологической системы, объединяющей ряд компонентов внутренней среды (эндокринной, сосудистой, коагулирующей и др.). Микроциркуляторные изменения в коже больных, обусловленные активацией коагуляционных процессов и обменно-дегенеративными нарушениями стенки сосудов, по данным Р.М.Загретдиновой и соавт. (1992) возникают задолго до клинических симптомов заболевания и являются одним из ведущих факторов в патогенезе псориаза. Однако, исследований по изучению состояния системы гемостаза при псориазической болезни не многочисленны, а имеющиеся данные носят противоречивый характер и не позволяют прийти к однозначным выводам.

Учитывая выше изложенное, целью нашего

исследования явилось изучение состояния системы гемостаза у больных псориазом.

Материалы и методы исследования. Показатели системы гемостаза определяли двух-кратно: при поступлении пациентов на стационарное лечение в стадии обострения заболевания и по окончании курса лечения. Обследованы 67 больных (43 мужчин, 24 женщин) с разными формами псориаза. Возраст больных колебался от 18 до 49 лет. Длительностью заболевания до 5 лет обследовано 26 пациентов, более 5 лет – 41, по площади поражения до 2% - 13, до 10% - 25, более 10% - 29 больных. У 44 обследуемых выявлялась прогрессирующая стадия псориаза, а у 23 – стационарная стадия, при этом артропатическая форма заболевания была у 20 пациентов, псориазическая эритродермия – у 22, пустулезная форма – у 25 пациентов. У 48 больных были жалобы на наличие зуда разной степени интенсивности в очагах поражения. Возникновение псориаза связывали с простудными или инфекционными заболеваниями 3 пациента, со стрессами – 24, остальные причину указать не могли, однако 31 из них сообщили о наличии дерматоза у ближайших родственников. Частота рецидива у 35 человек – 1 раз и более ежегодно, у 25 – 1-2 раза в 2-3 года, у 5 пациентов – 1-2 раза в 5 лет, у 2 – 1-2 раза в 10 лет. При этом рецидивы болезни появлялись под воздействием стрессовых факторов на работе или дома. Обследованные не имели сопутствующих заболеваний.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц сопоставимых по возрасту и полу с основной группой.

Для выявления нарушений внутрисосудистого свертывания крови мы выбрали относительно простые, доступные и быстровыполнимые методы исследования.

Для оценки состояния сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза использовали следующие показатели: количество тромбоцитов определялось анализатором “Cobas micros” (Франция), спонтанная агрегация тромбоцитов, АДФ-индуцированная агрегация и коллаген-индуцированная агрегация – на лазерном агрегометре «Биола» (г.Москва), фактор Виллебранда – набором фирмы “Dade Behring, Германия”, ретракция кровяного сгустка методом М.А.Котовщиковой и Б.И.Кузника (1962) в модификации Е.П.Иванова. Исследование коагуляционного гемостаза заключалось в определении растворимых фибрин-мономерных комплексов по В.А.Елькомову, А.П.Момоту (1987), протромбинового индекса по методу Кудряшева Б.А. (1987), концентрации фибриногена по методу А. Clauss (1957) в модификации L.Thomas. Н.Тробиш (1992), тромбинового времени по R.M.Biggs, R.G.Macfarlane (1962). Состояние системы фибринолиза исследовали путем определения фибринолитической активности крови по методу М.А.Котовщиковой и Б.И.Кузника (1962) в модификации Е.П.Иванова (1983).

Результаты лабораторных исследований обработаны методом вариационной статистики. Достоверность полученных различий оценивали по критерию Стьюдента.

Изучение состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза (табл.1) показало существенное снижение количества тромбоцитов в периферической крови у больных псориазом ( $220,1 \pm 1,5$ ; в контрольной группе  $236,0 \pm 7,5$ ;  $p < 0,01$ ). Снижение количества кровяных пластинок отражалось на состоянии их агрегативной реакции. Так, агрегация тромбоцитов в плазме крови под воздействием АДФ и коллаген-индуцированная агрегация были замедлены по сравнению с контролем и составили соответственно  $19,9 \pm 6,9\%$  и  $20,4 \pm 5,6\%$  против  $60 \pm 12,3\%$  ( $p < 0,001$ ) у здоровых. Замедление АДФ-, коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных, по-видимому, было связано с тромбоцитопенией и низким содержанием в кровяных пластинках собственного АДФ в связи со скоплением тромбоцитарных агрегатов в мелких капиллярах непосредственно у мест повреждения сосудистой стенки. В то же время спонтанная агрегация тромбоцитов превышала контрольные значения в 3-5 раза ( $7,8 \pm 4,2\%$  против  $1,5 \pm 0,5\%$  у здоровых,  $p < 0,001$ ), а фактор Виллебранда – в 1,6-1,7 раза ( $143,6 \pm 12,4\%$  против  $85,2 \pm 2,0\%$  в контрольной группе,  $p < 0,001$ ). Определение ретракции кровяного сгустка выявило изменения в виде ее недостаточности ( $33,0 \pm 1,2\%$ ;  $p < 0,05$ ), что, возможно, связано также с тромбоцитопенией.

Таким образом, исследование параметров первичного гемостаза у больных псориазом показало отклонения тромбоцитарной агрегации, обеспечивающей состояние микроциркуляторного гемостаза. При этом сдвиги агрегационной активности тромбоцитов соответствуют их гипо- и гиперфункции, отражающей более глубокие нарушения функционального состояния тромбоцитов. Гистологически подтверждено, что патоморфологической основой псориаза является патология сосудов дермы. В связи с чем маркером повреждения сосудистой стенки, в особенности ее эндотелия, а следовательно, и маркером тромбогенности, как считают и другие исследователи, может служить повышение содержания в плазме фактора Виллебранда.

Изучение свертывающей системы крови выявило признаки повышенной коагулирующей активности крови, свидетельством которого явились повышение концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов в 1,5-2 раза в сравнении с контрольной группой, увеличение уровня фибриногена до  $4,4 \pm 1,4\%$  (при контроле  $2,8 \pm 1,1\%$ ), протромбинового индекса до  $96,8 \pm 3,8\%$  ( в контроле  $86,55,3\%$ ) и уменьшение тромбинового времени в 1,5 раза.

Состояния гиперкоагуляции крови у обследованных нами больных сопровождалось нарушением функции противосвертывающей системы: угнетением фибринолитической активности крови ( $p < 0,001$ ).

Таблица 1  
Показатели системы гемостаза у больных псориазом

Показатели	Здоровые	1-ые сутки лечения	При выписке из стационара
Количество тромбоцитов *10 <sup>9</sup> /л	236,0±7,5	220,1±1,5***	221,4±0,9*
Спонтанная агрегация тромбоцитов, %	1,5±0,5	7,8±1,2**	6,4±0,9**
АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов, %	58,3±4,58	19,9±6,9*	28,8±3,2*
Коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов, %	60,0±12,3	20,4±5,6**	31,7±1,2***
Фактор Виллебранда, %	85,2±2,0	143,6±12,4**	114,0±11,2***
Ретракция кровяного сгустка, %	52,5±5,3	33,0±1,2*	40,2±2,2***
РФМК *10 <sup>-2</sup> г/л	3,7±0,5	7,4±1,1**	4,8±1,1
Протромбиновый индекс, %	86,5±5,3	116±2,4*	112±2,8*
Фибриноген, г/л	2,8±1,1	6,5±1,1***	5,5±0,9***
Тромбиновое время, сек.	13,2±1,5	8,8±0,9**	9,1±1,1***
Фибринолитическая активность, %	15,0±2,4	9,1±1,0***	10,1±0,7***

Примечание: достоверность различий в сравнении со здоровыми - \*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,05$ .

Таким образом, у всех пациентов в стадии обострения заболевания обнаружены однотипные изменения, характеризующиеся выраженной гиперкоагуляцией повышением уровней фибриногена, растворимых фибрин-мономерных комплексов, протромбинового индекса, уменьшением тромбинового времени и угнетением фибринолитической активности. Все это свидетельствует о развитии хронической формы диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Нарушения в системе внутрисосудистого свертывания крови выявляются только лабораторно и могут иметь патогенетическое значение в возникновении псориаза. При этом выявленные закономерности нарушения параметров гемостаза сохранялись на всем протяжении стационарного лечения: проводимая стандартная терапия не приводила к нормализации показателей, различия оставались достоверными по сравнению со здоровыми ( $p < 0,05$ ). Исходя из выше изложенного, необходимо отметить, что наряду с общеклиническим обследованием больных псориазом, необходимо изучение показателей свертывающей системы крови и коррекция выявленных нарушений.

#### Литература

1. Загретдинова Р.М., Шинский Г.Э., Филимонов М.А. и др. // Вест. дерматол. и венерол. – 1992. - №11-12. – С.43-47.
2. Силина Л.В., Завьялова А.В., Жигулин В.А. О роли системных нарушений функций разных модальностей и патогенезе псориаза. Сообщение 1 // Вест. дермат. и венерол. – 1992. - №9. – С.4-7.
3. Хобейш М.М. Лечение псориаза: преимущества современной наружной терапии // Санкт - Петербургские дерматологические чтения: Избранные доклады по проблеме псориаза. – 2005. – С.6-9.

Никоноров А.А., Гирина Л.В.  
**К ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ХИМИЧЕСКОЙ  
 МОДИФИКАЦИИ АПОПРОТЕИНОВ КРОВИ  
 У ЛИЦ С ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИЯМИ  
 АДАПТАЦИЕЙ К ДЕЙСТВИЮ ПГГ**

ГОУ ВПО «Оренбургская государственная  
 медицинская академия Росздрава», г.Оренбург

Дислипидемии, связанные с нарушением транспорта холестерина в плазме крови, являются одним из ведущих факторов развития атеросклероза [А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева, 1995; В.З. Ланкин, М.О. Лисина и др., 2005]. Общеизвестно, что интенсификация образования активных форм кислорода (АФК) и активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в составе липопротеидных частиц наблюдаются при различных видах сердечно-сосудистой патологии [Ю.А. Владимиров, 1997; В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, 2004]. В тоже время недостаточно данных о наличии в условиях оксидативного стресса

(ОК) свободнорадикальной модификации белковых компонентов липопротеидов (ЛП). Считается, что в состоянии ОС атаке АФК подвергаются в первую очередь не липиды, а белки, что приводит к изменению их конформации, и нарушению белок-липидных отношений, ведущих к формированию модифицированных липопротеидов (МЛП) [Титов В.Н., 1999; Е.Е. Дубинина, 1995; 2002]. Модификация ЛП происходит не только путем перекисного окисления, но и путем изменения числа связанных с апопротеинами сиаловых кислот. Вместе с тем, данных о взаимосвязи степени химической модификации апопротеинов липопротеидных частиц крови с выраженностью атерогенных дислипидемий явно недостаточно. Отсутствуют сведения о путях влияния на химическую модификацию апопротеинов липопротеидных частиц крови. Не изучено воздействие влияния периодической гипобарической гипоксии на количественные и качественные характеристики апопротеинов различных классов липопротеидов крови.

В связи с этим изучение влияния периодической гипобарической гипоксии (ПГГ), прекрасно зарекомендовавшей себя в лечении и профилактике целого ряда неинфекционных заболеваний, в том числе и атерогенного генеза (В.П. Твердохлиб, Б.А. Фролов, 1989; А.Н. Тиньков, 1995), на выраженность химической модификации апопротеинов крови при атерогенных дислипидемиях является актуальным.

#### Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 45 мужчин 40-45 лет. Опытную группу составили 32 человека, у которых в ходе предварительных исследований были выявлены атерогенные дислипидемии. Контрольную группу составили 10 человек без нарушения липидного обмена. Забор венозной крови с ЭДТА (1мг/мл) для проведения биохимических исследований осуществлялся в утренние часы, натощак. Все исследования проводили до и после курса ПГГ.

Уровень апопротеинов AI и B, CIII, E (апоAI, апоB, апоCIII, апоE) определен иммуно-турбидиметрическим методом по реакции преципитации со специфической антисывороткой на биохимическом анализаторе «COBAS Integra» 400 plus (Швейцария – Германия).

Фракционное разделение липопротеидов осуществляли с помощью реакции преципитации по классической технологии, в модификации И.А. Волчегорского (2000).

Химическую модификацию липопротеидов оценивали по следующим показателям: в супернатанте, содержащем ЛВП и осадке, содержащем апоB-липопротеиды (ЛОНП и ЛНП) определяли уровень альдегидфенилидразонов (АФГ) и кетондинитрофенилидразонов (КФГ). Содержание продуктов окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности на 1мг белка. Степень окисления апопротеинов в составе ЛП оценивали по содержанию –SH-групп. Число

сульфгидрильных групп определяли с помощью реактива Элмана по реакции тиол-дисульфидного обмена в щелочной среде колориметрическим методом. Расчет концентраций –SH-групп рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции, равный  $14000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  при длине волны 412 нм.

О степени десиалирования аполипопротеинов судили по содержанию сиаловых кислот в подфракциях ЛП. Уровень сиаловых кислот определяли с помощью диагностического набора («Сиалотест», Россия). Содержание белка в ЛП определяли по методу Лоури.

#### Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования были установлены изменения в апопротеиновом спектре у лиц с дислипопротеидемиями (табл. 1), проявляющиеся 25% повышением уровня апоВ и 10% снижением апо АІ. При этом индекс атерогенности апоВ/апоАІ у лиц с атерогенными дислипидемиями превышал уровень контроля на 34,5%. Курс гипокситерапии сопровождался повышением апоАІ как в контрольной, так и в опытной группе. Важно отметить, что уровень апоВ в опытной группе, в отличие от контрольной, понизился на 7%, что привело к уменьшению индекса апоВ/апоАІ на 15%, и, следовательно, снижению вероятности атерогенеза

Отмеченный более высокий уровень апоЕ и апоСІІІ в опытной группе по сравнению с контролем,

по-видимому, свидетельствует о возникновении компенсаторного механизма, связанного со снижением функциональной активности апопротеинов ЛП и, следовательно, нарушением процесса метаболизма липопротеидных частиц при данном виде патологии. Подтверждением этого положения служит дальнейшее увеличение этих апопротеинов как в опытной, так и в контрольной группе после курса ПГГ, по-видимому, в результате известной постадаптационной активации центральных и периферических стресс-лимитирующих систем. Итогом постадаптационной активации биосинтеза апопротеинов, по-видимому, стало более эффективная элиминация модифицированных ЛП из кровотока и, как следствие, снижению атерогенной ситуации.

Данные по влиянию ПГГ на интенсивность химической модификации белковых компонентов ЛП частиц представлены в таблице 2.

Показано, что у лиц опытной группы наблюдалось 1,5-кратное повышение АФГ во всех подфракциях ЛП частиц, которые являются ранними маркерами окислительной деструкции белков, что, несомненно, свидетельствует об активации свободно-радикальных процессов на фоне развития атерогенных дислипидемий. Подтверждением окислительной деструкции апопротеинов ЛВП и апоВ-содержащих ЛП служит и повышенное содержание кетондинитрофенилгидразонов (КФГ). Так уровень КФГ опытной группы в составе всех классов ЛП был практически в 2

Таблица 1

#### Показатели апопротеинового спектра сыворотки крови у обследованных лиц до и после курса ПГГ

Показатели	Опытная группа (n=44)		Контрольная группа (n=12)	
	До курса	После	До курса	После
апо АІ, г/л	1,52 ± 0,04	1,60 ± 0,03	1,67 ± 0,1	1,65 ± 0,05
апо В, г/л	1,23 ± 0,03	1,15 ± 0,03 *	0,92 ± 0,06	0,92 ± 0,02
апо В / апо АІ, у.е.	0,84 ± 0,03	0,73 ± 0,02 *	0,55 ± 0,02	0,56 ± 0,01
апо С-ІІІ, мг/дл	9,01 ± 0,17	10,04 ± 0,16 *	7,79 ± 0,67	8,99 ± 0,55
апо Е, мг/дл	3,40 ± 0,15	4,36 ± 0,08 *	2,20 ± 0,26	3,05 ± 0,24

\* - достоверность отличия от контроля (p<0,05)

Таблица 2

#### Показатели химической модификации белков липопротеидных частиц сыворотки крови у обследованных лиц до и после курса ПГГ

	Контрольная группа (n=12)		Опытная группа (n=44)	
	До курса	После	До	После
АФГ ЛОНП + ЛНП, у.е. на 1мг б	3,33 ± 0,21	2,72 ± 0,09	4,36 ± 0,37	2,63 ± 0,01 *
ФГ ЛОНП + ЛНП, у.е. на 1мг б	0,29 ± 0,10	0,18 ± 0,12	0,56 ± 0,06	0,23 ± 0,05 *
АФГ ЛВП, у.е. на 1мг б	1,88 ± 0,17	1,39 ± 0,19	2,29 ± 0,22	1,61 ± 0,12 *
ФГ ЛВП, у.е. на 1мг б	0,24 ± 0,07	0,16 ± 0,02	0,47 ± 0,05	0,21 ± 0,02 *
SH-группы ЛВП, ммоль/л	0,31 ± 0,07	0,36 ± 0,16	0,28 ± 0,03	0,32 ± 0,01
SH-группы ЛНП, ммоль/л	0,10 ± 0,023	0,13 ± 0,03	0,06 ± 0,005	0,12 ± 0,02
СК ЛВП, ммоль/л	0,88 ± 0,03	0,80 ± 0,07	0,86 ± 0,08	0,97 ± 0,1
СК ЛНП, ммоль/л	0,46 ± 0,02	0,49 ± 0,05	0,40 ± 0,02	0,43 ± 0,03
СК <sub>ЛНП</sub> /апо В	0,63 ± 0,02	0,51 ± 0,11	0,36 ± 0,09	0,4 ± 0,04

\* - достоверность отличия от контроля (p<0,05)

раза выше значений контроля, что позволяет судить о более выраженном повреждении белковых молекул и нарушении их физиологических функций. О степени деструкции различных классов апопротеинов судили по содержанию SH-групп: так в опытной группе этот показатель для апопротеинов апоВ-содержащих ЛП оказался сниженным в 2 раза по сравнению с контролем, и подтверждает мнение, что из всех классов ЛП окисление затрагивает в первую очередь ЛОНП и ЛНП (апоВ-содержащие ЛП). Таким образом, зафиксированное нами снижение сульфгидрильных групп в составе апопротеинов ЛВП опытной группы, подтверждает мнение о важной роли ЛВП в перекисной концепции атерогенеза [Павлинский С.Л., 1999].

Месячный курс ПГГ сопровождался достоверным снижением АФГ и КФГ, а также увеличением концентрации SH-групп во всех классах ЛП опытной группы. Это, по-видимому, является как отражением ускоренного катаболизма окислительно-модифицированных ЛП, так и известного факта постадаптационной активации системы антиоксидантной защиты.

Важно отметить, что уровень сиаловых кислот ЛВП опытной группы практически не отличался от значений контроля, но повышался после курса ПГГ, по нашему мнению за счет увеличения концентрации апоСIII, главного апопротеина ЛВП, имеющего в своем составе сиаловые кислоты. У лиц опытной группы, у которых в апоВ-содержащих ЛП уровень сиаловых кислот был ниже контроля, после действия ПГГ, незначительно повышался, но отношение  $СК_{\text{ЛНП}}/\text{апоВ}$  увеличивалось, что свидетельствует о восстановлении функциональных свойств апоВ-содержащих ЛП и снижении их атерогенной активности.

В целом результаты проведенного исследования позволяют сделать следующие выводы:

В основе атерогенных дислипидемий лежит интенсификация СРО, приводящая, в первую очередь, к качественным изменениям апопротеинов ЛП частиц, что приводит к снижению их функциональной активности и увеличивает их атерогенный потенциал.

Нарушение функциональной активности ЛП приводит к количественным изменениям как в составе липидного, так и апопротеинового спектра ЛП частиц, снижая эффективность их метаболизма. Наиболее ярко эта связь прослеживается для ЛНП, модифицированных продуктами окисления белков, и сниженным содержанием в них сиаловых кислот, что приводит к снижению функциональной активности апопротеина В, и как следствие к низкой скорости удаления ЛНП через апоВ/Е путь.

Под влиянием ПГГ происходит увеличение скорости метаболических процессов, за счет активации биосинтеза белков и нуклеиновых кислот, формирование, таким образом, в органах и системах целого комплекса структурных изменений, так называемого системного структурного следа [Ф.З. Меерсон, 1993]. В результате этих структурных

изменений в печени активируются детоксикационные системы, увеличивается синтез апоЕ, апоСIII, возможно и апоВ/Е рецепторов, которые способствуют удалению ЛНП из кровотока, что характеризует антиатерогенный потенциал гипокситерапии.

Под действием ПГГ увеличивается скорость катаболизма химически модифицированных ЛП из кровотока, в результате уменьшается концентрация продуктов АФГ и КФГ, повышается уровень сульфгидрильных групп во всех классах ЛП частиц.

Таким образом, ПГГ может служить эффективным способом коррекции дислипидемических расстройств, в том числе и за счет снижения уровня химически модифицированных ЛП, уменьшая тем самым их атерогенный потенциал.

Немцов Б.Ф., Вязникова О.А.

**ПОКАЗАТЕЛИ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ  
ОКСИДА АЗОТА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ  
СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДКА И ПИЩЕВОДА  
У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров*

В последние годы активно изучается один из вазоактивных гормонов эндотелия – оксид азота (NO) и его роль в развитии заболеваний органов пищеварительного тракта. NO играет существенную роль как в функционировании ЖКТ, так и в этиопатогенезе его заболеваний (3,6).

Гиперпродукция одной из изоформ NO (индуцированной) имеет место при заболеваниях ЖКТ, при которых преобладают повреждение или апоптоз эпителия, действуя на ДНК клеток, воспаление и иммунный ответ. Повышенный синтез NO угнетает продукцию соляной кислоты и бикарбонатов, способствует развитию расслабления нижнего пищеводного сфинктера, что также может иметь значение в развитии и прогрессировании ГЭРБ. Известно, что уровень NO в плазме крови у больных ГЭРБ определяется более высоким, чем у здоровых людей (2,3).

У больных ревматоидным артритом (РА) было выявлено повышение продукции NO с увеличением степени активности воспалительного процесса (4).

Цель исследования: Изучить содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА в зависимости от клинических особенностей болезни, наличия синдрома диспепсии, хеликобактерной инфекции и функционального состояния слизистой оболочки желудка и пищевода у больных ревматоидным артритом.

Материал и методы: Нами было проведено изучение содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови 155 больных РА и 35 здоровых доноров. Среди больных РА, включённых в исследование, преобладали женщины (соотношение женщин и мужчин составило 2,6:1). Возраст больных варьировал от 16 до 76 лет. Больные в основном (81,3%)

Таблица 1

Содержание стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА и кислотопродуцирующая функция желудка (n=40) (M±m)

№ группы	Кислотопродукция в желудке	Стабильные метаболиты NO в сыворотке крови (мкг/л)	p
1.	Контрольная группа (n=35)	4,2 ± 0,78	P <sub>1,2</sub> < 0,001
2.	Гиперацидное состояние	27,29 ± 2,6	P <sub>2,3</sub> < 0,05
3.	Нормаацидное состояние	18,4 ± 5, 2	P <sub>1,3</sub> < 0,001

Таблица 2

Содержание стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА и рефлюксная болезнь (n=40) (M±m)

№ группы	Функциональное состояние пищевода	Стабильные метаболиты NO в сыворотке крови (мкг/л)	p
1.	Контрольная группа	4,2 ± 0,78	P <sub>1,2</sub> < 0,001
2.	Наличие ГЭРБ	26,67 ± 3,6	P <sub>2,3</sub> < 0,05
3.	Отсутствие ГЭРБ	21,45 ± 2,8	P <sub>1,3</sub> < 0,001

Таблица 3

Содержание стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА и эрозивно-воспалительные изменения СОЖ и пищевода (n=101) (M±m)

№ группы	Эндоскопические изменения СОЖ и пищевода	Стабильные метаболиты NO в сыворотке крови (мкг/л)	P
1.	Контрольная группа	4,2 ± 0,78	P <sub>1,2</sub> < 0,001
2.	Эрозивно – воспалительные изменения (n=46)	22,22 ± 2,3	P <sub>2,3</sub> < 0,05
3.	Без эрозивно-воспалительных изменений (n=55)	18,19 ± 1,5	P <sub>1,3</sub> < 0,001

были серопозитивны по РФ, имели преимущественно III степень активности (89,7%). Выраженность воспалительного процесса была средняя в 10,3% случаев. Экстраартикулярные проявления РА выявлены у 101 (65,2%) пациента. Преобладали больные со средним (34,2%) и высоким (53,5%) индексом тяжести РА. Стероидозависимость была у 77 больных (49,7%). Диспепсический синдром наблюдался у 126 больных (81,3%). Концентрация стабильных метаболитов NO в сыворотке крови (мкг/л) определяли с помощью реактива Грисса на спектрофотометре СФ-46 с длиной волны 540 нм (1). Исследование функционального состояния желудка и пищевода у 40 больных РА проводилось методом 24-часовой интрагастральной рН-метрии с помощью прибора ацидогастроманитора суточного носимого АГМ-24МП - «Гастроскан-24» (Россия, Фрязино). Изучали зависимость содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА от клинических особенностей заболевания, наличия диспепсии, хеликобактерной инфекции, предшествующей терапии и наличия и характера патологических изменений органов верхних отделов ЖКТ.

Полученные результаты: При изучении связи содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА с клиническими особенностями заболевания (n=155) было установлено, что концентрация NO была достоверно выше у больных РА (20,09 ± 1,3) чем у здоровых доноров (4,2 ± 0,78), P < 0,001. Нами не было выявлено корреляции ни с одной

из клинических особенностей больных РА (p > 0,05) и видом проводимой терапии. Так же не было получено достоверных различий уровня стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА имеющих жалобы со стороны верхних отделов ЖКТ и без синдрома диспепсии (p > 0,05). Мы не получили достоверных различий уровня стабильных метаболитов NO в сыворотке крови больных РА в группе больных имеющих диагностический титр антител к хеликобактер пилори и без хеликобактериоза. При анализе показателей NO в сыворотке крови у больных РА в зависимости от уровня кислотопродукции желудка были получены следующие результаты (таблица 1).

Как видно из таблицы 1 - у больных с гиперацидным состоянием концентрация NO была достоверно выше, чем у пациентов с нормальной кислотностью. При проведении оценки показателей содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови в группах больных с различными вариантами ГЭРБ и без рефлюксной болезни были получены следующие результаты (таблица 2).

Как видно из таблицы 2, были выявлены достоверные различия (более высокая концентрация) в содержании стабильных метаболитов NO в сыворотке крови у больных с рефлюксной болезнью по сравнению без неё (p < 0,05).

При анализе показателей стабильных метаболитов NO и их связи с эндоскопическими изменениями слизистой оболочки желудка были получены следующие результаты (таблица 3).

Как видно из таблицы 3, у больных с эрозивно-воспалительными изменениями с стороны слизистой желудка концентрация стабильных метаболитов NO была существенно выше по сравнению с больными без эндоскопических изменений.

Таким образом, изучение показателей стабильных метаболитов NO у больных РА является чувствительным методом позволяющим отличить по их концентрации от показателей контрольной группы доноров, что связано с наличием хронического воспаления у этой группы больных (7).

При этом нами не было получено достоверных корреляций между содержанием стабильных метаболитов NO в сыворотке крови, возрастом, стажем, индексом тяжести РА и наличия РФ, а так же у больных РА, предъявляющих жалобы со стороны верхних отделов ЖКТ и без синдрома диспепсии, так же предшествующей терапией ГКС и наличием хеликобактерной инфекцией.

Выявлены достоверно высокие показатели NO в сыворотке крови у больных РА с гиперацидным состоянием, по сравнению с нормальной кислотопродуцирующей функцией желудка, а также у больных с различными вариантами ГЭРБ и у пациентов без рефлюксной болезни и больных РА с эрозивно-воспалительными изменениями СОЖ и пищевода, что указывает на патогенетическое значения NO в развитии кислотозависимых состояний и нарушением микроциркуляции в слизистой (5,6).

Нами отмечена тенденция к увеличению содержания стабильных метаболитов NO в сыворотке крови у больных РА с диспептическим синдромом, стероидозависимостью и без хеликобактериоза.

#### Литература

1. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. Универсальный метод определения нитратов в биосредах организма. //Клиническая лабораторная диагностика. 1994, №6, С. 19-20.

2. Золотарёв Н.А., Хропычева Р.П., Поленов С.А., Зависимость нитрегергического угнетения желудочной секреции от спланхической иннервации. //Материалы 18-й Всероссийской научной конференции с международным участием «Физиология и патология пищеварения», Геленджик, 4-6 сентября 2002. с. 66.

3. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем //Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2000, №4, С. 16-20.

3. Лазебник Л.Б., Дроздов В.Н., Барышников Е.Н. Роль оксида азота (NO) в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2005, №2, С. 4-11.

4. Политова Н.Н., Пенкина Е.С. Клиническое значение показателей стабильных метаболитов оксида азота (NO) у больных ревматоидным артритом (РА). // Научно – практическая ревматология. Тезисы научной

конференции молодых учёных. Москва. 2002, №2, №41, С. 45.

5. Brzozowska I., Konturek P.C., Brzozowska T. et al.. Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L-tryptophan. //J. Pineal Res. 2002; 32: P.149-162.

6. Casselbrant A., A. Casselbrant, Petterson, M. Ruth et al... Sources of intra-oesophageal NO production following intraluminal acid exposure. // Scand. J. Gastroenterol. 2002. Vol.37. P. 631-637.

7. Chiriac R., Chiriac C. et al.. Nitric oxide in rheumatoid inflammation. //Rheumatol. Eur. 1997; 26(2): 25/

Новикова Л.А., Титова Н.М., Савченко А.А.

#### **ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН**

*ГОУ ВПО «Красноярский государственный  
университет», г. Красноярск*

*Хакасский республиканский центр планирования  
семьи и репродукции, г.Абакан*

Под влиянием новых условий, связанных с развитием плода, в организме беременной женщины возникают сложные адапционно-защитные изменения. Они способствуют поддержанию гомеостаза и нормальной деятельности органов и систем, правильному развитию плода. Ведущую роль в механизмах адаптации играет нейро-эндокринная регуляторная система.

Значительные изменения происходят в эндокринной системе. Основным источником стероидных и белковых гормонов становится фетоплацентарная система (ФПС), включающая кору надпочечников и печень беременной, плаценту, кору надпочечников и печень плода. Прогестерон, плацентарный лактоген, свободный эстриол и хорионический гонадотропин (ХГ), вырабатываемые плацентой, высокоэффективные анаболические гормоны [6]. В организме беременной возникают изменения, связанные с антигенной неоднородностью организма матери и плода. Существование аллогенного плода обеспечивается развитием метаболической иммунодепрессии в организме беременной. Изменения в системе иммунологической реактивности женщин, индуцированные развитием плода, представляют собой целую группу различных по своей направленности биологических механизмов, обеспечивающих защиту ребенка от факторов окружающей среды, а также активацию естественных генетически детерминированных процессов его развития [4]. При физиологически протекающей беременности отмечается угнетение клеточного и в меньшей степени гуморального иммунитета. Как известно, активность и количество ферментов контролируется гормонами с помощью универсальных механизмов [2]. В настоящее время имеется достаточно

информации, позволяющей говорить о взаиморегуляции эндокринной и иммунной системы. Иммунная система с самых ранних этапов своего развития тесно связана с эндокринной. Гормоны оказывают либо стимулирующий, либо депрессивный эффект на иммунную систему [2].

В настоящее время установлено, что реакция организма на молекулярном уровне в ответ на действие экстремальных факторов характеризуется усилением процессов окисления ряда биосубстратов тиоловых соединений белковой и небелковой природы, аскорбиновой кислоты, нуклеиновых кислот, липидов и ряда других веществ [1].

Устойчивость организма к окислению определяется резервными возможностями иммунной и антиоксидантной систем организма. При сильном и длительном воздействии окислителей активность антиоксидантной системы снижается, накапливаются свободные радикалы, которые повреждают клетки. Продукты распада клеточных рецепторов нарушают биологическое равновесие и подавляют систему иммунитета.

**Целью исследования** явилось изучение влияния некоторых гормонов фетоплацентарного комплекса на активности метаболических ферментов в лимфоцитах крови у беременных женщин, изучение особенностей уровней активности метаболических ферментов в лимфоцитах крови беременных женщин в зависимости от сроков беременности, изучение состояния антиоксидантной системы (АОС) лимфоцитов крови беременных женщин на разных сроках гестации.

#### **Материалы и методы.**

Всего обследовано 173 беременные женщины в возрасте 24 – 28 лет. Из них 25 женщин были обследованы в 1 триместр, 133 женщин – во 2 триместр и 15 женщин – в 3 триместр. В качестве контроля обследованы 105 здоровых небеременных женщин того же возрастного диапазона.

Определение активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови проводили биOLUMИнесцентным методом [5]. Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49), мальк-фермента (НАДФМДГ, КФ 1.1.1.40), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ, КФ 1.1.1.27), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ, КФ 1.1.1.37), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФ-ГДГ и НАДФН-ГДГ, КФ 1.4.1.4), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАД-ГДГ и НАДН-ГДГ, КФ 1.4.1.2), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАД-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41 и НАДФ-ИЦДГ, КФ 1.1.1.42, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2). Активность дегидрогеназ в лимфоцитах крови выражали в ферментативных единицах (1 Е=1 мкмоль/мин [5]) на  $10^4$  клеток.

Содержание глутатиона (Г-SH), активность глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) определяли по методике А.И. Карпищенко с соавт. [3].

Определение концентрации гормонов в сыворотке крови беременных женщин проводили методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы «АлкорБио» (Санкт-Петербург). Данным методом определяли концентрацию а-фетопротейна (АФП) и ХГ.

Исследование силы взаимосвязей между исследуемыми параметрами осуществляли методом ранговой корреляции по Спирмену. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.).

#### **Результаты и их обсуждение.**

В развитии и поддержании беременности важнейшая роль принадлежит ФПС, которая синтезирует целый ряд местных и гуморальных регуляторов, в том числе и гормональной природы. Со 2 триместра плацента и плод синтезируют все гормоны, необходимые для нормального их развития. Из белковых гормонов наиболее важным является ХГ и белок плода – АФП. Установлено, что у беременных женщин во 2 триместре концентрация АФП составляет  $50,25 \pm 2,57$  МЕ/мл, а уровень ХГ –  $53240,74 \pm 402,11$  МЕ/мл.

При исследовании уровней активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах крови в зависимости от триместра беременности обнаружено, что активность МДГ статистически достоверно повышается только в иммунокомпетентных клетках в период 2 триместра беременности. Динамически в лимфоцитах крови беременных женщин изменяется активность НАДФМДГ: в период 1 триместра – повышается более чем в 10 раз ( $42,8 \pm 25,8$  мкЕ,  $P < 0,05$ , в контроле –  $4,04 \pm 0,85$ , 2 триместр –  $2,1 \pm 0,4$ , 3 триместр –  $27,3 \pm 16,0$ ), в период 2 триместра активность данного фермента снижается до уровня в 1,9 раза ниже контрольного, но в 3 триместре – вновь повышается. У беременных в 1 триместре в лимфоцитах крови значительно снижена активность НАДФИЦДГ ( $5,5 \pm 0,01$  мкЕ, контроль –  $813,2 \pm 178,5$ , 2 триместр –  $259,5 \pm 65,2$ , 3 триместр  $13,9 \pm 9,4$ ), которая повышается в период 2 триместра, не достигая контрольного диапазона, и снижается в период 3 триместра практически до уровня соответствующего выявленному в период 1 триместра. Также, в период 1 триместра снижается активности НАДН-ЛДГ ( $0,44 \pm 0,2$  мкЕ, контроль –  $14,8 \pm 3,5$ , 2 триместр –  $7,7 \pm 1,6$ ), в период 2 триместра активность фермента повышается, оставаясь в 1,9 раза ниже контрольного уровня. На данном диапазоне активность НАДН-ЛДГ сохраняется и в период 3 триместра беременности. Уровни активности НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ в лимфоцитах в зависимости от триместра беременности изменяются практически синхронно. Так, в период 1 триместра уровни активности данных



ферментов повышаются. В период 2 триместра – снижаются, оставаясь статистически выше контрольных диапазонов, сохраняясь на данных уровнях в период 3 триместра беременности. Кроме того, только в период 1 триместра снижается активность Г6ФДГ ( $1,55 \pm 0,43$  мкЕ; в контроле –  $9,01 \pm 1,50$  мкЕ;  $P < 0,01$ ), которая в дальнейшем увеличивается, не достигая контрольного уровня, в дальнейшем снижаясь, а также повышается уровень НАДФГДГ ( $69,43 \pm 17,61$  мкЕ; в контроле –  $34,47 \pm 4,22$  мкЕ;  $P < 0,05$ ), понижающийся до контрольного диапазона в период 2 триместра. В период 2 триместра беременности в лимфоцитах крови снижается активность Г3ФДГ ( $3,17 \pm 0,45$  мкЕ; в контроле –  $4,88 \pm 0,85$  мкЕ;  $P < 0,01$ ) и НАДГДГ ( $41,90 \pm 4,74$  мкЕ; в контроле –  $60,27 \pm 5,84$  мкЕ;  $P < 0,01$ ), повышается уровень ГР ( $30,20 \pm 4,63$  мкЕ; в контроле –  $12,87 \pm 1,67$  мкЕ;  $P < 0,05$ ). Уровни активности ЛДГ, НАДИЦДГ и НАДФН-ГДГ в лимфоцитах крови в зависимости от триместра беременности не изменяются.

В результате исследования достоверно установлено резкое снижение концентрации восстановленной формы глутатиона (Г-SH) в 1 триместр беременности (51,8%) по сравнению с контрольной группой. Во второй триместр беременности происходит увеличение концентрации Г-SH на 52,6% по сравнению с первым триместром, но остается на 26,4% ниже, чем в контрольной группе. В третий триместр наблюдается снижение концентрации Г-SH на 41% по сравнению с контрольной группой. По-видимому, снижение концентрации Г-SH на протяжении всей беременности связано с достоверно установленным снижением активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 83%, 39%, 79% - в 1,2,3 триместры соответственно по сравнению с контрольной группой). Г6ФДГ - ключевой фермент пентозофосфатного пути (ПФП), является основным источником НАДФН, необходимого для восстановления Г-SH из его окисленной формы в ходе реакции, катализируемой глутатионредуктазой.

На протяжении всей беременности не наблюдается значительного изменения активности глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (GST). Активность ГР, напротив, увеличивается на 23% в первый триместр беременности, на 134,8% во второй триместр, на 128,6% в третий триместр по сравнению с контрольной группой.

С помощью корреляционного анализа обнаружено, что у беременных во 2 триместре сывороточная концентрация АФП взаимосвязана с уровнями активности следующих метаболических ферментов лимфоцитов крови: с Г6ФДГ ( $r = 0,35$ ,  $P < 0,005$ ), ЛДГ ( $r = 0,31$ ,  $P < 0,05$ ), НАДФМДГ ( $r = 0,45$ ,  $P < 0,001$ ), ГР ( $r = 0,41$ ,  $P < 0,01$ ), НАДФН-ГДГ ( $r = 0,35$ ,  $P < 0,01$ ) и НАДГДГ ( $r = -0,28$ ,  $P < 0,05$ ). Концентрация ХГ также взаимосвязана с активностью Г6ФДГ ( $r = 0,22$ ,  $P < 0,1$ ), ЛДГ ( $r = 0,29$ ,  $P < 0,05$ ), НАДФМДГ ( $r = 0,36$ ,  $P < 0,01$ ), НАДИЦДГ ( $r = 0,26$ ,  $P < 0,05$ ), ГР ( $r = 0,27$ ,  $P < 0,05$ ) и

НАДФГДГ ( $r = -0,26$ ,  $P < 0,05$ ), GST ( $r = 0,55$ ,  $P < 0,05$ ). Следовательно, положительное влияние гормонов ФПК во второй триместр беременности приводит к усилению активности ферментов цикла трикарбоновых кислот, что в свою очередь способствует усилению аэробного дыхания в лимфоцитах крови беременных. Отрицательные корреляционные связи АФП с НАДГДГ и ХГ с НАДФГДГ свидетельствуют о снижении активности данных ферментов, что приводит к снижению анаболизма аминокислот в клетке.

Таким образом, анализ корреляционных связей между метаболическими ферментами лимфоцитов крови беременных женщин и некоторых гормонов фетоплацентарного комплекса сыворотки крови беременных свидетельствует о влиянии гормонов на активность ферментов. Установлены зависимые от срока беременности особенности интенсивности метаболических процессов в иммунокомпетентных клетках крови у женщин. Так, у беременных женщин в 1 триместр в лимфоцитах крови снижается интенсивность анаэробного окисления глюкозы и активация анаболических процессов в реакциях липидного и аминокислотного обмена. Во второй триместр беременности перераспределение метаболических потоков происходит таким образом, что увеличивается активность ферментов цикла трикарбоновых кислот. Активности ферментов в третий триместр сопоставимы с таковыми в первый триместр беременности. Независимо от срока беременности в иммунокомпетентных клетках повышена активность ГР, что способствует пополнению пула восстановленного глутатиона.

Как известно, уменьшение содержания Г-SH может ослабить устойчивость организма к гипоксии как за счет инактивации ферментов ПФП, так и за счет ингибирования тиоферментов тканевого дыхания [1]. Эти нарушения приводят к развитию энергетического дефицита, который, как известно, составляет ведущее звено биохимического механизма тканевой гипоксии. Кроме того, сдвиги в тиосульфидном обмене могут составить реальную основу механизмов разобщения процессов окисления и фосфорилирования, результатом чего является нарушение использования кислорода в процессах биологического окисления. Снижение внутриклеточной концентрации Г-SH, в свою очередь, негативно влияет на структурно-функциональные свойства мембраны лимфоцитов. В частности, изменение белок-липидных взаимодействий может привести к нарушению проницаемости мембраны для различных метаболитов, передачи гормональных сигналов в клетку и т.д.

Можно предположить, что установленные особенности метаболизма лимфоцитов беременных женщин определяются регуляторными и обменными процессами всего организма, которые специфичны для каждого триместра беременности.

Литература

1. Абрамченко В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве. (Оксидативный стресс в акушерстве и его терапия антиоксидантами и антигипоксантами). \_СПб.:Изд. ДЕАН, 2001. – 400с.
2. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. – Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. – 1994.
3. Карнищенко А. И. Методика определения показателей системы глутатиона в лимфоцитах человека /А.И. Карнищенко, В.В. Смирнов, С.И. Глушков//Клинич. лаб. диагностика. - 1997. - №12. - С. 55 - 82.
4. Плескановская С.А., Ахматова З.М. Иммунологические аспекты гестационного периода//Вопросы охраны материнства и детства.-1990.-№9.-С.57-61.
5. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высококочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биолюминесцентным методом//Лаб. дело.-1989.-№ 11.- С.23-25.
6. Скороходова Т.Г., Удовицина Т.И., Матушкина С.В., Фадеев С.В. Нормы лабораторных тестов при физиологической беременности//Бюллетень лабораторной службы.- 2001.-№9. –с.20.

Ноздрунова А. А., Высокогорский В. Е.  
**ВЛИЯНИЕ ЖИДКИХ ПРОДУКТОВ ТЕРМОЛИЗА  
САПРОПЕЛЕЙ НА ПРОЦЕССЫ  
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ  
В ПОЛНОСЛОЙНОЙ РАНЕ**

ГОУ ВПО “Омский государственный аграрный университет”, г.Омск

Поражения кожи сопровождаются воспалительными проявлениями, нарушением системы гемостаза, фагоцитоза, межклеточных взаимодействий в тканях раны, создают благоприятные условия для роста микроорганизмов и ускорения реакций свободнорадикального окисления (СРО) [3]. Избыточное образование токсичных перекисных продуктов СРО приводит к повреждению биомембран, инактивации ферментов, усилению окислительного повреждения тканей, замедлению пролиферативной активности клеток и значительному увеличению время полного заживления ран, поэтому оценка СРО в ране может рассматриваться как важная составляющая в лечении. В настоящее время предложены многочисленные лекарственные средства, ускоряющие заживление ран, однако поиск новых биологически активных веществ, позволяющих поддерживать скорость СРО на оптимальном уровне, является актуальной задачей. Источником природных антиоксидантов – соединений, которые препятствуют чрезмерному образованию свободных радикалов, могут служить сапропели и продукты их переработки. В составе жидких продуктов термолиза донных отложений пресных водоемов идентифицируются кислоты, липиды, ароматические кислород- и азотсодержащие соединения, в том числе фенолы и

органические основания, поэтому они представляют интерес как действующие природные вещества для приготовления фармацевтических препаратов наружного применения, в том числе и в качестве ранозаживляющих средств [2].

Цель данной работы - оценка СРО в полнослойной ране при воздействии жидких продуктов термолиза сапропеля, обладающих выраженными антиокислительными свойствами.

Ранозаживляющее действие продуктов термолиза сапропелей изучали в эксперименте на 20 нелинейных белых крысах. Полнослойную рану формировали путем удаления участка кожи с подкожной клетчаткой площадью 200 мм<sup>2</sup>. Для оценки процессов СРО использовали смывы с поверхности ран животных, не подвергшихся лечению (контрольная группа) и леченных препаратом сапропеля. Забор материала для исследования проводили на 1, 3, 5 и 10 сутки с момента начала эксперимента. Интенсивность процессов СРО оценивали методом железо-индуцированной хемилюминесценции. Рассчитывали интенсивность быстрой вспышки, зависящей от концентрации гидроперекисей, амплитуду медленной вспышки, отражающую способность компонентов системы подвергаться процессам переокисления, а также латентный период времени между быстрой и медленной вспышкой, длительность которого определяется соотношением антиоксидантов и прооксидантов [1]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием непараметрических методов, рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили. Для определения статистически значимых различий использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты проведенного исследования характеризуют продукты термической переработки сапропелей как многокомпонентную систему, замедляющую избыточную активацию процессов СРО.

Отмечается увеличение латентного периода хемилюминесценции раневого отделяемого животных экспериментальной группы на 1, 3 и 5 сутки после механического повреждения кожи на 45,8%, 104,2% и 66,4%, соответственно, по сравнению с показателями контрольной группы, что свидетельствует об изменении соотношения антиоксиданты/прооксиданты в сторону первых (табл. 1). На 10 сутки статистически значимых изменений латентного периода не выявлено.

На 3 сутки эксперимента выявлено увеличение содержания гидроперекисей в раневом экссудате животных экспериментальной группы, о чем свидетельствует увеличение амплитуды быстрой вспышки (рис 1.). К 5 суткам разница с контролем составила 131% (pU = 0,0001). При дальнейшей обработке ран препаратом сапропеля интенсивность быстрой вспышки в 2 группе животных оставалась достоверно повышенной (pU = 0,003).

Таблица 1

Сутки с начала эксперимента	Латентный период, сек						pU
	1 группа (рана без лечения) n = 8			2 группа (обработка раны фракцией сапропеля) n = 12			
	L	Me	H	L	Me	H	
1 сутки	295,2	<b>316,8</b>	375,6	374,4	<b>462</b>	524,4	0,005
3 сутки	208,8	<b>230,4</b>	244,8	439,2	<b>470,4</b>	542,4	0,0001
5 сутки	256,8	<b>274,8</b>	436,8	414	<b>457,2</b>	513,6	0,021
10 сутки	306,3	<b>343,8</b>	382,5	251	<b>281,3</b>	428,8	0,354

**Латентный период хемилюминесценции раневого отделяемого**

Таким образом, накопление перекисей в раневом отделяемом характеризует продукты термической переработки сапропелей, использованные для обработки ран, как компоненты, обладающие антибактериальным действием, что может препятствовать инфицированию ран.

Способность компонентов раневого экссудата подвергаться процессам перекисления значительно снижалась уже через 1 сутки после нанесения препарата сапропеля на поверхность раны (0,72 усл. ед. в 1 мл) по сравнению с контрольной группой (1,98 усл. ед. в 1 мл) (р = 0,0001). Однако при дальнейшем исследовании исследуемого препарата статистически значимых различий между показателями амплитуды медленной вспышки экспериментальной и контрольной групп не установлено (р = 0,005). В сравнении с контрольной группой амплитуда быстрой вспышки хемилюминесценции раневого отделяемого свидетельствует об усилении антиоксидительных свойств системы, за счет антиоксидантов, образующих со свободными радикалами неактивные комплексы [4]. Увеличение амплитуды быстрой вспышки раневого отделяемого животных экспериментальной группы подтверждает участие продуктов термоллиза сапропелей в процессах накопления перекисей в полнослойной плоскостной ране, но в то же время тормозит избыточную активацию процессов СРО.

Таким образом, установлено, что применение

продуктов термической переработки сапропелей приводит к эффективному торможению избыточной активации СРО на ранних этапах течения раневого процесса, что способствует более быстрому заживлению механических повреждений кожи. Полученные экспериментальные данные обосновывают возможность использования донных органических осадков пресных озер в качестве компонентов ранозаживляющих препаратов.

Литература

1. Владимир Ю. А. Хемилюминесценция, сопряженная с образованием липидных перекисей в биологических мембранах / Ю. А. Владимир, Т. Б. Сулова, В. И. Оленев // Биофизика. -1969. -Т. XIV. - №5. - С. 836-845.

2. Кривонос О. И. Исследование продуктов термической переработки сапропелей Омской области // О. И. Кривонос, Г. В. Плаксин, И. А. Савченко // Омский научный вестник. - 2006. - №3. - С. 168-174.

3. Ромм А. Р. Действие лазерного излучения на перекисную хемилюминесценцию раневого экссудата / А. Р. Ромм, М. П. Шерстнев, В. В. Волков, Ю. А. Владимир // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1986. - №10. - том С11. - С. 426-428.

4. Фархутдинов Р. Р. Влияние лекарственных препаратов на процессы свободнорадикального окисления in vitro / Р. Р. Фархутдинов, А. М. Багаутдинов, В. Н. Байматов // Современные проблемы ветеринарной медицины и животноводства: Сборник научных трудов. - Уфа: РИО БашГУ, 20005. - С37-50.

Рисунок 1. Амплитуда быстрой вспышки хемилюминесценции раневого отделяемого животных экспериментальной и контрольной групп.

Нусратов М.И., Сысаков Д.А., Синицкий Д.А.,  
Саломатова Т.В., Чарная Л.Ф., Маляр К.В.,  
Тимофеева Т.Г.

### **ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И ПИРОГЕНАЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К 2,3,7,8 ТЕТРАХЛОР-Р-БЕНЗДИОКСИНУ**

*ГОУ ВПО «Челябинская государственная  
медицинская академия Росздрава», г. Челябинск*

Как показали наши предыдущие исследования, высокой чувствительностью к повторным стрессорным эпизодам обладает изоформа цитохрома P-450 CYP1A1. Между тем CYP1A1 является изоформой осуществляющей активацию канцерогенов с планарной структурой, что превращает их из исходно метаболически инертных ксенбиотиков, в чрезвычайно опасные для организма соединения. Механизм стрессорного потенцирования CYP1A1-зависимого монооксигенирования требует дальнейших исследований. Поэтому, мы посчитали целесообразным изучить влияние хронического анксиогенного стресса на чувствительность печени к индуктору CYP1A1-зависимого монооксигенирования 2,3,7,8 тетрахлор-пара-бенздиоксина (ТХДД).

#### **Материалы и методы**

Исследования были выполнены на 30 беспородных крысах. Животные были разделены на четыре группы. Первую группу составили животные, подвергнутые четырехкратному иммобилизационному стрессу (ИС) с интервалом между отдельными воздействиями в 72 часа (группа "ИС"). Вторая группа представлена контрольными животными (группа "контроль"). Животные третьей группы через 24 часа после завершения последнего стрессорного эпизода дополнительно получали индуктор изоформы CYP1A1 ТХДД в дозе путем перорального введения (группа "ИС+ТХДД"). Четвёртую группу составили животные получавшие ТХДД через 24 часа после инъекции пирогеналла в дозе 6,25 мг/кг. Пятую группу составили животные, получавшие ТХДД без предварительного стрессорного воздействия (группа "ТХДД"). Через 96 часов после введения ТХДД крыс из всех исследуемых групп умерщвляли под эфирным наркозом. В субмитохондриальной фракции гомогенатов печени определяли этоксирезорурфин-О-деэтилазную (ЭРОД) и бензилоксирезорурфин-О-дебензилазную активность (БРОД). О достоверности различий судили с помощью непараметрического критериев Вилкоксона-Манна-Уитни (U) и Вальд-Вольфовица (WW).

#### **Результаты**

Через 96 часов после перорального введения ТХДД в печени отмечено возрастание в 5 раз ЭРОД-активности в гомогенатах печени. В меньшей мере диоксин усиливает БРОД-активность, что отражает неизбирательную селективность реакции дебензилирования дибензоилэтоксирезорурфина. Характерной особенностью ТХДД считается гипоплазирующее действие по отношению к

иммунным органам. Однако, как показали наши исследования, введение ТХДД в дозе, обеспечивающей супериндукцию CYP1A1-зависимого монооксигенирования, не привело к инволюции тимуса. Предварительные стрессорные воздействия и введение пирогенала одинаково усиливали ТХДД-зависимую индукцию изоформы CYP1A1. Так, в группе «стресс+ТХДД» уровень ЭРОД активности достоверно превышал таковой в группе «ТХДД». Кроме того, при стрессорных воздействиях с последующим введением ТХДД сопровождалось развитием инволюции тимуса. Так через 96 часов после введения ксенобиотика у стрессированных животных отмечено более выраженное падение массы тимуса и тимического индекса чем не у нестрессированных. Интересно отметить, что при этом не были обнаружены статистически значимые изменения в содержании апоптотических клеток и в группах «ТХДД» и «стресс+ТХДД». Однако введение ТХДД стрессированным животным привело к дополнительному увеличению соотношения между тимоцитами пика М1 и суммарным содержанием тимоцитов не вступивших в апоптоз (пик М2+пик М3). Механизм стрессорного потенцирования CYP1A1-зависимого монооксигенирования требует дальнейших исследований. К сожалению, в настоящее время решение этой проблемы столкнулось с объективными затруднениями, связанными с недостаточными знаниями об эндогенных лигандах Ah-рецептора. Немногочисленные исследования показывают, что на эту роль могут претендовать индол-содержащие соединения триптофана. Кроме того, на CYP1A1 обнаружены сайты связывания для гистамина, мелатонина, дофамина, серотонина и норадреналина. Поэтому мы можем предположить, что повторные стрессорные воздействия с резистентной стратегией адаптации сопровождаются либо повышенным синтезом эндогенных лигандов для Ah-рецептора, либо непосредственным связыванием норадреналина или других стрессорных медиаторов с сайтами на гене CYP1A1.

Петров С.Б., Шешунов И.В., Цапков П.И.

### **ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЫЛИ, ВХОДЯЩЕЙ В СОСТАВ АТМОСФЕРНЫХ ВЫБРОСОВ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА**

*ГОУ ВПО «Кировская ГМУ Росздрава», г. Киров*

Ежегодно медеплавильным предприятием средней производственной мощности в атмосферный воздух выбрасывается до 3 тыс. тонн пыли, для которой в качестве максимально-разовой и среднесуточной предельно допустимой концентрации приняты величины равные соответственно 0,5 мг/м<sup>3</sup> и 0,15 мг/м<sup>3</sup>. Данные величины в действующих гигиенических нормативах ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в

атмосферном воздухе населенных мест» установлены для нетоксичной пыли.

Современные представления о молекулярных и клеточных механизмах патогенного действия пылевых частиц, связаны с пагубным воздействием на фагоцитирующие их мононуклеарные и полиморфнонуклеарные лейкоциты, благодаря способности стимулировать избыточное длительное образование активных форм кислорода. В связи с вышеизложенным представляло интерес исследовать в условиях эксперимента свободнорадикальные процессы при воздействии пыли, входящей в состав атмосферных выбросов медеплавильного производства.

В эксперименте изучалась металлургическая пыль, отобранная из газоходной системы перед выбросом в атмосферу.

Фазовый состав пыли:  $Fe_3O_4$  – 20,0 %,  $CuS$  – 17,8 %,  $Cu_5FeS_4$  – 15,7 %,  $Al_2SiO_4$  – 12,0 %,  $Cu_2O$  – 11,4 %,  $SiO_2$  – 9,4 %,  $ZnS$  – 6,2 %,  $PbS$  – 3,8 %, нераспознанные фазы – 3,7%.

В исследовании “in vitro” хемилюминесцентным методом проведено изучение способности металлургической пыли стимулировать активность фагоцитов и вызывать образование свободных радикалов. Интенсивность генерации активных форм кислорода фагоцитами оценивалась по изменению показателя общей светосуммы (S) за периоды - 5 секунд и 15 минут инкубации суспензии макрофагов и взвеси пылевых частиц в термостатируемой кювете.

Эксперимент на животных проведен на 20 беспородных белых крысах с исходной массой тела 170 – 200 г. Исследуемая пыль вводилась экспериментальным животным внутрибрюшинно в дозе 2,0 г/кг массы тела в 0,5 мл физраствора. Животным контрольной группы внутрибрюшинно вводилось эквивалентное количество физраствора. Через 15 дней

животные забивались с последующим отбором крови для исследования.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) в сыворотке крови экспериментальных животных определяли хемилюминесцентным методом на приборе Emilite El 1105 по максимальному показателю фотовспышки ( $I_{max}$ , имп/сек), дающему оценку содержания первичных продуктов перекисного окисления.

Для характеристики кинетики хемилюминесценции (ХЛ) использовали показатели светосуммы вспышки (S) за определенный отрезок времени ( $S/_{30 сек}$ , имп и  $S/_{60 сек}$ , имп) и максимальной интенсивности рекомбинационного свечения ( $I_{max}$ , имп/сек).

Определение в сыворотке крови церулоплазмينا, диеновых конъюнктов и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК ап) производилось по стандартным методикам.

Как видно из приведенных на рисунке 1 результатов исследования “in vitro”, уровень общей светосуммы через 5 секунд после начала инкубации в образце содержащего суспензию макрофагов и взвесь пыли в 3,6 раза превысил уровень S контрольного образца –  $895,4 \pm 42,4$ ;  $250,2 \pm 20,4$  соответственно (разница статистически достоверна –  $P < 0,05$ ).

Первичный механизм образования активных форм кислорода (АФК) обусловлен активизацией фагоцитов за счет слабых физико-химических взаимодействий (дисперсионное и гидрофобное взаимодействие; электростатическое связывание, участками которого являются фосфолипиды клеточных мембран) при контакте поверхности частиц пыли с клеточной мембраной

В течение 15 минут инкубации уровень S в опытном образце продолжал нарастать и превысил исходный на 46,4 %. Напротив, в контрольном образце

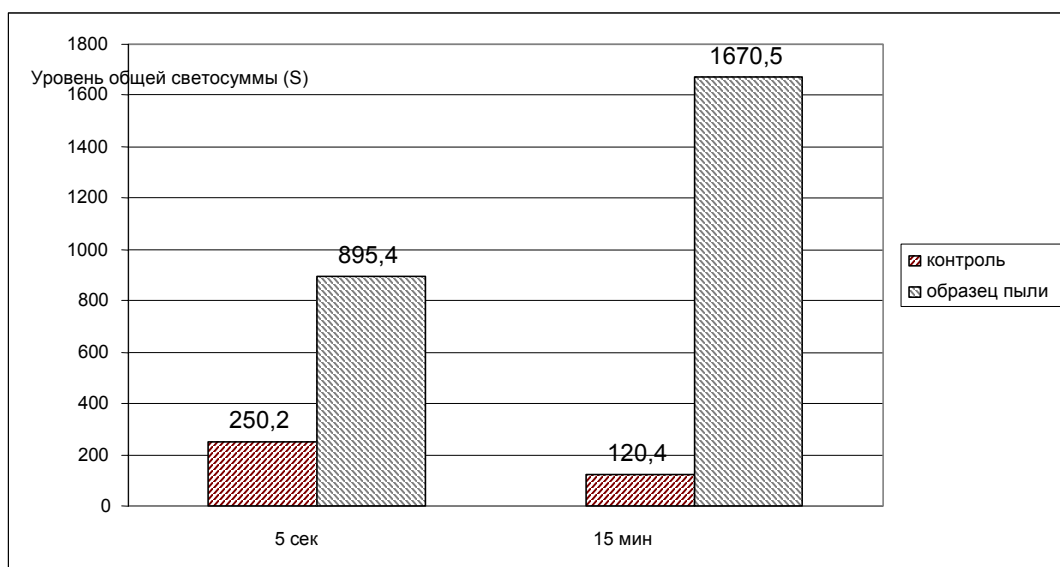


Рис. 1: Хемилюминесцентный ответ (уровень общей светосуммы) суспензии макрофагов на введение образца металлургической пыли

уровень S через 15 минут инкубации снизился по сравнению с исходным более чем на половину (52,0%).

Увеличение уровня S в пылевых образцах через 15 минут инкубации вероятно связано с интенсивной вторичной трансформацией АФК на поверхности частиц пыли за счет развития каталитических реакций с участием ионов переходных металлов (особенно железа).

Возможен и другой механизм вторичной трансформации АФК. В фазовом составе пыли присутствуют силикаты алюминия, меди и цинка, следовательно, данную пыль можно отнести к примесным полупроводникам. Согласно разработанной отечественным физиком Ф.Ф. Волькинштейном, теории гетерогенного катализа на полупроводниках, можно предположить, что на поверхности пылевых частиц возможна каталитическая реакция полупроводникового типа, продуктами которой могут быть свободные радикалы.

Свободные радикалы химически исключительно активны и реагируя с ненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав мембранных липидов, инициируют цепную реакцию их перекисидации.

Показатели сыворотки крови, характеризующие процессы липопероксидации представлены в таблице 1.

Таблица 1  
Характеристика процессов липопероксидации в сыворотке крови экспериментальных животных ( $X \pm S_x$ )

Показатели	Опытная группа	Контрольная группа
(S/30 сек, имп.)	1190,0±47,4*	782,4±29,6
(S/60 сек, имп.)	2384,3±62,7*	1384,2±45,9
(I <sub>max</sub> , имп.)	208±6,8*	142±3,6
I <sub>max</sub> /S/60 сек	0,087±0,005*	0,102±0,005
ТБК ап, мкмоль/л	4,72±0,52*	2,20±0,48
Диеновые конъюгаты, усл.	0,84±0,009*	0,52±0,006

\* - различия с контролем статистически достоверны (P<0,05);

Известно, что одним из эффектов липопероксидации является появление хемилюминесценции при рекомбинации пероксидных радикалов с образованием неустойчивого тетроксидра, распад которого сопровождается выделением кванта света. В нашем эксперименте, в опытной группе животных, по сравнению с контролем, отмечается статистически значимое увеличение таких показателей ХЛ сыворотки крови, как (S/30 сек, имп.), (S/60 сек, имп.).

В опытной группе по сравнению с контролем, наблюдается статистически достоверное увеличение максимального показателя фотовспышки (I<sub>max</sub>, имп.), дающей оценку содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов.

В сыворотке крови животных опытной группы наблюдается статистически значимое по сравнению с контролем увеличение начальных продуктов ПОЛ -

диеновых конъюгат ненасыщенных жирных кислот и конечных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК ап), в частности малонового диальдегида.

При оценке антиоксидантной активности по отношению I<sub>max</sub>/S/60 сек, в опытной группе отмечается статистически значимое по сравнению с контролем снижение уровня данного показателя.

Более полную картину активности антиоксидантной системы экспериментальных животных дают данные по определению содержания одного из основных антиоксидантов – медьсодержащего белка – церулоплазмину. Так, в сыворотке крови животных “пылевой группы” по сравнению с контролем наблюдается статистически значимое снижение содержания церулоплазмину, что свидетельствует о снижении уровня антирадикальной защиты (опыт 74,4±7,2 - 93,9±8,7, контроль 178,9±12,2 мг/л; P<0,05).

Таким образом, входящая в состав атмосферных выбросов медеплавильных предприятий пыль, обладает выраженным свободно-радикальным механизмом действия, которое проявляется интенсивной генерацией и накоплением активных форм кислорода, увеличением содержания липоперекисей и снижением активности системы антиоксидантной защиты.

Данные экспериментального исследования свидетельствуют о необходимости коррекции величины ПДК пыли медеплавильного производства в атмосферном воздухе населенных мест с учетом выраженного свободно-радикального механизма действия.

Петрова З.В., Коршунов Д.А., Хазанов В.А.  
**ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА  
ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ И  
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ  
МЫШЕЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ  
ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ**

ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск

Патогенез многих заболеваний связан с повреждением мембран клеток, которое приводит к нарушению их функциональной активности. Изменение целостности мембран сопровождается нарушением энергетического обмена. Это связано с изменением физико-химических свойств мембран митохондрий, а также активности энзиматических систем, имеющих внутримембранную локализацию (сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза, аденозинтрифосфатаза, аденилаттранслоказа и многие др.). Поскольку энергетический обмен является базисным, обеспечивающим функционирование всех систем живого организма, то нарушения в каком-либо звене системы энергопродукции могут привести к истощению энергетических ресурсов, а это в свою очередь способствует развитию патологических

реакций, возникновению заболеваний и даже гибели организма [8]. Поэтому патогенетически обоснованным является применение средств, оказывающих восстанавливающее и регенерирующее действие на структуру и функции клеточных мембран, тормозящих деструкцию клеток. В связи с этим разработку препаратов, способных поддерживать структурно – функциональную целостность мембран клетки и в частности митохондрий, является важнейшей задачей современной медицины и в том числе экспериментальной фармакологии. К таким препаратам относятся средства, обладающие мембранопротекторными свойствами, которые представлены флавоноидсодержащими соединениями и фосфолипидами [2].

Целью исследования являлось изучение влияния природных фосфолипидов, экстракта виноградной косточки и бадана толстолистного на функциональное состояние системы энергопродукции печени мышей при интоксикации тетрахлорметаном.

Работа выполнена на 70 беспородных белых мышках-самцах в возрасте 1,5-2 месяца, массой 20–30 г. Животные находились в стандартных условиях вивария, в параллельно исследуемых группах (по 6 мышей), имели одинаковую массу тела, контролируемую ежедневным взвешиванием для коррекции вводимой дозы препаратов. В предварительном эксперименте была определена доза тетрахлорметана (ТХМ), вызывающая гибель 50% животных ( $LD_{50}$ ), составившая 1,28 мл/кг. Исследуемые препараты вводили мышам профилактически внутрижелудочно курсом 5 дней: экстракт природных фосфолипидов из биотехнологического материала - в виде масляного раствора, а экстракты виноградной косточки и бадана толстолистного – в виде суспензии в 1% слизи картофельного крахмала. Данные экстракты использовали в дозе 50 мг/кг. На 6-ой день животные получали однократные внутрибрюшинные инъекции 10% масляного раствора ТХМ в полужетальной дозе.

Функциональное состояние митохондрий гомогената печени оценивали полярографическим методом с помощью анализатора «Эксперт-001-4», имеющего амперометрический датчик растворенного в воде кислорода, по скорости потребления кислорода в различных метаболических состояниях по Чансу [9]. В качестве субстратов окисления использовали 5 мМ янтарную кислоту (ЯК), ЯК 5 мМ с активатором сукцинатдегидрогеназы (СДГ) изоцитратом 1,5 мМ, а также глутамат и малат в концентрации по 3 мМ каждый. В работе использовали ингибитор аминотрансфераз – аминоксиацетат (АОА) 2 мМ, а также ингибитор СДГ – малонат 2 мМ. Регистрировали скорости дыхания митохондрий до ( $V_{4n}$ ), во время ( $V_3$ ) и после ( $V_{40}$ ) цикла фосфорилирования добавленной АДФ и время фосфорилирования АДФ ( $?T_{\phi}$ ). Для оценки энергетического статуса рассчитывали коэффициенты

стимуляции дыхания ( $CD=V_3/V_{4n}$ ), дыхательного контроля ( $DK=V_3/V_{40}$ ) и сопряженности окислительного фосфорилирования (АДФ/О). Антиоксидантные свойства экстрактов оценивали спектрофотометрически по содержанию малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов и оснований Шиффа в гомогенате печени мышей [6]. Статистическую обработку результатов проводили при помощи непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Известно, что в основе повреждающего действия ТХМ лежит сильный прооксидантный эффект. В наших опытах однократное внутрибрюшинное введение животным  $CCl_4$  в дозе 1,28 мл/кг сопровождалось значительным повышением содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени отравленных мышей по сравнению с группой интактных животных: концентрации МДА, диеновых конъюгатов и оснований Шиффа возросли в 3,3 раза.

Курсовое профилактическое введение природных фосфолипидов в дозе 50 мг/кг животным до моделирования токсического гепатита ограничивало накопление первичных и вторичных продуктов липопероксидации. Содержание МДА снижалось в 2,3 раза, диеновых конъюгатов в 2 раза и оснований Шиффа в 1,8 раза по отношению к показателям в группе мышей, подвергнутых интоксикации ТХМ, но не достигало при этом уровня концентрации продуктов ПОЛ в контрольной группе. Восстанавливая нормальную структуру мембран, гепатопротекторы фосфолипидной природы уменьшают доступ свободным радикалам и реакционным метаболитам – продуктам биотрансформации гепатотоксинов, а также активным формам кислорода вглубь мембран, к полиеновым жирным кислотам, что позволяет остановить цепной свободнорадикальный процесс повреждения мембран [5].

Экстракт виноградной косточки также способствовал снижению интенсивности процессов липопероксидации в печени при интоксикации ТХМ, уменьшая содержание МДА, диеновых конъюгатов и оснований Шиффа соответственно в 2,2, 2,5 и 2 раза.

Несмотря на то, что экстракт бадана толстолистного содержит в своем составе вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, процессы липопероксидации на модели острого токсического гепатита в группе животных, защищенных данным экстрактом, были значительно усилены, что выражалось в увеличении содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиффа в 1,3 раза и МДА в 1,7 раза по сравнению с показателями животных с  $CCl_4$ -гепатитом.

Изучение функционального состояния митохондрий печени мышей при интоксикации ТХМ показало существенное ингибирование как НАД-, так и сукцинатзависимой энергопродукции, что подтверждалось снижением скоростей дыхания митохондрий во всех метаболических состояниях при

окислении как эндогенных, так и экзогенных субстратов.

Наличие кинетического энергодефицита и ингибирование сукцинатзависимой энергопродукции в исследуемой группе животных подтверждалось сохранением значительного замедления времени фосфорилирования добавленной АДФ относительно контроля. Известно, что развитие активации СДГ при экстремальных и патологических воздействиях на организм может сопровождаться компенсаторным ограничением активности СДГ [3]. Использование изолимонной кислоты, являющейся активатором СДГ, уменьшило торможение фермента ( $V_3$  возросло на 21 %).

Ингибиторный анализ с применением конкурентного ингибитора СДГ малоната и ингибитора аминотрансфераз – АОА показал под действием ТХМ увеличение вклада окисления эндогенной ЯК и реакций переаминирования в дыхательную активность органелл при окислении НАД-зависимых субстратов. Вероятно, процесс преимущественного окисления эндогенной ЯК носит компенсаторный характер и отражает особенность метаболической регуляции цикла Кребса в условиях измененного под влиянием интоксикации состояния митохондрий [3]. При этом при утилизации субстратов всех типов одновременно отмечалось разнонаправленное изменение величин ДК, АДФ/О, что свидетельствует о нарушении метаболического контроля дыхания и разобщении окислительного фосфорилирования. Судя по полученным данным, выбранная нами модель интоксикации формирует в системе энергопродукции печени истощение адаптивных реакций [1, 4].

Исследование функциональной активности митохондрий печени мышей, защищенных экстрактом природных фосфолипидов до моделирования токсического гепатита, выявило нормализацию как НАД-, так и сукцинатзависимой энергопродукции, что подтверждалось увеличением скоростей дыхания митохондрий во всех метаболических состояниях и снижением времени фосфорилирования добавленной АДФ относительно значений группы отравленных животных. Однако увеличение скоростей дыхания не достигало нормальных показателей, и сохранялась некоторая разобщенность окислительного фосфорилирования.

Хотя флавоноидсодержащие экстракты обладают антиоксидантными свойствами, это не обеспечивало полноценную сохранность функционирования митохондрий печени при интоксикации ТХМ. Так, несмотря на укорочение времени фосфорилирования добавленной АДФ и увеличение коэффициента ДК, наблюдалось значительное повышение скоростей дыхания при низкой степени сопряженности окислительного фосфорилирования, что было особенно выражено при профилактической терапии экстрактом виноградной косточки. Возможно, падение сопряженности окислительного фосфорилирования

компенсируется высокими скоростями дыхания. Характер выявленных изменений в системе энергопродукции печени указывает на развитие низкоэнергетического сдвига ( $V_{40} < V_{4n}$ ), связанного с повышением проницаемости мембран митохондрий к  $H^+$  и разобщением окислительного фосфорилирования [7].

Таким образом, экстракт виноградной косточки обеспечивает антирадикальную защиту, предупреждая развитие специфического действия ТХМ; мембранопротектор фосфолипидной природы, оказывая стабилизирующее действие на мембраны, способствует нормализации биоэнергетических процессов. Результаты проведенного исследования указывают на целесообразность комплексного применения препаратов с различными механизмами действия, при котором можно ожидать более эффективной защиты при токсическом поражении печени.

#### Литература

1. Актуальные проблемы экспериментальной и клинической фармакологии / Под ред. В.А. Хазанова. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001.
2. Блюгер А.Ф., Майоре А.Я. // Успехи гепатологии. Рига, 1986. вып 7. С. 11–16.
3. Кондрашова М.Н. // Биохимия. 1991. №3. С. 388–405.
4. Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под ред. В.А. Хазанова. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2002.
5. Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты / Под ред. В.А. Хазанова. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004.
6. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1978.
7. Хазанов В.А. Роль системы окисления янтарной кислоты в энергетическом обмене головного мозга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 1993.
8. Хазанов В.А., Трифонова О.Ю., Смирнова Н.Б. Препараты – регуляторы энергетического обмена: Теоретическое обоснование и опыт клинического применения в кардиологии. Томск, 2002.
9. Chance B.C., Williams G.R. // Adv. Enzymol. – 1956. – Vol. 17. – P. 65–134.

Плаксина А.Г., Высокогорский В.Е., Чернышев А.К.

#### **ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИЗМА ПРОТЕОГЛИКАНОВ В ДИНАМИКЕ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА**

*ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Росздрава», г. Омск*

Гнойно-воспалительные заболевания являются одними из самых распространенных видов патологии детского возраста, отличаются тяжелым течением и сопровождаются высокой частотой неблагоприятных исходов(1). Развитие данной патологии затрагивает практически все органы и системы организма, в том числе и соединительную ткань. Компоненты последней принимают активное участие как в предупреждении



проникновения бактериальных агентов(2,3), передаче сигнальных взаимодействий между клетками неспецифической и специфической иммунной защиты(4), в связывании патогенов и токсических продуктов, а так же в репарации поврежденного участка(3,5).

Для выявления особенностей обмена протеогликанов в динамике гнойно-воспалительных заболеваний у детей раннего возраста исследовали сыворотку крови детей раннего возраста (до 3 лет) в первые 5 дней нахождения в стационаре (исследуемая группа). Состояние детей исследуемой группы оценивалось как тяжелое и крайне тяжелое. Контрольную группу составили 15 практически здоровых детей.

Определение количества глюконовой кислоты (ГК) и гликозаминогликанов (ГАГ) проводилось с помощью карбазольной реакции Дише в модификации Шараева П.Н. (1990).

Для статистической обработки результатов использовались непараметрические критерии (медиана, нижний и верхний квартили, критерий Манна-Уитни- рU) с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что развитие инфекционных осложнений сопровождается увеличением количества ГК с максимальными показателями на 2 и 3 дни нахождения в стационаре на 193,8% и 225% соответственно, с постепенным снижением к 5 дню (табл.1).

Концентрация ГАГ повышена в сыворотке крови, начиная с 1 дня нахождения в стационаре, с максимальным значением на 4 день – 247,9% (табл.2)

Полученные данные могут свидетельствовать о том, что в процессе возникновения и развития гнойно-воспалительных осложнений происходит деструкция основного вещества межклеточного матрикса,

компоненты которого, вероятно, поступают как из гнойно-воспалительного очага, так и образуются из компонентов сосудистого русла.

Причем ГАГ как более крупные структуры появляются в крови с начала развития патологического процесса и в разгар заболевания их количество максимально. При выраженных клинических проявлениях гнойного процесса происходит также максимальное увеличение количества ГК в сыворотке крови, которая может быть продуктом выраженного распада ГАГ.

#### Выводы

1. При развитии гнойно-воспалительных заболеваний у детей раннего возраста отмечается увеличение в сыворотке крови концентрации компонентов протеогликанов.

2. Максимальное количество ГК и ГАГ в сыворотке крови соответствует выраженным клиническим проявлениям гнойно-воспалительного процесса у детей раннего возраста.

#### Литература

1. Цуман В.Г. Гнойно-септические осложнения острых хирургических заболеваний у детей/ Цуман В.Г., Машков А.Е. - М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005.- с.9

2. Menozzi F.D. Enhanced bacterial virulence through exploitation of host glycosaminoglycans/ Menozzi F.D. // Mol.Microbiol.- 2002.- Vol. 43, №6.- p.1379-1386.

3. Серов В.В. Соединительная ткань/ Серов В.В., Шехтер А.Б.- М.: «Медицина», 1981.- с. 8, с. 78.

4. Mulloy B. Citokines and proteoglycans./ Mulloy B., Rider C.C.// Biochem. Soc. Trans.-2006.- Vol. 34, Pt.3 - p.409-413.

5. Jiang D. Hyaluronan in tissue injury and repair./ Jiang D., Liang J., Noble P.W.// Annu. Rev. Cell Dev. Biol.- 2006.- p. 8.

Табл.1.

Концентрация глюконовой кислоты (ммоль/л) в сыворотке крови детей в различные сроки гнойно-воспалительных заболеваний

День пребывания в стационаре	n	Me	L.q.	H.q.	pU
1	7	<b>0,234</b>	0,084	0,702	0,94
2	<b>10</b>	<b>0,372</b>	0,228	1,008	0,016
3	<b>9</b>	<b>0,432</b>	0,312	0,610	0,017
4	<b>8</b>	<b>0,312</b>	0,072	0,444	0,79
5	<b>9</b>	<b>0,294</b>	0,108	0,710	0,47
Контрольная группа	<b>15</b>	<b>0,192</b>	0,144	0,348	

Примечание: Me - медиана, L.q.- нижний квартиль, H.q.-верхний квартиль, n- количество случаев, значение pU в сравнении с показателями контрольной группы.

Табл.2.

Показатели гликозаминогликанов (ммоль/л) в различные сроки гнойно-воспалительных заболеваний

День пребывания в стационаре	N	Me	L.q.	H.q.	pU
1	7	<b>1,470</b>	0,864	1,755	0,002
2	<b>10</b>	<b>1,27</b>	1,010	1,901	<0,0001
3	<b>9</b>	<b>1,342</b>	1,240	2,477	<0,0001
4	<b>8</b>	<b>1,500</b>	1,152	2,590	<0,0001
5	<b>9</b>	<b>0,691</b>	0,470	1,150	0,28
Контрольная группа	<b>15</b>	<b>0,605</b>	0,432	0,835	

Примечание: Me - медиана, L.q.- нижний квартиль, H.q.-верхний квартиль, n- количество случаев, значения pU в сравнении с показателями контрольной группы.

Сарварова Н.З., Кулагина И.Г., Иванова Г.В.  
**ОКСИДАЗОТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ  
 ЛИПИДОВ КАК ФАКТОРЫ ЭНДОГЕННОЙ  
 ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ПСОРИАЗЕ**

ОАО «Косметологическая лечебница», г.Уфа  
 ГОУ ВПО «Башгосмедуниверситет Росздрава», г.Уфа

Оксид азота (NO) и активные формы кислорода: супероксидный анион, гидроксильный радикал, синглетный кислород и другие характеризуются высокой химической реактивностью. При их взаимодействии образуются стойкие, токсичные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>) во многом определяющие степень выраженности эндотоксикоза при окислительном стрессе [9]. Высокий уровень NO оказывает прямое цитотоксическое и иммуногенное действие, индуцируя повреждения ДНК и мутацию, ингибируя функции ферментов, вызывая нарушения клеточных структур, интенсификацию апоптоза [2, 3]. Активные формы кислорода и продукты ПОЛ вызывают нарушение проницаемости клеточных мембран, повреждают внутриклеточные органеллы, нарушают метаболизм как основу эндогенной интоксикации. Ранее было установлено, что у больных псориазом в зависимости от распространенности поражения кожи и тяжести течения воспалительного процесса (PASI) наблюдается накопление в плазме крови и на эритроцитах молекул средней массы и олигопептидов, как субстратов эндотоксикоза [7].

**Целью** данного исследования явилось изучение содержания конечных продуктов оксида азота нитрата – нитрита (NO<sub>x</sub>) и уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ у больных с различной тяжестью течения псориаза.

**Материал и методы.** Исследования проведены на больных с псориазом в прогрессирующей стадии.

Больные в зависимости от площади поражения кожи и тяжести течения болезни были разделены на 3 группы: в 1-ю были включены пациенты с площадью поражения до 10% кожи (PASI 14,1±3,8); во 2-ю – более 10% (PASI 19,6±3,6) и в 3-ю – наиболее тяжелые с осложненным течением заболевания (пустулезная форма, эритродермия, артропатия), PASI 47,2±7,8. В плазме крови исследовали содержание NO<sub>x</sub> [4], первичных – ацилгидроперекиси (АГП), вторичных - кетодиены и сопряженные триены (КД и СТ) [1] и ТБК – активных продуктов [6].

**Результаты и обсуждение.** Как видно из данных таблицы, содержание NO<sub>x</sub> в плазме крови больных псориазом повышается с увеличением индекса PASI (r=0,64±0,032). Максимальное повышение содержания конечных стабильных продуктов оксида азота наблюдается у пациентов третьей группы с тяжелым и осложненным течением болезни.

Исследования интенсивности ПОЛ, оцениваемое по содержанию первичных и вторичных продуктов липопероксидации, выявило, что у всех групп больных наблюдается увеличение их уровня как в гептановой фазе липидного экстракта, характеризующей в основном состояние нейтральных липидов, так и в изопропанольной фазе, концентрирующей преимущественно дифильные липиды (фосфолипиды, сфинголипиды и др.). В то же время определенной зависимости накопления продуктов ПОЛ от величины индекса PASI не обнаруживалась.

Оксид азота, как одна из реактивных форм кислорода, играет важную роль в механизмах инициации окислительного стресса. У здоровых лиц обнаружена достоверная отрицательная корреляционная связь между параметрами NO<sub>x</sub> и малонового диальдегида, однако при окислительном стрессе происходит нарушение этой взаимосвязи поскольку обнаруживается повышение и малонового

**Содержание конечных стабильных продуктов оксида азота и продуктов ПОЛ  
 в плазме крови у больных псориазом в прогрессирующей стадии**

Показатели	Группы обследуемых			
	Контрольная, n=27	1-я, n=22	2-я, n=21	3-я, n=21
NO <sub>x</sub> , мкмоль/л	27,3±2,82	40,1±4,47 P<0,02	48,7±3,74 P<0,001	59,9±3,90 P<0,001
АГП, е.с.о., гептановая фаза	0,67±0,021	0,83±0,054 P<0,02	0,77±0,067 P>0,05	0,77±0,048 P>0,05
КД и СТ, е.с.о., гептановая фаза	0,31±0,011	0,42±0,031 P<0,001	0,49±0,028 P<0,001	0,45±0,027 P<0,001
АГП, е.с.о., изопропанольная фаза	0,81±0,052	0,88±0,038 P>0,5	0,87±0,046 P>0,5	0,95±0,043 P<0,05
КД и СТ, е.с.о., изопропанольная фаза	0,38±0,022	0,38±0,022 P=0	0,44±0,031 P>0,1	0,49±0,033 P<0,01
ТБК – активные продукты	3,14±0,15	3,46±0,28 P>0,1	3,84±0,23 P<0,001	4,49±0,36 P<0,001

Примечание: P- различия с контролем, е.с.о. – единица степени окисленности

диальдегида,  $\text{NO}_x$  [2]. По результатам наших исследований у больных распространенным вульгарным псориазом и осложненным или тяжелым течением болезни также наблюдается статистически значимое повышение  $\text{NO}_x$  и ТБК – активных продуктов, что, с большей долей вероятности, свидетельствует о развитии у больных псориазом окислительного стресса и подчеркивает участие  $\text{NO}$  и продуктов ПОЛ в развитии эндогенной интоксикации при псориазе.

На дисбаланс в системе ПОЛ – антиоксиданты у больных псориазом указывают большинство авторов, исследовавших эти процессы и характер обмена липидов. Резкое повышение интенсивности кислородзависимых реакций и развитие гипоксии, активация фосфолипазы  $\text{A}_2$ , изменения содержания арахидоновой кислоты и другие нарушения липидного обмена при псориазе определяют благоприятные условия для активации липопероксидации, что приводит к повышению в коже концентрации свободных радикалов более, чем в 3 раза [6]. В то же время в литературе имеются данные, которые позволяют псориаз характеризовать как процесс воспаления в условиях выраженности систем антиокислительной защиты и повышенной экспрессии апоптозных рецепторов [8].

Таким образом, псориаз характеризуется усилением продукции  $\text{NO}$  и накоплением в крови продуктов ПОЛ, которые могут иметь существенное значение в сдвиге метаболических процессов и развитии эндогенной интоксикации.

#### Литература

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И. и др. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск: Изд-во ЧГПУ, 2000. – 167с.
2. Голиков П.П. Оксид азота при неотложных состояниях. – М.: ИД Медпрактика. – М., 2004. – 180с.
3. Голиков П.П., Николаев Н.Ю. и др. / Токсикологический вестник. – 2002. - № 6. – с.9-14.
4. Емченко Н.Л., Цыганенко О.И., Ковалевская Т.В. / Клин. лаб. диагностика. – 1994. - № 6. – с.19-20.
5. Задорожный Б.А., Адольф Е.В., Шевченко В.П. / Вестн. дерматол. и венерол. – 1973. - № 5. – с. 25-28.
6. Карпищенко А.И., Антонов В.Г., Бутенко А.Б. и др. Медицинские технологии: справочник /Под ред. А.И. Карпищенко – СПб.: Интермедика, 1999. – т.2. – с.100.
7. Сарварова Н.З., Капулер О.М. и др. / Вестник Уральской мед. академ. Науки. – 2006. - № 3 (1). – с. 215-218.
8. Шилов В.Н. Псориаз – решение проблемы (этиология, патогенез, лечение). – М.: Издатель В.Н. Шилов, 2001. – 304с.
9. Jonson M.L., Billiar T.R. / World J. Surg. – 1998. – v.22. – p. 187-196.

Сергеева Е.Ю., Титова Н.М., Щербинина А.С., Сергеев Н.В.

#### РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ С АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМОЙ ЭРЛИХА НА ДЕЙСТВИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ПОСТОЯННОГО И НИЗКОЧАСТОТНОГО ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

ГОУ ВПО «Красноярская государственная медицинская академия Росздрава»  
ГОУ ВПО Сибирский федеральный университет,  
г. Красноярск

В последнее время очень остро стоит проблема опухолевых заболеваний. Изучается влияние целого ряда физических факторов на опухолевый рост. К числу таких факторов относятся магнитные поля. В экспериментальной биологии и практической медицине накоплено множество информации об эффектах магнитных полей. В частности, зафиксирован эффект влияния магнитных полей на симпатoadреналовую систему и двигательную активность миоцитов, уровень глутатиона, высшую нервную деятельность [Prolic Z., 2005; Mostert S., 2005; Jelenkovic A., 2005] Обилие гипотез по этой проблеме свидетельствует, скорее, о ее нерешенности, чем о достаточном уровне понимания механизмов взаимодействия живого с естественными и искусственными магнитными полями [Беркутов А.М., 2000].

Изучение организма на квантовом уровне показывает, что химические реакции, протекающие в условиях *in vivo*, имеют много общего с «пробирочными» реакциями, а механизмы действия магнитных полей на живой организм основаны на адекватном изменении энергии химических связей в биологических процессах. Результатом химических реакций, как правило, является превращение молекул одних веществ в другие за счет перестройки электронных оболочек ядер. Физические механизмы влияния магнитных полей связаны с вероятностью протекания элементарных химических актов, когда в результате химических превращений, вследствие распаривания электронов, появляются свободнорадикальные продукты реакции с некомпенсированными спинами. Переход между различными спиновыми состояниями пары возможен в случае воздействия внешним магнитным полем, тем самым изменяется вероятность течения химических реакций и, как следствие, имеет место проявление тех или иных магнитобиологических эффектов [Беркутов А.М., 2000].

Методика исследования

В наших экспериментах мы изучали комбинированное влияние слабых постоянного магнитного поля и переменного магнитного поля на активность антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (GST) у мышей с асцитной карциномой Эрлиха (АКЭ).

В работе использовались белые беспородные мыши, весом 18-20 граммов. Мышам инокулировали внутрибрюшинно  $1 \times 10^7$  клеток АКЭ в 0,2 мл раствора Хенкса. Животные были разделены на две группы: контрольную и опытную. В течение 5 суток на животных опытной группы воздействовали магнитными полями. Длительность облучения составляла (ежедневно) 1 час.

Магнитные поля создавались с помощью экспериментальной установки, состоящей из генератора сигналов, усилителя-регулятора сигнала с градуировкой по индукции переменного магнитного поля, источника постоянного тока стабилизированного, блока создания сочетания постоянного магнитного поля с интенсивностью 25 мкТл с переменным магнитным полем частотой 3,12 Гц и интенсивность 5 мкТл.

Активность антиоксидантных ферментов определяли в асцитных клетках, гомогенатах печени и костного мозга. Печень и костный мозг извлекали и гомогенизировали в стеклянной ступке электрическим гомогенизатором с тефлоновым пестиком при 3000 об/мин. В качестве среды гомогенизации использовали 0,9%-ый раствор NaCl. Гомогенат печени разводили в 4 раза, костного мозга – в 67 раз. Опухолевые клетки отделяли от асцитной жидкости центрифугированием при 3000 об/мин в течение 15 минут и далее гомогенизировали при вышеназванных условиях. Гомогенат опухолевых клеток разводили в 4 раза.

Активность СОД определяли по степени ингибирования реакции автоокисления адреналина в щелочной среде в присутствии фермента. [Сирота Т.В., 1999]. Об интенсивности автоокисления адреналина судили по динамическому нарастанию поглощения при длине волны 347 нм, обусловленному накоплением продукта окисления, опережающим по времени образование адренохрома с максимумом поглощения при 480 нм.

Метод определения активности каталазы основан на образовании окрашенного в желтый цвет комплекса неразрушенного в ходе каталазной реакции пероксида водорода с молибдатом аммония, интенсивность окраски которого регистрировалась на ФЭКе при длине волны 400 нм [Королюк М.А., 1988].

Мерой активности ГПО является скорость окисления восстановленного глутатиона (ГSH) в присутствии t-бутилгидропероксида [Beutler E., 1990]. Концентрацию ГSH до и после инкубации определяли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 412 нм. В основе развития цветной реакции лежит

взаимодействие SH-групп восстановленного глутатиона с 5,5'-дитио(бис)-нитробензойной кислотой (ДТНБК) с образованием окрашенного продукта – тионитрофенильного аниона. Количество последнего прямо пропорционально количеству SH-групп восстановленного глутатиона, прореагировавших с ДТНБК.

Метод определения активности глутатион-S-трансферазы основан на скорости образования глутатион-S-конъюгатов между ГSH и 1-хлор-2,4-динитробензолом (ХДНБ). Увеличение концентрации конъюгатов регистрировали спектрофотометрически при длине волны 340 нм [Beutler E., 1990].

Результаты исследований оценивали непараметрическим критерием Манна-Уитни с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты исследования

Данные наших экспериментов показывают, что активность СОД в клетках асцитной карциномы Эрлиха при действии комбинированных постоянного и переменного магнитных полей возрастала в 3,7 раза ( $p < 0,05$ ), активность же этого фермента в клетках печени и костного мозга достоверно не увеличивалась (Таблица 1).

Активность каталазы определялась только в гомогенате печени мышей-опухоленосителей. Действие магнитных полей с данными параметрами приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) увеличению активности этого фермента от  $9,00 \pm 0,86 \times 10^3$  мкат./г белка в контроле до  $11,40 \pm 0,80 \times 10^3$  мкат./г белка в опытном образце ( $n = 15$ ). Таким образом, активность каталазы в клетках печени увеличивалась в 1,3 раза.

Результаты исследования активности глутатионпероксидазы приведены в таблице 2.

Действие магнитных полей с данными параметрами приводило к достоверному увеличению активности этого фермента в печени в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ); в костном мозге в 1,5 раз ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями в соответствующих тканях у контрольных животных; в асцитных клетках зафиксирована тенденция к увеличению активности этого фермента.

В таблице 3 приведены данные по активности глутатион-S-трансферазы в гомогенате печени и асцитных клетках. Установлено достоверное увеличение активности этого фермента в печени в 3,1 раза ( $p < 0,05$ ); в асцитных клетках в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ); по сравнению с контрольными величинами.

Таблица 1

Изменение активности супероксиддисмутазы в гомогенатах асцитных клеток, клеток печени и костного мозга мышей с асцитной карциномой Эрлиха при действии комбинированных слабых постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей ( $n = 15$ )

Вид воздействия	Клетки печени усл.ед./г ткани	Клетки костного мозга усл.ед./г ткани	<b>Асцитные клетки</b> усл.ед. $10^{-5}$ /клетку
<b>Контроль</b>	182,00±1,63	154,29±9,76	0,120±0,028
Магнитные поля	183,40±1,79	155,31±8,16	0,440±0,017

Таблица 3

Изменение активности глутатион-S-трансферазы в гомогенате печени и асцитных клетках мышей с асцитной карциномой Эрлиха при действии комбинированных слабых постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей (n = 15)

Вид воздействия	Клетки печени, мкмоль/мин г белка	Асцитные клетки, мкмоль/мин г белка
Контроль	61,2±0,66	36,6±0,12
Магнитные поля	190,5±0,77	61,3±0,47

Следовательно, действие комбинированных слабых постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей приводило к повышению активности ферментов антиоксидантной системы в клетках асцитной карциномы Эрлиха, клетках костного мозга и гепатоцитах мышей – опухоленосителей, что может являться показателем повышения продукции свободных радикалов при действии магнитных полей с данными параметрами.

Известно, что активные формы кислорода вызывают клеточную гибель. Получены данные, что ряд веществ, например, кальцивин, мотексафин галодиниум способны повышать продукцию АФК

4. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов/ К.Т. Турпаев. // Биохимия.– 2002.– Т 67.– вып. 3.– С. 339– 352.» 2

5. Beutler E. Red cell metabolism. A manual of biochemical methods./ E Beutler // New-York, London, Tokyo: Grun & Stratton, 1990.-118 p.6

6. Evens A.M. Motexafin gadolinium generates reactive oxygen species and induces apoptosis in sensitive and highly resistant multiple myeloma cells/ A.M. Evens, P. Lecane, D. Magda et al. //Blood, Feb 2005; 105: 1265 - 1273.9

7. Jelenkovic A. The Effects of Exposure to Extremely High Frequency Electromagnetic Fields on the Effect of

Изменение активности глутатионпероксидазы в гомогенатах асцитных клеток, клеток печени и костного мозга мышей с асцитной карциномой Эрлиха при действии комбинированных слабых постоянного и низкочастотного переменного магнитных полей (n = 15)

Вид воздействия	Клетки печени, мкмоль/мин г белка	Клетки костного мозга, мкмоль/мин г белка	Асцитные клетки, мкмоль/мин г белка
Контроль	63,3±0,16	61,0±0,34	54,3±0,33
Магнитные поля	144,40±0,80	190,7±0,54	60,4±0,14

2 [Moungjaroen J., 2005]. Известно, что незначительно выраженный окислительный стресс является причиной апоптоза, при выраженном же окислительном стрессе происходит некротическая гибель клетки, следовательно, зафиксированное нами увеличение активности ферментов антиоксидантной системы свидетельствует об увеличении продукции активных форм кислорода при действии магнитных полей, что, в свою очередь, может инициировать любой из путей клеточной гибели [Турпаев К.Т.,2002; Tan S ,1998].

Литература

1. Беркутов А.М. Системы комплексной электромагнитотерапии / А.М Беркутов., Жулев Г.А., Кураев Г.А. и др. - М.: Бином.– 2000.- С. 1-45. 3

2. Королук М.А. Метод определения активности каталазы/М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова //Лабораторное дело.-1988.-№.1.-С.16-17 1

3. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т.В Сирота // Вопр. мед. химии.- 1999 № 3.- 4

Table 2. Effect of extremely high frequency electromagnetic fields on the effect of ketamine on the

8. Ling T. Acute cardiac injury without circulatory shock causes cardiomyocyte apoptosis: role of reactive nitrogen and reactive oxygen species / T Ling, L. Hui-Rong, F. Gao et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol, Jun 2005; 288: H2811 - H2818.8

9. Lu H. Reactive Oxygen Species Elicit Apoptosis by Concurrently Disrupting Topoisomerase II and DNA-Dependent Protein Kinase / H.Lu, Z. Hong, H.Min et. al. // Mol. Pharmacol., Oct 2005; 68: 983 - 994.7

10. Mostert S. Effect of pulsed magnetic field therapy on the level of fatigue in patients with multiple sclerosis - a randomized controlled trial / S. Mostert, J. Kesselring // Multiple Sclerosis, Jun 2005; 11: 302 - 305.12

11. Moungjaroen J. Reactive Oxygen Species Mediate Caspase Activation and Apoptosis Induced by Lipoic Acid in Human Lung Epithelial Cancer Cells through Bcl-2 Down-Regulation / J. Moungjaroen, U. Nimmannit, P. S. Callery et. al. //J. Pharmacol. Exp. Ther., Dec 2006; 319: 1062 - 1069.10

12. Prolic Z. The Effect of Extremely Low-Frequency Magnetic Field on Motor Activity of Rats in the Open Field / Z. Prolic, B. Janac, V. Pelic et al. // Ann. N.Y. Acad. Sci., Jun 2005; 1048: 381 - 384.11

13. Tan S The regulation of reactive oxygen species production during programmed cell death / S. Tan., Y.Sagara, Y.Liu et al. // J. Cell Biol. – 1998. – N. 6. – Vol. 141. – P. 1423 – 1432.5

Соцкова В.А., Романова Т.С., Иванова Е.Н  
**ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЗАВИСИМЫЕ ОТКЛОНЕНИЯ  
 НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ**

МУЗ «Городская поликлиника № 1»,  
 «Инфекционная больница», г. Стерлитамак

Формирование любой патологии при воздействии агрессивных факторов среды обитания имеют определенную временную шкалу и появление клинической симптоматики тех или иных болезней предшествует период скрытых от внешних проявлений глубинных метаболических изменений, связанных с адаптационными реакциями. Одним из важнейших направлений развития медико – биологических исследований является изучение механизмов взаимодействия организма на разных уровнях его организации с различными агентами химической, физической и биологической природы и научное обоснование критериев оценки предпатологических состояний.

В связи с этим, было проведено изучение некоторых биохимических и клинико-лабораторных показателей как биологических маркеров адаптации у практически здоровых детей региона повышенного техногенного напряжения, к которым относится и г. Стерлитамак.

Для исследования были отобраны 80 учащихся 1-3 классов школы-интерната г. Стерлитамака, располагающегося в 2,5-3-х километрах от северной промышленной зоны, включающей крупнотоннажные химические и нефтехимические предприятия и два ТЭЦ. Дети были в возрасте 7-11 лет, не имеющие хронических заболеваний (1-2 групп здоровья), родившиеся в городе и с рождения, проживающие в данном регионе, в том числе 57 мальчиков и 53 девочки. Контрольную группу составили 30 детей 1-3 классов школы посёлка Шах-гау, расположенного в 11 км за чертой города, в том числе 10 мальчиков и 20 девочек. Поскольку существенных половых различий в этом возрасте у детей не выявляется, они были объединены в единые группы независимо от пола.

Результаты исследования некоторых биохимических показателей представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, у детей г. Стерлитамака выявлялась определённая специфика показателей белкового обмена. Особенностью является отчётливое смещение медианы их содержания преимущественно в сторону повышения или понижения на фоне диапазонов колебаний в пределах нормы.

В частности, определение такого традиционного для клинической практики показателя как содержание общего белка сыворотки крови показало, что среднее его значение у жителей г. Стерлитамака его равно  $67,8 \pm 2,73$  г/л, что несколько ниже, чем у детей посёлка Шах-гау. Значительный вклад в тенденцию к развитию гипопроteinемии вносило уменьшение содержания альбумина равное в среднем  $38,1 \pm 1,06$  г/л при уровне у контрольной группы  $41,3 \pm 1,62$  г/л. Анализ других показателей, характеризующих состояние белкового обмена, свидетельствует об общей тенденции в сторону снижения. Это характерно для мочевины и креатинина. Не исключено, что в связи с активным воздействием факторов техногенного загрязнения на организм, происходит депрессия белоксинтезирующих систем, проявляющихся в тенденции к снижению, как общего белка сыворотки крови, так и альбуминов. Поскольку около 80% сывороточных белков, включая альбумин, имеют печеночное происхождение, можно предположить о гепатотропном эффекте действующих в окружающей среде г. Стерлитамака токсикантов. Эта вероятность усиливается, если принять во внимание использование на таких промышленных гигантах химического производства, как «Сода», «Каучук», «Каустик» преимуществ методов хлорорганического синтеза с выбросом в атмосферу хлорсодержащих алифатических, ароматических и полициклических углеводов. Генетически не запрограммированный поток разнообразных токсических соединений, исчисляется десятками килограммов, обезвреживанию подвергаются в основном в печени. Поступая в печень, они способствуют развитию деструктивных процессов в гепатоцитах с затратой значительной доли энергетических и пластических ресурсов, расходом эндогенного биологического материала. О более напряжённом функционировании печени у детей промышленного города свидетельствует и более высокая концентрация общего

Таблица 1

Уровень некоторых биохимических показателей в сыворотке крови детей основной и контрольной групп ( $M \pm m$ )

Показатели	Группы обследованных		Физиологические колебания по литературе [8]
	Контрольная, n=30	Основная, n=70	
Общий белок, г/л	$72,4 \pm 3,42$	$67 \pm 2,73$ P<0,1	62,0-80,0
Альбумин, г/л	$41,3 \pm 1,62$	$38,1 \pm 1,06$	35,0-50,0
Креатинин, мкмоль/л	$69,0 \pm 2,8$	$65 \pm 2,6$	27-62
Билирубин общ., мкмоль/л	$12,8 \pm 0,11$	$14,6 \pm 0,08$	3,4-17,1
Мочевина, мкмоль/л	$7,0 \pm 0,19$	$6,3 \pm 0,12$	2,5-8,3
Молекулы средней массы, г/л	$0,48 \pm 0,017$	$0,57 \pm 0,009$	$0,53 \pm 0,02$

билирубина, о сравнению с данным показателем у контрольной группы ( $P < 0,01$ ).

В литературе имеются сведения о снижении общего белка и альбуминов у лиц, имеющих контакт с химическими поллютантами [1,2,3]. При этом отмечается снижение эффективной связывающей способности альбумина. Неблагоприятный экологический фон, определяющий интенсивное поступление токсикантов, приводит к насыщению этого транспортного белка ксенобиотиками, конкурирующими за центры связывания в полидоменной структуре альбумина с эндогенными субстратами (высшие жирные кислоты, билирубин, тиреоидные гормоны, ионы металлов и другим ион-молекулярным материалом), переносимыми в норме альбумином. При снижении потенциальной экранирующей функции альбумина, его барьерной роли, дальнейшее поступление экотоксикантов в организм открывает непосредственный доступ к тканям и органам, и создаются условия для реализации их негативного действия на организм.

О деструктивном действии экотоксикантов на белковый обмен свидетельствует и нарастание концентрации молекул средней массы, являющихся индикаторами эндотоксемии. Так, уровень олигопептидов и других молекул средней массы (МСМ) в сыворотке крови детей, проживающих в экологически напряжённом районе, составил  $0,57 \pm 0,02$  г/л, против  $0,48 \pm 0,01$  г/л в контрольной группе ( $P < 0,001$ ). По данным ряда авторов [1,3,7], проживание в районах техногенного напряжения, длительный контакт с токсикантами ведёт к развитию хронической токсемии, показателем чего служит увеличение содержания олигопептидов средней молекулярной массы. Деформирование экотоксикантами биомолекулы изменяют свои нативные свойства, приобретают признаки чужеродности, что с одной стороны, активизирует процессы их деградации, а, с другой, вносит определённый вклад в процессы аллергизации организма, является постоянной составляющей в механизмах общеповреждающего действия химических веществ.

Другой причиной, приводящей к повышению содержания в крови МСМ, может быть изменения функциональной деятельности мочевыводящей системы. Не исключено, что выведение трансформированных организмом и нативных токсикантов ведёт к повреждению тонких механизмов деятельности почек. Так было установлено, что патология урогенитальной системы отчётливо зависит от величины общего техногенного загрязнения, а также нефротоксических веществ, как например, соединения ртути, неоднократно выявляемые в атмосфере и других объектах окружающей среды г. Стерлитамака [4].

Эндотоксемия в выраженных случаях приводит к развитию эндогенной интоксикации или патологических изменений в организме, связанные с воздействием токсических продуктов, образующихся

и накапливающихся в результате нарушений вегетативных функций и метаболических сдвигов. Среди веществ, являющихся носителями эндотоксикоза, выделяют промежуточные и конечные продукты метаболизма, регуляторные и другие пептиды, ферменты, амины, нуклеозиды, медиаторы воспаления, продукты перекисного окисления липидов и др. [6,9]. Особое внимание среди этих соединений привлекают МСМ, молекулярная масса которых составляет 500-5000 Да. Химический состав МСМ неоднороден, включает более сотни различных веществ. Это пептиды, компоненты остаточного азота, гликопептиды, липидные компоненты, продукты перекисного окисления липидов, аминоксахара, полиамины, многоатомные спирты и другие вещества. Среди олигопептидов выявлены, по меньшей мере, более 30 регуляторных пептидов с установленной биологической активностью: вазопрессин, окситоцин, когерин, ангиотензины, нейротензин, кортикотропин, глюкагон, кальцитонин, вазоактивный интестинальный пептид, секретин, эндорфины, энкефалины, бета-миотропин, фрагменты А и В-цепи фибриногена, компонентов комплемента и С-реактивного белка, Na-диуретический гормон, нейрокинины, брадикинин, вещество Р, соматостатин, инсулиноподобные факторы роста и другие, а также большая масса нерегуляторных пептидов, являющихся продуктами протеолитической деградации тканевых и плазменных белков [6]. Они обладают высокой биологической активностью. Так, МСМ нарушают микроциркуляцию, проявляют нейротоксическую активность, угнетают процессы биосинтеза белка, подавляют активность ферментов углеводного и энергетического обменов, разобщают процессы окисления и фосфорилирования, нарушают механизмы синтеза нуклеотидов и коферментов, ингибируют механизмы активного транспорта  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , обладают иммуносупрессивным и цитотоксическим действием, психотропными свойствами и др. [5, 9]. Вызываемые эффекты МСМ связаны с взаимодействием с клеточными рецепторами, детергеноподобным действием на липидные структуры биологических мембран с изменением их транспортных, биомеханических микроструктурных и функциональных характеристик [10]

#### Литература

1. Гильмияров Э.М. Показатели гомеостаза полости рта у жителей экологически неблагополучных регионов: Автореф. Дисс. канд. мед наук. Уфа, 1997.-22с.
2. Гильмиярова Ф.Н. Новые возможности и перспективы в диагностике заболеваний и мониторинга здоровья /Ф.Н. Гильмиярова, О.Н. Линева, Э.М. Гильмияров и др.// Неинвазивные методы диагностики: Тезисы докл.2-го симпозиума.- М.,1995.-С. 19-20
3. Гильмиярова Ф.Н. Возможности выявления донозологических нарушений здоровья у жителей экологически неблагоприятных регионов /Ф.Н.

Гильмиярова, В.М. Радомская, Н.И. Гергель и др./ Актуальные вопросы прикладной биохимии и биотехнологии: Материалы конф. Биохимиков Урала и Западной Сибири.- Уфа, 1997.-С.33-34.

4. Даутов Ф.Ф. Заболеваемость населения пиелонефритами на территориях с разным уровнем антропогенной нагрузки /Ф.Ф. Даутов, Ш.Х. Тагиров, Р.Х. Галлиев// Гигиена и санитария.-2002-№1-С.25-27.

5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике /В.С. Камышников - Минск: Беларусь, 2002, -т.2-463 с.

6. Малахова М.Я. Лабораторная диагностика эндогенной интоксикации /М.Я. Малахова// Справочник. Медицинские лабораторные технологии (в 2-томах). Под редакцией А.И. Карпищенко - С.-Петербург; Интермедика, 1999.-т.2.-с. 618-647.

7. Расцветова Н.В. Экспериментальное обоснование возможности оценки повреждающего действия экотоксикантов в модельных опытах: Автореф. Дисс. ... канд. биол. наук.- Уфа, 1997-23 с.

8. Тиц Р.У. (ред.) Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Перевод с англ. М.: Изд-во «Лабинформ», 1997.- 960с.

9. Чаленко В.В. Эндогенная интоксикация в хирургии/ В.В. Чаленко, Ф.Х. Кутушев // Вестник хирургии им. Грекова.-1990.-т.144, №4.-с.3-11.

10. Ringoir S. An update on uremic toxins /S. Ringoir/ /Kind.Jnt/-1997.-vol.52,Suppl.62-p.2-4.

Соцкова В.А., Даминова Ф.Т., Иванова Г.В.,  
Мурзабулатова И.Х.

#### **ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ У ДЕТЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ**

*МУЗ «Городская поликлиника №1», г.Стерлитамак,  
ООО «Проммедэко», «Инфекционная клиническая  
больница № 4», г. Уфа*

Факты негативного влияния факторов окружающей среды в количествах, превышающих адаптационные возможности организма, отмечаются во многих регионах России. Особенно это касается здоровья детской популяции населения. Характерными признаками формирующегося истощения адаптационных возможностей являются донозологические изменения, определяемая у отдельных возрастных групп детей, а также отчетливая тенденция к хронизации заболеваний, рост врожденных пороков развития, онкопатологии, аллергических состояний, нейроэндокринных и других заболеваний [1, 2, 4]. Формированию любой патологии при действии неблагоприятных факторов окружающей среды предшествует период скрытых метаболических и физиологических изменений, связанных с адаптационными реакциями, приспособлением к этим воздействиям. В этой связи основной задачей проведенных исследований явилась донозологическая

диагностика экпатологических состояний, выявление особенностей адаптационных реакций организма ребенка к действию агрессивных химических факторов с использованием биохимических и других биологических маркеров.

Для решения поставленных задач было проведено исследование некоторых биохимических и клинико-лабораторных параметров у 110 детей 7-11 летнего возраста (школьники 1-3 классов) 1 и 2 групп здоровья, проживающих в двух районах с разной техногенной нагрузкой. Обследовано 80 детей школы-интерната г. Стерлитамака, расположенного в 3-х километровой зоне от северной промышленной зоны города, и 30 детей школы пос. Шах-тау, находящегося в 11 км за чертой города и имеющее благоприятное эколого-географическое расположение с позиций среднегодовой розы ветров. При этом для исследования были выбраны неспецифические биомаркеры такие как показатели интенсивности свободнорадикального окисления (СРО) и антиоксидантной защиты.

Для оценки биологического действия химических веществ, стали применяться биофизические методы, в частности хемилюминесцентные (ХЛ), позволяющие исследовать свободнорадикальное окисление (СРО) в организме [3, 5-7, 8, 10, 11].

У детей было проведено исследование интенсивности хемилюминесценции плазмы крови с помощью отечественного хемилюминометра ХЛ–003 (таблица 1).

Результаты исследования показывают, что у школьников 1-3 классов школы – интерната г. Стерлитамака большинство показателей хемилюминесценции отличаются от данных, полученных при исследовании детей того же возраста пригородного поселка Шах-тау (контрольная группа). При этом обращает внимание существенное увеличение значений спонтанной светимости, которое характеризует скорость развития в плазме крови СРО ( $P < 0,001$ ). Амплитуда быстрой вспышки, появляющейся после добавления в среду инкубации, ионов двухвалентного железа – инициатора окисления, возрастает достаточно значительно, характеризуя содержание перекисных продуктов в биологическом материале. Так, уровень  $h$  у детей основной группы составляет по сравнению с контролем 133,8%. Одновременно в плазме крови детей, проживающих в условиях антропогенной нагрузки, более чем в 1,5 раза повышена, и светосумма ХЛ после инициирования СРО ионами  $Fe^{2+}$ .

Таким образом, у детей 7-11 лет, проживающих в г. Стерлитамаке выявляется некоторое усиление процессов свободнорадикального окисления по данным, полученным при исследовании хемилюминесценции плазмы крови.

Показатель, характеризующий состояние антиоксидантной защиты – латентный период после инициирования окисления, у этой группы детей оказался в среднем сниженным до 93,0 % от уровня



контрольной группы.

Для характеристики адаптационных процессов в системе свободнорадикальное окисление – антиоксиданты, учитывая имеющиеся литературные данные [3, 6, 9], было рассмотрено соотношение следующих интегральных показателей хемилюминесценции - светосуммы свечения и периода индукции (длительность латентного периода) или время от окончания быстрой вспышки до начала медленного свечения, зависящего от антиокислительной активности. При этом можно выделить три основных состояния адаптационных процессов: компенсации, характеризующейся усилением окисления и антиокисления или физиологическим уровнем соотношения этих процессов; напряжения, дифференцируемая противоположной направленностью изменений окисления и антиокисления; перенапряжения, заканчивающаяся срывом, ослаблением окисления и антиокисления вплоть до прекращения [5, 6]. Анализ соотношения индивидуальных показателей SFe (светосумма) и R (латентный период) позволил выделить следующие стадии адаптации. В контрольной группе школьников 11,1% обследованных находились в состоянии напряжения, остальные – в стадии компенсации без

существенного увеличения как показателей SFe, так и R. В группе же школьников г. Стерлитамака в стадии напряжения находились 31,8% детей, что в 2,9 раза больше. Среди оставшихся, у 40,9% школьников, показатели хемилюминесценции были в пределах физиологических колебаний, а у 27,3% наблюдалось повышение уровней и светосуммы, и периода латентного. В. Н. Ракитский, Т.В. Юдина [9] предложили методику оценки адаптационных процессов у детей при воздействии антропогенных факторов среды также путем оценки процессов СРО. Авторы в результате многолетних исследований разработали критериальные показатели антиокислительного статуса организма, как характеристики общей резистентности организма, основанного на формировании индуцированной ХЛ в экспирате. Результаты расчетов антирадикального баланса по ХЛ плазмы крови обследованных детей по методике В.Н. Ракитского и Т.В. Юдиной представлены в таблице 2.

Как видно из представленных данных, сравниваемые группы детей, проживающих в городе с антропогенной нагрузкой и контрольном районе, практически не отличаются по индексу радикалообразования (А), однако уровень радикальной

Таблица 1

**Хемилюминесценция плазмы крови (M±m)**

Показатели хемилюминесценции, усл. ед.	Группы детей		t	P
	Контрольная, n=18	Основная, n=22		
Спонтанная светимость, И сп.				
Латентный период, R, сек.	0,90±0,045	1,67±0,113	6,31	<0,001
Амплитуда быстрой вспышки, h.	17,2±0,48	16,0±0,34	2,04	<0,05
Максимальная амплитуда, И макс.	5,27±0,360	7,35±0,441	3,65	<0,001
Светосумма, S Fe, усл. ед/мин.	1,8±0,057	2,08±0,105	1,93	>0,05
	3,83±0,143	5,96±0,288	6,91	<0,001

Таблица 2

**Показатели антирадикального баланса у детей города с развитой химической и нефтехимической промышленностью (M±m)**

Показатели	Группы детей		t	P
	Контрольная, n=18	Основная, n=22		
Спонтанная светимость, И сп., усл. ед.	0,90±0,045	1,67±0,113	6,31	<0,001
Максимальная амплитуда индуцированной ХЛ, И макс., усл. ед.	5,27±0,360	7,65±0,441	3,15	<0,005
Индекс радикалообразования, А	5,05±0,263	4,58±0,224	1,36	>0,1
Время достижения И макс., T <sub>1</sub> , сек.	10,6±0,144	9,9±0,137	1,51	>0,1
Время снижения И макс. наполовину, T <sub>2</sub> , сек	2,0±0,16	3,5±0,18	5,81	<0,001
Уровень радикальной защиты, В, сек.	5,30±0,385	2,82±0,161	5,95	<0,001
Антирадикальный баланс, К	1,05±0,069	0,61±0,042	2,97	<0,005

защиты (В) у детей контрольной группы ( $5,3 \pm 0,385$  сек.) статистически значимо превышает аналогичный показатель у школьников основной группы ( $2,82 \pm 0,161$  сек.). Соответственно происходит и изменение антирадикального баланса. Коэффициент К, у учащихся начальных классов п. Шах-тау, составил  $1,05 \pm 0,069$ , а у их сверстников из г. Стерлитамака, всего  $0,61 \pm 0,042$  ( $P < 0,001$ ).

Согласно, количественных критериев, составившие способ оценки адаптационных ресурсов организма по уровню интегрального показателя резистентности, у детей г. Стерлитамака наблюдается снижение неспецифической резистентности по сравнению со сверстниками из контрольного региона. Это может приводить к формированию в последующем функциональных отклонений в организме. У более, чем 1/3 обследованных детей (36,4%) г. Стерлитамака показатель К был равен и ниже 0,5, что является свидетельством крайней разбалансированности антиокислительной системы на фоне усиления в организме СРО.

Данные, полученные с использованием метода оценки адаптационных процессов по В.Н. Ракитскому и Т.В. Юдиной [9], согласуются с результатами, полученными по оценке состояния процессов адаптации, предложенной Н.Н. Егоровой [5].

Активация свободнорадикального окисления является важнейшей метаболической частью синдрома стресс-адаптация. Изменения соотношения интенсивности течения свободнорадикальных процессов и антиокислительной системы защиты касаются как стадии срочной и долговременной адаптации, так состояния дезадаптации, когда эффективная функциональная система и системный структурный след в ней, характерные для долговременной адаптации, не формируются, и нарушения гомеостаза сохраняются, а стресс – реакция из звена адаптации превращается в звено патогенеза заболеваний [8].

Таким образом, полученные данные хемилуминограмм, с количественной оценкой их основных параметров показало, что у детей, проживающих в г. Стерлитамаке процессы СРО статистически значимо усилены, а антиокислительная защита снижена. Анализ соотношения индивидуальных значений показал, что в контрольном районе в состоянии напряжения (противоположная направленность изменений систем окисления и антиокисления) находились лишь десятая часть школьников начальных классов, а в г. Стерлитамаке их было в 2,9 раза больше.

#### Литература

1. Вельтищев, Ю.Е. Экологически детерминированная патология детского возраста /Ю.Е. Вельтищев /Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 1996. - № 2. – с. 5-12.
2. Вельтищев, Ю.Е. Экология и здоровье детей / Ю.Е. Вельтищев, В.В. Фокеева. – Экология и здоровье

детей. Химическая экопатология. – М., 1996. – 57с.

3. Владимиров, Ю.А. Оценка антиокислительной и антирадикальной активностей веществ и биологических объектов с помощью железоиницированной хемилуминесценции /Ю.А. Владимиров, М.П. Шерстнев, Т.К. Азимбаев // Биофизика. – 1992. – т. 37, № 6. – с. 1041 – 1047.

4. Гичев, Ю.П. Загрязнение окружающей среды и здоровья человека (Печальный опыт России) /Ю.П. Гичев. - Новосибирск, 2002. – 230с.

5. Егорова, Н.Н. О прогнозировании состояний на грани нормы и патологии /Н.Н. Егорова, Р.Р. Фархутдинов, Н.Х. Шарафутдинова //Уральский регион Башкортостана: человек, природа, общество: Матер. Конференции. – Уфа – Сибай, 1995. – с.158.

6. Егорова, Н.Н. Способ прогнозирования ранних патологических изменений при действии загрязнений атмосферы населенных мест /Н.Н. Егорова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Лиховских //Авторское свидетельство на изобретение от 28.01.98г. по заявке № 95107203/14 – 012625 от 04.05.95г.

7. Егорова, Н.Н. Состояние свободнорадикального окисления как критерий гигиенической оценки опасности атмосферных загрязнений: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 1999. – 49с.

8. Меерсон, Ф.З. Адаптационная медицина: концепция долговременной адаптации /Ф.З. Меерсон. – М.: Дело, 1993 – 139с.

9. Ракитский, В.Н. Методические подходы к оценке показателей окислительного стресса при воздействии антропогенных факторов среды /В.Н. Ракитский, Т.В. Юдина //Гигиена и санитария. – 2006. - № 5. – с. 28-30.

10. Фархутдинов, Р.Р. Хемилуминесцентные методы исследования свободно – радикального окисления в биологии и медицине /Р.Р. Фархутдинов, В.А. Ляховских. – Уфа, 1995. – 90с.

11. Шакиров, Д.Ф. Способ прогнозирования преморбитного состояния при воздействии химических загрязнителей производственной среды / Д.Ф. Шакиров, Ф.Х. Камиллов, И.Р. Мамин [и др.] // Патент на изобретение РФ № 2000128454 от 14.11.2000г.

Суханова Г.А., Романова Н.В., Спирина Л.В.  
**КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВАЯ И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВАЯ СИСТЕМЫ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ**  
ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Томск

Оценка состояния калликреин-кининовой (ККС) и ренин-ангиотензиновой (РАС) систем, участвующих в регуляции артериального давления, тонуса гладких мышц, воспаления, является одним из важных аспектов регуляции гемодинамики. Избыточный ангиогенез выявлен при атеросклерозе, ожирении, диабетической ретинопатии (Huang L., 2000; Балкаров И.М., 2003; Пальцев М.А., 2004; Титов В.Н., 2007). Особый интерес представляет эта проблема в детском возрасте, когда

формируются основные системы регуляции. Показано, что ККС и РАС участвуют в развитии сосудистых осложнений при СД I у детей (Суханова Г.А., Кондратьева Е.И., Спирина Л.В., 2004). Функционирование этих систем контролируется по каскадному принципу с использованием механизмов обратной связи, их эндокринной регуляции уделяется значительно меньше внимания. В этом плане представляет интерес изучение взаимодействия инсулина и лептина, обладающих проангиогенным действием, с системами протеолиза и нарушениями липидного обмена при сахарном диабете и ожирении у детей.

Обследовано 120 детей больных сахарным диабетом I типа (СД I) и 69 пациентов с конституционально-экзогенной и гипоталамической (ГО) формами ожирения, а также 32 практически здоровых ребенка, средний возраст  $12,8 \pm 0,5$  лет. В плазме крови определяли активность калликреина (КК),  $\beta_1$ -протеиназного ингибитора ( $\beta_1$ -ПИ) и  $\beta_2$ -макроглобулина ( $\beta_2$ -МГ), в сыворотке крови – активность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), содержание лептина и инсулина, триацилглицеридов (ТАГ), общего холестерина (ОХС), малонового диальдегида (МДА). В экспериментальных условиях к плазме крови добавляли инсулин в дозах 7,5 – 30 мкЕД/мл, глюкозу (2,0 – 15,0 ммоль/л) и каптоприл (0,075 – 0,30 мкг/мл). Статистическая обработка проводилась с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни.

В группе практически здоровых детей активность КК составила  $60,0 \pm 5,2$  МЕ/л; АПФ  $33,2 \pm 3,5$  мкмоль/мин · л;  $\beta_1$ -ПИ  $29,5 \pm 2,1$  ИЕ/мл;  $\beta_2$ -МГ  $5,1 \pm 0,7$  ИЕ/мл, содержание инсулина  $13,2 \pm 1,4$  мкМЕ/мл, лептина  $20,5 \pm 2,03$  нг/мл и ТАГ  $1,16 \pm 0,06$  ммоль/л. Концентрация ХС (в ммоль/л) во фракциях равна: ОХС  $4,3 \pm 0,09$ ; ЛПВП  $1,08 \pm 0,07$ ; ЛПНП  $2,74 \pm 0,10$  и ЛПОНП  $0,59 \pm 0,05$ . При СД I типа, в условиях дефицита инсулина, активность КК повышается в 1,6 раза на ранних этапах заболевания, что приводит к активации систем протеолиза плазмы крови. С увеличением длительности заболевания до 10 лет, развитием диабетической ангиопатии активность КК снижается, но активность АПФ повышается до  $58,0 \pm 3,1$  мкмоль/мин · л. Применение каптоприла, ингибитора АПФ, при этом осложнении СД I способствует снижению активности фермента. При декомпенсации заболевания нарушается контроль протеолиза, что приводит к снижению активности  $\beta_1$ -ПИ плазмы крови до  $23,1 \pm 1,8$  ИЕ/мл. Отношение КК/АПФ повышается с  $1,8 \pm 0,13$  до  $2,2 \pm 0,20$ . Диабетическая ретинопатия характеризуется также развитием дислипидемии с повышением содержания ХС-ЛПНП и ЛПОНП, ТАГ в 1,5 – 1,9 раза и снижением содержания ХС-ЛПВП. В мембранах эритроцитов детей больных СД I накапливается ХС и сфингомиелин, снижается содержание ФХ и ФЭА, повышается содержание МДА.

Известно, что перекисно-модифицированные ЛПНП могут повреждать эндотелий, вызывать адгезию

нейтрофилов и моноцитов на его поверхности и тем самым способствовать атерогенезу и стимуляции ангиогенеза. Высокая активность АПФ, обнаруженная при увеличении длительности заболевания до 10 лет, также стимулирует ангиогенез. Таким образом, КК является пусковым фактором дисбаланса протеолитических систем при СД I. Активность АПФ в большей степени, чем другие показатели, связана с наличием сосудистых осложнений.

Регуляция протеолитических процессов при СД I типа исследована недостаточно. Известно, что инсулин *in vivo* способен увеличивать просвет сосудов (Sobrevia L., 1997), однако механизм его действия не изучен. Влияние глюкозы на протеолитические процессы также не известно. В эксперименте выявлено, что инсулин, глюкоза и каптоприл, добавленные к плазме крови здоровых детей, в условиях *in vitro* не влияют на показатели протеолиза. Однако добавление глюкозы к плазме крови больных СД I способствует увеличению активности КК и АПФ. Инсулин не влияет на активность протеиназ, но повышает активность  $\alpha_1$ -ПИ. Каптоприл снижает активность АПФ и стимулирует активность  $\alpha_1$ -ПИ и  $\alpha_2$ -МГ плазмы крови, полученной от больных СД I в условиях *in vitro*. На основании этих данных можно предположить, что при гиперинсулинемии влияние инсулина и глюкозы будет более выраженным.

В отличие от сахарного диабета, ожирение в значительной степени связано с повышением содержания инсулина, дислипидемией. Метаболический инсулинорезистентный синдром, наблюдаемый при ожирении, приводит к развитию осложнений: СД 2 типа, гипертонии, атеросклерозу, нарушениям гемодинамики. В связи с этим, уменьшение веса тела при ожирении становится стратегией клиницистов, чтобы предотвратить начало диабета (Carlsson B, Lindell K, Gabrielsson B., 1997). Наиболее распространенными являются гипоталамическая (ГО) и конституционально-экзогенная (КЭО) формы ожирения. КЭО связана с генотипом, предрасполагающим к ожирению и развивается при нарушениях пищевого поведения, погрешностей в диете. ГО возникает в результате повреждения вентромедиальных ядер гипоталамуса при травмах, инфекциях, отличается быстро прогрессирующим течением.

В наших исследованиях показано, что содержание инсулина повышается в 1,9 раза только при ГО у детей, однако содержание лептина увеличивается в 3,0 и 2,3 раза при ГО и КЭО соответственно. В обеих группах одновременно повышается активность КК и АПФ, обладающих противоположенным действием на тонус сосудов. Отношение КК/АПФ повышается в 3,9 и 3,3 раза, что свидетельствует о преобладании вазодилатации по отношению к вазоконстрикции. Для ингибиторов протеолиза при ожирении характерен реципрокный ответ: активность  $\alpha_1$ -ПИ повышается на фоне снижения  $\alpha_2$ -МГ.

Снижение чувствительности к лептину и инсулину, активация ККС и РАС при ожирении у детей приводят к нарушениям липидного обмена. Содержание ТАГ повышается в 2,0 и 1,5 раза, ОХС – в 1,4 и 1,3 раз, концентрация ХС-ЛПВП снижается на 50% и 40%. Эти изменения липидного обмена сопровождаются повышением содержания МДА в ЛПНП в 2,1 и 1,9 раза при ГО и КЭО соответственно.

Таким образом, увеличение метаболических требований при ожирении компенсируется одновременной стимуляцией активности калликреина и АПФ, обеспечивающих адекватное кровоснабжение тканей в условиях лептино- и инсулинорезистентности. Более значительные нарушения липидного обмена обнаружены при ГО, чем при КЭО. Сравнительный анализ данных при СД I и ожирении показал, что нарушения липидного обмена и дисбаланс протеолиза выражены в большей степени при избытке инсулина и лептина. Соотношение между КК и АПФ нарушается при избытке глюкозы и контролируется инсулином.

Сухоруков В.П., Булдаков А.В., Цапок П.И.,  
Караваев С.А., Мазина Н.К.

**ИНФУЗИОННЫЙ ПРЕПАРАТ ЯНТАРНОЙ  
КИСЛОТЫ РЕАМБЕРИН В  
ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ ПЕЧЕНИ**  
ГОУ ВПО “Кировская ГМА Росздрава”, Киров

Целью исследования явилось изучение противоишемической защиты печени при временном пережатии печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС) путем проведения регионарной инфузионной терапии на основе препарата реамберин, а так же изучение эффективности включения реамберина в комплекс периоперационного инфузионно-трансфузионного (ИТ) обеспечения резекций печени (РП).

В экспериментальной части исследования кроликам, введенным в наркоз, катетеризировали воротную вену, проводя катетер к печени за турникет, который затягивали на ПДС на 30 минут. В течение всего периода ишемии печени и 10 минут после прекращения окклюзии ПДС проводили внутриворотальную инфузию одного из исследуемых растворов со скоростью 40 – 60 кап/мин. Основой инфузионных сред явился препарат реамберин. Это 1,5% сбалансированный полиионный изотонический раствор для инфузий на основе янтарной кислоты (сукцината натрия) с энергетическим типом действия НТФФ “Полисан”. Все животные были разделены на 4 группы по 10 кроликов в каждой. В группе А (контроль) проводили инфузию изотонического раствора хлорида натрия 0,9% в объеме 40 мл/кг массы тела животного. В группе В переливали реамберин в том же объеме. В группе С применили комбинацию растворов – реамберин объемом 25 мл/кг и Инфукол ГЭК (НЕС 200/0,5) 10% –

10 мл/кг. В группе D реамберин в объеме 40 мл/кг потенцировали добавлением в препарат 5% раствора аскорбиновой кислоты из расчета 60 мг/кг и преднизолона в дозе 2 мг/кг массы тела животного. Распределение объемов инфузионных сред в ходе опыта: 35 мл/кг во время окклюзии связки и 5 мл/кг после ее устранения, суммарно составляя 55 – 60% ОЦК, что соответствует режиму гиперволемической гемодилюции. Кровь для лабораторных анализов брали из бедренной вены животных до лапаротомии и через 5 минут после прекращения внутриворотальной инфузии, то есть через 15 минут после снятия окклюзии ПДС. Определяли динамику активности индикаторных ферментов цитолиза – трансаминаз (АСТ и АЛТ) и ЛДГ унифицированным методом в Ед/л на автоматическом биохимическом анализаторе “НТАСН-911”, реактивы фирмы “Rosh” (Швейцария) и гематокрит венозной крови на анализаторе “OMNI-C”. Для оценки состояния реакций свободнорадикального перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты исследовали хемиллюминесценцию сыворотки венозной крови, индуцированную перекисью водорода и сульфатом железа на хемиллюминесцентном анализаторе “EMILITE EL-1105” (Москва, “БИОСЕММАСК”) в модификации П.И. Цапок и А.А. Галкина (1998). Получаемые данные выражались в импульсах (имп.). Интенсивность ПОЛ определяли по максимальному показателю фотовспышки Im (пик хемиллюминесценции), дающему оценку содержания первичных продуктов перекисного окисления. О состоянии антиоксидантной активности (АОА) судили по показателю интенсивности свечения – светосумме (S) хемиллюминесценции за время исследования (60 сек). Величина S отражает динамику угнетения перекисных реакций и поэтому обратно пропорциональна АОА, которую оценивали по отношению Im/S (К.Н. Конторщикова, 2000). Содержание вторичного продукта липопероксидации – малонового диальдегида (МДА), отражающего выраженность протекающих процессов ПОЛ, определяли в мкмоль/л на основе реакции с тиобарбитуровой кислотой на спектрофотометре СФ-46 по методике Л.И. Андреевой с соавт. (1988). Исследовали динамику содержания молекул средней массы (МСМ), отражающих выраженность интоксикации, в условных единицах (усл. ед.) по методу Н.М. Габриэлян с соавт. (1984) с 10% трихлоруксусной кислотой на спектрофотометре СФ-46.

В клинической части исследования изучен периоперационный период двух объективно сопоставимых групп больных – основной и сравнения по 25 человек в каждой, перенесших обширные РП в Кировском зональном центре хирургии печени и желчных путей в 1998 – 2005 годах. В основной группе больных на фоне обычной ИТ терапии во время операции переливалось 400-800 мл реамберина вместо такого же объема физиологического раствора со скоростью 60-90 капель в минуту, а после операции по 400 мл в сутки в ближайшую неделю, в среднем 4 дня.

Ишемическая нагрузка на печень во время операции была, прежде всего, обусловлена необходимостью временного пережатия ПДС для проведения гемостаза, которая в основной группе возникла у 11 больных в среднем на 19,6 минут, а в группе сравнения у 15 больных на 18,9 минут. Для сравнения течения послеоперационного периода в группах больных оценивали ряд важных гематологических и биохимических показателей на анализаторе "НТАСН-911" до операции, на 1, 3 и 7 сутки послеоперационного периода. Результаты исследований верифицированы статистически с использованием *t*-критерия при нормальных распределениях, непараметрического *U*-критерия (Вилкоксона – Манна – Уитни) при распределениях не являющихся нормальными и  $\chi^2$ -критерия для оценки частотных характеристик. Различия считали существенными, если вероятность принятия нулевой гипотезы была 0,05 и ниже.

Установлено, что окклюзия ПДС вызывала повышение активности трансаминаз и ЛДГ во всех изучаемых группах животных, но степень изменений зависела от типа инфузионной среды. Инфузии изотонического раствора натрия хлорида (группа А) сопровождались повышением активности АСТ в 4,0 раза по сравнению с исходным показателем. Напротив, переливания в воротную вену реамберина и потенцированного реамберина статистически достоверно вызывали менее выраженный рост активности АСТ ( $p < 0,05$ ), а значение прироста в группе D было наименьшим – в 2,4 раза. Аналогичные данные получены при исследовании активности АЛТ. Увеличение активности общей ЛДГ в 3,3 раза в группе А статистически значимо отличалось от прироста этого фермента в остальных группах ( $p < 0,05$ ). Исследования динамики выраженности процессов ПОЛ по показателям хемилюминесценции сыворотки крови выявили снижение *Im* во всех группах с применением реамберина со статистически значимым отличием от динамики *Im* группы А, в которой этот показатель, напротив, повышался на 11% к концу опыта. Динамика показателя *S* имела схожую направленность. Уменьшение *S* к концу опыта в группе D и в группе С достоверно отличалось от снижения в группе В ( $p < 0,05$ ). Инфузии физиологического раствора, напротив, сопровождались повышением *S* ( $p < 0,05$ ). В группе А происходило накопление МДА на 163% ( $p < 0,05$ ). В группе В так же отмечено повышение МДА, но только на 6%. Напротив, в группах потенцированного реамберина уровень МДА снижался – на 12% (группа С) и 9% (группа D). В группе А наблюдалось наибольшее увеличение содержания МСМ – на 44%. В группах В и С повышение средних молекул было умеренным ( $p > 0,05$ ), а в группе D содержание МСМ снижалось на 29,4% ( $p < 0,05$ ).

Основная группа больных и группа сравнения различались между собой по течению послеоперационного периода. Гематологические показатели, отражающие выраженность

послеоперационных воспалительных реакций и интоксикацию быстрее и полнее нормализовывались в основной группе. Так, на 1-е сутки после операции по гематологическому показателю интоксикации (ГПИ) (В.С. Васильев, 1983) все больные находились в "тяжелом состоянии" (ГПИ > 5,0). Однако на 3-и сутки послеоперационного периода состояние большинства больных основной группы характеризовалось как "средней степени тяжести", тогда как в группе сравнения больные продолжали находиться в состоянии "тяжелой степени тяжести" (ГПИ  $\approx$  8,0). Сразу после операции и до 3-х суток послеоперационного периода среднее содержание гемоглобина и эритроцитов было равномерно снижено в обеих группах. Затем наблюдалось их повышение, а к 7-м суткам анемия полнее компенсировалась в основной группе ( $p < 0,05$ ). В этой же группе быстрее происходило снижение послеоперационного лейкоцитоза и нейтрофильного лейкоцитарного сдвига с 3-х суток наблюдения ( $p < 0,05$ ). Согласно динамике стандартных биохимических показателей крови, отражающих функциональное состояние печени, оно менее нарушалось и быстрее восстанавливалось на фоне применения реамберина. Так, уже в 1-е сутки после операции, как и в дальнейшем, повышение активности АСТ в основной группе больных было достоверно ( $p < 0,01$ ) ниже, чем в группе сравнения, а нормализация активности трансаминаз к 7-ым суткам была полнее. Послеоперационная гипопротеинемия в основной группе была менее выражена, а с 3-их суток наблюдения содержание общего белка стойко повышалось, достигая нормы, тогда как в группе сравнения к 7-ым суткам среднее количество общего белка находилось только у нижней границы нормы ( $p < 0,01$ ). Повышенный после операции уровень общего билирубина в основной группе больных уже на 3-и сутки приближался к норме, тогда как в группе сравнения к этому сроку значительно превышал как нормальные, так и сравнительные значения ( $p < 0,01$ ), а при дальнейшем наблюдении на 7-е сутки так и не принимал дооперационных величин. Аналогично этому изменялось содержания прямого билирубина в группах больных.

Таким образом, результаты проведенного экспериментального исследования показали противоишемическую активность внутрипортальных инфузий реамберина в виде препятствия цитолизу и снижению выраженности активации ПОЛ. В большей степени положительные свойства реамберина проявлялись при его потенцировании добавлением гемодинамического плазмозаменителя с высоким волемическим эффектом – 10% Инфукола ГЭК (НЕС 200/0,5). Комбинация реамберина с антиоксидантом аскорбиновой кислотой и мембранопротектором преднизолоном оказала наибольший защитный эффект в нашем исследовании. Очевидно, что положительные свойства примененных инфузионных сред в немалой степени обусловлены создаваемой терапевтической

гемодилюцией (снижение гематокрита к концу опытов приблизительно в 1,5 раза во всех группах). В клинике эффекты реамберина проявились снижением послеоперационного цитолиза и ускорением нормализации функции печени, что подтверждает противоишемические и адаптивные свойства реамберина и создает предпосылки для расширения областей применения энерготропных препаратов в клинических условиях.

Тимирханова Г.А., Абдуллина Г.М., Кулагина И.Г.

**ВИТАМИН С: КЛАССИЧЕСКИЕ  
ПРЕДСТАВЛЕНИЯ И НОВЫЕ ФАКТЫ О  
МЕХАНИЗМАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ**  
ГОУ ВПО «Башгосмедуниверситет Росздрава», г.Уфа

Одним из важнейших компонентов, объединяющих курсы «Биоорганическая химия» и «Биохимия» являются биологически активные соединения, лежащие в основе процессов жизнедеятельности. В настоящее время всё большее внимание уделяется природным жиро- и водорастворимым витаминам-антиоксидантам, а также витаминоподобным веществам. Проведённые в последние годы исследования отечественных и зарубежных авторов, позволяют в рамках элективного курса «Природные биологически активные вещества» расширить представления о роли витаминов-антиоксидантов в защите тканей и органов человека от агрессивного действия свободных радикалов и продуктов липопероксидации [2,3,5,10]. Типичным витамином в этом отношении является аскорбиновая кислота.

Термин витамин С объединяет два родственных соединения, обладающих биологической активностью: L-аскорбиновая (или просто аскорбиновая) кислота и L-дегидроаскорбиновая (дегидроаскорбиновая) кислота [11]. Этот важный водорастворимый антиоксидант в организме человека не синтезируется, а поступает с пищевыми продуктами (преимущественно овощами и фруктами), а именно в виде окисленной формы – L-дегидроаскорбиновой кислоты (ДАК). Химическая структура L-аскорбиновой кислоты определена методом рентгеноструктурного анализа монокристаллического образца, однако структура её двухэлектронного окисления окончательно не установлена, так как до сих пор не удалось получить это соединение в чистом виде в кристаллическом или хотя бы в твёрдом состоянии [5].

Аскорбиновая кислота играет в организме человека фундаментальную биохимическую и физиологическую роль. Традиционно в учебном процессе роль витамина С представляется с позиции ее участия в реакциях гидроксирования - пролина и лизина при синтезе коллагена, гормонов коры надпочечников (кортикостероидов), в ходе образования 5-окситриптофана, окислительном распаде тирозина.

Аскорбиновая кислота обнаружена во всех органах и тканях человека. Витамин С имеется в

различных секретах – поте, слюне, желчи. С калом в обычных условиях выводится около 5 мг аскорбиновой кислоты в сутки. Очень богаты ею ткани с интенсивным обменом, например, железы внутренней секреции, особенно надпочечники. Всасывание аскорбиновой кислоты осуществляется в тонком кишечнике, преимущественно в двенадцатиперстной и тощей кишке, частично, в подвздошной. Всасывание идёт быстро. В настоящее время известно, что этерифицированная форма витамина С по сравнению с простым витамином С лучше абсорбируется из желудочно-кишечного тракта и дольше сохраняется в крови [1].

Функция витамина С как переносчика водорода в процессе тканевого дыхания в организме является, по-видимому, не столь универсальной как, например, соответствующая функция витамина В<sub>2</sub>, но надо полагать, что аскорбиновая кислота способствует наиболее оптимальному ходу тканевого обмена. В некоторых окислительно-восстановительных процессах она играет ведущую роль, как, например, в системе метгемоглобин – гемоглобин. Отмечено, что для поступления витамина С в клетки организма важен переход аскорбиновой кислоты в ДАК. Постоянное пополнение эритроцитов аскорбиновой кислотой происходит за счет поступления в них ДАК из плазмы. ДАК диффундирует без энергетических затрат в клетку и за счет НАДФ-Н быстро восстанавливается в аскорбиновую кислоту. Скорость выхода аскорбиновой кислоты из эритроцита приблизительно в 40 раз меньше по сравнению с вхождением ДАК в эритроцит. Это объясняется тем, что ДАК, являясь неионизированной и жирорастворимой формой витамина С, более способна к диффузии, чем отрицательный фон аскорбиновой кислоты, поскольку мембрана эритроцита имеет отрицательный заряд. Таким образом, есть основание считать, что ДАК является транспортной формой витамина С через мембраны, во всяком случае в отношении её включения в эритроциты [5]. Присутствие аскорбиновой кислоты в эритроцитах оказывает защитное действие на гемоглобин, препятствуя его окислению. Аскорбиновая кислота способна непосредственно восстанавливать метгемоглобин, сама окисляясь в ДАК. Обратное превращение происходит за счет глутатиона-SH. Благодаря этой системе метгемоглобин не накапливается в клетках. Большие дозы аскорбиновой кислоты оказывают лечебное действие даже при наследственной метгемоглобемии [8].

В последние годы накопились данные о том, что аскорбиновая кислота вовлекается в перенос электронов в две стадии. Первая из них – образование нестабильного семихинонного радикала, формирующегося как промежуточный продукт между полностью восстановленной и полностью окисленной формами аскорбиновой кислоты, вторая – образование ДАК [5]. В процессе реакций происходит образование активного радикала

монодегидроаскорбиновой кислоты, который способен окислять НАДН + Н<sup>+</sup>. Именно эта способность аскорбиновой кислоты легко отдавать электроны соответствующим акцепторам и образовывать ион-радикалы лежит в основе её участия в окислительно-восстановительных процессах.

Механизм вовлечения аскорбиновой кислоты в химические реакции в соединительной ткани выяснен. Гидроксилирование пролина требует образования свободных радикалов аскорбиновой кислоты. Образование небольших количеств оксипролина, имеющее место в обычных условиях *in vivo*, может идти без аскорбиновой кислоты или при наличии небольших её количеств. Массивный и быстрый синтез коллагена, а следовательно и оксипролина, требует повышенной концентрации свободных радикалов, образующихся при окислении аскорбиновой кислоты, и больших её количеств в пище. Недостаток аскорбиновой кислоты в диете морских свинок вызывает не только снижение образования оксипролина в коллагене кожи, но и уменьшение включения Н<sup>3</sup>-пролина в коллаген. В новообразующейся соединительной ткани при недостатке витамина С изменяется также состав полисахаридов, в несколько раз увеличивается содержание гиалуроновой кислоты и резко уменьшается включение серы в хондроитинсульфаты хрящей. Накапливание гиалуроната связывают с участием аскорбиновой кислоты в его деполимеризации, которая ослаблена при дефиците витамина С [4,8]. Влияние аскорбиновой кислоты на образование сульфатированных гликозаминогликанов пока не получило удовлетворительного объяснения.

Имеются сообщения о влиянии аскорбиновой кислоты на некоторые реакции гидроксилирования, осуществляемые энзиматическим путем. Аскорбиновая кислота выступает в качестве гидроксилирующего агента при образовании кортикостероидов в гомогенатах надпочечников. Возможно, что аскорбиновая кислота оказывает влияние на секрецию и действие АКТГ. Последний, в свою очередь, приводит к освобождению аскорбиновой кислоты из тканей и выходу её в кровь. Быстрое и резкое обеднение надпочечников аскорбиновой кислотой наблюдается при различных стрессорных воздействиях: охлаждении, ожогах, кровотечениях, высоком парциальном давлении кислорода и др [7], что связано с интенсификацией биосинтеза кортикостероидов. Введение аскорбиновой кислоты повышает устойчивость организма к таким воздействиям. В присутствии аскорбиновой кислоты и ферментов из эритроцитов или гепатоцитов триптофан гидроксилируется в 5-окситриптофан. Эта реакция зависит от наличия аскорбиновой кислоты и ионов двухвалентной меди, которые не могут быть заменены Cu<sup>+</sup>, Fe<sup>2+</sup> или Mn<sup>2+</sup>. D-аскорбиновая кислота, ДАК и изоаскорбиновая кислота в этой реакции также активны, как L-аскорбиновая кислота. Несмотря на

отсутствие специфичности последней, соединения группы аскорбиновой кислоты в реакции гидроксилирования триптофана нельзя заменить на цитохром с, ФМН, ФАД, пиридиновые нуклеотиды. Детали механизма влияния аскорбиновой кислоты на реакцию гидроксилирования требуют дальнейшего исследования.

Большой интерес к участию витамина С в обмене железа возник давно в связи с выраженным противоанемическим действием аскорбиновой кислоты. Установлено, что аскорбиновая кислота способствует восстановлению трехвалентного железа в двухвалентное, которое легче всасывается в кишечнике. Механизм действия аскорбиновой кислоты оказался связанным с ферритином. Всасывание железа в кишечнике лимитируется способностью белка апоферритина связывать железо и превращаться в ферритин. В ферритин также включается железо, содержащееся в плазме крови в составе гликопротеина трансферрина. Связывание железа апоферритином требует наличия аскорбиновой кислоты и АТФ. Процесс этот аэробный и ускоряется пиридиновыми коферментами. Первая стадия – восстановление железа. Реакция стимулируется АТФ и сопряжена с окислением аскорбиновой кислоты. АТФ, аскорбат и железо образуют активный комплекс. В результате усиливается поток электронов, что и приводит к восстановлению Fe<sup>2+</sup> из Fe<sup>3+</sup>. Из такого комплекса железо переносится на ферритин и другие соединения. Эта реакция не является строго специфической. Аскорбиновая кислота может быть заменена на глюкоаскорбиновую и диоксималеиновую кислоты.

Особенности антиоксидантного действия вещества определяются в первую очередь их химической природой. В химическом отношении витамин С является простейшим среди витаминов, но наличие в ней ендиольной группировки создает основу для сложных окислительно-восстановительных процессов с участием стабильных промежуточных радикалов. L – аскорбиновая кислота легко окисляется кислородом воздуха. Первый продукт этой реакции - дегидроаскорбиновая кислота ещё сохраняет антискорбутное действие, но дальнейшее окисление приводит к необратимому распаду витамина. Механизм всех стадий этого процесса остаётся до конца невыясненным, несмотря на пристальное изучение. Очевидно, что витамин С «работает» не каталитически, а расходуется как другие соединения.

Аскорбиновая кислота наряду с токоферолом, биофлаваноидами и ретинолом является биоантиоксидантом прямого действия. Система антиоксидантной защиты (САЗ) включает биоантиоксиданты (БАО), ингибирующие аутоокисление на стадии инициации. Антирадикальное ингибирование осуществляется цепью: глутатион – аскорбат – токоферол (полифенолы), транспортирующей электроны в составе атомов водорода от пиридиннуклеотидов (НАДН и НАДФН) к

свободным радикалам. Это обеспечивает стационарный, крайне низкий уровень свободнорадикальных состояний липидов и биополимеров в клетке. Аскорбиновая кислота является важным компонентом САЗ крови. Радикалы токоферола, биофлавоноидов регенерируются под влиянием аскорбиновой кислоты, находящейся в гидрофильном слое мембран. До сих пор не определены все ферменты, в состав простетических групп которых входит витамин С. У видов, не синтезирующих витамин С (человек, морская свинка), аскорбиновая кислота оказывает экономизирующее действие в отношении витаминов В1, В2, А, Е, фолиевой кислоты, пантотеновой кислоты, снижая потребность в этих витаминах. Аскорбиновая кислота тесно связана с глутатионом и токоферолом. К настоящему времени опубликованы работы, посвященные характеру взаимодействия витаминов Е и С: в низких и высоких дозах они синергисты, в средних – антагонисты [6]. Выраженным синергистом витаминов-антиоксидантов является селен, представляющий собой компонент глутатионпероксидазы – фермента, предохраняющего клетки от токсического действия перекисных радикалов. Витамины С и А способствуют усвоению селена, его транспорту и утилизации. Биофлавоноиды и аскорбиновая кислота дополняют и потенцируют взаимное влияние, поэтому часто в лекарственных формах содержатся вместе (аскорутин, галаскорбин, венорутон, магнум С и др.).

Витамин С вызывает физиологические эффекты, механизм которых еще не раскрыт до конца, но их наличие убедительно продемонстрировано. Самый известный их них - стимуляция иммунной системы [8,10]. Аскорбиновая кислота необходима для синтеза интерферона и некоторых других цитокинов. Входя в кровь, аскорбиновая кислота быстро попадает в лейкоциты, усиливая их способность к хемотаксису. Интенсивнее всего нейтрофилы поглощают витамин С во время «дыхательного взрыва», необходимого для биосинтеза бактерицидных свободнорадикальных субстанций. После активации фагоцитов содержание в них аскорбиновой кислоты падает. Обогащенные аскорбиновой кислотой нейтрофилы усиливают свою способность распознавать и уничтожать (чаще путём фагоцитоза) собственные патологически изменённые клетки, бактериальные, вирусные и другие чужеродные агенты. В норме концентрация витамина С в нейтрофилах в 150 раз выше, чем в плазме. Витамин С улучшает иммунные реакции за счет поддержания уровня содержания витамина Е в крови и тканях (витамин Е в физиологических концентрациях также является стимулятором иммунной системы). Усиление пролиферации лимфоцитов наиболее выражено при одновременном назначении витаминов С и Е. Комбинация витаминов С, А и цинка стимулирует синтез антител.

Аскорбиновая кислота предотвращает

перекисидацию холестерина в составе липопротеинов низкой плотности и тем самым препятствует прогрессированию атеросклероза. Витамин С улучшает способность организма усваивать кальций, способствует выведению токсичных меди, свинца и ртути. Витамин С способствует активизации основных окислительных ферментов цитохрома Р<sub>450</sub> в печени, увеличивая метаболизм и детоксикацию ксенобиотиков. С участием аскорбиновой кислоты происходит метаболизм циклических нуклеотидов, простагландинов и гистамина.

О лечении гриппа и простуды “по Полингу” знают многие [9]. Регулярный прием терапевтических доз аскорбиновой кислоты снижает восприимчивость к инфекции. Сверхдозы витамина при первых симптомах предотвращают болезнь, а принятые с опозданием, облегчают ее течение. С этими положениями Полинга уже никто не спорит. Снижение температуры после приема витамина С вызывается его противовоспалительным эффектом – угнетением синтеза простагландинов. Споры на протяжении последних тридцати лет идут лишь о количестве принимаемой аскорбиновой кислоты. Верхний безопасный предел потребления аскорбиновой кислоты, установленный в США 2000 мг (2,0 г) в сутки. В России рекомендуемые нормы потребления витамина С, обеспечивающие оптимальное состояние зависящих от него физиологических функций, варьируют от 30 до 120 мг в сутки [11]. Современные опыты с добровольцами показали, что потребность в аскорбиновой кислоте индивидуальна.

Важнейшая роль аскорбиновой кислоты в поддержании и стабилизации антиоксидантной защиты организма, а также отсутствие данных о гипervитаминозе С даже при использовании больших доз делают этот витамин, особенно в комплексе с витаминами А и Е, ценнейшим лекарственным препаратом в лечении и профилактике многих заболеваний, для которых характерно усиление свободнорадикальных процессов и при истощении естественной антиоксидантной защиты организма.

Таким образом, один из наиболее известных витаминов таит в себе ещё много неизвестного и, более того, химические формы витамина С и их окислительно-восстановительные превращения не так однозначны, как представляется в учебниках по биологической и биоорганической химии.

#### Литература

1. Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. и др.// Вопросы питания. - 1999. - т.68. -№3. - с.9-11.
2. Барабой В.А. Растительные фенолы и здоровье человека. – М., Наука. – 1984. – 160 с.
3. Барабой В.А., Брехман И.И. и др. Перекисное окисление и стресс. – СПб.: Наука. С-Петербург.отд.-е, 1992.- 148 с.
4. Бобырев В.Н., Почернява В.Ф. и др.// Эксперим. и клин.фармакология.- 1994.- 57(1)- с.47-54.
5. Девис М., Остин Дж., Патридж Д. Витамин С.



Химия и биохимия. – М.: Мир. – 1999.; 6. Денисов Л.И., Лобарева Л.С., Якушева Е.О./Терапевтический архив. - 1994.- т.66. - №5. - с.82-87.

7. Казимирко В.К., Мальцев В.И. и др. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. – К.; Морион, 2004. - 160 с.

8. Казюлин А.Н., Маев И.В. и др./Фармацевтический вестник. - 2002. - №12. - с.17-19.

9. Клещенко Е.К./Химия и жизнь XXI век. – 1999. - №10.

10. Неотл.помощь в клинич.практике. // Сборник научных работ.- т.Х.- М.- 2003. – с. 151-155.

11. Спиричев В.Б. Витамины, витаминоподобные и минеральные вещества. Справочник. – М.: МЦФЭР. – 2004. - с. 240.

Тукмачев А.Г., Цапок П.И., Загородний Н.В., Шешунов И.В.

**ЛИПИДОГРАММА И ПРОЦЕССЫ  
ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У ПОСТРАДАВШИХ  
С ПОВРЕЖДЕНИЕМ СВЯЗОК КОЛЕННОГО  
СУСТАВА И ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ**  
ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Изучение интимных сторон в динамике репаративных процессов, происходящих в организме вследствие травмы, представляет значительный научный и практический интерес. Детально изучена ультраструктура фибробластов, хондробластов, остеобластов, одонтобластов, кератобластов, синовиоцитов, обеспечивающих всю разновидность соединительной ткани коллагеновыми белками и липидами. Убедительно показано, что любое травматическое воздействие вызывает глубокие и многообразные сдвиги в организме, как общего, так и местного характера. Среди таких сдвигов важное место занимают биохимические изменения метаболизма. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении биохимических процессов, до сих пор не существует единых общепринятых представлений о закономерностях сдвигов липидного обмена в сыворотке крови при костных и мягкотканых повреждениях. В настоящее время доказано, что липиды выполняют в организме не только энергетическую и пластическую функции, но и регуляторную, непосредственно контролируя активность многих мембраносвязанных и цитоплазматических ферментов, а также выступая в роли вторичных мессенджеров и хранителей информации [1,2]. В связи с этим липиды играют основную роль в процессах «биохимической» адаптации на клеточном уровне и активно участвуют в процессах метаболизма.

**Материал и методы исследования.** Обследованы 3 группы пациентов: 1-я служила контролем, в неё входили 30 добровольцев: здоровые лица в возрасте от 18 до 59 лет, из них 14- мужского пола и 16- женского; вторую группу составили 70 пострадавших с

повреждением связок коленного сустава в возрасте от 17 до 55 лет; третью группу составили 230 человек с диафизарными переломами костей голени в возрасте от 17 до 70 лет. Для лечения второй группы больных были применены различные операции на сухожильно-связочном аппарате по стабилизации коленного сустава. Пластика передней крестообразной связки в 50% случаев производилась по предложенной нами методике [6]. Для лечения больных третьей группы были применены различные методы лечения (иммобилизационный - 13 человек, экстензионный - 86, оперативный у 131 больного). Из оперативных методов лечения использован компрессионно-дистракционный остеосинтез аппаратом Г.А. Илизарова в 46 случаях, ЧКДО стержневыми аппаратами -10, остеосинтез гвоздём - 8 операций, остеосинтез пластиной - 50 операций, остеосинтез шурупами -18 операций. Исследования проводились сразу после травмы, в момент проведения противошоковых мероприятий и при динамическом наблюдении за больными в процессе репаративного восстановления повреждённых структур. Показатели биохимических исследований сопоставляли с тяжестью состояния больного, а также со степенью восстановления функции повреждённого сегмента.

Материалом для биохимического исследования служила кровь из локтевой вены, полученная венопункцией в количестве 7,0 мл в пробирки для взятия крови фирмы «VACUTANER» (США), в качестве консерванта был использован раствор этилендиаминтетрацетата (ЭДТА) в концентрации 1 мг/мл.

Общие липиды определяли по реакции с сульфифосфованилиновым реактивом; уровень общего холестерина (ХС) и его фракций - эстерифицированного (ЭХС) и свободного ХС по реакции с хлорным железом по методу Златкиса-Зака; триацилглицеролы (ТАГ) - стандартным набором реактивов фирмы «LACHEMA» (Чехия). Для изучения процессов липопероксидации (ЛПО) использовали определение содержания малонового диальдегида (МДА), как конечного продукта ЛПО по реакции с тиобарбитуровой кислотой, спектрофотометрически при длине волны 535 нм. Определение первичных продуктов ЛПО производили путём измерения интенсивности хемилюминесценции (ХЛ), инициированной пероксидом водорода в присутствии избытка ионов двухвалентного железа за 30 и 60 сек., а также по интенсивности максимальной вспышки ХЛ за исследуемое время на хемилюминометре *EMILITE EL 1105*. Особое значение придавали ХЛ выделенных фракций липопротеинов низкой плотности (ХЛ-ЛПНП) и липопротеинов высокой плотности (ХЛ-ЛПВП).

Из элементов системы антиоксидантной защиты сыворотки определяли содержание церулоплазмينا модифицированным методом с парафенилендиамином; уровень аскорбиновой кислоты - колориметрическим методом с динитрофенилгидразинным реактивом;  $\alpha$ - токоферола - с  $\alpha$ -

пиридилдиацетиллом. Липидную фракцию для определения диеновых конъюгатов (ДК) экстрагировали гептан-изопропаноловой смесью. В гептановой фазе измеряли количество ДК при длине их максимального поглощения (233нм) на спектрофотометре СФ- 46. Детальное описание приведённых методов биохимического исследования изложено в работах [3,4]. Полученный цифровой

материал обработан методом вариационной статистики. Средние величины вычисляли параметрическими методами, достоверность разницы определяли по t-критерию Стьюдента.

**Результаты исследований**, представленные в таблицах 1 и 2, свидетельствуют о существенных нарушениях липидного обмена в организме при травме. Так, уровень общих липидов почти в два раза

Таблица 1

**Липидограмма в зависимости от репаративных процессов у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени (M+m; n=15)**

Показатели	1 группа (здоровые)	2 группа		3 группа	
		До лечения	При восстановлении	До лечения	При восстановлении
Общие липиды, г/л	4,84±0,98 <i>P=P1&lt;0,001</i>	3,34±0,41 <i>P2&lt;0,001</i>	5,45±0,78 <i>P2&lt;0,001</i>	2,39±0,32 <i>P3&lt;0,001</i>	5,56±0,48' <i>P3&lt;0,001</i>
ТАГ, ммоль/л	0,83±0,12 <i>P=P1&lt;0,001</i>	0,57±0,1 <i>P2&lt;0,001</i>	0,75±0,05 <i>P2&lt;0,001</i>	0,49±0,05 <i>P2&gt;0,05</i>	0,72±0,08' <i>P2&lt;0,001</i>
Общий ХС, ммоль/л	4,22±0,35	4,31±0,23	4,27±0,07	4,67±0,43	4,45±0,31
ЭХС, ммоль/л	3,04±0,27	3,13±0,12	3,0±0,21	3,41±0,39	2,98±0,19
Свободный ХС, ммоль/л	1,17±0,19	1,19±0,13	1,25±0,12	1,24±0,18	1,45±0,13
Коэффициент эстерификации, %	72,0±4,2	72,1±3,2	71±3,2	72,9±4,8	66,9±4,4

Примечание: *P* - достоверность различий между 1 и 2 группой, *P1*- между 1 и 3 группой до лечения; *P2*- достоверность различий 2 группой, до лечения и в процессе восстановления; *P3*- достоверность различий 3 группой, до лечения и в процессе восстановления; ' - различия статистически достоверны.

Таблица 2

**Показатели ЛПО и АОА в сыворотке крови в зависимости от репаративных процессов у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени (M±m; n=15).**

Показатели	1 группа (здоровые)	2 группа		3 группа	
		До лечения	При восстановлении	До лечения	При восстановлении
Интенсивность ХЛ за 30 с, фотон	1108±94	1520±135'	1230±98''	1956±142'	1294±103''
Интенсивность ХЛ за 60 с, фотон	1648±152	1980±120'	1870±180''	2948±294'	1872±198''
Максимальная вспышка ХЛ, фотон	94±12	110±13'	102±13''	153±35'	102±14''
МДА, ммоль/л	2,12±0,54	4,6±0,23'	2,12±0,51''	12,28±0,64	2,1±0,2''
ДК, усл.ед/мл	0,24±0,03	0,34±0,07'	0,21±0,08''	0,52±0,05'	0,2±0,03''
АОА, %	71,4±4,4	64±4,2'	69±4,8''	52,4±6,2'	69,3±5,4''
Церулоплазмин, г/л	0,28±0,03	0,11±0,01'	0,25±0,02''	0,11±0,01'	0,25±0,02''
Аскорбиновая кислота, мг/л	7,5±0,6	6,5±0,5	7,4±0,3	3,5±0,5	7,2±0,8''
α-токоферол, мг/л	8,4±0,8	6,9±0,9'	7,8±0,8''	5,8±0,8'	7,3±0,6''
ХЛ-ЛПНП, фотон за 60 с	2230±176	1720±125'	2396±132''	1741±120'	2406±130''
ХЛ-ЛПВП, фотон за 60 с	1460±180	538±64'	1549±110''	558±52'	1557±98''

Примечание: ' - различия статистически достоверны с 1-й группой (до лечения);

'' - различия статистически достоверны в группе до лечения и в процессе регенерации.

был ниже у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени до проведения лечения, снижение содержания ТАГ во второй группе составило 47,3%, в третьей - 40,7% по сравнению со здоровыми людьми. Полученные данные согласуются с результатами исследований о развитии общей метаболической реакции организма на травму в первые сутки после получения повреждения, имеющей катаболическую направленность и выражающуюся в усиленном распаде тканевых белков, углеводов и жиров. В тоже время существенных изменений со стороны общего, эстерифицированного и свободного холестерина не наблюдали, в результате чего коэффициент эстерификации практически не изменился и составил  $72,1 \pm 3,2$  во второй группе и  $72,9 \pm 4,8\%$  в третьей группе, по сравнению с  $72,0 \pm 4,2$  у здоровых людей. В процессе регенерации повреждённых тканевых и клеточных структур отмечали увеличение уровня общих липидов в сыворотке крови и практически нормализацию содержания ТАГ при тенденции к снижению эстерифицированного ХС на фоне увеличения фракции свободного ХС, в результате чего произошло незначительное снижение коэффициента эстерификации. Еще более существенные изменения метаболизма выявлены нами при сопоставлении показателей, характеризующих ЛПО и антиоксидантную активность (АОА) организма (табл.2). Интенсивность процессов ЛПО значительно возросла при травме, указанное явление регистрировалось, как хемилюминесцентным методом, так и по уровню МДА, который в 2 раза у пострадавших второй группы и более чем в 6 раз у пациентов третьей группы, превысил содержание данного показателя у контрольных лиц. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) - промежуточных продуктов свободно-радикального окисления также было увеличено во 2-й группе на 34%, а в 3-й группе более чем в два раза по сравнению со здоровыми лицами. При этом АОА была существенно снижена на 17% у пострадавших 2-й группы и на 36,2% в группе лиц с переломами костей голени по сравнению со здоровыми лицами. Имело место снижение показателей хемилюминесценции липопротеинов низкой плотности (ХЛ-ЛПНП) во 2-й группе на 7% от контрольной группы. У пострадавших 3-й группы ХЛ-ЛПНП снижалась в среднем на 13% по сравнению с 1-й группой и при неудовлетворительных исходах лечения оставалась сниженной в пределах 10%. Так же имело место снижение значений хемилюминесценции липопротеинов высокой плотности (ХЛ-ЛПВП) до уровня 26 % во 2-й группе, которые при неудовлетворительных результатах лечения оставались сниженными в среднем на 24%. В 3-й группе ХЛ-ЛПВП снижалась в среднем до 53%, а при неудовлетворительных результатах лечения оставались сниженными в среднем на 44%. При сопоставлении интенсивности процессов ЛПО и АОА сыворотки крови в процессе регенерации и

восстановления повреждённых структур отмечена нормализация процессов свободнорадикального окисления и тенденция к нормализации АОА при адекватном лечении и благоприятных исходах. При неблагоприятных исходах (замедленная консолидация, ложный сустав, нарушение функции коленного сустава и т.д.) показатели АОА оставались низкими на фоне повышенных величин биохимических показателей, характеризующих процессы ЛПО. Не вызывает сомнений тот факт, что образующиеся свободные радикалы принимают активное участие в повреждении клеточных мембран и субклеточных структур как в области повреждённого связочного аппарата, так и в области формирования костной мозоли, а также оказывают пагубное влияние на клетки других органов и систем [1,5].

Анализ возможных причин снижения АОА показал, что происходит уменьшение антиоксидантной активности церулоплазмينا и снижение содержания не ферментативных антиоксидантов - аскорбиновой кислоты и  $\alpha$ -токоферола. Известно, что церулоплазмин обладает ферментативными свойствами ферроксидазы, катализируя окисление двухвалентных ионов железа, и в сыворотке крови осуществляет функцию «перехватчика» супероксидных радикалов [5,9].

Учитывая всю сложность биохимических взаимоотношений в травмированном организме, для наиболее полной характеристики ЛПО и АОА, нами предложен коэффициент эффективности проводимого лечения -  $k^*$ , вычисляемый по формуле:

$$k^* = \frac{(ХЛ-ЛПНП \times ОЛ) \div (ХЛ-ЛПВП \times ЦП)}$$

где: ХЛ-ЛПНП - хемилюминесценция липопротеинов низкой плотности, в фотонах за 60 сек;

ОЛ - общие липиды плазмы крови в г/л;

ХЛ-ЛПВП - хемилюминесценция липопротеинов высокой плотности, в фотонах за 60 сек;

ЦП - церулоплазмин плазмы крови в г/л;

Диагностический коэффициент -  $k^*$  наиболее полно раскрывает взаимосвязь процессов ЛПО и АОА и позволяет судить об эффективности проводимого лечения ортопедотравматологического больного. Коэффициент  $k^*$  - у здоровых людей равен или меньше 30, что подтверждают исследования, проводимые у контрольной группы людей. При недостаточной эффективности проводимого лечения, либо при неудовлетворительных исходах заболевания показатель остаётся на высоких цифрах. При адекватно проводимом лечении и благоприятных исходах заболевания показатель с течением времени нормализуется [7,8].

#### **Выводы.**

1. Изменения интенсивности процессов липопероксидации, а также показатели антиоксидантной защиты в сыворотке крови могут служить надежными критериями для оценки активности репаративных процессов, протекающих в повреждённых клеточных и тканевых структурах.

2. Динамические сдвиги показателей липидного обмена в сыворотке крови могут служить для оценки качества и эффективности проводимого лечения, а также для прогнозирования исходов данного заболевания.

3. Диагностический коэффициент -  $k^*$ , позволяет наиболее полно оценить уровень клеточного метаболизма при репаративных процессах.

#### Литература

1. Горев С.Г., Еликова Е.П., Тукмачёв А.Г., Тукмачёв О.А., Цапок П.И., Показатели липидного обмена в сыворотке крови в зависимости от репаративных процессов при травме //Вестник новых медицинских технологий. – 2002. - Т. IX, № 2. - С. 31 – 32.

2. Курашвили Л.В., ВАСИЛЬКОВ В.Г. Липидный обмен при неотложных состояниях. – Пенза. – 2003. – 198 с.

3. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. - Одесса: ОКФА, 1994. - 386 с.

4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - В 2-х томах. - Минск: Беларусь, 2000. - 463 с.

5. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система: Учебное пособие. – Пермь: ГОУ ВПО «ПГМА Минздрава России», 2005. - 57 с.

6. Тукмачёв А.Г. Способ пластики передней крестообразной связки //Вестник новых медицинских технологий. - 1998. - № 3-4. - С. 62 - 63.

7. Шешунов И.В., Стрелков Н.С., Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г. Клинико-биохимические исследования клеточного метаболизма у больных с посттравматической нестабильностью коленного сустава.- Киров: Кировская ГМА, 2006. - 148с.

8. Шешунов И.В., Стрелков Н.С., Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г. Клинико-биохимические исследования клеточного метаболизма у больных с диафизарными переломами костей голени.- Киров: Кировская ГМА, 2006. - 144с.

9. Pacht E.R., Davis W.B.//J. Lab. Clin. Med. –1988. - Vol.111, № 6. – P. 661-668.

Хлыбова С.В., Циркин В.И., Дворянский С.А.,  
Ежов А.В., Роман В.В.

### СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ И ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ ГЕСТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», ЦНИИ  
микробиологии МО РФ, г. Киров

Известно, что течение физиологической беременности с первых дней сопровождается комплексом адаптационных изменений в организме матери, направленных на поддержание гомеостаза с целью обеспечения роста и развития плода. Это касается деятельности сердечно-сосудистой (Серов В.Н., Маркин С.А., 2003; Аюк Р., 2006), эндокринной

(Lacroix M. et al., 2002; Сидельникова В.М., 2004) и иммунной систем (Milasinovic L. et al, 2002; Aluvihare V., Betz A., 2006), а также функции клеток крови (Макацария А.Д. и др., 2002; Сидельникова В.М., Шмаков Р.Г., 2004; Аюк Р., 2006; Хлыбова С.В., 2007). В последнее время введено понятие нутритивной адаптации во время беременности (Saugstad L., 2004; McArdle H. et al., 2006), нарушение которой рассматривается как причина развития ряда акушерских осложнений - гестоза, плацентарной недостаточности, задержки развития плода (Серов В.Н., 2003; Сидорова И.С., 2004; Аюк Р., Matijevic R., 2006; Myatt L., 2006). Кроме того, нарушение нутритивного статуса матери может способствовать формированию у потомства социально значимых заболеваний (артериальная гипертония, ожирение, сахарный диабет) во взрослой жизни, что позволило сформулировать теорию эмбрионального программирования (Gluckman P. et al., 2005; McArdle H. et al., 2006; Myatt L., 2006; Yamashita T. et al., 2006). В тоже время сведения о содержании свободных аминокислот (как основного элемента эмбрионального питания) в биожидкостях системы мать-плод, а также данные о физиологическом значении свободных аминокислот при неосложненном течении беременности и развитии акушерских осложнений, немногочисленны и противоречивы (Ribarova F. et al., 1996; Васильева О.В., Иванов В.П., 1999; Goodrum L. et al., 2003; Myatt L., 2006).

С учетом вышесказанного целью исследования явилось изучение содержания свободных аминокислот (АК) у женщин при физиологическом течении гестационного процесса и ряде акушерских осложнений. Была исследована сыворотка венозной крови 90 здоровых женщин и 151 женщины с экстрагенитальной (гипертоническая болезнь, синдром вегетативной дисфункции по гипертоническому типу) и акушерской патологией (гестоз, плацентарная недостаточность, угрожающие преждевременные роды, слабость родовой деятельности), а также сыворотка крови 15 новорожденных и околоплодные воды 10 рожениц (всего - 266 образцов биожидкостей). Формирование клинических групп осуществляли по общепринятым критериям. Содержание свободных АК определяли по стандартной методике (Бенсон Дж., Патерсон Дж., 1974) с помощью анализатора аминокислот LC5001 фирмы Биотроник (Германия), оснащенного автоматической системой обработки данных Cromatorac C-R3A фирмы Шимадзу (Япония). Пробы готовили по методу De Wolfe M. и соавторов (Бенсон Дж., Патерсон Дж., 1974). Элюирование АК, нанесенных на ионообменную смолу с помощью инъектора, осуществляли по программе разделения гидролизатов белков, задаваемой процессором анализатора. Расчет площадей пиков, определение концентрации и идентификацию АК осуществляли с помощью системы обработки данных C-R3A, программирование которой проводили по результатам анализа стандартной смеси АК (фирма Сигма-олдрич)

для калибровки анализаторов AA-S-18 и A-2S08. Обработку данных проводили методом вариационной статистики и регрессионно-корреляционного анализа с помощью пакета прикладных программ «Primer of Biostatistics Version 4.03 by Stanton A. Glantz» (Гланц С., 1999). Различия оценивали по критерию Стьюдента, считая их достоверными при  $p < 0,05$ . С помощью регрессионного анализа, с применением программы «Биостат» рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона и параметры уравнения линейной регрессии.

Анализ содержания 17 АК в сыворотке венозной крови матери показал (табл.), что при беременности и родах их содержание меняется. Содержание 15 АК из 17 снижалось при беременности. Это наблюдалось во всех триместрах (цистин, тирозин, аспарагин, серин, глутамин, глицин, валин, метионин) или в первых двух триместрах (аланин, фенилаланин, лизин), или только в одном триместре, в частности в I (гистидин, треонин) или во II (изолейцин и лейцин). Содержание двух АК возрастало при беременности, но этот рост носил транзитный характер (повышение содержания триптофана наблюдалось в I триместре, аргинина – во II триместре). В родах содержание 13 АК из 17 достигало значений, характерных для небеременных женщин; содержание 4 АК (аспарагина, цистина, тирозина и триптофана) еще в большей степени снижалось (по сравнению с III триместром). Полагаем, что выявленные при беременности изменения в содержании АК в крови матери отражают не только утилизацию АК плодом, но и их участие в синтезе белка, процессах транспорта аммиака (аспарагин, аланин), а также свидетельствуют о роли свободных АК в регуляции физиологических функций организма матери. Так, снижение аспарагина, треонина, глутамина I триместре беременности с учетом данных об их способности активировать клетки иммунной системы (Goldstein G. et al., 1997; Reeds P. et al., 2000; Северин Е.С., 2003; Boelens P. et al., 2004; Cai G. et al., 2006), мы рассматриваем как проявление иммунологической толерантности, необходимой для вынашивания беременности. Постепенное восстановление уровня аланина по мере прогрессирования беременности, с учетом данных литературы (Dekker E. et al., 1997; Cetin I. et al., 2005; Lopez-Quesada E. et al., 2005), мы связываем с его участием в глюконеогенезе, интенсивность которого, как известно, при беременности возрастает. Существенный (в 2,2 раза) рост содержания аргинина во II триместре беременности, вероятно, отражает повышение потребности в нем как предшественнике синтеза NO, играющего, как показано в литературе (Хлыбова С.В. и соавт., 2007), важную роль в поддержании адекватного кровотока в системе мать-плод и в регуляции сократительной деятельности матки (СДМ). Изменение содержания ряда АК в родах отражает их участие в этом процессе. Так, снижение уровня триптофана (как компонента эндогенного сенсориализатора b-адренорецепторов) приводит, по

нашему мнению, к активации СДМ. Кроме того, снижение уровня триптофана и цистеина отражает их использование в синтезе соответственно серотонина и окситоцина как основных стимуляторов СДМ в родах. Повышение содержания глицина в активную фазу I периода, с учетом данных литературы (Даниловой Е.И. и соавт., 1997; Sethuraman R. et al., 2006), указывает на проноцицептивную роль глицина в схватках в родах.

Показано (табл.), что содержание 10 АК в сыворотке пуповинной крови здоровых доношенных новорожденных такое же, как и в сыворотке венозной крови роженицы (треонин, серин, глутамин, глицин, аланин, валин, изолейцин, тирозин, фенилаланин и триптофан), содержание 3 АК – выше (цистин, метионин, лизин), а содержание 4 АК – ниже (аспарагин, лейцин, гистидин и аргинин). В околоплодных водах, полученных в активную фазу неосложненных срочных родов, содержание большинства АК было ниже, чем в сыворотке крови матери; содержание тирозина и триптофана было таким же, в то время как содержание цистина и метионина было выше, что указывает на важную роль серусодержащих АК в жизнедеятельности плода.

Установлено, что содержание свободных АК в сыворотке крови матери при развитии акушерских изменений меняется, а характер изменений определяется видом патологии. Так, при гипертонической болезни у беременных повышено содержание изолейцина, лейцина и тирозина, но снижено содержание триптофана. При синдроме вегетативной дисфункции снижено содержание треонина и аргинина. При водянке беременных повышено содержание триптофана и снижено содержание 12 АК (аспарагин, треонин, серин, глицин, аланин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, тирозин, фенилаланин, гистидин). При гестационной гипертензии повышено содержание аспарагина, глутамина, тирозина, триптофана и снижено содержание цистина, лизина и аргинина. При угрожающих преждевременных родах увеличено содержание глутамина, валина, лейцина и триптофана, но уменьшено содержание цистина, тирозина и аргинина. При отдельных формах гестоза повышено содержание аспарагина, глутамина, лейцина, тирозина, триптофана и снижено содержание треонина, серина, аланина, цистина, валина, метионина, фенилаланина, лизина и аргинина. При отдельных формах плацентарной недостаточности (ПН) повышено содержание аспарагина, глутамина и триптофана и снижено содержание треонина, серина, аланина, валина, метионина, изолейцина, фенилаланина, лизина и аргинина; содержание цистина, тирозина и гистидина при одних формах ПН повышено, а при других – снижено. При слабости родовой деятельности повышено содержание аспарагина, тирозина, гистидина, триптофана и снижено содержание метионина.

В целом, при трех акушерских осложнениях – водянке беременных, ПН с нарушением созревания

плаценты и ПН на фоне хронических урогенитальных инфекций (ХУГИ) наблюдается снижение большинства АК в крови матери (соответственно 12, 9 и 10 АК), что объясняется выходом АК в ткани (водянка), усиленным поступлением АК к плоду (ПН с нарушением созревания плаценты) или утилизацией микроорганизмами (ПН на фоне ХУГИ). Полагаем, что часть изменений в содержании АК при акушерской патологии отражает механизмы адаптации с участием АК (например, повышение гистидина при ПН, сопровождающейся гипоксией плода), а часть изменений является одной из причин развития патологии, т.е. проявлением дизадаптации (например, снижение аргинина при гестозе и ПН и повышение тирозина, гистидина, триптофана при СРД). Последнее подтверждается, в частности, результатами регрессионно-корреляционного анализа, согласно которым, ряд клинических показателей у женщин с гестозом и ПН зависит от уровня аргинина в крови. Так, с уменьшением содержания аргинина в сыворотке крови линейно повышается общая прибавка массы тела за беременность, значения АД, систоло-диастолического отношения в артериях пуповины, протромбиновый индекс, гематокрит, содержание фибриногена и сахара крови и линейно снижаются такие параметры как время свертывания крови, содержание белка в крови, число эритроцитов, оценка

функционального состояния плода по данным КТГ, масса и длина новорожденного, его оценка по шкале Апгар, а также диаметр, толщина и масса плаценты.

Практически при всех видах изученной нами акушерской патологии наблюдалось повышение содержания триптофана. С позиций гипотезы о триптофане как участнике механизма создания иммунологической толерантности при беременности (Gutierrez G. et al., 2003; Platten M. et al. 2005), выявленное нами повышение содержания триптофана при гестозе, ПН, угрозе преждевременных родов мы расцениваем как следствие недостаточного использования триптофана в иммунологической защите, в частности, вследствие недостаточной активности индоламин-2,3-диоксигеназы. Такой подход согласуется с иммунологической теорией развития перечисленных осложнений. С точки зрения представлений о  $\beta$ -адренергическом механизме, повышение содержания триптофана - это компенсаторный процесс, усиливающий эффективность активации  $\beta$ -АР миометрия, миокарда и других образований.

В целом результаты исследования указывают на необходимость и важность оценки содержания свободных АК в сыворотке крови матери с целью мониторинга течения беременности, ранней диагностики акушерских осложнений и определения тактики их коррекции с помощью АК.

Таблица 1

Содержание аминокислот ( $M \pm m$ , мг/л) в сыворотке венозной крови женщин, СПК новорожденных и околоплодных водах

Аминокислота	Группы						
	Сыворотка крови						Воды
	1	2	3	4	5	6	7
Число наблюдений	15	30	15	15	15	15	10
Срок гестации, нед.	-	8,1 $\pm$ 0,3	28,2 $\pm$ 0,7	38,3 $\pm$ 0,2	38,8 $\pm$ 0,4	38,3 $\pm$ 0,5	38,0 $\pm$ 0,5
Аспарагин	19,37 $\pm$ 2,25	7,44 $\pm$ 0,69 <sup>1</sup>	9,85 $\pm$ 0,95 <sup>1,2</sup>	10,11 $\pm$ 1,39 <sup>1</sup>	14,15 $\pm$ 1,19 <sup>1,2,3,4</sup>	7,20 $\pm$ 1,33 <sup>5</sup>	4,60 $\pm$ 0,95 <sup>5</sup>
Треонин	24,31 $\pm$ 2,08	18,14 $\pm$ 1,29 <sup>1</sup>	22,46 $\pm$ 1,88	30,10 $\pm$ 2,46 <sup>2,3</sup>	31,09 $\pm$ 3,24 <sup>2,3</sup>	28,94 $\pm$ 3,31	14,16 $\pm$ 2,50 <sup>5,6</sup>
Серин	23,05 $\pm$ 1,42	14,87 $\pm$ 0,85 <sup>1</sup>	14,32 $\pm$ 1,35 <sup>1</sup>	17,43 $\pm$ 1,78 <sup>1</sup>	20,38 $\pm$ 1,74 <sup>2,3</sup>	21,19 $\pm$ 2,79	6,03 $\pm$ 0,76 <sup>5,6</sup>
Глутамин	63,05 $\pm$ 3,97	37,05 $\pm$ 1,86 <sup>1</sup>	37,37 $\pm$ 1,57 <sup>1</sup>	39,37 $\pm$ 4,41 <sup>1</sup>	68,65 $\pm$ 7,76 <sup>2,3,4</sup>	72,05 $\pm$ 8,64	16,41 $\pm$ 2,72 <sup>5,6</sup>
Глицин	17,19 $\pm$ 0,98	11,92 $\pm$ 0,56 <sup>1</sup>	11,73 $\pm$ 1,24 <sup>1</sup>	12,32 $\pm$ 1,33 <sup>1</sup>	19,18 $\pm$ 1,74 <sup>2,3,4</sup>	20,92 $\pm$ 2,00	10,81 $\pm$ 1,38 <sup>5,6</sup>
Аланин	26,54 $\pm$ 1,63	18,70 $\pm$ 1,35 <sup>1</sup>	20,40 $\pm$ 1,67 <sup>1,5</sup>	25,85 $\pm$ 2,73 <sup>2</sup>	31,50 $\pm$ 2,66 <sup>2</sup>	34,09 $\pm$ 5,17	10,07 $\pm$ 1,41 <sup>5,6</sup>
Цистин	6,75 $\pm$ 0,42	3,03 $\pm$ 0,36 <sup>1</sup>	5,71 $\pm$ 0,67	2,51 $\pm$ 0,38 <sup>1,3</sup>	1,33 $\pm$ 0,39 <sup>1,2,3,4</sup>	3,07 $\pm$ 0,55 <sup>5</sup>	6,06 $\pm$ 0,80 <sup>5,6</sup>
Валин	20,95 $\pm$ 1,54	13,84 $\pm$ 1,08 <sup>1</sup>	14,71 $\pm$ 1,38 <sup>1</sup>	15,44 $\pm$ 1,39 <sup>1</sup>	24,39 $\pm$ 3,85 <sup>2,3,4</sup>	18,62 $\pm$ 2,21	9,22 $\pm$ 1,25 <sup>5,6</sup>
Метионин	8,32 $\pm$ 1,22	4,08 $\pm$ 0,40 <sup>1</sup>	4,99 $\pm$ 0,60 <sup>1</sup>	5,43 $\pm$ 0,46 <sup>1,2</sup>	9,78 $\pm$ 1,28 <sup>2,3,4</sup>	17,41 $\pm$ 1,24 <sup>5</sup>	13,15 $\pm$ 0,88 <sup>5,6</sup>
Изолейцин	7,76 $\pm$ 0,74	7,67 $\pm$ 0,66	5,44 $\pm$ 0,76 <sup>1,2,4</sup>	7,59 $\pm$ 0,72	10,61 $\pm$ 1,19 <sup>2,3,4</sup>	9,63 $\pm$ 2,06	6,68 $\pm$ 0,98 <sup>5</sup>
Лейцин	17,50 $\pm$ 1,38	16,21 $\pm$ 1,13	12,03 $\pm$ 0,77 <sup>1</sup>	16,95 $\pm$ 1,36 <sup>3</sup>	18,98 $\pm$ 1,97 <sup>3</sup>	11,69 $\pm$ 1,36 <sup>5</sup>	12,10 $\pm$ 2,61 <sup>5</sup>
Тирозин	15,34 $\pm$ 0,79	11,30 $\pm$ 0,81 <sup>1</sup>	13,24 $\pm$ 1,18	10,01 $\pm$ 0,60 <sup>1,3</sup>	12,26 $\pm$ 1,21 <sup>1</sup>	12,50 $\pm$ 1,80	10,00 $\pm$ 1,21
Фенилаланин	19,05 $\pm$ 0,97	15,00 $\pm$ 0,72 <sup>1</sup>	14,99 $\pm$ 0,96 <sup>1</sup>	18,59 $\pm$ 1,64	21,18 $\pm$ 1,50 <sup>2,3</sup>	17,41 $\pm$ 2,45	12,47 $\pm$ 1,16 <sup>5</sup>
Гистидин	27,91 $\pm$ 1,60	23,80 $\pm$ 0,88 <sup>1</sup>	25,28 $\pm$ 1,32	25,33 $\pm$ 1,67	26,41 $\pm$ 2,37	17,41 $\pm$ 1,24 <sup>5</sup>	13,15 $\pm$ 0,88 <sup>5,6</sup>
Триптофан	9,71 $\pm$ 0,99	16,54 $\pm$ 1,03 <sup>1</sup>	9,07 $\pm$ 0,99 <sup>2</sup>	10,24 $\pm$ 0,85 <sup>2</sup>	6,17 $\pm$ 0,31 <sup>1,2,3,4</sup>	8,33 $\pm$ 1,07	4,72 $\pm$ 0,41 <sup>5,6</sup>
Лизин	26,36 $\pm$ 1,83	20,85 $\pm$ 0,94 <sup>1</sup>	20,34 $\pm$ 1,15 <sup>1</sup>	26,04 $\pm$ 2,40 <sup>3</sup>	23,31 $\pm$ 1,49	31,03 $\pm$ 3,39 <sup>5</sup>	14,33 $\pm$ 1,55 <sup>5,6</sup>
Аргинин	24,08 $\pm$ 1,38	23,06 $\pm$ 2,29	51,93 $\pm$ 5,25 <sup>1,2,4,5</sup>	29,76 $\pm$ 3,53	24,95 $\pm$ 1,94	12,70 $\pm$ 1,20 <sup>5</sup>	5,42 $\pm$ 0,96 <sup>5,6</sup>

Примечание: 1 – небеременные женщины; 2,3,4 – женщины соответственно в I, II и III триместрах беременности; 5 и 7 – роженицы (I период); 6 – новорожденные (пуповинная кровь). <sup>1,2...6</sup> - достоверные ( $p < 0,05$  по Стьюденту) различия с соответствующей группой.

Цейликман В.Э., Синицкий А.И., Горностаева А.Б.,  
Лавин Е.А., Лаптева И.А., Крупицкая Л.И.,  
Цытович А.Л.

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АДРЕНОМИМЕТИКАМ  
И СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-  
МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ  
ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ СО СНИЖЕННОЙ  
УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ**

*ГОУ ВПО «Челябинская государственная  
медицинская академия Росздрава», г. Челябинск*

Ранее нами было показано, что удлинение промежутка между отдельными эпизодами 1 часового иммобилизационного стресса до 72 часов снижало устойчивость к острой гипоксической гипоксии (Цейликман В.Э. и соавт., 2005). Известно, что повышенная чувствительность к гипоксии сопряжена с активацией симпато-адреналовой системы (САС), а также процессов свободно-радикального окисления (Кулинский В.И., Ольховский И.А., 1992; Лукьянова Л.Д., 2000). Во многих исследованиях состояние САС характеризуется исключительно по содержанию катехоламинов, игнорируя при этом уровень чувствительности органов-мишеней к адреналину и норадреналину. В настоящее время накоплен внушительный массив информации, касающийся состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) при гипоксических воздействиях. Определено значение ПОЛ в развитии гипоксических расстройств. Однако активные формы кислорода могут вызывать окислительную деструкцию не только липидов, но и белков. В данном исследовании мы оценивали состояние САС как по уровню катехоламинов, так и по чувствительности к адреномиметикам и определяли содержание окислительно модифицированных белков (ОМБ) во внутренних органах у животных со стресс-индуцированным снижением устойчивости к острой гипоксической гипоксии.

**Материалы и методы**

Эксперименты были выполнены на 75 белых беспородных крысах. Периодические стрессорные воздействия воспроизводились одночасовыми иммобилизациями с интервалом 72 часа между отдельными эпизодами. Всего животные четырежды подвергались 1 часовому иммобилизационному стрессу. Остальные крысы использовались в качестве контроля. Животные умерщвлялись через 24 часа после завершения последней иммобилизации под легким эфирным наркозом. В отдельных экспериментах моделировалось острое гипоксическое воздействие, путём помещения животных под воду с последующей регистрацией латентности развития гипоксической комы. Моделирование стрессорной активации САС осуществлялось путём подкожного введения адреномиметиков. Адреномодулирующие средства вводили в дозах, рекомендуемых И.А. Волчегорским (1993) и Ю.К. Костиным (1994). В экспериментах использовали синтетические адренореактивные

средства: неселективный  $\alpha$ -адреномиметик фенилэфрин (мезатон - доза 0.8 мг/кг),  $\alpha_2$ -адреномиметик клонидина сульфат (клофелин - доза 0.009 мг/кг), и адреномиметик с преимущественным сродством к  $\beta_2$ -адренорецепторам фенотеролгидробромид (партусистен - доза 0.045 мг/кг). Препараты разводили на 0.9% растворе NaCl и вводили в объёме 2.5 мл/кг. Контрольные животные получали равный объём 0.9% раствора NaCl. Через 30 минут после введения адреномиметиков, животные умерщвлялись под эфирным наркозом. В крови определялись содержание глюкозы, лактата и свободных жирных кислот. Кроме того, в печени и в мышцах определялось содержание гликогена. Во внутренних органах определялось содержание окислительно-модифицированных, карбонилированных белков (Дубинина Е.Е и соавт., 1995). О достоверности различий судили с помощью непараметрического критериев Вилкоксона-Манна-Уитни (U) и Вальд-Вольфовица (WW)

**Результаты и обсуждение**

Установлено, что для редко чередующихся 1 часовых иммобилизаций характерна активация стресс-реализующих систем. Это проявлялось в увеличении содержания циркулирующих кортикостерона и адреналина. Однако уровень норадреналина не претерпел при этом статистически значимых изменений. При этом у стрессированных животных наблюдалось снижение чувствительности к гликогенолитическому действию альфа адреномиметика клонидина. Так, введение альфа 2 адреномиметика стрессированным животным привело к двухкратному повышению уровня гликогена в печени. В данном случае речь идёт об инверсии гликогенолитического эффекта препарата. Как видно из таблицы № в группе «Ис2 + фенотерол» в 2 раза выше содержание гликогена печени по сравнению с группой фенотерол.

Кроме того, наблюдалось увеличение чувствительности к действию бета2 адреномиметика фенотерола. В этой серии эксперимента введения препарата нестрессированным животным сопровождалось только повышением содержания лактата. У стрессированных животных этот препарат помимо прироста содержания лактата вызывал увеличение содержания уровня глюкозы при одновременном снижении содержания гликогена в мышцах. Снижение устойчивости к гипоксии закономерно ассоциируется с индукцией процессов свободно-радикального окисления. Это проявлялось в приросте на 76% содержания окислительно модифицированных белков в селезёнке. Кроме того, в почках у стрессированных животных содержание карбонилированных белков в 2,6 раза превысило контрольный уровень. Между тем, исследованный режим повторных стрессорных воздействий не повлёк за собой статистических значимых изменений по уровню карбонилированных белков в печени. Важно

отметить, что в селезёнке увеличение содержания окислительно - модифицированных белков затронуло только базальный уровень, а в почках помимо базального уровня увеличилось содержание белковых продуктов СРО в ответ на индукцию  $H_2O_2$ .

В строме эритроцитов наблюдалось снижение содержания окислительно модифицированных белков на базальном уровне. Подобные изменения ассоциируются с увеличением активности ферментативных антиоксидантных факторов в строме эритроцитов. В частности, через 24 часа после завершения повторных иммобилизаций в эритроцитах стрессированных животных наблюдалось увеличение активности глутатионпероксидазы.

Таким образом, нам удалось воспроизвести ситуацию, когда постстрессорное снижение устойчивости к гипоксии сопровождается десенситизацией  $\alpha_2$  адренорецепторов. Причём в данном случае ограничивается гликогенолитический эффект адреномиметика по отношению к печени. В гипоксических условиях это может затруднить мобилизацию гликогенного депо в печени и обеспечение глюкозой головного мозга. Недавно появились новые данные о карбонилированных белках как о маркерах гипоксических состояний. Кроме того, имеются сведения о том, что в условиях ишемии реперфузии помимо активации ПОЛ возрастает содержание карбонилированных белков. Однако, как показали наши исследования, процесс карбонилирования белка при стрессе имеет органоспецифичный характер. Вполне возможно, снижение содержания окислительно-модифицированных белков в эритроцитах имеет защитный характер, предохраняющий клетки от разрушения.

Цейликман О.Б., Борисенков А.В., Бубнов Н.В.,  
Суздальцев А.Л.

#### **ПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕТАЛЕЙКИНА И СОДЕРЖАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОДУКТОВ ПОЛ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

*Южно-Уральский государственный университет,  
ГОУ «Челябинская государственная медицинская  
академия Росздрава», г. Челябинск*

В настоящее время цитокиновые препараты находят широкое применение в клинике при лечении заболеваний, сопровождающихся развитием иммунной дисфункции (8). Однако, нарушения функциональной активности различных звеньев системы иммунобиологического надзора встречаются и в спортивной практике (4;5). В частности высокий риск развития респираторных инфекций характерен для спортсменов-лыжников (1;4). Поэтому для поддержания здоровья и работоспособности

спортсменов рационально использовать определённые иммуностимуляторы. Следует учесть, что многие иммуностимуляторы обладают психотропными эффектами. Прежде всего, это связано с тем, что их действие так или иначе опосредовано цитокинами (8). В свою очередь, цитокины, обладают способностью проникать через фенестрированные зоны гемато-энцефалического барьера и непосредственно влиять на физиологические процессы в ЦНС и поведенческие реакции (6). Поэтому при назначении иммуностимуляторов, особенно цитокиновых препаратов, спортсменам необходимо учитывать их побочное психотропное действие. При этом нельзя игнорировать и стрессорную составляющую тренировочного процесса (7). Между тем цитокины, могут сами по себе активировать стресс-реализующие системы ЦНС (6;8). Поэтому необходимо провести фундаментальные исследования для изучения механизмов стресс-модулирующего эффекта по отношению к психотропным эффектам иммуностимуляторов. В данной работе мы попытались проследить направленность психотропных эффектов цитокинового препарата беталейкина в зависимости от характера предшествующего стресса

#### **Материалы и методы**

Эксперименты были выполнены на 115 белых беспородных крысах. Периодические стрессорные воздействия осуществлялись в двух режимах. Первый режим: животные подвергались ежедневным 1 часовым иммобилизациями в течении 3 суток с интервалом между отдельными стрессорными эпизодами 24 часа. Второй режим: четырежды воспроизводились одночасовые иммобилизации с интервалом 72 часа между отдельными эпизодами. Через 24 часа после завершения стрессорных воздействий животным внутрибрюшинно вводился препарат рекомбинантного человеческого  $IL-1\beta$  (Беталеикин, Betaleukinum, hrIL-1  $\beta$ ) (ГНЦ РФ ГосНИИ особо чистых препаратов, Санкт-Петербург; препарат был любезно предоставлен профессором А.С.Симбирцевым) с удельной биологической активностью  $10^8$  ед / мг белка. Контрольные группы получали эквивалентное по объёму количество хлорида натрия. Поведенческие реакции исследовали с помощью теста «открытое поле». Для оценки уровня тревожности дополнительно применяли тест «крестообразный лабиринт». В коре, гипоталамусе, среднем и продолговатом мозге определяли содержание молекулярных продуктов ПОЛ (2;3).

#### **Результаты и обсуждение**

Поведенческие эффекты цитокинового препарата проявлялись в десятикратном снижении количества фекальных болюсов. Между тем уровень дефекаций является важнейшим маркёром тревожности, поскольку отражает КРФ зависимые реакции заднего отдела кишечника. Также отмечено пятикратное снижение локомоторной активности, проявлявшееся в снижении количества пересечённых квадратов в тесте



«открытое поле», снижение ориентировочной реакции, проявлявшееся в пятикратном снижении «вертикальных стоек» и трёхкратное снижение исследовательского поведения крыс, проявлявшееся в снижении количества выглядываний в отверстия актографа.

Предварительные стрессорные воздействия смягчали IL-1 зависимые проявления «sickness behavior». Это выражалось в увеличении двигательной и ориентировочной активности в группе «стресс1+гIL-1β». При выполнении теста «крестообразный лабиринт» у животных, получавших цитокиновый препарат после предварительных стрессорных воздействий, сформировались новые поведенческие стереотипы анксиолитического характера. Так в тесте «крестообразный лабиринт» отмечено увеличение времени пребывания в открытых рукавах крестообразного лабиринта и сокращение времени пребывания в закрытых рукавах. Подобные изменения свидетельствуют об усугублении анксиолитических эффектов гIL-1β повторными стрессорными воздействиями. Развитие анксиолитических эффектов хронического стресса после введения гIL-1β ассоциируется с активацией ПОЛ в среднем мозге. Так через 24 часа после введения цитокинового препарата наблюдалось увеличение содержания изо-пропанол растворимых первичных и вторичных молекулярных продуктов ПОЛ. В среднем мозге активация ПОЛ наблюдалась при введении рекомбинантного IL-1 нестрессированным животным. У животных получавших цитокиновый препарат после завершения повторных стрессорных воздействий наблюдались изменения уровня ПОЛ, как в коре так и в среднем мозге. Одновременно, у животных группы «стресс2+IL-1» по сравнению с группой «IL-1» в коре головного мозга наблюдалось снижение на 21% количества изо-пропанол-растворимых кетодиенов и сопряжённых триенов.

Полученные результаты свидетельствуют, что в ответ на введение г IL-1β животным стрессированным во втором режиме происходит усиление анксиогенных эффектов гIL-1β. Так если в группе « гIL-1β» наблюдалось снижение количества дефекаций, то в группе «стресс2+ г IL-1β» по сравнению с референтной точкой в качестве которой использовали группу «г IL-1β» в 300 раз увеличилось количество фекальных болюсов. Кроме того, несколько увеличилось время проявления в закрытых рукавах крестообразного лабиринта, Как уже ранее отмечалось, наиболее чувствительным отделом мозга по отношению к ПОЛ у нестрессированных животных, получавших цитокиновый препарат является средний мозг. У стрессированных животных через 24 часа после введения гIL-1β наблюдалось более заметное увеличение содержания изо-пропанол растворимых диеновых конъюгатов чем в группе «гIL-1β». Аналогично наблюдалось увеличение содержания этой категории молекулярных продуктов ПОЛ в коре

головного мозга. Напротив, в гипоталамусе наблюдалось снижение содержания изо-пропанол растворимых кетодиенов и сопряжённых триенов. Таким образом, характерные для группы «стресс2+ г IL-1β» изменения содержания ПОЛ неоднозначны в различных отделах мозга. Тем не менее, полученные результаты свидетельствуют о десенситизации к анксиолитическому действию цитокинового препарата, ассоциируемом с усилением ПОЛ в коре и в среднем мозге и снижением в гипоталамусе.

В настоящее время имеются данные о способности гIL-1β вызывать дозо-зависимое анксиогенное действие в течении 30-60 минут после внутрибрюшинного введения. Согласно данным исследования A.Swiercziel и A.Dunn (2007) введение этого провоспалительного цитокина сопровождается снижением времени прохождение в открытых рукавах и увеличением времени пребывания в закрытых рукавах «крестообразного лабиринта». В наших исследованиях также отмечены аналогичные тенденции, не достигшие, тем не менее, статистически значимых величин. Это объясняется тем, что в отличии от вышеупомянутых данных наши наблюдения проводились в более поздний срок, а именно через 24 часа после введения препарата. Тем не менее, нами обнаружены анксиогенные эффекты гIL-1β проявляющиеся и в более поздний период. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ежедневные иммобилизации, вызывают конверсию анксиогенных эффектов цитокинового препарата в анксиолитические. Другой режим повторных иммобилизаций, напротив, усиливал анксиогенное действие цитокинового препарата. Таким образом, нам удалось воспроизвести диаметрально противоположные типы поведенческих реакций в ответ на введение иммуностимулятора на фоне различных режимов хронического стресса. Полученные результаты полезно учитывать при психологической подготовки спортсменов. Не исключено, что в зависимости от характера тренировочного процесса, от спортивной квалификации и т.д, применяемые иммуностимуляторы могут по-разному влиять на психологический статус спортсмена.

#### Литература

1. Волчегорский И.А., Сашенков С.Л., Зурочка А.В., Усков Г.В. Уровень перекисленных липидов крови и функциональное состояние иммунной системы у лыжников // Теория и практика физической культуры и спорта.-2003-3-С.53-58.

2. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / Вопросы медицинской химии 1989 № 1 С.127-131.

3. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптационных реакций организма, Челябинск 2000, 167 с.

4. Дятлов Д.А. Состояние иммунной системы и прогнозирование респираторных заболеваний у квалифицированных лыжников-гонщиков в течении годичного цикла. Докт.дис. Челябинск., 1996-333с.

5. Исаев А.П. Механизмы долговременной адаптации и дисрегуляции функций спортсменов к нагрузкам олимпийского цикла подготовки. Автореф. дис. . .д-ра биол.наук. Челябинск, 1993-54 с.

6. Корнева Е.А. О взаимодействии нервной и иммунной систем // Иммунофизиология. - СПб, Наука, 1993. - С. 7 - 9.

7. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. - М.: Медицина, 1988. - 256 с.

8. Симбирцев А.С. Цитокины-новая система регуляции защитных систем организма // Цитокины и воспаление 2002 №1с 9-16.

Шаклеина Н.В., Савельев О.Н., Сухоруков В.П.

**ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ  
РЕАМБЕРИНА ПРИ ИТТ В ПЕРИ-  
И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДАХ  
У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО  
ВОЗРАСТА**

*ФГУЗ «Медико-санитарная часть ГУВД  
Свердловской области», г. Екатеринбург;  
ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров*

Судя по ряду публикаций, одним из перспективных направлений в проведении интенсивной инфузионной терапии является применение 1,5% раствора реамберина, содержащего 6 субстрат цикла Кребса – сукцинат.

Нами у 13 оперированных больных с сопутствующей соматической патологией (средний возраст 61±9 лет) в схему как пери-, так и послеоперационной ИТТ были включены капельные введения реамберина в дозе 800 мл / сут с объемной скоростью 240 – 270 мл / час и продолжительностью послеоперационной инфузии до 5 - 10 дней. Анестезиологическая защита осуществлялась пропофола, кетамина, диазепама, фентанила, тракриума или эсмерона.

Как известно, в физиологических условиях янтарная кислота диссоциирует на анион – сукцинат, регулирующий тканевый метаболизм и связанные с этим процессы энергопродукции. При этом поддержание функционирующих органов и систем обеспечивается за счет преимущественного окисления янтарной кислоты сукцинатдегидрогеназой, локализованной на внутренней мембране митохондрий клетки. Следует отметить, что снижение с возрастом количества такого фермента митохондрий как сукцинатдегидрогеназа уже само по себе приводит к нарушению метаболических процессов в клетках стареющего организма. Характерные для оперированных гериатрических больных выраженные

иммунодефицит, гипоксия тканей или развившаяся интоксикация требуют проведения неотложной эффективной корригирующей терапии. Более того, все, за исключением кетамина, применяемые для ТВА фармакологические средства, подавляют различные механизмы внутриклеточных процессов, снижая тем самым метаболическую активность клеточных реакций и приводят к выраженной иммуносупрессии, особенно у больных пожилого и старческого возраста. Отсюда при патологии в условиях кислородной задолженности становится очевидным патогенетически обоснованное в плане «метаболической реанимации клетки» влияние инфузий реамберина, содержащего «готовый» компонент клеточного метаболизма, – сукцинат – на энергометаболизм, клеточное дыхание, активацию процессов окисления, синтез белков.

Включение инфузий реамберина в программу ИТТ у оперированных больных продемонстрировало отсутствие каких-либо реакций и осложнений, более быструю по сравнению с традиционно применяемой ИТТ нормализацию основных гематологических и биохимических показателей, дыхательных и гемодинамических параметров, снижение степени интоксикации, что позволило сделать вывод о целесообразности применения препарата реамберин и о перспективности разработки стандартных программ ИТТ с его использованием в оперативной гериатрической практике.

Шараев П.Н., Иванов В.Г., Замятин А.Б.,  
Афанасьев С.С., Шкляева Е.В., Гилева О.Г.

**ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ  
БИОПОЛИМЕРОВ И АКТИВНОСТИ  
ГЛИКОЗИДАЗ В СТЕНКЕ ЖЕЛУДКА В НОРМЕ И  
ПРИ СТРЕССОГЕННЫХ ЯЗВАХ**

*ГОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская  
академия Росздрава», г. Ижевск*

В экспериментах на крысах показано, что при иммобилизационном стрессе в стенке желудка появляются эрозии и язвы. Одновременно в этой ткани снижается содержание гликозаминогликанов (ГАГ) и гликопротеинов. Целью данной работы явилось одновременное исследование содержания углеводовсодержащих биополимеров и активности ряда кислых гликозидаз в слизистой оболочке желудка в норме и при стрессогенных язвах.

Эксперименты проводились на 24 растущих (30-45 дней), 26 взрослых (5-6 месяцев) и 28 старых (18-20 месяцев) крысах-самцах. Контролем служили по 10 крыс, соответствующих избранным возрастным группам. Все животные до начала опытов были адаптированы к условиям лаборатории. Опыты проводили в осенне-зимний период. Многократный иммобилизационный стресс у всех опытных крыс вызывали путем ежедневных двухкратных фиксации их на спине в дневное время по 60 мин с перерывом 7-8 ч

в течение 3 дней. Животных забивали натощак на фоне кратковременного эфирного наркоза. Развитие состояния стресса у опытных животных определяли по наличию у них эрозий и язв в слизистой оболочке желудка, а также по увеличению концентрации 11-оксикортикостероидов в крови.

Для анализа использовали охлажденные до 4°C надосадки гомогенатов соскобов измененных слизистых оболочек стенок желудков и ткань легких (по 100 мг сырой ткани и 2,0 мл 0,9% NaCl; 3000 об/мин, 10 мин) опытных, а также неизменные слизистые оболочки желудков и ткань легких контрольной группы крыс. Суммарные ГАГ и гликопротеины из надосадков гомогенатов тканей осаждали при 1-4°C 79-80% холодным этанолом (3000 об/мин, 10 мин). В полученных осадках определяли содержание гексуроновых кислот и гексозаминов. По молярной разнице гексоза-минов и гексуроновых кислот определяли суммарное содержание гликопротеинов. Уровень ГАГ и гликопротеинов выражали в мкмольях гексуроновых кислот и гексозаминов соответственно на 1 г сухой обезжиренной ткани. В надосадках после осаждения ГАГ и гликопротеинов концентрацию этанола доводили до 90-93% и из этой смеси осаждали гликопептиды (3000 об/мин), количество которых определяли по уровню гексозаминов и выражали в мкмольях на г сухой обезжиренной ткани. В отдельно выделенных надосадках гомогенатов слизистой оболочки желудка, как указано выше, определяли активность N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы (КФ 3.2.1.50), N-ацетил-β-D-галактозаминидазы (КФ 3.2.1.53), сиалидазы (нейраминидаза, КФ 3.2.1.18), α-D-маннозидазы (КФ 3.2.1.24), а также α-L-фукозидазы (КФ 3.2.1.51) по количеству образовавшегося 4-нитрофенола при расщеплении 4-нитрофенил-N-ацетил-β-D-глюкозаминида и других соответствующих субстратов («Sigma-Aldrich», США-Германия). Активность исследованных гликозидаз выражали в мкмольях образовавшегося 4-нитрофенола при ферментативном расщеплении соответствующих субстратов за 1 ч на 1 л надосадка (мкмоль/ч/л).

Проведенные исследования показали, что к числу возрастных изменений тканей интактных животных относятся снижение в слизистой оболочке желудка содержания ГАГ на 14,6% (P<0,01) и увеличение уровня гликопротеинов на 24,1% (P<0,001) у старых крыс по сравнению с аналогичными показателями взрослой группы крыс. Активность N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы и других исследуемых ферментов в надосадках гомогенатов слизистой оболочки незначительно повышалась у старых интактных животных по сравнению с аналогичными показателями взрослой группы крыс.

В сравнительном аспекте в тканях легких у экспериментальных животных было исследовано суммарное содержание гексозаминов. У растущих крыс в тканях легких среднем было обнаружено

24,9±0,96 мкмоль гексозаминов на г сухой обезжиренной ткани. Этот показатель мало отличался у взрослых и старых крыс (26,1±1,32 и 27,9±1,78 мкмоль/г сухой обезжиренной ткани соответственно). После многократных стрессогенных воздействий в тканях легких растущих, взрослых и старых крыс было обнаружено 27,1±0,84, 28,9±1,06 и 30,7±1,24 мкмоль гексозаминов на г сухой обезжиренной ткани соответственно.

Многократные стрессогенные воздействия в течение 3 дней сопровождаются развитием язв в слизистой оболочке желудка у 54,1; 42,3 и 35,7% растущих, взрослых и старых крыс соответственно. При этом в слизистой оболочке желудка в наи-большей степени увеличивается содержание гексозамин-содержащих гликопептидов, источником которых могут быть как клетки слизистой оболочки, так и гликопротеины плазмы крови (фибриноген, иммуноглобулины, серомукоиды и др.). Резкое увеличение содержания гликопептидов в слизистой оболочке при стрессогенных язвах желудка указывает на активацию в ней катаболических реакций гликопротеинов. В условиях наших опытов в пользу активации реакций распада гликопротеинов в стенке желудка указывает также повышение в ней активности исследованных лизосомальных ферментов, участвующих в деградации ГАГ, гликопротеинов и гликопептидов в тканях.

Таким образом, обнаруженные отклонения в обмене ГАГ, гликопротеинов и гликопептидов, выполняющих барьерные, защитные, энзиматические и другие функции в тканях, могут играть существенную роль в появлении и развитии язвенных повреждений в слизистой оболочке желудка при многократных стрессогенных воздействиях на организм.

Щербаков Д.Л., Мещанинов В.Н.  
**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ  
 ТРИПТОФАНА И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
 НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ  
 И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ  
 КЛЕТОК И ПЛАЗМЫ КРОВИ  
 ПРИ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ**

ГОУ ВПО «Уральская ГМА Роздрава»,  
 ГУЗ СО «Центр организации специализированных  
 видов медицинской помощи «Институт  
 медицинских клеточных технологий»,  
 г. Екатеринбург

**Актуальность проблемы.** Возрастная инволюция снижает адаптивные возможности организма в условиях стресса [Фролькис В.В., 1985]. Особое место в этом занимают нейромедиаторы и гормоны, в частности производные триптофана (Трп). Метаболизм Трп в организме человека и животных протекает по двум направлениям: кинурениновый и серотониновый путь [Родуэл В., 1993]. В кинурениновом пути метаболизирует до 95% Трп конечным продуктом,

которого является рибонуклеотид никотиновой кислоты, который затем превращается в НАД<sup>+</sup>/НАДН<sub>2</sub> [Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф., 1990]. Остальные 5% Тгр метаболизируют до биогенного амина серотонина, который может превратиться в эпифизарный гормон мелатонин с мощным антиокислительным эффектом [Зенков Н.К., 1996; Анисимов В.Н., 1996] и в группу индольных производных с различными антиокислительными свойствами [Суворов Н.Н., 1987]. Никотиновая кислота (Н.К.), как конечный продукт метаболизма Тгр по механизму обратной связи ингибирует фермент триптофанпирролазу катализирующую первую реакцию кинуренинового пути. Поэтому введение в организм Н.К. блокирует кинурениновый путь и как следствие активировать серотониновый путь с увеличением выхода серотонина, мелатонина и группы индолов. Увеличение уровня серотонина будет препятствовать наступлению депрессии и психо-эмоционального стресса у людей [Харт К., 1998], а увеличение количества индолов и мелатонина - увеличивать в организме антиокислительную активность (АОА) и снижать уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ).

**Цель работы.** Изучить влияние Тгр и Н.К. на изменение уровня ПОЛ и АОА в эритроцитах и плазме крови в условиях нормы и при иммобилизационном стресс-воздействии у животных разного возраста.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 80 крысах (самцах), 40 из которых - зрелого возраста (10-12 месяцев) и 40 - старого возраста (22-24 месяца). В каждой возрастной группе было четыре подгруппы по 10 животных: (контроль, иммобилизационное стресс-воздействие, подкожное введение смеси Тгр (60 мг/кг) с Н.К. (30 мг/кг) и сочетание стресс-воздействия с инъекцией Тгр и Н.К. Наличие развития стресс - реакции контролировалось морфологическим и биохимическим исследованием надпочечников. В крови был изучен уровень ПОЛ (по количеству малонового диальдегида, диеновых конъюгатов и гидроперекисей жирных кислот) и АОА (по гидрохиноновой пробе, активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы) с расчетом коэффициентов ПОЛ и АОА (КПОЛ и КАОА) [Нагорнев С.Н., 1996] в нашей модификации.

**Результаты и их обсуждение.** Достоверных различий КАОА и КПОЛ в крови между старыми и зрелыми животными в условиях нормы не выявлено (КАОА у старых  $93,9 \pm 20,1$ , у зрелых  $94,8 \pm 10,2$ ; КПОЛ у старых  $104,9 \pm 22,1$ , у зрелых  $104,7 \pm 9,4$ ). При иммобилизации у старых животных КАОА в крови уменьшился на 18,7%  $p > 0,05$ , КПОЛ увеличился на 12,7%  $p > 0,05$ , у зрелых животных обратная картина: КАОА в крови увеличился на 52,3%  $p < 0,01$ , КПОЛ уменьшился на 20,7%  $p > 0,05$ , по сравнению с контролем одного возраста. Это подтверждает тот факт, что с возрастом происходит снижение адаптивных возможностей организма к экстремальным воздействиям.

Подкожное введение Тгр и Н.К. на фоне иммобилизации старым животным предотвращало указанные выше сдвиги, при этом КАОА в крови увеличился на 39,4%  $p < 0,01$ , а КПОЛ снизился на 26,2%  $p < 0,05$  по сравнению с группой стресс-воздействия. У зрелых животных в крови понижался, как КАОА на 40,7%  $p < 0,05$ , так и КПОЛ на 16,9%  $p > 0,05$ , по сравнению с группой стресс-воздействия. Такое уменьшение КПОЛ у обеих возрастных групп можно связать с проявлением антиокислительных свойств мелатонина и группы индолов, метаболический выход которых должен возрастать.

Уменьшение КПОЛ совпадает с уменьшением активности фосфолипазы-А<sub>2</sub> (ФЛ-А<sub>2</sub>), которая поставляет субстраты для ПОЛ. У старых животных активность ФЛ-А<sub>2</sub> уменьшилась на 9,4%  $p > 0,05$ , у зрелых на 43,1% ( $p < 0,01$ ), по сравнению с активностью ФЛ-А<sub>2</sub> у группы со стресс-воздействием.

**Выводы.** Таким образом, введение в организм сочетания Тгр и Н.К. на фоне экстремального воздействия понижало уровень ПОЛ в периферической крови старых и зрелых животных, проявляя антиокислительные свойства. Данная комбинация метаболитов может быть рекомендована для дальнейшего изучения в качестве стресс-профилактического и антиокислительного средства у животных и человека разных возрастных групп.

Яновская Е. А.

#### **АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ СТАБИЛИЗАТОРОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ**

*НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

Большинство лекарственных препаратов при окислении образуют окрашенные соединения, что приводит к отклонению от фармакопейных требований. Окисление, как правило, происходит под действием кислорода воздуха. Присутствие в растворах лекарственных средств катионов металлов переменной валентности, т.е. d-элементов, может значительно ускорять процесс окисления.

Наиболее подверженными процессу окисления являются молекулы с неподеленной парой электронов, двойными или тройными связями, подобные структуры часто встречаются среди лекарственных средств. Задача защиты легко окисляемых молекул является достаточно актуальной при создании новых лекарственных препаратов.

Исследование выполнено на примере п-аминосалицилата натрия (ПАСК натрия), являющегося сильным комплексообразователем и использующегося в качестве противотуберкулезного препарата. Молекула п-аминосалицилата натрия содержит первичную аминогруппу, вследствие чего обладает повышенной склонностью к окислению. И действительно, при длительном стоянии на воздухе

раствор окрашивается в красный цвет, так как образуются хромофорные нитро группы. Также возможно образование токсичных продуктов деградации лекарственных средств, содержащих нитрозогруппы.

Для стабилизации и сохранности водного раствора п-аминосалицилата натрия в настоящее время используется смесь комплексообразователя (этилендиаминтетраацетата натрия) с антиокислителем (сульфитом натрия). Однако этилендиаминтетраацетат натрия является ксенобиотиком и его применение может вызывать ряд побочных эффектов в организме.

Существует три способа стабилизации лекарственных средств:

1. Стабилизация антиоксидантами: сульфит натрия, гидросульфит натрия, аскорбиновая кислота, токоферол;

2. Стабилизация с помощью комплексообразователей: лимонная, щавелевая кислот, этилендиаминтетраацетат натрия;

3. Стабилизация путем химической модификации самого субстрата: алкилирование, ацелирование.

Стабилизация путем модификации самого субстрата проводилась с целью перевода аминной группы в более стабильную аммонийную группу с помощью 2М раствора соляной кислоты, взятой в избытке. В результате была получена аммонийная соль парааминосалицилата натрия плохо растворяющаяся в воде.

Нами изучена возможность применения для стабилизации раствора п-аминосалицилата натрия хелатообразующих органических кислот природного происхождения: лимонной, винной, а также их солей: тартратов и цитратов щелочных металлов в сравнении с этилендиаминтетраацетатом натрия. В качестве антиокислителя нами был использован сульфит натрия. Процесс окисления ускоряли введение раствора перманганата калия 0.1 Н или концентрированной перекиси водорода.

Перечисленные комплексообразователи были выбраны на основе данных констант нестойкости.

Установлено, что на процесс окисления влияет рН среды.

Добавление к раствору п-аминосалицилата натрия лимонной или винной кислот с концентрацией 0.1 % и сульфита натрия (0.4 %) повышает до рН = 7.0 и препятствует окислению ПАСКа натрия, (раствор остается неокрашенным на протяжении 7 суток при свободном доступе кислорода воздуха).

При добавлении к раствору парааминосалицилата натрия тартрата натрия-калия или цитрата натрия с концентрацией 0.1 % в сочетании с раствором сульфита натрия (0.4 %) был получен неожиданный результат с точки зрения общих представлений об окислительно-восстановительных реакциях. Окраска раствора менялась очень быстро. В результате гидролиза сульфита натрия в растворе образуются гидроксильные ионы, влияющие на рН раствора (рН≈ 9.0), и возможно,

способствующие образованию комплексных окрашенных соединений парааминосалицилата натрия с катионами металлов.

При добавлении лимонной или винной кислот с концентрацией 0.3 % к раствору п-аминосалицилата натрия до рН = 4.1÷4.3 наблюдалось быстрое окисление субстанции перманганатом калия. При стоянии раствор приобретал желтое окрашивание через 12 часов.

При добавлении к раствору тартрата или цитрата концентрацией 0.3 % без сульфита натрия раствор (рН = 7.5) оставался стабильным в течение 7 суток. Перманганат калия в используемой концентрации не вызывал изменение окраски раствора ПАСКа натрия. Это указывает на хорошие стабилизирующие свойства тартрата и цитрата натрия.

Проведенное исследование показывает возможность стабилизации раствора вещества, в структуре которого имеется первичная аминная группа с помощью природных карбоновых кислот и их солей, обладающих хелатообразующими свойствами. Очевидно, что для окисления первичной аминогруппы в молекуле парааминосалицилата натрия большое значение имеет наличие в растворе ионов металлов с переходной валентностью, а также величина рН.

Яппаров Р.Н., Сидорчева О.В., Абзалов Р.Р., Шакирова Э.Д.

### **ВЛИЯНИЕ НЕГАТИВНЫХ ФАКТОРОВ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ, СЛЮНЫ И МОЧИ У РАБОЧИХ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г.Уфа*

Известно, что в адаптации к неблагоприятным производственным условиям и в патогенезе многих заболеваний, по мнению одних исследователей, являются изменения гормонального статуса, других - энергетизма, третьих - состояния свободно-радикального и микросомального окисления. В этой связи **целью настоящего исследования** явилось изучение влияния негативных факторов производственной среды на гормональный статус и состояние свободно-радикального окисления с использованием регистрации хемилюминесценции (ХЛ) крови, слюны и мочи.

**Материал и методы исследования.** В плазме крови у 295 работников производства резиновых и резинотехнических изделий оценивали гормональный статус на основании определения в плазме крови концентрации тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) и тироксина (Т<sub>4</sub>) методом радиоиммунного анализа с использованием стандартных наборов. Содержание кортизола, тестостерона и пролактина - иммуноферментным методом с набором реактивов фирмы «Хема»

(Россия). В эритроцитах, плазме крови, слюне и моче у тех же работников изучали состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию диеновых и триеновых конъюгатов (ДК и ТК), малонового диальдегида (МДА), гидроперекисей (ГП) и основания Шиффа (ОШ). Ферментативную систему антиоксидантной защиты организма исследовали путём определения в эритроцитах активности каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глутатион-S-трансферазы (ГТ), а неферментативную - по уровню в плазме крови  $\alpha$ -токоферола. Соотношение систем ПОЛ - антиоксидантная защита оценивали путём регистрации интенсивности хемилюминесценции (ХЛ), индуцированной ионами  $Fe^{+2}$ . Все обследуемые с учётом интенсивности воздействия поллютантов были разделены на 2 группы (группы А и Б), в каждой группе были выделены по 3 подгруппы. В *группу А* вошли лица, имеющие ингаляционный контакт только с парами бензина-растворителя марки БР-1: 1-я подгруппа - административно-управленческий аппарат, работающие на производстве вне контакта с химическими веществами; 2-я подгруппа - рабочие, имеющие ингаляционный контакт только с парами бензина с периодичностью воздействия 3-5 раза в неделю. В эту подгруппу вошли лица с ранними проявлениями неблагоприятных производственных факторов. У них были обнаружены субъективные и/или объективные симптомы, в том числе и лабораторные не менее, чем в трёх системах (критических), которые не могли составить очерченный клинический симптомокомплекс. Прежде всего, эти изменения в биохимических показателях крови, в клеточном составе периферической крови в различных сочетаниях; 3-я подгруппа - рабочие, имеющие постоянный комбинированный контакт с парами бензина в течение 5 лет и более. Эту подгруппу составили лица с подозрением на хроническую профессиональную интоксикацию, когда совокупность отдельных синдромов различной степени выраженности укладывалась в клинику хронической интоксикации. В *группу Б* вошли лица, имеющие ингаляционный комбинированный контакт со смесью бензина-растворителя марки БР-1 с хлорированными углеводородами (дихлорметан и дихлорэтан-1,2): 1-я подгруппа - административно-управленческий аппарат; 2-я подгруппа - рабочие, имеющие комбинированный контакт со смесью бензина с хлорированными углеводородами с периодичностью воздействия 3-5 раза в неделю; 3-я подгруппа - рабочие, имеющие постоянный комбинированный контакт со смесью бензина с хлорированными углеводородами в течение 5 лет и более. В обеих основных подгруппах действие химических веществ сочетается с факторами физической природы: физическое напряжение, повышенный уровень шума, вибрация, переохлаждение

и др. Контрольную группу составили лица, не связанные в своей профессиональной деятельности с химическим производством; контрольную группу составили лица, не связанные в своей профессиональной деятельности с химическим производством (40 чел.). Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакета программ «Statgraphics».

**Результаты и обсуждение.** Как показали результаты исследований гормонального фона у рабочих, имеющих контакт с органическими растворителями (бензин-растворитель марки БР-1, диоксан-1,4 и др.) и хлорированными углеводородами (дихлорметан, дихлорэтан-1,2) в производстве резиновых и резинотехнических изделий в плазме крови отмечаются изменения в системе гормональной регуляции. В частности, во 2-й и 3-й подгруппах обеих групп наблюдается возрастание кортизола в 1,55 и 1,86 раза, уменьшение полового гормона тестостерона и увеличение  $T_3$ , тогда как концентрации  $T_4$  и ТТГ были в пределах нормы. Это свидетельствует об адаптации основных гормональных механизмов поддержания гомеостаза.

В то же время в плазме крови, эритроцитах, слюне и моче у тех обследованных лиц обнаруживается накопление ДК, ТК, МДА, ГП и ШО, в то время как в 1-й подгруппе статистических проявлений в состоянии ПОЛ в отличие от контроля не выявлялось (рис. 1). На фоне усиления процессов ПОЛ регистрировалась в эритроцитах активация ферментативной антиоксидантной защиты и некоторое снижение содержания в плазме крови  $\alpha$ -токоферола. Так, активность каталазы, пероксидазы, СОД, ГП, ГР и ГТ в эритроцитах во 2-й подгруппе возрастала соответственно до 110%, 112%, 113%, 117% и 118% по сравнению с нормой, а в 3-й - до 139%, 140%, 141%, 147% и 149%.

Интенсивность спонтанного свечения плазмы крови и слюны во 2-й и 3-й подгруппах была существенно выше, чем в контроле. Светосумма свечения, определяющая способность липидов, подвергаться окислению в этих подгруппах возрастала соответственно в 4,0 раза. Быстрая вспышка, которая зависит от скорости окисления ионов  $Fe^{++}$  и образования в среде активных форм кислорода была также значимо выше, чем в контроле. Латентный период, характеризующий антиокислительные свойства снижается, а медленная вспышка, определяющая скорость иницирования нарастает. В то же время свечение мочи у обследованных групп характеризовалось определёнными изменениями. Оно у 2-3-й подгрупп статистически значимо отличалось от уровня контрольных, а в 1-й подгруппе интенсивность ХЛ мочи либо не менялась, либо колебалась на 15-27% в сторону увеличения (рис. 2). В течение года 126 человек прошли лечебно-оздоровительный курс без отрыва от производства на базе профилактория.

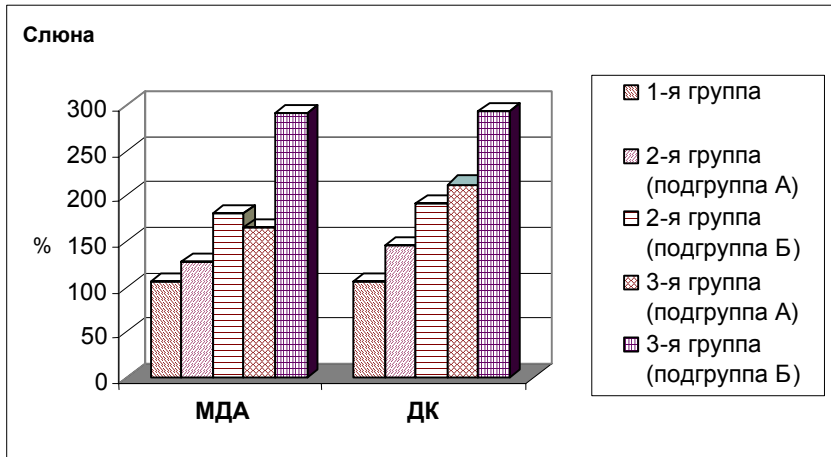


Рис. 1. Изменение содержания ДК и МДА в слюне у лиц, подвергнутых комбинированному действию поллютантов

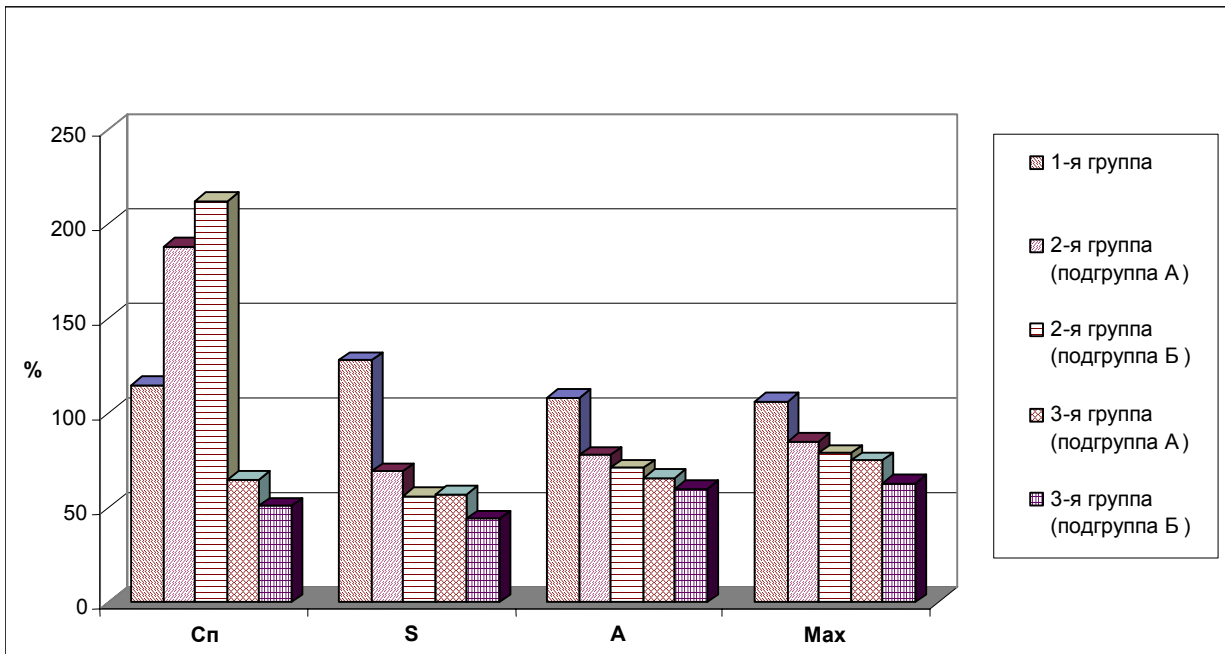


Рис. 2. Изменение характера ХЛ мочи у обследованных лиц

При поступлении, в ходе лечения и перед выпиской исследовали состояния гормонального статуса и свободно-радикального окисления. При организации лечебно-оздоровительных мероприятий учитывался, что большинство в той или иной степени связаны с производственными вредностями, неблагоприятными условиями труда, воздействием химических веществ и физических факторов, аллергизацией организма. Поэтому с целью уменьшения насыщения организма химическими лекарственными препаратами повышенное внимание уделялось немедикаментозным способам лечения: фитотерапии, мануальной - и иглорефлексотерапии и т.д. К услугам пациентов профилактория комплекс современных физиотерапевтических процедур, фитарий, солярий. Лечебная физкультура сочетается с применением разнообразных тренажеров, беговой

электронной дорожки. Широко используются различные виды массажа, углекислые, йодобромные, хвойные ванны, лечебные грязи. Здесь применяются более 80 наименований лекарственных трав, собранных в экологически чистых регионах. Они используются в виде сложных коктейлей, настоев, специальных ингаляций и ванн. Дополнительно для ингаляции применяются различные масла - абрикосовое, оливковое, эвкалиптовое, гвоздичное, укропное, масло шиповника, а также мёд, прополис, настои трав.

В ходе лечения отмечены следующие характерные изменения состояния гормонального статуса плазмы крови и хемилюминесценции плазмы крови, слюны и мочи:

- при поступлении и в процессе лечения изучаемые показатели гормонального статуса и свободно-радикального окисления остаются в пределах

физиологической нормы, что свидетельствует о высоких адаптационно-метаболических возможностях и эффективности механизмов, компенсирующих внешние воздействия, в том числе и медикаментозные;

- в ходе лечения отмечается колебания гормонального фона и ХЛ либо в сторону повышения, либо в сторону понижения. Этот факт можно рассматривать как реакцию на изменившиеся условия, физиотерапевтические и медикаментозные воздействия. Однако состояние этих процессов перед выпиской пациента возвращается к норме, что указывает на сохранность резервных возможностей организма. Стойкое нарушение состояния свободно-радикального окисления отмечалось в 54% случаев. У этих лиц отмечалось обострение, имевшихся хронических воспалительных заболеваний. Все лица с изменённым уровнем хемилюминесценции взяты на учёт, им рекомендовано повторные исследования в течение месяца после выписки. Следовательно, состояния гормонального фона и хемилюминесценции позволяют оценить компенсаторные возможности организма, выявить состояние предболезни и может выступить как скрининговый тест, отражающий изменение гомеостаза. При выявлении отклонений от нормы необходимо проводить углубленное клинико-лабораторное обследование с целью исключения скрытой патологии.

Таким образом, ХЛ крови, слюны и мочи функционально связано с состоянием организма и химические вещества закономерно обуславливают

изменения интенсивности свечения крови, слюны и мочи. Поэтому, исследуя ХЛ крови, слюны и мочи в процессе лечения удаётся контролировать состояния физиологических и метаболических процессов, оценить влияние на них различных физиотерапевтических и медикаментозных воздействий, выявить индивидуальную чувствительность пациентов. Синфазность этих изменений с развитием патологического состояния, нормализация уровня ХЛ крови, слюны и мочи в процессе терапевтического воздействия действительно доказывает безусловную диагностическую ценность интенсивности процессов СРО при развитии патологического состояния и лечения, а также свидетельствует о возможной неспецифической патогенетической зависимости свободно-радикального окисления плазмы крови, слюны и мочи.

#### Литература

1. Арчаков А.И. Микросомальное окисление / А.И. Арчаков. - М., 1975.
2. Байманова А.М. Исследование гормонального статуса организма рабочих резинотехнического производства / А.М. Байманова, Б.К. Жумабекова. - Медицина труда и промышленная экология. - 2003. - № 10. - С.34-37.
3. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. - М., 1972.
4. Скулачёв В.П. Энергия биологических мембран / В.П. Скулачёв. - М., 1989.



**Раздел 4**  
**ОБЩИЕ ВОПРОСЫ**  
**СОВРЕМЕННОЙ БИОХИМИИ**

Захарова Н.Б., Гладилин Г.П., Авдиенко И.В.,  
Коршунов Г.В.

**ПЕРВЫЕ ИТОГИ РЕАЛИЗАЦИИ**  
**НАЦИОНАЛЬНОГО ПРОЕКТА “ЗДОРОВЬЕ”**  
**В САРАТОВЕ НА УРОВНЕ АМБУЛАТОРНО-**  
**ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА**

*ГОУ ВПО «Саратовский ГМУ Росздрава»,  
г.Саратов*

В последние годы одним из основных направлений научных исследований кафедры клинической лабораторной диагностики при участии ЦНИЛ Саратовского ГМУ Росздрава стали комплексные исследования, целью которых является:

- внедрение современных лигандных лабораторных технологий в практику работы клиничко-диагностических лабораторий;

- поиск путей оптимизации использования оборудования, поставляемого в рамках национального проекта «Здоровье» для клиничко-диагностических лабораторий амбулаторно-поликлинического звена здравоохранения Саратова и Саратовской области.

Так при реализации Национального проекта “Здоровье” в 20 лечебно-профилактических учреждений г. Саратова поставлено лабораторное оборудование: комплект №3 - 18 шт., комплект №2 - 2 шт., комплект №4 - 1 шт. Несмотря на то, что все поставленное оборудование установлено, введено в действие и заработало у установленные сроки, выявлено недостаточно эффективное использование иммуноферментных анализаторов в лабораториях первичного звена.

Причины, по которым иммуноферментные анализаторы не используются на полную мощь, следующие:

- недостаточная востребованность лабораторных показателей, определяемых с помощью ИФА, у врачей участковой сети. Пациентов направляют на традиционные виды исследований (общий анализ крови, биохимические исследования, общий анализ мочи). Небольшой поток больных. В результате чего пробы пациентов накапливаются медленно и исследования отсрочены по времени.

- специалисты лабораторий, работающие на этом оборудовании, не обладают достаточными теоретическими знаниями и практическими навыками работы. Возникают определенные сложности в освоении и внедрении новых методов исследований.

Учитывая это, Городской комитет здравоохранения г.Саратова обратился с просьбой к руководству СГМУ оказать содействие в организации циклов тематического усовершенствования на базе ЦНИЛ с участием кафедры клинической лабораторной

диагностики.

На кафедре клинической лабораторной диагностики СГМУ разработана программа цикла тематического усовершенствования «ИФА в практике работы клиничко-диагностических лабораторий». Для проведения цикла были привлечены знания и опыт не только ведущих специалистов кафедры клинической лабораторной диагностики и ЦНИЛ, но и сотрудников фирм, производящих и распространяющих наборы реагентов для лабораторных исследований. В процессе обучения на цикле рассмотрены такие наиболее актуальные вопросы использования ИФА в лабораторной практике:

- аналитические возможности лабораторного оборудования для ИФА, поставляемого в учреждения первичного звена в рамках национального проекта «Здоровье»;

- возможности использования в работе лабораторий отечественных и импортных наборов реактивов для ИФА;

- вопросы рационального использования методов ИФА в диагностике эндокринной патологии, инфекций (ВИЧ, гепатиты), онкологических заболеваний, аутоиммунных и других системных заболеваний, инфекций урогенитального тракта, наследственных болезней.

К настоящему моменту по заявкам городского комитета здравоохранения Саратова и Минздравсоцразвития Саратовской области 4 цикла, на которых прошли подготовку 48 специалистов клинической лабораторной диагностики лечебных учреждений города и области. Курсанты смогли получить и усовершенствовать практические навыки постановки методов ИФА, научиться программированию и использованию иммуноферментных анализаторов, вспомогательного оборудования. Для обучения в распоряжение слушателей были предоставлены комплекты оборудования, поставленные по проекту «Здоровье» и наборы реактивов для проведения ИФА от фирм «Биохиммак», Москва, «Вектор Бест», Новосибирск, «Алкор Био», Санкт-Петербург.

В процессе проведения циклов специалисты фирм проводили мастер-класс работы на оборудовании с использованием наборов реактивов для ИФА.

На практических занятиях были подробно разобраны типичные ошибки в ИФА и способы их устранения, приемы экономного расходования реактивов и примеры расчета стоимости анализа, нормативные документы, вопросы контроля качества исследований. Кроме того слушатели получили представление о современных диагностических наборах и приборах для ИФА различных производителей, смогли самостоятельно оценить их аналитические характеристики. По окончании цикла выданы свидетельства государственного образца о повышении квалификации.

Эффективность проведения циклов тематического

усовершенствования «ИФА в практике работы клинико-диагностических лабораторий» очевидна. До января 2007г. за 7 мес., прошедших с момента ввода в эксплуатацию в мае 2006г. комплектов лабораторного оборудования в ЛПУ г. Саратова, на ИФА анализаторах выполнено всего 3000 исследований и спектр этих исследований был чрезвычайно узок: ТТГ-1500 исследований, Т4св-1500 исследований. За 6 месяцев 2007г. на ИФА анализаторах выполнено уже 18266 анализов при значительном расширении перечня производимых исследований: ТТГ-5090ан., Т4св-5090ан., аутоантитела к ткани щитовидной железы-22ан. ПСА(общ.и св)-446ан., АФП-5098ан., ХГЧ-5098ан., пролактин-120ан., РЭА(раковый эмбриональный Аг)-56ан., HbSAg-240ан.

Всего с момента ввода в эксплуатацию комплектов лабораторного оборудования произведено 21266 ИФА исследований, причем 14,1% до начала проведения циклов тематического усовершенствования «ИФА в практике работы клинико-диагностических лабораторий» и 85,9% после.

В настоящий момент стало очевидным, что реализация национального проекта позволила решить следующие проблемы:

1) В лаборатории поликлиник заработало современное оборудование с квалифицированным сервисным обслуживанием;

2) Началось регулярное финансирование закупок реагентов, контрольных материалов, калибровочных материалов;

3) Появилась материальная заинтересованность у лабораторных специалистов в повышении производительности труда и качества проводимых исследований (производятся дополнительные выплаты за диспансеризацию).

Зубаиров Д.М., Мустафин И.Г.  
**75-ЛЕТИЕ ОТКРЫТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО  
ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ**

**В.А. ЭНГЕЛЬГАРТТОМ В КАЗАНИ**

*ГОУ ВПО «Казанский государственный  
медицинский университет Росздрава», г. Казань*

Исполнилось 75 лет со времени открытия окислительного фосфорилирования выдающимся ученым В.А.Энгельгардтом. Открытие данного процесса в 1931 году положило начало новому направлению в биологической науке, совпало с казанским периодом жизни В.А.Энгельгардта. В 1929 - 1934 гг. В.А.Энгельгардт – заведующий кафедрой биохимии Казанского университета (позднее Казанского медицинского института). Именно в этот период плодотворной работы были заложены основы наиболее значимых открытий В.А.Энгельгардта. Не напрасно академик А.А.Баев называл своего учителя «великим мастером биологического эксперимента». «Мое первое научное поприще – это Биохимический институт Народного комиссариата здравоохранения, мое профессорское звание связано с кафедрой

биохимии Казанского университета (ныне Медицинский институт) и мой первый академический титул – это звание действительного члена Академии медицинских наук СССР» - так писал о себе В.А.Энгельгардт в своих автобиографических воспоминаниях [1].

Владимиру Александровичу Энгельгардту принадлежат крупные открытия, обогатившие отечественную и мировую науку и снискавшие ему славу крупнейшего биохимика 20-го столетия. Им были заложены основы функциональной и динамической биохимии.

Лекционный курс, как вспоминал Владимир Александрович, отнимал у него не так много времени, и оставалась достаточно досуга, чтобы вести работу за лабораторным столом и предаваться размышлениям. «В 1929 году я принял приглашение Казанского университета занять кафедру биохимии. Лабораторию пришлось организовывать совершенно заново, так как в ней не было даже самого скромного набора простейшего применявшегося в то время оборудования. Все чем я располагал для моей личной работы после длившихся целый год усилий, – это убогое воспроизведение респирометра Варбурга, сконструированного в скромной университетской мастерской, и простейший вид колориметра...». «Казанские мальчишки, естественно, не знали, чем мы занимаемся. Им было только известно, что этот дяденька покупает голубей и дает за них по трешке. Голубей они мне приносили и не догадывались, что они нужны были нам для изучения процессов клеточного дыхания, процессов окислительного фосфорилирования» – из воспоминаний В.А.Энгельгардта. Если казанские мальчишки не понимали для чего нужны дяденьке голуби, то и выдающиеся умы биохимической науки того времени не догадывались о роли дыхания в энергетическом обеспечении клеток и тканей.

Известие об открытии окислительного фосфорилирования появилось вначале в 1931 году в «Казанском медицинском журнале» [2], а затем более подробно в 1932 году в «Biochemische Zeitschrift». Открытие явления окислительного фосфорилирования Владимиром Александровичем Энгельгардтом так и не было по достоинству оценено мировой научной общественностью, несмотря на то, что данное открытие положило начало новому научному направлению биологии – биоэнергетике. Это открытие явилось одним из наиболее крупных вкладов советских ученых в сокровищницу мировой науки. Лишь много лет спустя в «Хронологии биохимии» известный американский ученый А. Ленинджер, перечисляя наиболее важные вехи в истории биохимии, обозначил: «1931 – В.А. Энгельгардт показал, что фосфорилирование сопряжено с дыханием».

Всего в Казани В. А. Энгельгардтом было выполнено 7 работ. При нем в связи с отделением медицинского факультета от университета, кафедра

перешла в медицинский институт. В 30-е годы на медицинском факультете действовал семинар, на котором выдающиеся ученые микробиолог В. М. Аристовский, патофизиолог Н. Н. Сиротинин, биохимик В. А. Энгельгардт и др., обсуждали результаты исследований, а научная молодежь, среди которой были будущий академик АМН СССР А. Д. Адо, и будущий профессор патофизиологии М. А. Ерзин, училась у них. Недолгое, но яркое пребывание В. А. Энгельгардта в Казани повлияло на научную судьбу Александра Александровича Баева, изучавшего под его руководством превращения аминокислот в АТФ.

Спустя пятьдесят лет академик В. А. Энгельгардт получил предложение, которого удостоиваются только немногие ученые, внесшие революционный вклад в науку – опубликовать в ежегоднике “Annual Review of Biochemistry” биографический очерк [3]. Об исследовании, выполненном в Казани, в этом очерке он написал: «Результаты были в немалой мере утешительны: было обнаружено, что дыхание клеток может повлечь за собой синтез АТФ. В тот период было хорошо известно, что АТФ синтезируется в процессе неокислительного распада глюкозы, протекающего по путям брожения и гликолиза. Если оглянуться назад, может показаться удивительным, что ничего не было известно относительно возможного участия АТФ или вообще фосфата в другом крупнейшем энергодающем процессе, каким является дыхание».

В начале 1934 года профессор В. А. Энгельгардт, его жена, приват-доцент М. Н. Любимова и их дочь Алина, родившаяся в Казани, уехали сначала в Ленинград, а потом в Москву. Впоследствии они открыли АТФазное свойство миозина, за что стали обладателями Сталинской премии I степени. Владимир Александрович стал академиком, проявил себя блестящим организатором и администратором. В. А. Энгельгардт – крупнейший организатор науки. Благодаря его энтузиазму и дару предвидения (намного лет вперед понял роль молекулярной биологии для развития науки в стране) в СССР получила свое развитие молекулярная биология. Благодаря стараниям В. А. Энгельгардта был открыт Институт радиационной и физико-химической биологии (с 1965 года Институт молекулярной биологии РАН), который теперь по праву носит его имя.

Ученые Казани высоко чтят память В. А. Энгельгардта. Академия Наук Республики Татарстан для увековечивания памяти о нем учредила именную премию В. А. Энгельгардта, которая присваивается ученым за наиболее крупные достижения в биологии.

«Способность к творчеству – это высший дар, каким природа наградила человека на бесконечно длительном пути его эволюционного развития. Ничто в жизни и деятельности человека не является таким мощным источником счастья, как творчество. Торжество собственной победы сливается здесь с возвышенным сознанием того, что этой победой ты

обогащаешь человечество, вносишь вклад в мировую сокровищницу человеческих знаний» - эти слова В. А. Энгельгардта как нельзя лучше характеризуют самого автора, внесшего неоценимый вклад в мировую сокровищницу человеческих знаний.

В 1939 году, продолжая в московской лаборатории института экспериментальной медицины развивать работу В. А. Энгельгардта, В. А. Белицер вместе с Е. Т. Цибаковой впервые ввел понятие коэффициента фосфорилирования — отношения связанного фосфата к поглощенному кислороду [4]. Обнаруженная количественная закономерность, казалось бы, противоречила законам химии — один электрон рождал не одну, а две или три молекулы АТФ. Какой же убежденностью должен был обладать человек, впервые заявивший миру: окислительное фосфорилирование - это не обычная химическая реакция! Это новое явление, характерный признак жизни. Информационная изоляция СССР от Запада и начавшаяся война не позволили этим результатам вовремя получить признание биохимиков в мире. Они стали известными только в послевоенные годы и тогда уже вошли в реестры крупнейших научных открытий.

Многие годы было непонятно, каким образом энергия, освобождаемая при биологическом окислении, трансформируется в энергию макроэргических связей АТФ. Лишь в 1961 году Питер Митчелл опубликовал статью «Сопряжение окисления и фосфорилирования механизмом хемиосмотического типа» [5]. П. Митчелл открыл, что ток электронов вызывает выброс, катапультирование, протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. Таким образом создается протонный градиент через мембрану. Иными словами рН внешнего пространства падает. Мембранный потенциал (или заряд), отрицательный внутри и положительный снаружи генерируется выталкиванием протонов и создает общий энергетический градиент или *протон-двигательную силу* пригодную для синтеза АТФ. Внутренняя митохондриальная мембрана для  $H^+$  фактически непроницаема. Это необходимое предварительное условие для системы, но в мембрану внедрен специальный протон-проводящий канал. Протоны текут снаружи через этот канал обратно в митохондриальный матрикс и энергия этого потока запрыгается в образование АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Механизм транслокации протонов комплексами I и IV не выяснен, но установлен в случае комплекса III. Это так называемый Q цикл Е. Слейтера [6].

Наконец, Пол Бойер и Джон Уолкер (Нобелевская премия 1997 г.) показали, что когда АДФ и Рн связаны в активном центре, образование АТФ тоже происходит в активном центре и не требует большого изменения свободной энергии, но освобождение АТФ представляет собой энергоемкий этап [7]. Предполагается, что это достигается изменением конформации белка движимым протонным потоком.

При этом происходит механическое вращение единицы  $F_1$ . Обмен АТФ-АДФ стремится нейтрализовать мембранный потенциал. Около 25% общей энергии переноса электронов затрачивается на этот процесс. Иными словами, соотношение между выбросом протонов из матрикса митохондрий и возврат их по протонным каналам не приводит к синтезу АТФ в стехиометрическом соотношении. Поэтому нельзя однозначно ответить на вопрос, сколько молекул АТФ образуется при окислении цитоплазматической молекулы НАД<sup>+</sup> митохондриями эукариотических клеток. Современные исследователи пришли к согласию в том, что прежние значения коэффициента Р/О равные 3 и 2, явно завышены, а более реальными являются Р/О = 2,5 для полной и Р/О = 1,5 для укороченной дыхательной цепи.

Нестандартность в выборе объекта для исследования, нетрадиционный подход к разрешению, встающих перед исследователем вопросов, – отличительная черта В.А.Энгельгардта, В.А.Белицера, П. Митчелла и П. Бойера, каждый из которых внес свой вклад в решение проблемы окислительного фосфорилирования, для которого потребовались десятки лет работы ума.

#### Литература

- 1.Энгельгардт В.А. Познание явлений жизни. – М., 1984.
- 2.Энгельгардт В.А. Анаэробный распад и аэробный ресинтез пироглютата в красных кровяных клетках птиц // Казанский медицинский журнал. – 1931. - № 4-5. С. 496-501.
- 3.Engelhardt V. A. Life and science. Ann. Rev. Biochem. 1982, v.51, p. 1-19.
- 4.Белицер В.А., Цибакова Е.Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием// Биохимия. 4, 5, С. 516-535.
5. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism// Nature. 1961, 191, p. 144-148.
- 6.Slater E.C. The Q cycle, an ubiquitous mechanism of electron transport. Trends Biochem. Sci. 1983, 8, p. 239-242.
- 7.Boyer, P.D. The ATP synthase - a splendid molecular machine// Ann. Rev. Biochem. 1997, v. 66, p. 717-749.

Кудрявцев В.А., Галкин А.А., Цапков П.И.,  
Кудрявцева Ю.В.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ В СПЕКТРАЛЬНОМ ИНТЕРВАЛЕ 190–255 НМ ПРИ ОЗОНИРОВАНИИ ВОДЫ И РАСТВОРОВ ХЛОРИДА НАТРИЯ**

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Интерес к использованию озона в лечебных целях усиливается по мере углубления изучения его свойств, биологического действия, появления новых методик и направлений применения. Несмотря на то, что

озонотерапия показала себя как высокоэффективное немедикаментозное терапевтическое средство, применение озона в комплексном лечении различных заболеваний, в том числе и заболеваний печени, сдерживается. Это связано, с одной стороны, с продолжающимися исследованиями его влияния на организм и необходимостью поиска новых объективных критериев для оценки эффективности действия [1-13], с другой - ещё не достаточно изучены некоторые вопросы, связанные с приготовлением озонированных растворов для парентерального применения.

Озонотерапия – дозозависимое лечение с широким диапазоном используемых терапевтических доз. Лечебный эффект зависит не только от количества введённого вещества, но и от индивидуальных особенностей организма, поэтому врач обязан контролировать не только состав раствора и вводимую дозу озона, но и учитывать состояние организма. Современные технические средства и существующие методики позволяют достаточно точно определять концентрацию озона в вводимом растворе, однако такой важный вопрос, как образование в процессе озонирования в растворе других веществ (активные формы кислорода, гипохлорит натрия и др.) и как их количество изменяется со временем, до сих пор является предметом дискуссий [14-28, 30]. Данные, полученные различными авторами, в настоящее время позволяют лишь сделать вывод, что гипохлорит в озонированном физиологическом растворе (ОФР) не содержится [16, 17, 26-28]. Что же касается возможного образования активных форм кислорода, то однозначного мнения, какие из них и в каких количествах присутствуют в растворе, пока нет.

При исследовании влияния озона на организм животного в условиях острой и хронической интоксикации гепатотропным ядом - тетрахлорметаном мы обнаружили, что общая окислительная активность (ООА) озонированного раствора (ОР) выше, чем та, которую обеспечивает определяемое по оптической плотности содержание в нём озона [5, 27, 28]. Был сделан вывод, что вследствие высокой реакционной способности озона, в ОР протекает ряд окислительно-восстановительных химических реакций (возможно цепных) с образованием активных форм кислорода, конечным итогом которых являются вода и молекулярный кислород. Так как образующиеся промежуточные продукты имеют разное время «жизни» и химическую активность, то некоторые из них могут вносить существенный вклад в ООА раствора. Динамика и многовариантность процессов, протекаемых в ОР, требуют для их исследования специальных методов и оборудования.

**Цель** настоящей работы – спектральные исследования в режиме реального времени процессов, происходящих в озонированных растворах.

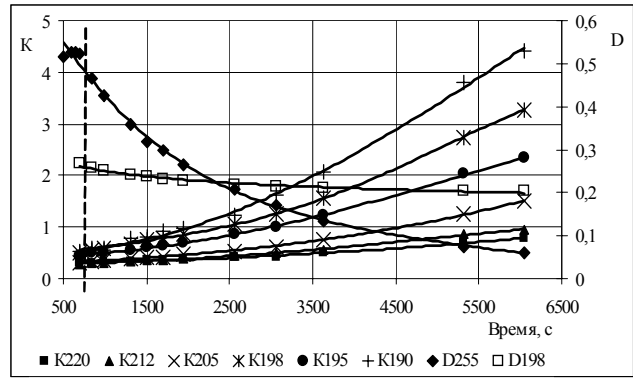


Рис. 2. Дистиллированная вода. Зависимость от времени после прекращения процесса озонирования коэффициентов  $K_{иссл.}$  и оптической плотности  $D$  на длинах волн 198 и 255 нм. (Пунктирная линия – момент прекращения подачи озон – кислородной смеси в кювету).

Рис. 1. Дисперсия оптической плотности -  $H_2O_2$ ,  $NaCl$ ,  $NaOH$  и сечения поглощения озона - ( $O_3$ ).

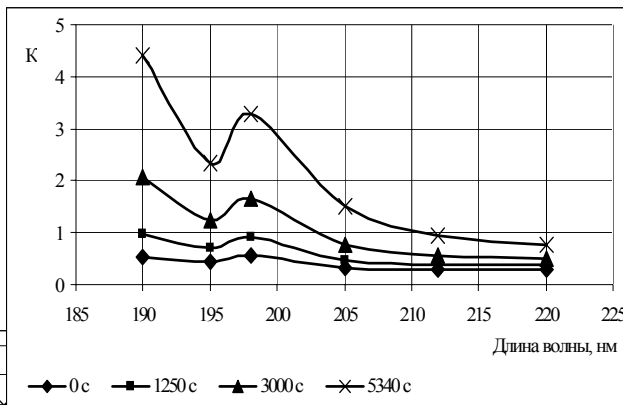


Рис. 3. Дисперсия коэффициентов  $K_{иссл.}$  через  $\theta$ ,  $D_{иссл.}$  и сечения поглощения озона  $\sigma_{O_3}$  в  $H_2O_2$ ,  $NaCl$  и  $NaOH$  в 0,005% растворе через  $\theta$ , 1250, 3000 и 5340 секунд после прекращения процесса озонирования.

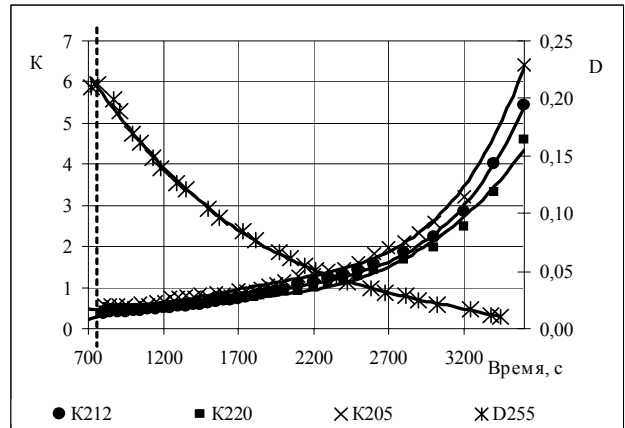


Рис. 4. Физиологический раствор. Зависимость от времени после прекращения процесса озонирования коэффициентов  $K_{иссл.}$  и оптической плотности  $D$  на длине волны 255 нм. (Пунктирная линия – момент прекращения подачи озон – кислородной смеси).

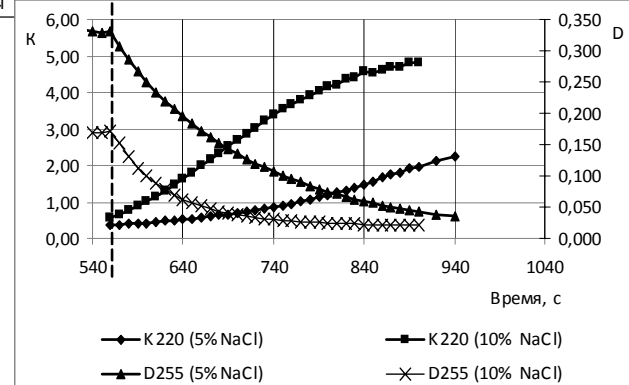
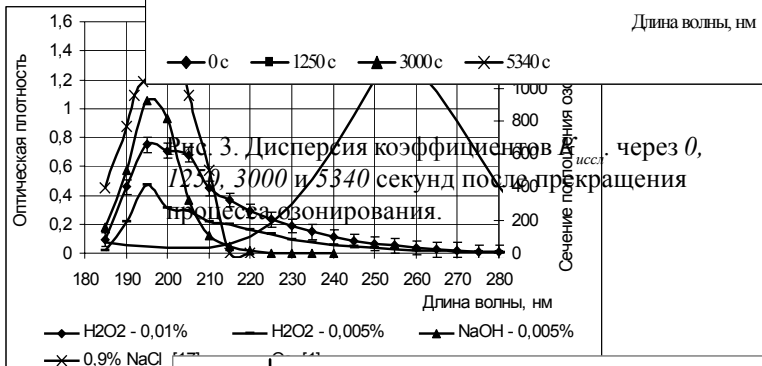


Рис. 5. Гипертонические растворы 5 и 10%  $NaCl$ . Зависимость от времени после прекращения процесса озонирования коэффициентов  $K_{220}$  и оптической плотности  $D_{255}$  для 5 и 10% растворов



Рис. 6. Зависимость ООП и ОП озонированных хлорида натрия.

**Материалы и методы исследования.** Объект исследования - дистиллированная вода, 0.9%, 5.0% и 10.0% растворы  $NaCl$  (хлорид натрия «ХЧ»). Для исследования динамики химических процессов озонирование растворов осуществляли методом барботажа озон-кислородной смесью непосредственно в кюветном отделении спектрофотометра *СФ-46*. Линейный выход прибора был подключен к персональному компьютеру. Измерения проводились в автоматическом режиме с интервалом в 0,2 с в процессе озонирования и после прекращения подачи озон-кислородной смеси (процесс уменьшения содержания озона в растворе). Оценка содержания наиболее вероятных соединений, которые могут образоваться при озонировании воды и растворов хлорида натрия, осуществлялась по спектральной оптической плотности растворов.

Длины волн 190 нм ( $D_{190}$ ), 195 нм ( $D_{195}$ ), 198 нм ( $D_{198}$ ), 205 нм ( $D_{205}$ ), 212 нм ( $D_{212}$ ) и 220 нм ( $D_{220}$ ) принадлежат спектрам поглощения пероксида водорода -  $H_2O_2$ , хлорида натрия -  $NaCl$  и щёлочи -  $NaOH$ , 255 нм ( $D_{255}$ ) - максимум спектральной плотности озона (Рис. 1).

Исследования растворов хлорида натрия в интервале (190 - 200) нм не проводились из-за высокой оптической плотности (см. рис. 1). Вследствие того, что спектры поглощения озона (200-300) нм и исследуемых веществ частично перекрываются, об их наличии судили по динамике коэффициентов, равных отношению оптических плотностей

-  $K_{иссл} = D_{\lambda\text{иссл}}/D_{255}$  (относительная оптическая плотность - ООП). При этом очевидно, что если

то исследуемое вещество в растворе отсутствует; если возрастает, то исследуемое вещество в растворе имеется и период его полураспада больше, чем у озона; если уменьшается, то исследуемое вещество в растворе имеется, но период его полураспада меньше, чем у озона.

**Результаты.** Данные о динамике оптической плотности озонированной дистиллированной воде представлены на рис. 2 и 3. В исследуемой спектральной области (190 - 220) нм коэффициенты  $K_{иссл}$  возрастают по мере уменьшения содержания озона в растворе.

При этом максимальный рост ( $c\ 0,57 \pm 0,11$  до  $3,27 \pm 0,23$  ( $P=0,95$ )) наблюдается на длине волны 198 нм (Рис. 3). Рост  $K_{190}$  (190 нм), по-видимому, обусловлен молекулярным кислородом (Рис. 3).

Динамика процессов в озонированных растворах  $NaCl$  существенно отличается от дистиллированной воды, при этом она в значительной степени зависит от содержания хлорида натрия. Так, по сравнению с дистиллятом, период полураспада озона в физиологическом растворе уменьшился почти в два раза - с 1250 до 720 с, одновременно увеличение ООП составило:  $K_{205}$  (с  $1,52 \pm 0,09$  до  $1,83 \pm 0,10$ ),  $K_{212}$  (с  $0,952 \pm 0,085$  до  $1,56 \pm 0,11$ ) и  $K_{220}$  (с  $0,774 \pm 0,015$  до  $0,894 \pm$

$0,10$ ) ( $P=0,95$ ) (Рис. 4) (сравниваемые данные получены при содержании в растворе озона -  $D_{255} = 0,062$ ). Для гипертонических растворов период полураспада составил 105 с при 5% и 50 с при 10% содержании хлорида натрия. Коэффициенты  $K_{220}$  гипертонических растворов достоверно выше, физиологического и составляют  $1,44 \pm 0,11$  при 5%  $NaCl$  и  $1,63 \pm 0,14$  при 10%  $NaCl$  ( $P = 0,95$ ) (Рис. 5). (На длинах волн 205 и 212 нм исследования гипертонических растворов не проводились). При этом обобщённые данные свидетельствуют, что с ростом концентрации хлорида натрия увеличивается не только ООП раствора на длине волны 220 нм, но и оптическая плотность  $D_{220}$  (Рис. 6).

**Обсуждение полученных результатов.** О возможности образования активных форм кислорода в озонированном растворе отмечалось и в работах [14,15,17,20, 29]. В частности, в работах [14 и 15] предполагалось наличие в озонированном растворе пероксида водорода и свободных радикалов.

При одновременном использовании методов йодометрии и спектрофотометрии для определения содержания озона в воде и растворах хлорида натрия нами было установлено, что в озонированном растворе, кроме озона, содержатся и другие вещества - «вторичные окислители (ВО)», способные восстанавливать йод. Отмечалось, что количество вторичных окислителей растёт с увеличением содержания хлорида натрия в растворе. Однако обнаружить и оценить количество ВО в озонированной дистиллированной воде нам не удалось вследствие невысокой разрешающей способности использовавшейся методики [27, 28].

Исследования озонированной воды различной степени очистки свидетельствуют, что, если не рассматривать внешние факторы, (температура, свет и др.), скорость распада озона в растворе определяется в основном примесями. Сильнее других влияние на снижение стабильности молекулы озона в растворах оказывают ионы металлов [1].

Действительно, распад молекулы озона качественно может быть представлен реакциями:

$$O_3 + M \rightarrow \cdot O_3 + M; \quad O_3 \xrightarrow{k_j} O_2 + O; \quad \text{где: } \cdot O_3 \text{ - возбуждённая молекула озона; } M \text{ - некоторая частица, при взаимодействии с которой происходит возбуждение молекулы } O_3 \text{ (например, молекулярный кислород - } O_2, \text{ ион металла и др.); } k_j \text{ - константа диссоциации озона.}$$

Следовательно, начальной стадией последующих процессов является диссоциация молекулы озона, при этом лимитирующей стадией распада является её возбуждение  $O_3 \rightarrow \cdot O_3$ , т. е. переход который напрямую зависит от содержания примесей.

По мнению авторов [15, 29], через час после озонирования водного образца в нём имеются только свободные радикалы кислорода, важнейшим из которых является гидроксильный радикал.

В обобщённом виде химические реакции для простейшей системы – ( $O_3 + H_2O$ ) можно представить в виде [1, 15]:



Из образовавшихся промежуточных веществ наиболее устойчивым является пероксид водорода -  $H_2O_2$ , в данном случае это вещество разрушается только озоном.

Наблюдаемое в процессе распада озона повышение  $ООП$  дистиллята в спектральном интервале 195 – 220 нм в области максимумов оптической плотности  $H_2O_2$  и  $NaOH$  (Рис. 1, 3) свидетельствует о возможности образования этих веществ в растворе. Однако перекрытие спектров и невозможность образования в данных условиях  $NaOH$ , а также достоверный рост  $K_{220}$  (с  $0,31 \pm 0,08$  до  $0,77 \pm 0,11$  и  $K_{212}$  (с  $0,291 \pm 0,086$  до  $0,952 \pm 0,132$ ) ( $P=0,95$ ) позволяют сделать вывод о наличии в растворе пероксида водорода. Сравнив оптическую плотность пероксида водорода известной концентрации и данные, полученные при исследовании озонированного раствора, можно сделать вывод, что в процессе распада озона в дистиллированной воде образуется до 0,0025%  $H_2O_2$ .

Прямая связь между концентрацией хлорида натрия в и скоростью уменьшения концентрации озона в растворе (Рис. 4; 5.) обусловлена повышением интенсивности перекисной цепи  $O_3^*$ , а следовательно и рассмотренных выше цепных химических реакций с накоплением наиболее стабильных продуктов. Об этом свидетельствует также рост спектральных плотностей  $D$  и  $ООП$  с концентрацией  $NaCl$  в растворе (Рис. 6.).

**Выводы.**

1. В результате проведённых исследований обнаружено, что в воде и растворах хлорида натрия при распаде озона образуются активные формы кислорода, наиболее устойчивой из которых является пероксид водорода.
2. На основании исследований дана количественная оценка содержания пероксида водорода, образующегося в озонированной дистиллированной воде.
3. На основании экспериментальных данных можно ориентировочно оценить количество  $H_2O_2$ , образующегося в озонированных растворах хлорида натрия.

**Литература**

1. Лунин В.В., Попович М.П., Ткаченко С.Н. Физическая химия озона. Издательство Московского университета, 1998.
2. Конторщикова К. Н. Биохимические основы эффективности озонотерапии //Тезисы докладов II Всероссийской научно - практической конференции с

международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 8.

3. Бояринов Г. А., Добротин С. С., Балыкин В.А. и др. Влияние озонированного перфузата на кислородотранспортную функцию крови при искусственном кровообращении //Тезисы докладов 2-й Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 38.

4. Bergman J., Loxley R.// Clin. Chim. Acta. – 1970, №2 P. 347-349/

5. Kudryavtsev V.A., Tsapok P.I, Kosykh A.A., Bolshukhin S.Yu., Yelikov A.V. Influence of Intraabdominal Injection of Ozone on Oxidant-Antioxidant Balance of Erythrocytes and Blood Plasma/ XIX International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. October 8-11, Monreal, Canada, 2003.-Т6-6.

6. Большухин С.Ю., Галкин А.А., Кудрявцев В.А., Косых А.А. Влияние озона на показатели перекисного окисления липидов в условиях хронической интоксикации четырёххлористым углеродом. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине. Нижегородский медицинский журнал Приложение «Озонотерапия», с. 31-32. Нижний Новгород 2005.

7. Колесова А.Е., Волховская Н.Б., Фролова Т.М., Зайцев В.Я., Синегуб Г.А. Метаболические Эффекты инфузии озонированного физиологического раствора. //Тезисы докладов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине», с. 8-9. 25-26 июня 1992 г. Нижний Новгород 1992.

8. Кокшаров И.А., Перетягин С.П., Яхно В.Г. Вызываемые озоном изменения физических параметров эритроцитарных мембран. Дозозависимый эффект. //Тезисы докладов I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине», с. 10-11. 25-26 июня 1992 г. Нижний Новгород 1992.

9. Новомлинский В.В. Значение селективной озонотерапии при постигипоксических повреждениях печени. //Тезисы докладов II Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 13.

10. Бояринов Г.А., Соколов В.В. Озонированное искусственное кровообращение. -Н. Новгород 1999.

11. Балыкин В.А., Яковлев А.Ю., Бояринов Г.А. Влияние озонированного искусственного кровообращения на функцию печени в послеоперационном периоде. //Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998. –С. 26-27.

12. Щербатюк Т.Г., Московцева О.М., Седунова

Н.В., Ляпина О.В., Плескова А.Н., Пьявкина А.А., Марков С.В. Дозозависимый эффект озонированного физиологического раствора на некоторые показатели гомеостаза животноных-опухоленосителей в условиях *in vitro* и *in vivo*. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 11-12.

13. Конторщикова К.Н., Ефременко Ю.Р., Округ И.Е. Дозозависимый эффект озона на протеолитические системы организма. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 24-25.

14. Иванова И.П., Конторщикова К.Н. Физико-химические свойства озонированных растворов. // Тезисы докладов II Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 10 - 11.

15. Алёхина С.П., Щербатюк Т.Г. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. – Н. Новгород 2003.

16. Зайцев В.Я., Константинова М.Л., Подмастерьев В.В., Разумовский С.Д. К вопросу озонирования физиологических растворов. // Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998.- С. 3.

17. Бояринов Г.А., Гордцов А.С., Бояринова Л.В., Шемалашвили И.Н., Кулагина Н.В., Зимина С.В., Соколов В.В., Калягина С.Г. Результаты анализа потенциально возможных реакций озона с хлоридом натрия в воде. //Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998.- С. 4-6.

18. Бояринов Г.А., Гордцов А.С., Бояринова Л.В., Живулин Н.С., Калашников С.П., Соколов В.В., Калягина С.Г., Серова А.Н. Растворимость озона в физиологическом растворе. // Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998. - С. 6-9.

19. Бояринов Г.А., Бояринова Л.В., Соколов В.В., Гордцов А.С., Калягина С.Г. Калашников С.П., Живулин Н.С. Распад озона в физиологическом растворе. // Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998.- С. 9-12.

20. Бояринов Г.А., Гордцов А.С., Рябов С.В., Серова А.Н., Муратов С.В., Бояринова Л.В., Шемалашвили И.Н., Кулагина Н.В. Ультрафиолетовый

и инфракрасный спектры и стерильность озонированной дистиллированной воды. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 2-4.

21. Бояринов Г.А., Рябов С.В., Серова А.Н., Бояринова Л.В., Киселевич В.Е., Рахимова А.Т. Растворимость озона в дистиллированной воде. // Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 4-5.

22. Бояринов Г.А., Рябов С.В., Серова А.Н., Бояринова Л.В., Киселевич В.Е., Рахимова А.Т. Распад озона в дистиллированной воде. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 6-7.

23. Разумовский С.Д. Стабильность озона и озонидов в растворах и пути её повышения. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 7-8.

24. Лаберко Л.А., Родоман Г.В., Оболенский В.Н., Коротчаев А.Л., Никитин В.Г. Свойства и способы повышения эффективности озонированных растворов в клинической практике. //Тезисы докладов IV Всероссийской научно - практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 2000. – С. 9-10.

25. Бояринов Г.А., Яковлев А.Ю., Симутис И.С. Способ повышения стабильности озонированного физиологического раствора. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ». Н.Новгород, 2005. – С.35-36.

26. Зинченко В.Д., Мусина И.А., Голота В.И., Таран Г.В. О динамике насыщения озонем водных растворов хлористого натрия. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ». Н.Новгород, 2005. – С. 41-42.

27. Кудрявцев В.А., Большухин С.Ю. к вопросу озонирования растворов хлорида натрия. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ». Н.Новгород, 2005. – С. 44-45.

28. Кудрявцев В.А. Способ определения концентрации озона в озонированных растворах. Нижегородский медицинский журнал. Специальный выпуск №2 2006. Н. Новгород, 2006. С. 175-179.

29. Бояринов Г.А., Гордцов А.С. Растворимость



и распад озона в физиологическом растворе. // Нижегородский медицинский журнал. – 2000. №2. С. 40-45.

30. Зинченко В.Д., Мусина И.А., Голота В.И., Таран Г.В. О динамике насыщения озоном водных растворов хлористого натрия. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ». Н.Новгород, 2005. – С.41-42.

Кудрявцев В.А., Галкин А.А., Цапок П.И.,

Кудрявцева Ю.В., Шилов О.И.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ  
ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ  
ОЗОНИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ ХЛОРИДА  
НАТРИЯ В СПЕКТРАЛЬНОМ ИНТЕРВАЛЕ  
255 - 300 НМ**

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Несмотря на то, что озонотерапия показала себя высокоэффективным терапевтическим средством, применение озона в комплексном лечении различных заболеваний, в том числе и заболеваний печени, сдерживается. Это связано, с одной стороны, с продолжающимися исследованиями влияния на организм, с другой - малой известностью широкому кругу врачей используемых методик и необходимостью поиска объективных критериев для оценки эффективности его действия [1, 2, 3, 4,]. Кроме того, остаются открытыми и некоторые важные вопросы, связанные с приготовлением озонированных растворов для парентерального введения (определение дозы озона непосредственно перед введением, учёт возможности образования новых веществ - активных форм кислорода, гипохлорита натрия и др. [5-7]). В частности, известно, что гипохлорит натрия может образовываться макрофагами в физиологических условиях в результате ферментативного распада пероксида водорода.

Опубликованные различными авторами данные, позволяют сделать вывод, что гипохлорит в озонированном физиологическом растворе (ОФР) *не содержится* [5, 9, 11]. Однако, что касается его *образования* в озонированном растворе, то вопрос остаётся открытым.

При распаде молекулы озона в водной среде протекает ряд сложных химических реакций (в том числе и цепного характера) одним из промежуточных продуктов которых является пероксид водорода [10, 12, 13]. Поэтому, учитывая значительную окислительную способность озона (стандартный окислительный потенциал 2,07 В) и динамику процессов, можно *предположить*, что в растворе, содержащем хлорид натрия, на какой-то стадии может

образоваться и некоторое количество гипохлорита натрия ( $NaClO$ ). Однако обнаружить его химическими или стандартными спектрофотометрическими методами пока не удавалось [5, 6, 11]. Это можно объяснить тем, что, в растворе, где происходит образование пероксида водорода, время «жизни» гипохлорита весьма ограничено, оно определяется в основном скоростью диффузии реагирующих молекул. Это подтверждается и нашими исследованиями хемилюминесценции раствора пероксида водорода с добавлением гипохлорита натрия (наблюдается интенсивная вспышка, длительность которой не превышает несколько секунд) (Рис. 1.).

В данной работе исходили из того, что кинетика отдельных звеньев цепных химических реакций в значительной степени определяется природой реагирующих веществ и зависит от их содержания. В таком случае, используя динамический подход при исследовании процессов в озонированном растворе, могут быть обнаружены вещества, накопление которых происходит в рамках ограниченного временного интервала.

**Цель работы** – исследования динамики оптической плотности озонированных растворов хлорида натрия на длине волны 292 нм, соответствующей максимуму спектра поглощения  $NaClO$ .

**Материалы и методы.** Объект исследования - 0.9%, 5.0% и 10.0% озонированные растворы  $NaCl$  (хлорид натрия - «ХЧ»). Для исследования динамики химических процессов озонирование растворов осуществляли непосредственно в кюветном отделении спектро-фотометра методом барботажа озон-кислородной смесью. Линейный выход прибора был подключен к персональному компьютеру. Измерения в процессе озонирования и после прекращения подачи озона в кювету (процесс распада озона в растворе) проводились в масштабе реального времени с интервалом 0,2 сек. Обнаружение и возможная оценка содержания гипохлорита натрия, который может образоваться в озонированных растворах содержащих хлорид натрия, осуществлялась по спектральной оптической плотности (ОП) на длине волны 292 нм. Вследствие частичного перекрытия спектров о наличии  $NaClO$  в растворе судили по динамике коэффициентов равных отношению оптических плотностей –  $K_{292} = D_{292}/D_{255}$  (по относительной оптической плотности - (ООП)):  $D_{292}$  – максимум спектральной плотности гипохлорита натрия,  $D_{255}$  – максимум спектральной плотности гипохлорита натрия,  $D_{255}$  – максимум спектральной плотности озона (Рис. 2).

При этом, если  $K_{292} = const$ , то исследуемое вещество в растворе отсутствует; если  $K_{292}$  возрастает, то исследуемое вещество в растворе имеется и период его полураспада больше, чем у озона; если  $K_{292}$  уменьшается, то исследуемое вещество в растворе имеется, но период его полураспада меньше чем у

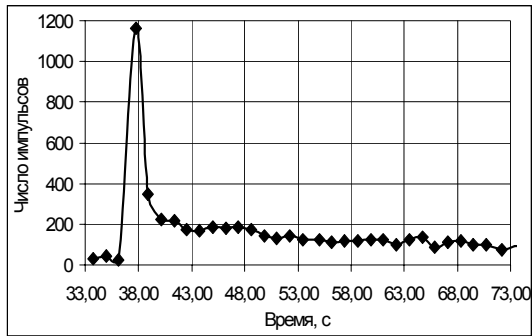


Рис.1. Хемилюминесценция в системе: пероксид водорода – гипохлорит натрия.

Рис. 2. Дисперсия оптической плотности гипохлорита натрия ( $NaClO$ ) и сечения поглощения озона - ( $O_3$ ).

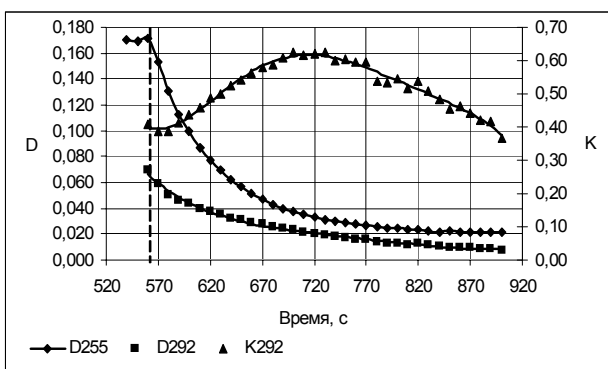


Рис. 3. Озонированный раствор 0,9%  $NaCl$ . Зависимость  $K_{292}$  и оптической плотности  $D$  на длинах волн 255 и 292 нм от времени в процессе распада озона. (Пунктирная линия – момент прекращения подачи озон – кислородной смеси в кювету).

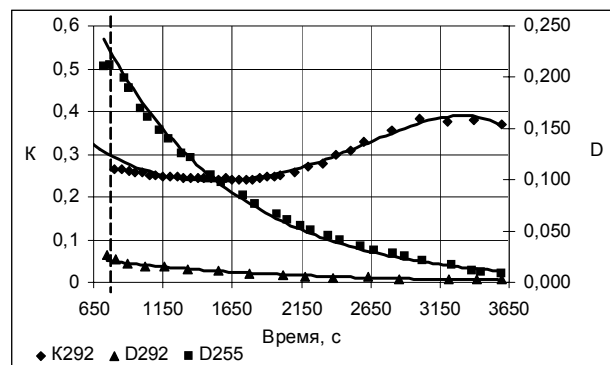


Рис. 4. Озонированный раствор 5%  $NaCl$ . Зависимость  $K_{292}$  и оптической плотности  $D$  на длинах волн 255 и 292 нм от времени в процессе распада озона. (Пунктирная линия – момент прекращения подачи озон – кислородной смеси в кювету).

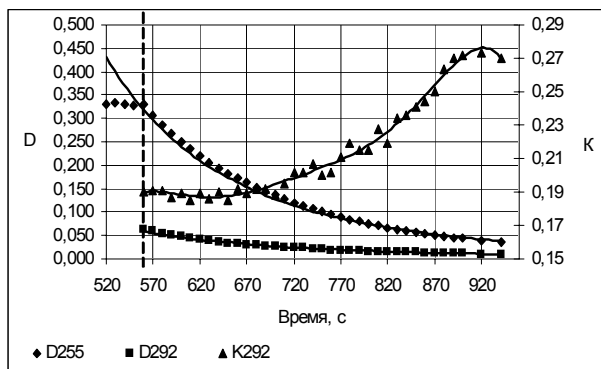


Рис. 5. Озонированный раствор 10%  $NaCl$ . Зависимость  $K_{292}$  и оптической плотности  $D$  на длинах волн 255 и 292 нм от времени в процессе распада озона. (Пунктирная линия – момент прекращения подачи озон – кислородной смеси в кювету).

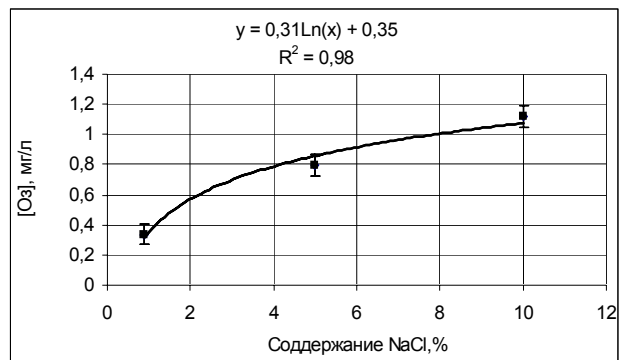


Рис. 6. Влияние содержания хлорида натрия в растворе на концентрацию озона в точке перегиба зависимости  $K_{292}=f(t)$ .

озона.

**Результаты.** Данные о динамике процессов в озонированных растворах хлорида натрия представлены на рис. 3, 4 и 5. С ростом содержания хлорида натрия период полураспада озона в растворах уменьшался, для 0,9% он составлял около 720 сек, для 5% - 105 сек, а для 10% - 50 сек. Процесс уменьшения содержания озона в растворах хорошо аппроксимируется гладкими экспоненциальными зависимостями от времени.

Обнаружено, что в начальный период времени после прекращения озонирования оптическая плотность растворов на длине волны 292 нм, в пределах ошибки измерения, независимо от концентрации хлорида натрия, была одинаковой и составила  $0,066 \pm 0,006$  при 0,9%,  $0,063 \pm 0,009$  при 5% и  $0,070 \pm 0,005$  при 10% NaCl ( $p < 0,05$ ). Однако в процессе распада озона динамика изменения оптической плотности в значительной степени зависела от содержания хлорида натрия. Причём, при одинаковом содержании озона 1 мг/л ( $D_{255} = 0,062$ ) оптические плотности растворов достоверно отличались:  $D_{292}$  для 0,9% NaCl составила  $0,018 \pm 0,002$ , для 5% -  $0,013 \pm 0,002$ , а для 10% -  $0,033 \pm 0,003$  ( $p < 0,05$ ).

Изменения ООП в зависимости от времени носили сложный разнонаправленный характер (переход от вогнутости к выпуклости графика зависимости), некоторое снижение после прекращения процесса озонирования сопровождалось достоверным подъёмом с достижением максимального значения (Рис. 3, 4 и 5). При этом промежуток времени, в течение которого наблюдалось снижение ООП и через который достигалось максимальное её значение, находится в обратной зависимости от содержания в растворе хлорида натрия. Из математического анализа известно, что такая сложная зависимость, кроме *min* и *max*, имеет ещё одну характерную точку – точку перегиба. Это точка на графике, которая, в данном случае, отображает изменение скорости и характер протекающих химических реакций. Причём, с ростом содержания хлорида натрия в растворе перегиб наступает при большей концентрации озона, и эта зависимость хорошо аппроксимируется логарифмической функцией (Рис. 6).

**Обсуждение результатов.** В опубликованных материалах (Разумовский С.Д. и др. - [11], Иванова И.П., Конторщикова К.Н.- [13], Бояринов С.П. и др. [5]) высказывалось предположение о возможности образования в озонированном растворе хлорида натрия активных форм кислорода и гипохлорита натрия, но обнаружить гипохлорит при помощи йодометрии [11] и спектрофотометрии [5] не удалось. В предыдущих исследованиях при оценке содержания озона в растворе, было обнаружено расхождение между методами спектрофотометрии и йодометрии озона, которое увеличивалось с ростом содержания

хлорида натрия. Было высказано предположение, что в воде вследствие распада озона  $O_3 + M \rightarrow O_3^* \rightarrow O_2 + O + H_2O \rightarrow \dots$  образуются вторичные окислители (возможно, активные формы кислорода и гипохлорит натрия), принимающие участие в восстановлении йода. Однако, несмотря на тщательные измерения оптической плотности озонированного раствора на длине волны 292 нм, гипохлорит обнаружен не был [6, 9].

Исследования динамики ОП и ООП озонированных растворов в режиме реального времени на длине волны 292 нм позволили обнаружить на этой длине волны изменения, обусловленные влиянием не только спектра озона. Следовательно, в растворе, кроме растворённого озона, образуется и другое вещество, влияющее на оптическую плотность, - предположительно гипохлорит натрия. Действительно, оптические плотности  $D_{292}$  в начальный период после прекращения процесса озонирования для 0,9%, 5% и 10% растворов хлорида натрия достоверно не отличались, несмотря на то, что растворимость и полураспад озона для них имеют значительные различия (Рис. 3, 4, 5). Обнаруженные изменения ООП также свидетельствуют, что в исследуемых растворах после прекращения подачи озон-кислородной смеси идут сложные химические реакции с образованием веществ, имеющих разную реакционную способность и время «жизни». Не исключается, что они могут реагировать друг с другом (снижение относительной доли одного вещества в растворе вследствие повышения содержания другого - снижение количества гипохлорита при увеличении содержания пероксида водорода). На основании полученных данных можно сделать вывод, что гипохлорит в озонированном растворе можно обнаружить в только в ограниченном временном интервале, когда  $K_{292}$  находится в области максимума. Сравнив оптическую плотность гипохлорита известной концентрации и данные, полученные при исследовании озонированных растворов хлорида натрия, можно сделать вывод, что в процессе распада озона при 0,9% NaCl в растворе образуется до 0,00022% NaClO, при 5% NaCl - 0,00031%, а при 10% NaCl - 0,00056%.

#### Выводы

1. В результате проведённых исследований обнаружено, что в озонированных водных растворах хлорида натрия образуется гипохлорит натрия.

2. На основании исследований дана количественная оценка содержания гипохлорита, образующегося в озонированных растворах хлорида натрия.

3. При парентеральном введении необходимо учитывать, что максимальное количество гипохлорита натрия в озонированном физиологическом растворе образуется ориентировочно через 43 минуты после прекращения процесса озонирования (Рис 3.).

Литература

1. Конторщикова К. Н. Биохимические основы эффективности озонотерапии // Тезисы докладов 2-й Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 8.

2. Конторщикова К. Н., Солопаева И. М., Перетягин С. П. Влияние озона на состояние печени при экспериментальном хроническом гепатите. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1996. – Т. 122. - № 8. - С. 238 – 240.

3. Федорук А., Конторщикова К.Н., Андреева Н.Н. Индекс насыщенности плазмы крови под действием озонированного физиологического раствора.// Тезисы докладов 2-й Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- с.

4. Косых А. А. Цапок П. И. Кудрявцев В.А. Зубков И. В. Козвонин В. А. Большухин С. Ю. Регенерационная терапия: экспериментальное обоснование. Вятский медицинский вестник №4. - Киров - 2003.С. 60-65.

5. Бояринов Г.А., Гордцов А.С., Бояринова Л.В., Шемалашвили И.Н., Кулагина Н.В., Зимина С.В., Соколов В.В., Калягина С.Г. Результаты анализа потенциально возможных реакций озона с хлоридом натрия в воде. //Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998.- С. 4-6.

6. Кудрявцев В.А., Большухин С.Ю. К вопросу озонирования растворов хлорида натрия. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине». Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ», 2005., С. 44-45.

7. Зинченко В.Д., Мусина И.А., Голота В.И., Таран Г.В. О динамике насыщения озоном водных растворов хлористого натрия. //Тезисы докладов VI Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине». Нижегородский медицинский журнал. Приложение к НМЖ «ОЗОНОТЕРАПИЯ», 2005., С. 41-42.

8. Kudryavtsev V.A., Tsapok P.I, Kosykh A.A., Bolshukhin S.Yu., Yelikov A.V. Influence of Intraabdominal Injection of Ozone on Oxidant-Antioxidant Balance of Erythrocytes and Blood Plasma. //XIX International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. October 8-11, Monreal, Canada, 2003.-Т6-6.

9. Кудрявцев В.А. Способ определения концентрации озона в озонированных растворах. Нижегородский медицинский журнал. Специальный выпуск №2 2006. Н. Новгород, 2006.

10. Алёхина С.П., Щербатюк Т.Г. Озонотерапия: клинические и экспериментальные аспекты. – Н.

Новгород 2003.

11.Зайцев В.Я., Константинова М.Л., Подмастерьев В.В., Разумовский С.Д. К вопросу озонирования физиологических растворов для медицинских целей. // Тезисы докладов III Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон и методы эфферентной терапии в медицине».- Н.Новгород, 1998.- С. 3 - 4.

12.Лунин В.В., Попович М.П., Ткаченко С.Н. Физическая химия озона. Издательство московского университета, 1998.

13.Иванова И.П., Конторщикова К.Н. Физико-химические свойства озонированных растворов. // Тезисы докладов II Всероссийской научно - практической конференции с международным участием «Озон в биологии и медицине».- Н.Новгород, 1995.- С. 10 - 11.

Кузнецов В.Ф., Кулемин Л.М., Бондаренко В.М.  
**ФЕРМЕНТИРОВАННЫЕ ПИЩЕВЫЕ  
ВОЛОКНА И КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ  
ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КАК КОМПОНЕНТЫ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ**

*ЗАО «Ягодное» г. Киров,  
ГОУ ВПО «Пермская ГМА Росздрава  
им. акад.Е.А.Вагнера», г.Пермь,  
НИИЭМ им.Н.Ф.Гамалеи РАМН г. Москва*

Последние достижения науки подтверждают, что пища модулирует различные функции организма, способствует поддержанию здоровья и уменьшению риска некоторых заболеваний. Такое открытие привело к концепции «функционального питания». Интерес к этой «функциональной» пище и ее активным компонентам все более возрастает. Важнейшими потенциальными «ингредиентами функциональной пищи» являются пищевые волокна (ПВ). Эффективность функционального питания в этой ситуации существенно возрастает, если используются ферментированные пищевые волокна в комплексе с продуктами их ферментации – короткоцепочечными жирными кислотами (КЦЖК). Именно такие комплексы содержатся в биологически активных добавках – Рекицен-РД, Ультрасорб, Рекифлор (ЗАО «Ягодное», Киров). Данные продукты используются для устранения дефицита пищевых волокон и продуктов их ферментации. Мишенями для их воздействия являются функции печени, деятельность сердечно-сосудистой системы и иммунной системы, микрофлора кишечника, желудочно-кишечная физиология, метаболизм липидов и углеводов, канцерогенез.

Пищевые волокна относятся к растительным углеводам (полисахаридам), которые не метаболизируются ферментами макроорганизма. ПВ содержатся практически во всех растительных

продуктах, поскольку являются механической и цементирующей основой растительной клетки. Данные вещества содержатся в различных фруктах, ягодах, овощах, а также в оболочке злаковых. Как же ПВ действуют в организме, если они не ферментируются энзимами макроорганизма? Ведь тогда они должны транзитом проходить через желудочно-кишечный тракт? Оказывается патогенетической основой действия ПВ являются короткоцепочечные жирные кислоты, образующиеся при ферментации ПВ нормофлорой толстого кишечника, а также «жесткие» структурные компоненты ПВ, обладающие сорбционной способностью.

ПВ используют в виде различных веществ, выделенных из растительных субстратов. Например, целлюлоза широко применяется в фармацевтической промышленности. Этот вид ПВ нерастворим в воде и практически не ферментируется микрофлорой кишечника. Популярным ПВ является пектин, которого много в яблоках, свекле и т.д. Данный вид ПВ растворим в воде, и полностью ферментируется нормальными представителями микрофлоры. К растворимым и хорошо ферментируемым ПВ относятся фруктоолигосахариды (инулин, олигофруктоза). Инулин содержится в артишоках (земляной груше), корнях цикория и лопуха, состоит из D-фруктозы, соединенной  $\beta$  (2→1) связями. Олигофруктоза - вариант инулина с меньшей молекулярной массой.

В каком виде принимать ПВ в пищу? Конечно в натуральном! Но в этом случае ежедневно нужно съедать до килограмма растительных продуктов. После чего они поступают в кишечник, где должны подвергнуться ферментации нормофлорой, а если дисбактериоз? Поэтому профилактический и лечебный эффект в этом случае прослеживается не всегда и не в полной мере. Некоторые источники ПВ, например, отруби, противопоказаны при запорах и язвенной патологии желудочно-кишечного тракта. Чтобы избежать этих ситуаций, лучше использовать продукты, содержащие уже ферментированные

растворимые и нерастворимые ПВ в комплексе с КЦЖК.

К отечественным продуктам, которые содержат комплексы ферментированных ПВ и КЦЖК относится БАД «Рекицен-РД», а также биологически активные добавки, в которые Рекицен-РД входит как основной компонент: «Ультрасорб», «Рекифлор». Высокая эффективность этих продуктов определяется тем, что их использование с одной стороны дает организму необходимое количество ферментированных ПВ, которые обладают существенно большим сорбционным потенциалом по сравнению с интактными ПВ (Кулемин Л.М., Кузнецов В.Ф., Уланова Т.С. и др., 2004) и являются субстратом для ферментации в толстом кишечнике. Наличие в продукте КЦЖК при использовании предполагает типичную заместительную терапию, являющуюся вполне физиологичной.

Определение концентрации КЦЖК в биологически активной добавке Рекицен-РД проведено в лаборатории генетики вирулентности бактерий НИИЭМ им.Н.Ф.Гамалеи РАМН под руководством профессора В.М. Бондаренко и при финансировании ЗАО «Ягодное» (Киров, директор Л.М.Кулемин). В этой работе были изучены 3 серии Рекицена-РД. Определение содержания КЦЖК осуществляли с использованием метода газожидкостной хроматографии.

Данные количественного содержания КЦЖК в различных сериях Рекицена-РД приведены в таблице.

Как видно из таблицы, в Рекицене-РД содержатся все виды КЦЖК. Замечателен и тот факт, что концентрация КЦЖК в исследуемом продукте близка к их уровню в содержимом толстого кишечника.

Какие функции выполняют КЦЖК в организме? Во-первых, установлено, что КЦЖК, в частности ацетат и бутират, являются основой энергообеспечения представителей нормофлоры и факторами, влияющими на экспрессию генов микроорганизмов. Это способствует устранению дисбиотических процессов, нормализует метаболическую активность микрофлоры кишечника, и во многом определяют

Таблица  
Содержание КЦЖК в различных сериях Рекицена-РД

Названия КЦЖК и их количество (в мг/г)	Серия 1	Серия 2	Серия 3
С2 (уксусная)	0,930	0,943	0,965
С3 (пропионовая )	0,129	0,157	0,162
С4 (масляная)	0,111	0,058	0,061
С5 ( валериановая)	0,058	0,020	0,028
С6 (капроновая)	0,045	0,028	0,044
Общий уровень КЦЖК	1.365	1.303	1.349

колониционную резистентность слизистой кишечника. По мнению В.М.Бондаренко одним из механизмов нормализующего воздействия Рекицена-РД на микробиоценоз кишечника является наличие высокого уровня ацетата в данном продукте. Так, установлено, что данный вид КЦЖК индуцирует активность не менее 100 генов симбиотических бактерий различных таксономических групп (Wolfe A., 2005), в то время как бутират наоборот, снижает активность генов геномных «островов» патогенности, в частности, SPI-1 у *Salmonella enterica* (Gantois I., et al., 2006).

Во-вторых, общеизвестно, что насыщение организма КЦЖК способствующее нормализации микрофлоры кишечника, тормозит распад комплекса эстрогенов с глюкуроновой кислотой, что препятствует формированию гиперэстрогемий и формированию гормонзависимых опухолевых процессов.

Этим не исчерпывается позитивное действие КЦЖК в просвете кишечника. Так, установлено, что ими регулируется двигательная активность толстого кишечника (антидиаррейный и антизапорный эффекты). В проксимальных отделах толстой кишки КЦЖК стимулируют рецепторы L-клеток, которые вырабатывают регуляторный пептид РУУ, который, в свою очередь, замедляет двигательную активность, как толстой, так и тонкой кишки. Выработка пептида РУУ лежит в основе «илеоцекального тормоза», замедляющего кишечную моторику при попадании в толстую кишку недопереваренной пищи. В дистальных отделах толстой кишки эффект КЦЖК имеет противоположную направленность. Они стимулируют рецепторы Ecl-клеток, вырабатывающих гистамин, который действуя на 5-HT<sub>4</sub>-рецепторы афферентных волокон блуждающего нерва, инициирует рефлекторное ускорение моторики (Бельмер С.В., 2005). Поэтому продукты, содержащие КЦЖК, в частности Рекицен-РД, облегчает состояние пациента, как при запорах, так и при диареях.

В-четвертых, установлено, что КЦЖК улучшают абсорбцию ряда микроэлементов, в частности кальция, магния, железа, а также воды (Coudray C., Demigne C., Raussiguier Y. 2003; Бельмер С.В., 2005). Всасывание КЦЖК из толстого кишечника происходит при участии активных транспортных систем. Так, бутират поступает в колоноцит в обмен на гидрокарбонатные ионы, часть бутирата поступает опять в просвет кишки в обмен на ионы хлора, при этом большая его часть остается в клетках эпителия кишечника и утилизируется ими. Поступление бутирата в клетки связано с всасыванием натрия, а затем и воды. Кроме того, КЦЖК участвует в абсорбции кальция и магния. Таким образом, оптимальный обмен КЦЖК имеет значение для поддержания водно-электролитного равновесия и минерального обмена.

Изучено (Shiga K, et al. 2003) влияние диеты,

обогащенной ПВ, на мальабсорбцию железа, анемию и ухудшение состояния при физической нагрузке, вызванные удалением желудка у крыс. Гастрэктомия приводила к уменьшению абсорбции железа, снижению концентрации гемоглобина и гематокрита, ухудшению способности к выполнению беговых нагрузок. Диета, обогащенная ПВ (50 г/кг пищи), сравнивала показатели абсорбции железа, гематологические изменения, а также способность переносить физические нагрузки у крыс после удаления желудка с показателями крыс с симулированной операцией. Эти данные свидетельствуют о том, что потребление ПВ обеспечивает абсорбцию железа и предотвращает анемию после гастрэктомии. Следует отметить, что всасывание железа у гастрэктомированных крыс тесно коррелировало с пулом КЦЖК в слепой кишке.

В-пятых, КЦЖК способствует дифференцировке и апоптозу многочисленных типов клеток (Hara I., et al. 2000; Milovic V., et al. 2000; и др.). В сравнительных исследованиях бутират был самым сильным ингибитором пролиферации при исследовании в трех клеточных линиях аденокарциномы толстого кишечника человека (HT-29, Colo-320 и SW-948). Пропионат показал более слабое антипролиферативное действие, в то время как другие КЦЖК (валерат, ацетат) были неэффективны. В толстом кишечнике бутират, с одной стороны, является топливом для колоноцитов (Andoh A., Tsujikawa T., Fujiyama Y., 2003), а с другой стороны, модулируют экспрессию белков, регулирующих клеточный цикл, и активирует апоптоз в раковых клетках толстой кишки (Andoh A., Tsujikawa T., Fujiyama Y., 2003). У больных с раком и аденомами толстой кишки уменьшалось соотношение образования бутирата к общим КЦЖК из ПВ в толстом кишечнике. Возможно, низкие пропорции образования бутирата в сочетании с пищей с небольшим содержанием волокон повышают риск неоплазии толстой кишки (Clausen M.R., et al, 1991).

Бутират «вмешивается» в регуляцию клеточного цикла клеток, расположенных не только по ходу кишечника. Так, Hara I., et al (2000) изучено влияние бутирата натрия на рост, клеточный цикл и апоптоз почечно-клеточного рака (ПКР) у человека. Бутират натрия уменьшал скорость роста ПКР клеток человека *in vitro*. Обработка ПКР клеток 1 мМ бутирата натрия приводила к прекращению клеточного цикла в G<sub>1</sub>, сопровождающегося ап-регуляцией p21 (waf1/cip1) и понижающей регуляцией циклина D1. Напротив, апоптоз клеток под влиянием 5 мМ NaBt сопровождался ап-регуляцией Bак и даун- регуляцией Bcl-2. Более того, бутират натрия синергически повышал ингибирующее влияние на рост клеток анти-Fas моноклональных антител. Эти результаты свидетельствуют о возможности использования продуктов, содержащих бутират натрия, для лечения пациентов с почечно-клеточным раком.

Бутират в физиологических концентрациях является сильным антипролиферативным средством, промоутером клеточной дифференциации и стимулятором апоптоза без цитотоксичности в том числе в отношении гладкомышечных клеток сосудов (ГМКС) (Ranganna K., et al. 2003). Обработка бутиратом культур этих клеток изменяет экспрессию различных классов генов, в частности: 43 генов, причастных к росту клеток. Ингибция бутиратом пролиферации гладкомышечных клеток связана с даун-регуляцией генов, которые кодируют несколько положительных регуляторов роста клеток и ап-регуляцию генов, кодирующих отрицательные регуляторы стимуляторов роста. Таким образом, профили экспрессии генов показывают, что пролиферация ГМКС, ингибированная бутиратом, обеспечивается совместным действием пропорционально большого количества как положительных, так и отрицательных регуляторов роста, что вызывает остановку роста ГМКС.

В публикации Torkelson S., et al. (1996) отмечается, что КЦЖК быстро метаболизируется *in vivo*, индуцируемый апоптоз возникает в фазе G1 клеточного цикла. Антипролиферативная активность связана с торможением метаболических транспортных насосов, которые важны для клеточной пролиферации.

В шестых, установлено участие КЦЖК в защите организма при интоксикации (ксенобиотики, эндогенные вещества, продукты свободно-радикальных процессов). КЦЖК, всосавшись в кровь, являются регулятором активности генов, ответственных за синтез ферментов, вовлеченных в процессы детоксикации ксенобиотиков, в том числе химических канцерогенов, что повышает резистентность организма к формированию опухолевого процесса под влиянием данных агентов. В исследованиях Ranganna K., et al. (2003) изучена функция генов, подвергающихся активации при воздействии бутирата на гладкомышечные клетки сосудов в модели *in vitro*. Установлена активация генов, связанных со стрессом, которые обеспечивают синтез некоторых членов из семейства белков теплового шока (HSP), глутатион-S-трансферазы (GST), глутатион пероксидазы (GSH-PXs) и цитохрома P450 (CYP).

Таким образом, в процессе воздействия КЦЖК на чувствительные клетки усиливается экспрессия генов, определяющих синтез ферментов, обеспечивающих защиту клетки от свободно-радикального повреждения, а также ферменты, обеспечивающие метаболизм ксенобиотиков и эндогенных веществ.

Седьмое, общеизвестно, что диета, обогащенная ПВ, нормализует липидный и углеводный гомеостаз, что проявляется в нормализации веса, липидного спектра плазмы, а также уровня сахара в крови. Вне желудочно-кишечного тракта механизмы действия ПВ

реализуются через КЦЖК. «Проводниками» реализации метаболических эффектов ПВ является, в частности пропионат (Delzenne N.M., Kok N., 2001). Косвенно об этом свидетельствует и то, что большая часть КЦЖК, абсорбированная из кишечника, остается в печени. Зачем? С одной стороны, для обеспечения энергетике гепатоцита, а с другой, для изменения его липидсинтезирующего потенциала.

Наиболее показательны исследования, проведенные Delzenne N.M., Kok N. (1999, 2001). Данные авторы в качестве ПВ взяли олигофруктозу и инулин. Как у людей, так и у животных, диета, обогащенная ПВ, может регулировать липидемию и триглицеридемию. Действие ПВ происходит благодаря уменьшению *de novo* синтеза жирных кислот в печени через торможение выработки липидогенных ферментов, а именно, ацетил-CoA карбоксилазы (EC 6.4.1.2), синтазы жирных кислот (EC 1.1.1.40), АТФ цитратной лиазы (EC 4.1.3.8) и глюкоза-6-фосфат дегидрогеназы (EC 1.1.1.49). Спад активности липогенных ферментов и снижение уровня mRNA синтазы жирных кислот предполагает, что ПВ через КЦЖК изменяют генную экспрессию липогенных ферментов, снижают уровень инсулина и глюкозы в сыворотке после приема пищи, которые, как известно, участвуют в пищевом регулировании липогенеза. Повышается кишечное продуцирование инкретиннов, а именно, глюкозо-зависимого инсулилотропного пептида и глюкагон-подобного пептида-1.

Восьмое, устранение дефицита ПВ и КЦЖК при использовании Рекицена-РД способствует устранению дисфункций иммунной системы и нормализации противовоспалительного потенциала организма (Кузнецов В.Ф., Золотарев Ю.В., Кулемин Л.М., 2000; Кузнецов В.Ф. и соавт., 2005).

Механизм иммунотропного и противовоспалительного действия ПВ и КЦЖК сложен и во многом не изучен. Вместе с тем считается, что именно КЦЖК обеспечивают иммунотропные, противовоспалительные и противоаллергические эффекты ПВ (Lim D.O. et al., 1997; Schley P.D., Field C.J., 2002; Кузнецов В.Ф. и соавт., 2005).

Так, использование арабиногалактана листовничного, являющегося источником ПВ и приводящего к увеличению образования КЦЖК, в основном бутирата и пропионата, благоприятно влияет на микрофлору кишечника, повышая количество анаэробов, стимулирует цитотоксичность натуральных киллеров и тормозит метастазы раковых клеток в печень (Kelly G.S., 1999). Существуют материалы, свидетельствующие о том, что КЦЖК реализуют иммунотропный потенциал через хелперы 1 типа, активность которых обеспечивает состояние клеточного иммунитета, резистентность преимущественно к внутриклеточным патогенам и антиаллергические эффекты (Lim D.O. et al., 1997).

КЦЖК играют важнейшую роль в поддержании

целостности барьеров организма (кожа, слизистые), являющихся важнейшим фактором врожденного иммунитета. В первую очередь хотелось бы подчеркнуть значительную роль восстановления нормофлоры в этом процессе, поскольку эти микроорганизмы синтезируют витамины группы В и фолиевой кислоты, которые позитивно влияют практически на все звенья иммунной системы, в том числе на состояние барьерной функции кожи и слизистых. Недостаток КЦЖК, ведущий к эндогенному голоданию энтероцитов, может быть причиной язвенного колита и других воспалительных состояний. Бутират улучшает заживление ран и уменьшает воспаление в тонкой кишке. Таким образом, КЦЖК может использоваться в кишечной хирургии для снятия симптомов воспалительных заболеваний кишечника (Stein J., 2000). Не исключена роль цитокиновых механизмов в заживлении слизистой кишечника инициируемых бутиратом (Wilson A.J., Byron K., Gibson P.R., 1999). КЦЖК (ацетат, пропионат, бутират и валерат) стимулируют выработку IL-8, являющегося физиологическим инициатором хемотаксической миграции лейкоцитов, а также миграции клеток эпителия толстой кишки в модели *in vitro*. Предполагается роль этого механизма в заживлении слизистой кишечника в условиях патологии.

Представленные выше события, инициированные ПВ в комплексе с КЦЖК, улучшающие барьерную функцию стенки кишечника, препятствуют формированию эндотоксемии и транслокации микроорганизмов через кишечный барьер во внутренние среды (Buddington K.K., Donahoo J.B., Buddington R.K., 2002; Арутюнов Г.П., и соавт., 2004). Это в свою очередь препятствует активации избыточной выработки провоспалительных цитокинов, инициирующих системный воспалительный ответ.

КЦЖК вовлекаются в регуляцию активности провоспалительных цитокинов и через регуляцию активности NF- $\kappa$ B. Так, в работе Andoh A., Tsujikawa T., Fujiyama Y. (2003) установлено ингибирующее действие бутирата на активацию NF- $\kappa$ B, вызванную провоспалительными цитокинами. Торможение активации NF- $\kappa$ B указывает на эффективность пищевых волокон и КЦЖК в лечении воспалительных заболеваний.

В заключение хотелось бы отметить, что Рекицен-РД, содержащий комплекс ферментированных растворимых и нерастворимых ПВ, а также короткоцепочечные жирные кислоты, с успехом используется в функциональном питании практически здоровых людей и пациентов с различными вариантами интоксикации, воспалительной патологии кожи и внутренних органов, патологии сердечно-сосудистой системы, ожирением, сахарным диабетом 2-го типа, онкологической патологией, нарушениями функций иммунной

системы, дисбактериозе, аллергической патологии, в акушерско-гинекологической практике. Столь широкий спектр действия диеты, содержащей Рекицен-РД, определяется его основными ингредиентами (ферментированные ПВ и КЦЖК), а также недостаточностью данных компонентов в обычном питании человека.

Лазарева О.Н., Высокогорский В.Е.

### ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ СТЕРИЛИЗОВАННОГО МОЛОКА

ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет», г. Омск

Молоко является ценнейшим пищевым продуктом, источником различных антиоксидантов. Однако, липиды молока под воздействием различных приемов технологической обработки подвергаются свободнорадикальному (перекисному) окислению, в ходе которого накапливаются перекиси и гидроперекиси. При дальнейшем окислении образуются альдегиды и кетоны, которые придают продукту специфический привкус прогорклости [2, 4]. Окисление липидов также снижает биологическую ценность молока и потребление молочных продуктов с окисленными липидами может вызывать возникновение ряда патологических состояний организма [5].

Определенная роль в защите молочного жира от СРО принадлежит антиоксидантам, присутствующим в молоке, которые прерывают цепи окисления, взаимодействуя с радикалами липидов.

Одним из интегральных методов для изучения СРО различных объектов является хемилюминесцентный анализ, основывающийся на регистрации свечения, сопровождающем окислительную реакцию. Хемилюминограмма исследуемых объектов характеризуется следующими параметрами: спонтанным свечением, быстрой вспышкой, латентным периодом, медленной вспышкой, тангенсом угла наклона кривой в период нарастания медленной вспышки [3]. Интегративным параметром является светосумма свечения – площадь под кривой хемилюминесценции (ХЛ), которая характеризует способность субстратов к развитию цепных процессов окисления.

Нами изучена  $Fe^{2+}$ -индуцированная ХЛ молока сырого нормализованного с массовой долей жира (м. д. ж.) 2,5%, не подвергнутого тепловой обработке, молока пастеризованного маложирного и молока стерилизованного маложирного (м. д. ж. 2,5%) на экспресс-анализаторе ХЛ-003 [6].



Таблица 1

Влияние водных экстрактов из растительного сырья на светосумму хемилюминесценции стерилизованного молока

Наименование продукта	n	Светосумма, у.е·мин ( $\bar{X} \pm t_{0,05} \cdot \frac{S}{\sqrt{n}}$ )
Молоко стерилизованное	10	24,42 ± 0,48
Молоко стерилизованное + мелисса лекарственная	10	6,36 ± 0,37***
Молоко стерилизованное + листья брусники	10	7,31 ± 0,45***
Молоко стерилизованное + зеленый чай «Принцесса Ява»	10	6,92 ± 0,33***
Молоко стерилизованное + плоды шиповника	10	13,92 ± 0,48***

Примечание: \*\*\* – P < 0,001 в сравнении с молоком стерилизованным.

Экспериментальные данные статистически обработаны с помощью параметрических методов анализа.

Как оказалось, светосумма свечения пастеризованного молока достоверно не изменена, а стерилизованного молока в 3,11 раза (P < 0,001) выше, по сравнению с сырым молоком.

Таким образом, стерилизация молока значительно активизирует процессы СРО. Для подавления окислительных процессов стерилизованного молока, нами исследованы экстракты ряда растений. За счет наличия в растениях полифенольных соединений, они обладают антиоксидантными свойствами. В качестве растительного сырья выбраны мелисса лекарственная, листья брусники, зеленый чай «Принцесса Ява» и плоды шиповника. Полученные водные экстракты вносили в стерилизованное молоко в соответствии с рекомендациями ESCOP [1] и через 1 час оценивали интенсивность ХЛ. Изменение светосуммы ХЛ стерилизованного молока при добавлении экстрактов представлено в таблице 1.

Как показал анализ, добавление экстрактов в стерилизованное молоко приводит к снижению светосуммы его ХЛ, а, следовательно, торможению процессов СРО. Светосумма ХЛ стерилизованного молока с мелиссой лекарственной на 73,96% (P < 0,001), листьями брусники на 70,07% (P < 0,001) ниже, по сравнению со стерилизованным молоком без добавок. Торможение процессов СРО стерилизованного молока вследствие добавления экстракта зеленого чая составляет 71,66% (P < 0,001), плодов шиповника – 43,00% (P < 0,001). Водные экстракты из мелиссы лекарственной, листьев брусники и зеленого чая оказывают примерно одинаковое антиоксидантное действие на СРО стерилизованного молока, наименьшей антиокислительной способностью обладает экстракт из плодов шиповника.

Таким образом, добавление экстрактов из растений в стерилизованное молоко способствует торможению свободнорадикальных процессов в нем, и как следствие, увеличению срока хранения и

повышению его биологической ценности.

#### Литература

1. Бакулина О. Н. Растительные экстракты – идеи от природы // Пищевые ингредиенты : сырье и добавки. – 2005. - №1. – С. 40 – 42.
2. Горбатова К. К. Химия и физика молока. – СПб. : Гиорд, 2003. – 288 с.
3. Клебанов, Г.И. Хемилюминесцентный метод исследования перекисного окисления липидов / Г.И. Клебанов, В.П. Аристова, Л.С. Толстухина // Совершенствование методов анализа молока и молочных продуктов : труды ВНИМИ. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – Вып. 42. – С. 48 – 55.
4. Пищевая химия / А. П. Нечаев [и др.]. Под ред. А. П. Нечаева. Издание 2-е, перераб. и испр. – СПб.: ГИОРД, 2003. – 640 с.
5. Радаева И. А. Увеличение срока хранения молочных продуктов путем использования антиоксидантов // Молочная промышленность. – 2006. - №7 – С. 54 – 56.
6. Хемилюминесцентные методы оценки функционального состояния животных : методические рекомендации. – М. : Издательская группа «БДЦ-пресс», 2005. – 40 с.

Мазина Н.К.

#### СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ: ФЕНОМЕНОЛОГИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ

ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Биологическая сущность живого и физические представления о живой неравновесной системе позволяют определить гомеостаз как основное свойство живого организма, обеспечивающее его устойчивость во внешней среде за счет энергии, получаемой извне, а также ее трансформации в пригодную для утилизации в клетке форму. При этом жизнедеятельность всего организма зависит от согласованности и мобильности энергообеспечения гомеостатических функций. Основными

продуцентами энергетических эквивалентов для их осуществления являются системы энергопродукции клеток - митохондрии (МХ).

На уровне систем энергопродукции клеток и тканей разных органов устанавливается динамическое равновесие между различными путями метаболизма. МХ синхронно откликаются на различные воздействия, направленные на целостный организм, что предполагает важный вклад этих органелл в формирование адаптации на тканевом уровне к факторам окружающей среды в эволюционном и онтогенетическом масштабе. Через призму функциональной активности МХ преломляются фазы адаптационного синдрома – активация, резистентность, истощение каждая из которых характеризуется специфическим набором разногипных и вариабельных признаков.

Принципиально важным обстоятельством, требующим особого подхода к содержательной интерпретации изменения параметров клеточной биоэнергетики в переводе информации *in vitro* через *in vivo*, является неспецифичность и нелинейность фазных ответов МХ на силу и тип неблагоприятного воздействия, направленного на целостный организм. Системные взаимоотношения функциональной активности сообществ МХ различных тканей устойчивы в условиях физиологического оптимума, но синхронно изменяются в критических органах-мишенях при напряжении гомеостатических функций и при фармакологической коррекции патологических процессов.

Патология и старение сопровождаются дезорганизацией энергетического обмена, энергодефицитом. Дисфункции МХ и гипоксию относят к типовым патологическим процессам. Исходя из этого новое направление – биоэнергетическая фармакология использует единый подход к коррекции патологии через улучшение функций МХ, опираясь на гипотезу о системной гомеостатирующей роли и суммации нагрузок на уровне этих органелл.

Механизмы системной роли МХ не изучены. Вероятно, гомеостатические функции МХ реализуются разными путями: через энергетические субстраты, кофакторы дыхательной цепи (ДЦ), экспрессию участков ядерного и МХ-генома, которые регулируют биогенез и активность органелл. В этом контексте выделяется МХ-субстрат янтарная кислота (ЯК). Она окисляется с наиболее высокой скоростью в системе реакций быстрого метаболического кластера (БМК), катализируемых трансаминазами и сукцинатдегидрогеназой, и обеспечивает интенсивную поставку дополнительных энергетических эквивалентов при выходе организма за пределы физиологического оптимума. Помимо этого, система продукции и окисления ЯК играет ведущую роль при энергообеспечении неспецифической резистентности организма к широкому спектру неблагоприятных факторов в онтогенезе и филогенезе.

ЯК и ее препараты, вводимые в организм, оказывают антигипоксическое, антиоксидантное, антиацидотическое, мембраностабилизирующее действие во всех органах и тканях, которые вовлечены в патологический процесс. Особого внимания заслуживает тот факт, что благотворные эффекты экзогенной ЯК в эксперименте на животных и на добровольцах регистрируются сравнительно быстро (в течение 10-20 минут) в низких дозах (20-50 мг) и не могут быть связаны с ее использованием в качестве энергетического субстрата.

Сигнальный тип фармакодинамики предполагает наличие специфических рецепторов. Недавно описаны так называемые орфановые рецепторы, которые локализованы в эндотелии сосудов, и стимулируются молекулами ЯК и кетоглутаровой кислоты (КГ). Показано, что эти два энергетических субстрата опосредуют симпатомиметические и парасимпатомиметические эффекты в организме. Остается неясным, каким образом осуществляется синхронное вовлечение в ответную реакцию МХ именно сукцинатзависимой системы энергопродукции клеток и тканей, вовлеченных в патологический процесс. Каков молекулярный механизм передачи сигнала с активированного ЯК или КГ орфанового рецептора, локализованного на поверхности эндотелиальной клетки сосуда, сообществам МХ во множества клеток патологически измененных тканей?

Здесь уместно вспомнить, что в клетках может существовать сеть МХ-каналов. Классические представления о МХ, как отдельных органеллах, согласно световым и электронным двумерным микрофотографиям, сменились, когда было проведено пространственное компьютерное моделирование. После этого МХ предстали в виде организованной внутриклеточной сети с наличием межклеточных контактов. Можно предположить, что через них и могут передаваться сигналы о синхронной регуляции энергетических процессов в разных функциональных системах организма. В таком случае орфановые рецепторы есть не что иное, как выходы МХ-каналов из цитоплазмы в межклеточное пространство. Если это так, то можно предположить существование подобных рецепторов и на других типах клеток, прежде всего в тканях с наиболее высокой интенсивностью энергетических процессов: в нервной ткани, миокарде, корковом слое почек, косном мозге, сетчатке и других. Тогда появится возможность теоретически объяснить сигнальный тип действия ЯК на фоне синхронного включения ФАД-зависимого звена дыхательной цепи МХ во многих органах и тканях в ответные реакции на неблагоприятные воздействия и средства фармакологической коррекции.

Перевалова Ю.В., Цапок П.И., Колеватых Е.П.  
**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ  
 АНТИОКСИДАНТНОЙ И  
 МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ  
 ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ СИНБИОТИЧЕСКИХ  
 ПРОДУКТОВ,  
 СОДЕРЖАЩИХ БИФИДОБАКТЕРИИ И ЛАКТИТ**  
 ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

**Цель исследования:** оценить влияние синбиотических продуктов, содержащих бифидобактерии и лактит, на процессы липопероксидации и состояние кишечного микробиоценоза.

**Объекты и методы исследования.** Оценку влияния синбиотических продуктов на показатели ПОЛ проводили на беспородных белых крысах – самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария и разделенных на 4 экспериментальные и 2 контрольные группы.

Животные 1-й экспериментальной группы получали вместе с основным рационом кисломолочный продукт, обогащенный бифидобактериями, данная проба не содержала пребиотических добавок. Для особей 2-й подопытной группы готовили кисломолочный продукт, обогащенный бифидобактериями (в концентрации  $10^8$  КОЕ/г) и лактитом (суммарное массовое содержание составило 0,02%). Животные контрольной группы получали кисломолочный продукт, который не содержал пробиотических микроорганизмов и пребиотических компонентов.

При работе с 3-й экспериментальной группой к основному рациону добавляли суспензию бифидобактерий (содержание пробиотических микроорганизмов –  $10^8$  КОЕ/мл), с 4-й подопытной группой – культуру бифидобактерий, обогащенную лактитом (содержание пробиотических микроорганизмов –  $10^8$  КОЕ/мл, массовая концентрация лактита – 0,02%). Для животных 2-й контрольной группы в качестве добавки к основному рациону использовали разведенную в 100 раз питательную основу, применявшуюся для культивирования бифидобактерий.

По истечении 10 дней животные выводились из эксперимента путем декапитации под кратковременным эфирным наркозом. В отобранных образцах крови определяли: содержание тотальных липидов, общего и свободного холестерина, продуктов липопероксидации – диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Дополнительно проводили оценку активности каталазы и содержания церулоплазмينا.

Состояние системы свободнорадикального окисления оценивали методом хемилюминесценции (ХЛ). Для характеристики кинетики ХЛ крови использовали такие параметры как максимальную интенсивность ХЛ ( $I_{\max}$ ), светосумму (S) за

определенный отрезок времени (30 и 60 сек).

Отобранные при забое животных образцы толстого кишечника подвергали микробиологическим исследованиям на предмет оценки содержания бифидо и лактобактерий. Определение количества жизнеспособных микробных клеток в образцах проводили регламентированными методами.

Изучаемые количественные признаки, имеющие нормальное распределение, представляли в виде среднего значения (M) и стандартной ошибки среднего (m). Значимость различий в группах проверяли с помощью дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты.**

В плазме крови животных исследуемых групп отмечена тенденция к снижению содержания тотальных липидов (значение данного показателя в экспериментальной группе составило  $1,61 \pm 0,07$  г/л, в контроле –  $1,73 \pm 0,05$  г/л,  $p > 0,05$ ) и малонового диальдегида ( $2,82 \pm 0,31$  нмоль/мл в группе 2, в контрольной группе –  $3,50 \pm 0,32$  нмоль/мл,  $p > 0,05$ ). Отмечено достоверные изменения ( $p < 0,05$ ) в уровне диеновых конъюгатов ( $0,225 \pm 0,046$  нмоль/г липидов, в контроле –  $0,449 \pm 0,037$  нмоль/г липидов) и церулоплазмينا ( $191,5 \pm 7,2$  мг/л, в контроле –  $144,4 \pm 5,7$  мг/л) в группе, получавшей синбиотик. Выявлена тенденция к снижению активности каталазы эритроцитов.

Отмечено достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение интенсивности максимальной вспышки ХЛ у животных группы 2 ( $49,9 \pm 2,2$  имп, в контрольной группе –  $56,6 \pm 1,9$  имп) в то время как снижение данного показателя у животных 1 группы не является достоверным ( $52,7 \pm 2,3$  имп,  $p > 0,05$ ).

Введение в рацион животных кисломолочного продукта, содержащего бифидобактерии в концентрации  $10^8$  КОЕ/г, вызвало достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение содержания бифидобактерий ( $6,3 \pm 0,2$  lgКОЕ/г в группе 1,  $5,5 \pm 0,2$  lgКОЕ/г в контрольной группе). При оценке содержания лактобацилл установлено, что количество лактобактерий у животных опытных групп достоверно не изменилось по сравнению с контрольной группой.

Применение синбиотического кисломолочного продукта вызвало аналогичные изменения в содержании бифидобактерий ( $6,8 \pm 0,3$  lgКОЕ/г в группе 2,  $5,5 \pm 0,2$  lgКОЕ/г в контрольной,  $p < 0,05$ ) и лактобацилл.

Аналогичные результаты были получены для групп 3 и 4, которые получали пробиотический и синбиотический продукты в виде бактериальной взвеси. При этом отмечено снижение эффекта как по биохимическим, так и микробиологическим показателям при сохранении общей тенденции. В ходе исследования отмечено, что снижение содержания продуктов липопероксидации происходит на фоне стабильности системы антиоксидантной защиты.

В результате проведенного исследования

выявлено влияние бифидобактерий в составе функциональных продуктов питания не только на состояние кишечного микробиоценоза, но и на процессы ПОЛ. Добавление лактата в качестве пребиотика вызывает усиление действия бифидобактерий, что выражается в изменении биохимических показателей: снижении содержания первичных интермедиатов, радикалов, находящихся в конце цепи, и конечных продуктов липопероксидации. При этом совместное использование пробиотической культуры и пребиотика приводит к значимым изменениям как в биохимическом статусе, так и в составе кишечной микрофлоры животных.

#### **Выводы**

1. Потребление бифидосодержащего продукта, а также синбиотического продукта, в состав которого входит лактит, снижает интенсивность процессов перекисного окисления липидов *in vivo*.

2. Потребление бифидосодержащих продуктов интактным животным сопровождается снижением образования продуктов липопероксидации на фоне стабильного состояния системы антиоксидантной защиты.

3. Лактит в качестве пробиотической составляющей оказывает комплексное влияние на состав микрофлоры толстого кишечника и на процессы липопероксидации. При этом максимальный эффект достигается при совместном использовании лактата и бифидобактерий.

Храмов В.А., Барсуков А.К.

#### **ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ПОДКЛАССОВ IgG БЫКА (BOS TAURUS)**

*ГОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск.*

Имуноглобулин G жвачных и, прежде всего, IgG крупного рогатого скота отличается от IgG других млекопитающих выраженной гетерогенностью. Гетерогенность IgG обусловлена наличием, по крайней мере, двух подклассов: IgG1 и IgG2 с различными физико-химическими свойствами и своеобразным антигенным строением. Полагают, что IgG1 и IgG2 выполняют специализированные функции в ходе возрастных изменений и в процессе ответной реакции организма на чужеродную генетическую информацию. В частности, изменение количественных отношений подклассов IgG используют в диагностике особо опасных антропозоонозов, в т.ч. для оценки напряженности поствакцинального иммунитета. Основными компонентами используемых диагностикумов являются иммуносыворотки, специфичные к подклассам IgG быка. Отсюда вытекает необходимость выделения последних в особо чистой форме. Особо чистые формы подклассов иммуноглобулинов необходимы также в качестве отраслевых стандартных образцов (ОСО) для совершенствования нормативно-технической базы за

контролем качества иммуноглобулиновых биопрепаратов и диагностических систем.

#### **Материалы и методы**

*Выделение IgG1 быка.* В качестве сырья для получения IgG1 быка использовали молозиво, в котором содержание IgG1 может достигать 80% от общего белка сыворотки молозива.

Предварительно разведенное в 5 раз физиологическим раствором хлорида натрия молозиво деказеинизировали доведением pH до 4,6 1M уксусной кислотой. Образец инкубировали 30 мин, затем центрифугировали (3000 g – 30 мин) для удаления флотирующих липопротеинов и казеинового осадка. В супернатанте доводили pH до 6,5 и добавляли сухой сульфат аммония (Sigma) до концентрации 33% от насыщения. После инкубирования в течение 30 мин. суспензию центрифугировали при условиях, указанных выше. Осадок растворяли в 3<sup>x</sup> объемах 0,01 моль/л натрий-фосфатного буфера, pH 6,5 и диализовали против такого же буфера. Образец нанесли на колонку 555 мм<sup>2</sup> x 90 мм с КМ-целлюлозой (Whatman, США), уравновешенную 0,01 моль/л натрий-фосфатным буфером, pH 6,5. Хроматографию выполняли в режиме сорбции примесных белков. Транзитный пик после концентрирования подвергли эксклюзионной хроматографии на геле сефадекса G-200, целевую фракцию формировали из мономерного пика с учетом объемов выхода белков-калибраторов.

*Выделение IgG2.* В качестве сырья использовали сыворотку крови. Обогащенную IgG2 фракцию получали сульфатным осаждением при конечной концентрации в сыворотке крови сульфата аммония 33% от насыщения. Сульфатный осадок растворяли в 3<sup>x</sup> объемах 0,01 моль/л трис-HCl буфера, pH 8,3 и диализом уравновешивали ионный состав, ионную силу и pH образца. Образец нанесли на колонку с ДЭАЭ-целлюлозой, уравновешенную 0,01 моль/л трис-HCl буфером, pH 8,3 и выполняли хроматографию в режиме сорбции примесных белков. Транзитный пик фракционировали на геле сефадекса G-200, целевую фракцию формировали из мономерного пика с учетом объемов выхода белков-калибраторов.

Концентрацию белка определяли биуретовым методом. Для постадийного и заключительного анализа использовали электрофорез в полиакриламидном геле, агарозе и иммуноэлектрофорез по Грабару-Вильямсу.

#### **Результаты и обсуждение**

*Выделение IgG1 быка.* Основными при выделении IgG1 из молозива являются стадия деказеинирования и катионообменная хроматография для очистки от примесей IgG2. Димеры sIgA, полимерные формы IgG1 и примесь IgM эффективно удалялись с помощью эксклюзионной хроматографии. В результате получили очищенный (99% чистоты в ПААГ-электрофорезе) IgG1 быка, с объемом выхода не менее 31 %. Процент чистоты определяли денситометрированием треков электрофореграмм, а иммунохимическую чистоту

оценивали по однородности дуг преципитации в иммуноэлектрофорезе. Потери целевого белка были обусловлены: во-первых, образованием частично нерастворимого осадка в результате осаждения сульфатом аммония; во-вторых, склонностью IgG1 к самоагрегации, в том числе ковалентной, в результате чего соответствующие передней части целевого пика эксклюзионной хроматографии фракции, содержащие по результатам диск-электрофореза ковалентные димеры, отбрасывались (до 23 % целевого пика).

*Выделение IgG2 быка.* Ключевая стадия при выделении IgG2 быка из сыворотки крови представлена анионообменной хроматографией. Существенные различия в заряде у подклассов IgG быка и высокая изоэлектрическая точка IgG2 быка (7,5-8,3) позволили использовать анионообменную хроматографию в качестве селективного одностадийного метода для наработки особо чистой фракции IgG2 быка. Мономерную форму IgG2 получили с помощью эксклюзионной хроматографии.

В результате был получен гомогенный в диск-электрофорезе (чистота выше 99%) и иммунохимически чистый в иммуноэлектрофорезе препарат IgG2. Чистоту конечного образца определяли аналогично IgG1. Выход целевого белка составил 19%. Потери целевого белка были обусловлены: во-первых, образованием частично нерастворимого осадка в результате осаждения сульфатом аммония; во-вторых, частичной самоагрегацией IgG2, как и в случае с IgG1 ведущей к неполному сбору целевого пика эксклюзионной хроматографии (потери до 11%).

#### **Заключение**

В ходе проделанной работы получены гомогенные, иммунохимически чистые образцы подклассов IgG быка и изучены некоторые их свойства. В частности показано, что подклассы IgG быка при разной электрофоретической подвижности не отличаются по молекулярному весу. По-видимому, IgG1 обладает повышенной устойчивостью к восстановлению внутримолекулярных дисульфидных связей и самоагрегации, в том числе ковалентной. Необходимо также отметить, что адекватность выводов о чистоте выделяемых по той или иной схеме индивидуальных белков всегда ограничивается методами аналитической биохимии на уровне объективных количественных характеристик: точности, чувствительности, специфичности и надежности анализа.

Шакиров Д.Ф., Ханов Т.В., Гайсин С.Ж., Камиллов Р.Ф.  
**АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ  
СЛЪЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПЛАЗМЫ КРОВИ  
И СЛЮННОЙ ЖИДКОСТИ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
медицинский университет Росздрава», г.Уфа*

Свободно-радикальное окисление (СРО) - нормальный метаболический процесс, происходящий практически во всех органах и тканях организма человека, необходимый для осуществления и регулирования ряда физиологических показателей, таких как пролиферация, клеточная дифференцировка, фагоцитоз, синтез и распад биорегуляторов, контроль рецепции, микровязкости биомембран и т.д. В норме процессы свободнорадикального окисления строго сбалансированы и зависят от состояния систем, генерирующих свободные радикалы и утилизирующих их на различных стадиях цепных реак-ций (система антиоксидантной защиты).

Согласно современным представлениям, в развитии воспалительных и дистрофических заболеваний органа зрения важную роль играет нарушения свободнорадикального и перекисного окисления. Поэтому для целенаправленной патогенетически обоснованной терапии необходимо учитывать состояние генерации и утилизации свободных радикалов в тканях глаза, ибо исследование крови не всегда точно отражает локально протекающие процессы в глазу. Значительно информативнее анализ слезы - единственной биологической жидкости, получаемой неинвазивным способом и в наибольшей степени отражающей состояние метаболизма в тканях глаза. Применяемые в настоящее время способы оценки процессов оксидации в слезной жидкости основаны на определении первичных, промежуточных и конечных продуктов окислительных реакций (конъюгаты диеновые и триеновые, гидроперекиси, малоновый диальдегид, Шиффовы основания) и антиоксидантов. Известно, что в слезной жидкости содержится ряд веществ с антиоксидантной активностью, как ферментной, так и неферментной природы, такие как каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, целуроплазмин, глутатион,  $\alpha$ -токоферол, аскорбиновая кислота, урат и др. Определение количественного состава отдельных антиоксидантов в слезной жидкости не даёт более точных сведений об общей антиоксидантной активности, ибо не позволяет реально оценить вклад каждого компонента и их комбинаций в генерацию свободных радикалов, суммирование и взаимное потенцирование действия, наличие в слезной жидкости различных активаторов и ингибиторов и других факторов.

Интегральным показателем, характеризующим состояние СРО в тканях глаза, может служить суммарная антиоксидантная активность слезной жидкости (СААСЖ), а, именно, способность слезной

жидкости угнетать образование свободных радикалов в каком-либо субстрате. Для определения суммарной антиокислительной активности слезной жидкости используют модельные системы, в которых генерируются свободные радикалы. Торможение процессов СРО в слезной жидкости оценивается либо спектро-фотометрически, либо хемилюминесценцией (ХЛ). Наиболее информативны хемилюминесцентные методы, позволяющие непосредственно контролировать за кинетикой окисления.

В литературе имеются сведения об использовании для исследования процессов СРО в слезной жидкости модельных систем, генерирующих активные формы кислорода - модели ксантин-ксантинооксидаза и гемоглобин-перекись водорода-люминол. Недостатком первой модельной системы является рН реакционной среды, равной 8,1, в то время, как рН слезной жидкости составляет 7,0-7,5. В модельной системе гемоглобин-перекись водорода-люминол применяются коммерчески дорогостоящие нестабильные реактивы, которые необходимо готовить непосредственно перед каждым исследованием. Это снижает достоверность полученных результатов и увеличивает время выполнения анализа. Поэтому *целью настоящего исследования* стала применение способа определения и оценки суммарной антиокислительной активности слезной жидкости (СААСЖ) методом регистрации люминол-зависимой ХЛ, а также в плазме крови и слюне у рабо-чих ОАО «Каучук» Республики Башкортостан.

**Материал и методы исследования.** У 180 работников ОАО «Каучук» (г. Стерлитамак), из числа которых 75 женщин и 23 мужчин, подвергшиеся в процессе производства комбинированному действию (смесь бензина-растворителя марки БР-1 с хлорированными углеводородами - хлористый метилен, дихлорэтан-1,2), 53 женщин и 29 мужчин - изолированному действию бензина-растворителя той же марки, явилась кровь, слюнная и слезная жидкость. Обследовано также 93 человека, работников того же производства в возрасте от 18 до 55 лет, находящихся в стационарных условиях, как клинически здоровых (контрольная группа, n=40), так и больных с различной офтальмо-патологией (n=93): катарактой (n=39), глаукомой III стадией (n=18), увеитом (n=36).

Кровь из вены и слюну в количестве 10 мл отбирали утром натощак. Плазму готовили, используя в качестве антикоагулянта цитрат натрия (5 мг/мл). Полученную плазму хранили при температуре +4 °С не более 8 часов. Форменные элементы осаждали центрифугированием. Перед измерением антиокислительной активности 0,5 мл пробы раз-водили в 18,5 мл солевого раствора следующего содержания: 20 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 105 мМ  $\text{KCl}$ , рН-7,45, индуцировали добавлением 1 мл  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , оптимальная концентрация, которого составила 2,5 мМ в среде инкубации.

Слюну собирали путём сплёвывания в чистый

стакан в течение 10 минут, предварительно прополоскав рот тёплой, кипяченой водой. Для удаления клеток центрифугировали. Слюна содержит липиды, антиоксидантные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза), витамины (А,С,Е), биологически активные вещества (адреналин, серотонин, гистамин, стероиды и др.).

Слезную жидкость (СЖ), стимулированную вдыханием паров 10% нашатырного спирта в объёме 0,15 мл забирали канюлей из слезного озера и нижнего конъюнктивального свода, не касаясь конъюнктивы и роговицы, утром после пробуждения больного, чтобы исключить влияние на состав СЖ гигиенических процедур, а также различных физических и психоэмоциональных факторов. Полученную СЖ помещали в центрифужную пробирку и центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 мин. Слезная жидкость разделялась на две видимые фракции - надосадочную жидкость (супернатант) и осадок.

Исследования свободно-радикальных реакций в плазме крови, слюнной и слезной жидкости проводили методом регистрации ХЛ. Метод основан на детекции сверхслабого свечения, возникающего при генерации свободных радикалов - активных форм кислорода в модельной системе цитрат-фосфатлюминол при добавлении инициатора ( $\text{Fe}^{+2}$ ) для слезной жидкости, для плазмы крови и слюнной жидкости добавлением соли  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Подавление ХЛ, характеризует суммарную антиокислительную активность как слезной жидкости, так плазмы крови и слюны. ХЛ изучали на приборе ХЛМ-003. Стабильность работы установки проверяли перед каждым измерением по изучению вторичного этанола СФХМ-1 (ГОСТ 9411-81). Интенсивность свечения контроля составляет  $5,1 \cdot 10^5$  квантов/секунду. Для удобства эта величина принималась за одну условную единицу.

Готовили модельную систему, состоящую из фосфатного буфера (20 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 105 мМ  $\text{KCl}$ ) с добавлением цитрата натрия (50 мМ) и люминола ( $10^{-5}$  М). Величину рН доводили до 7,5 титрованием насыщенным раствором КОН. Данная модельная система состоит из стабильных компонентов, поэтому нет необходимости готовить её перед каждым анализом заново, что существенно сокращает время исследования и повышает его достоверность. В термостатируемую кювету хемилюминометра ХЛМ-003 помещали 5,0 мл модельной системы с 0,1 мл физиологического раствора (контроль) или супернатант слезной жидкости, плазмы крови и слюны в том же объёме (опыт). При постоянном перемешивании реакционной смеси вводили активатор окисления - 1,0 мл 10 мМ сернокислого железа. Определяли величину спонтанного свечения, интенсивность быстрой вспышки в момент добавления инициатора, длительность латентного периода, крутизну нарастания медленной вспышки, амплитуду медленной вспышки. В дальнейшем учитывали светосумму излучения, как наиболее информативный

интегральный показатель, отражающий квантовый выход произошедших в модельной системе свободно-радикальных реакций. Её значения регистрировали за 5 мин измерения, учитывая, что:

- спонтанное свечение определяет скорость СРО без внешнего вмешательства;
- быстрая вспышка возникает в момент добавления инициатора окисления. Амплитуда вспышки прямо пропорциональна содержанию перекисных продуктов;
- период индукции или латентный период характеризует антиокислительные свойства;
- крутизна нарастания медленной вспышки определяется скоростью инициирования свободно-радикальным окислением;
- максимальная амплитуда медленной вспышки и светосумма свечения характеризуют способность биологического материала подвергаться окислению. Начало медленной вспышки совпадает с моментом, когда в среде инкубации начинают накапливаться гидроперекиси липидов. Образуются перекисные радикалы, рекомбинация которых сопровождается свечением. Выравнивание скорости образования и распада гидроперекисей становится причиной перехода медленной вспышки в стационарное свечение. Основной характеристикой изучаемого процесса служила светосумма свечения, которая является интегральным показателем. Она увеличивается при ускорении СРО, снижения уровня антиоксидантов и уменьшается при нарушении проницаемости клеточных мембран. Полученные цифровые показатели светосуммы ХЛ выражали в процентах от контроля, что характеризует суммарную антиокислительную активность супернатанта слёзной жидкости, плазмы крови и слюны. Весь процесс измерения ХЛ проводилась автоматически, полученные данные обрабатывались специальной компьютерной программой, фиксировалась в цифрах

и графически на экране монитора.

**Результаты и обсуждение.** Интенсивность спонтанного свечения плазмы крови у лиц, подвергшихся воздействию паров бензина в 1-й подгруппе выше на 19%, чем исходное значение, во 2-й подгруппе она составляет 155%, а в 3-й - соответственно 241%. Светосумма свечения в этих подгруппах возрастает в 1,3-3,1 раза. Быстрая вспышка во 2-й подгруппе составляет 127%, а в 3-й - 163% по сравнению с контрольной, в то время как в 1-й подгруппе амплитуда быстрой вспышки не меняется. Увеличение уровня максимальной амплитуды медленной вспышки отмечается во 2-й подгруппе и достигает до 149% по отношению контролю в 3-й подгруппе. У лиц, подвергшихся комбинированному действию смеси бензина с хлорированными углеводородами, интенсивность спонтанного свечения плазмы крови во 2-й и 3-й подгруппах статистически значимо превышает исходное значение, а светосумма излучения усиливается соответственно в 2,0-3,8 раза. Амплитуда быстрой вспышки и максимальная амплитуда медленной вспышки в этих подгруппах возрастает в 1,4-2,9 раза по сравнению с контрольной группой. Усиление интенсивности спонтанного свечения слюны выявляется уже в 1-й подгруппе у лиц, контактирующих с парами бензина, а во 2-й подгруппе она увеличивается на 45%, в 3-й - на 125% по сравнению с нормой. Светосумма излучения возрастает в этих подгруппах на 26-166%, амплитуда быстрой вспышки и максимальная амплитуда медленной вспышки превышает исходный уровень соответственно в 1,2-1,5 раза, а латентный период снижается до 85% и 78%. В то же время у лиц, подвергшихся комбинированному действию загрязнителей, интенсивность спонтанного свечения и светосумма излучения слюны статистически значимо увеличивается, а амплитуда быстрой вспышки и максимальная амплитуда медленной вспышки резко возрастает (рис. 1).

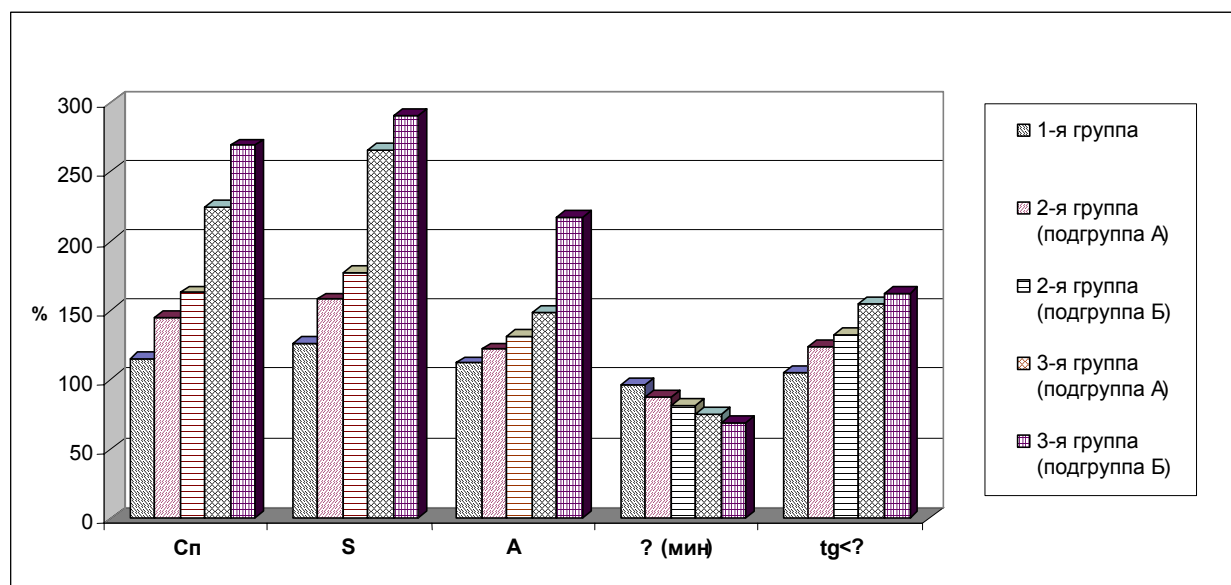


Рис. 1. Изменение характера ХЛ слюны у обследованных лиц.

Данные СААСЖ при различных заболеваниях органа зрения показывают, что светосумма ХЛ при глаукоме составила 67,2% от контроля, при катаракте - 58,5%. Угнетение ХЛ было минимально при увеитах. В процессе лечения 19 больных с увеитом способность СЖ подавлять ХЛ модельной системы возрастала и к моменту клинического выздоровления и выписки из стационара её показатели приближались к значениям СААСЖ здоровых. Исследование СААСЖ как интегрального показателя состояния процессов СРО в тканях глаза может иметь диагностическое и прогностическое значение в оценке патологических процессов, развивающихся в органе зрения. Применение предложенного способа оценки СААСЖ в корреляции с клиническими данными позволяет обосновано и дифференцированно применять антиоксиданты в лечении пациентов с различными заболеваниями органа зрения, осуществлять контроль его эффективности. Исследование неинвазивно, не требует больших материальных затрат, просто в выполнении, что даёт основания рекомендовать широко использовать в клинической практике определение СААСЖ в качестве экспресс-теста, позволяющего судить об уровне СРО в тканях глаза.

Основным достоинством предложенной модельной системы является стабильность приготовления реактивов, что повышает точность и достоверность исследования, сокращает время его выполнения.

Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д.,  
Ибрагимов Р.И.

**ПОДАВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ  
ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ЛИЧИНОК  
КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ИНГИБИТОРАМИ ИЗ  
РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ**

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный  
университет», г.Уфа*

Гидролитическим ферментам и их ингибиторам принадлежит важная роль во взаимоотношениях фитофагов и растений. Уровень активности, молекулярной гетерогенности гидролитических ферментов гетеротрофных организмов и их ингибиторов в тканях растений может рассматриваться как результат сопряженной эволюции растений и организмов-фитофагов [1; 2]. В процессе коэволюции с растениями, насекомые-фитофаги сформировали набор пищеварительных гидролаз, обеспечивающих усвоение питательных веществ из определенных видов растений, их отдельных органов, тканей [3].

Можно предположить, что поддержание свойств, обеспечивающих устойчивость растений, происходило за счет усложнения или повышения активности комплекса ингибиторов, подавляющих активность гидролитических ферментов. Значительные генетически обусловленные различия в содержании

ингибиторов ферментов указывают на целесообразность поиска связей этого показателя с устойчивостью растений к патогенным микроорганизмам и вредным насекомым - фитофагам.

Яркий пример специализации и адаптивности ферментативной системы к пищевым субстратам проявляется у колорадского жука. Как известно, растениями картофеля питаются и взрослые насекомые (имаго), и личинки, но наибольший вред картофельным посадкам наносят личинки. Установлено, что личинки колорадского жука за 2 недели уничтожают до 45 % листовой поверхности растений [4].

В настоящей работе были исследованы протеиназы и амилазы личинок колорадского жука и их ингибиторы из тканей картофеля.

Наши эксперименты показали, что протеолитические ферменты личинок обладают широкой субстратной специфичностью. Они проявляют активность по отношению к синтетическому субстрату БАПНА и белковым субстратам различного происхождения - казеину, гемоглобину, желатине, яичному белку. Особенно активно эти ферменты действовали на желатин, гемоглобин, яичный белок. Активность протеиназ личинок по отношению к этим субстратам определяется на уровне, сопоставимом с активностью высокоочищенных коммерческих препаратов протеиназ. Расчеты показывают, что 1 г тканей личинок содержат активность, эквивалентную 2,3 и 2,7 мг коммерческих препаратов трипсина и проназы, соответственно.

Растения картофеля характеризуются высоким содержанием в тканях ингибиторов протеолитических ферментов. Большая часть экспериментальных работ посвящено изучению белков, подавляющих активность трипсина и химотрипсина [5]. Мы измерили уровень активности белков, подавляющих действие протеиназ личинок колорадского жука, а также протеиназ актиномицетов (проназы Е) в различных органах картофеля. Наибольшая активность этих белков определяется в стеблях картофеля. Так, показатель удельной активности ингибиторов протеиназы личинок колорадского жука в стеблях картофеля изученных сортов изменяется от 2,4 до 4,3 мИЕ/мг белка. Белки картофеля в различной степени подавляют активность проназы Е и протеиназ колорадского жука (рис.1). В целом, уровень активности ингибиторов проназы Е в клубнях, проростках, листьях картофеля значительно выше, чем уровень ингибиторов протеиназ личинок насекомых. Стебли картофеля, напротив, характеризуются относительно более высокой активностью ингибиторов протеиназ личинок, чем ингибиторов проназы Е. Видно также, что высокая активность ингибиторов проназы Е характерна для этиолированных проростков и клубней картофеля. В стеблях и листьях активность этих ингибиторов наоборот, низкая, а активность ингибиторов протеиназ личинок относительно высокая.



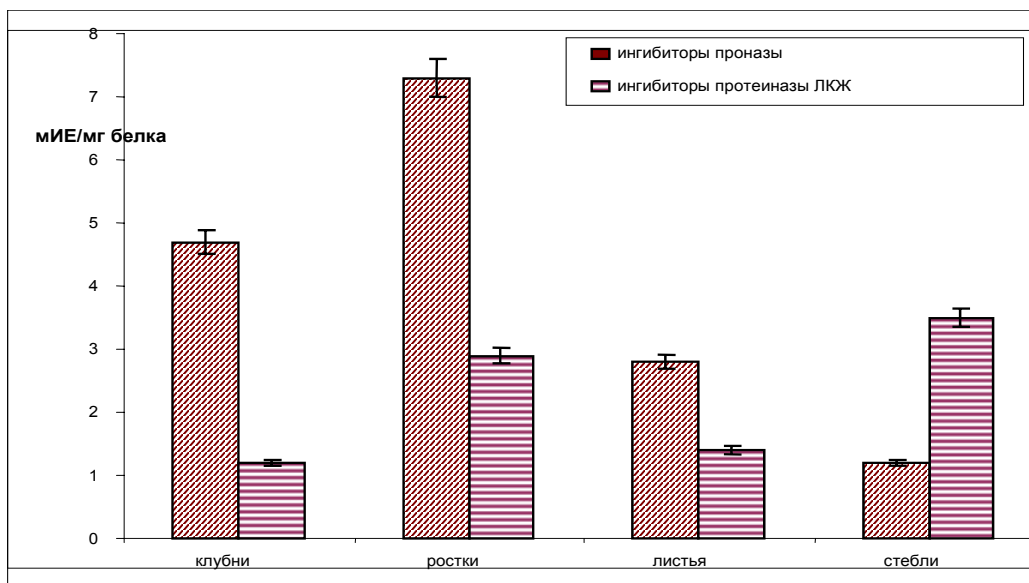


Рис.1. Активность ингибиторов проназы Е и протеиназы личинок колорадского жука из вегетативных органов картофеля (средние арифметические данные по пяти исследованным сортам).

Таблица 1

Активность ингибиторов протеиназ (проназы Е, протеиназ личинок колорадского жука) в органах растений - представителей различных таксонов

Вид растения	Орган растения	Ингибиторы			
		проназы Е		протеиназы ЛКЖ	
		ИЕ/г массы	ИЕ/мг белка	ИЕ/г массы	ИЕ/мг белка
Семейство Пасленовые					
Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	лист	1,2±0,09	4,6±0,36	0,54±0,03	2,1±0,17
	плод	0	0	0,73*	8,1*
Баклажан ( <i>Solanum melongena</i> )	лист	1,4±0,12	6,1±0,45	0,22±0,011	0,96±0,05
Физалис ( <i>Physalis sp.</i> )	лист	0,36±0,01	1,6±0,09	0	0
Картофель ( <i>Solanum tuberosum</i> )	лист	0,74±0,05	2,8±0,18	0,3±0,019	1,12±0,07
	проросток клубня	0,8±0,03	7,3±0,51	0,3±0,015	2,9±0,22
	стебель	0,74±0,03	2,8±0,12	0,45±0,03	3,5±0,24
	клубень	1,08±0,09	4,7±0,41	0,27±0,02	1,2±0,09
	цветок	0,8±0,03	4,7±0,39	0,28±0,02	1,65±0,06
Другие семейства					
Одуванчик ( <i>Taraxacum sp.</i> )	лист	1,5±0,21	8,8±0,65	0,36±0,02	3,2±0,15
Тополь ( <i>Populus nigra L.</i> )	лист	0	0	0,24±0,01	0,92±0,03
Люцерна ( <i>Medicago sativa</i> )	лист	0	0	0,73*	4,6*
Морковь ( <i>Daucus carota</i> )	корнеплод	0	0	0,73*	4,5*
STI (ком-препарат)	проростки	3,3*	3,3*	0,73*	0,73*

Эти факты позволяют предположить, что в процессе роста и развития растений, имеет место последовательный синтез различных ингибиторов, отличающихся по специфичности действия, мишенью которых являются ферменты представителей разных групп организмов-фитофагов. Как известно, клубни и молодые проростки более подвержены действию гидролаз микроорганизмов (грибов, бактерий), для вегетирующих растений картофеля главную опасность \*-полное подавление активности протеиназы.

Уровень активности ингибиторов этих протеиназ у изученных видов подвержен значительным колебаниям. При этом, активность ингибиторов в тканях разных органов одних и тех же растений, также существенно различается. Так, в листьях томатов активность ингибиторов проназы высокая, а в плодах такая активность совсем не обнаруживается. Ингибиторы проназы Е отсутствуют также в корнеплодах моркови, в листьях тополя и люцерны. При анализе данных таблицы прослеживается определенная закономерность: между активностью ингибиторов проназы Е и активностью ингибиторов протеиназ личинок колорадского жука в растительных объектах обратно пропорциональная связь. Так, растения семейства пасленовых, неустойчивые к колорадскому жуку, обладают высоким содержанием белков - ингибиторов проназы Е, и напротив, сниженной, по сравнению с растениями из других семейств, уровнем активности ингибиторов протеиназ личинок жука. Белки из плодов томата и корнеплодов моркови хорошо подавляют активность протеиназ насекомых, но уровень антипроназной активности в них равна нулю. Можно предположить, низкая активность или отсутствие ингибиторов ферментов микроорганизмов в тканях, является одним из факторов низкой устойчивости растительных объектов к грибным и бактериальным поражениям

#### Литература

1. Harborne J.V. Biochemical aspects of plants and animal evolution // *New Phytologist*. -1979.-V.83. № 2. P. 601-602.
2. Конарев Ал.В. Системы ингибиторов гидролаз у злаков - организация, функции и эволюционная изменчивость // Автореф. дисс. докт. биол. наук. - М.: 1992.- 38 с.
3. Дунаевский Я.Е., Белозерский М.А. Эндогенные ингибиторы протеаз как фактор устойчивости растений // *Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку*.- М. Наука, 2000.- С.119-123
4. Теняев А.В. Вредоносность колорадского жука на территории Рязанской области // *Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку*. – М.: Наука. 2000. 224 с. Серия «Генетическая инженерия и экология». Том 1. – С.10-11.
5. Ryan C. A. Protease inhibitors in plants: Genes for improving defenses against insects and pathogens // *Ann. Rev. Phytopathol.*-1990.- № 28. P. 425-449.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<i>Ректор Кировской ГМА, академик РАЕН, профессор И. В. ШЕШУНОВ</i> <b>КИРОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ: ТРАДИЦИИ, ДОСТИЖЕНИЯ, СТРАТЕГИЯ БУДУЩЕГО</b> .....	4
<b>Раздел 1.</b> <b>ВОПРОСЫ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В ВЫСШЕЙ МЕДИЦИНСКОЙ ШКОЛЕ</b> .....	
<i>Абдуллина Г.М., Тимирханова Г.А.</i> ЭЛЕКТИВНЫЙ КУРС «ПРИРОДНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА» .....	6
<i>Башиев И.М., Зубаиров Д.М., Мустафин И.Г.</i> АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ СТУДЕНТОВ-МЕДИКОВ .....	7
<i>Барсуков А.К., Бохан А.Н., Бунтов С.Д., Бурлаков А.И., Васильев Р.Г.*, Желтышев Е.Н., Касимов Ф.М., Климова В.И., Кожевникова О.В., Кузнецов А.И., Нестерова О.Ю., Федорова А.А., Храмов В.А., Шелехов Д.И.</i> УПРАВЛЕНИЕ И (САМО)УПРАВЛЕНИЕ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ НАУКОЕМКИХ ИННОВАЦИОННО- ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЦИКЛОВ: ОБРАЗОВАТЕЛЬНО-ВОСПИТАТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ .....	9
<i>Боровкова Г.И., Титова Н.М., Савченко А.А.</i> ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАПРАВЛЕНИЙ В КОНТЕКСТЕ БОЛОНСКОГО ПРОЦЕССА .....	12
<i>Высокогорский В.Е., Индутный А.В., Лопухов Г.А.</i> НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ .....	14
<i>Давыдов В.С., Давыдов С.В., Байкеев Р.Ф., Мустафин И.Г., Зубаиров Д.М., Башиев И.М., Пазюк Е.А., Сафина Н.А., Свинтёнок Г.Ю., Субханкулова Ф.Б.</i> ВАРИАНТЫ РАСЧЁТА РЕЙТИНГА ДИСЦИПЛИНЫ СТУДЕНТА .....	15
<i>Ерлыкина Е.И., Семенова Т.С., Рубанова Н.А., Якобсон Л.И.</i> НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕСТИРОВАНИЮ СТУДЕНТОВ ПО БИОХИМИИ .....	17
<i>Каминская Л.А., Мещанинов В.Н.</i> БИОХИМИЯ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧА-СТОМАТОЛОГА: ПРОФИЛЬНОЕ ОБУЧЕНИЕ И ЛЕКЦИИ-ПРЕЗЕНТАЦИИ .....	19
<i>Каминская Л.А., Мещанинов В.Н.</i> БИОХИМИЯ В ВЫСШЕМ СЕСТРИНСКОМ ОБРАЗОВАНИИ .....	20
<i>Кулагина И.Г., Камбаров Ф.Х., Тимирханова Г.А.</i> ПРИРОДНЫЕ ПОЛИНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И АНТИОКСИДАНТЫ В ЭЛЕКТИВНОЙ ЛЕКЦИИ ПО КУРСУ «БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ» .....	23
<i>Терёхина Н.А., Реук С.Э.</i> КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧЕЙ-ИНТЕРНОВ .....	24
<i>Терёхина Н.А., Поносов В.Л., Боровик Г.А., Созинова Г.М.</i> ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ НА КАФЕДРЕ БИОХИМИИ .....	26
<i>Тимебаев В.Н., Киселев С.В.</i> ЗНАЧЕНИЕ ХИМИИ В ФОРМИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКОГО МЫШЛЕНИЯ .....	27
<i>Цапок П.И., Симкина Т.В., Еликов А.В., Коршунова Т.Ю., Смольникова В.И.</i> КАФЕДРА БИОХИМИИ КИРОВСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ .....	29
<i>Чернов Н.Н.</i> ЧТО ОСТАЕТСЯ ЗА РАМКАМИ ПРЕПОДАВАНИЯ БИОХИМИИ? .....	32
<b>Раздел 2.</b> <b>БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА</b> .....	
<i>Акбашева О.Е., Учасова Е.Г., Овчинникова Т.С., Черногорюк Г.Э.</i> АКТИВНОСТЬ СИСТЕМЫ «ПРОТЕИНАЗЫ – ИНГИБИТОРЫ» И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ .....	33
<i>Акбашева О.Е., Деханд А.Е., Преймачук Е.А., Бурковская В.А.</i> АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ, ИНГИБИТОРОВ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И БИОПТАТЕ КИШЕЧНИКА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА .....	33

<i>Акбашиева О.Е., Белобородова Е.В., Чежина Н.П.</i> СИСТЕМА ПРОТЕИНАЗЫ-ИНГИБИТОРЫ И СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОКСИПРОЛИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ФИБРОЗЕ .....	34
<i>Акимов П.А., Терёхина Н.А.</i> СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗЫ В СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ ГЛАЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ .....	35
<i>Байгильдина А.А.</i> АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕНИНА ПРИ ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ СПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ .....	36
<i>Булгакова В. С., Высокогорский В. Е.</i> УГЛЕВОД-БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ В ПЕЧЕНИ И ПЛАЗМЕ КРОВИ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА .....	38
<i>Быкова М.В.<sup>1</sup>, Титова Н.М.<sup>1</sup>, Маркова Е.В.<sup>2</sup>, Светлаков А.В.<sup>2</sup></i> ГЛУТАТИОН И ГЛУТАТИОНЗАВИСИМЫЕ ФЕРМЕНТЫ В СПЕРМАТОЗОИДАХ И СЕМЕННОЙ ПЛАЗМЕ МУЖЧИН ПРИ ПАТОСПЕРМИИ .....	41
<i>Вавилова Т.П., Орехов Д.Ю., Пушкина А.В., Курбатов С.М.</i> ВЛИЯНИЕ КИСЛЫХ ОПОЛАСКИВАТЕЛЕЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ У ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ПРОГРАММНЫЙ ГЕМОДИАЛИЗ .....	43
<i>Гирина Л.В., Никоноров А.А.</i> ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛИПОПРОТЕИДОВ КРОВИ ПРИ АТЕРОГЕННЫХ ДИСЛИПИДЕМИЯХ .....	44
<i>Глыбочко П.В., Понукалин А.Н., Захарова Н.Б., Шахпазян К.Н., Слюзова О.В, Михайлов В.Ю.</i> ЗНАЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ЦИТОКИНОВОГО СОСТАВА МОНОНУКЛЕАРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТАДИИ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ .....	46
<i>Захарова Н.Б., Гладилин Г.П., Авдиенко И.В., Кузьмин И.С.</i> Циклы тематического усовершенствования «ИФА В ПРАКТИКЕ РАБОТЫ КЛИНИКО- ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА» .....	47
<i>Зиннатов Ф.Ф., Гибадулина И.Р., Хазипов Н.З., Тюрикова Р.П., Камалов Б.В.</i> ДЕТЕКЦИЯ И ТИПИЗАЦИЯ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА .....	48
<i>Иванов М.В., Воскресенская О.Н., Захарова Н.Б., Никитина В.В., Слюзова О.В.</i> К ВОПРОСУ О РОЛИ МАРКЕРОВ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ АЛЬТЕРАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА .....	50
<i>Каминская Л. А., Данилова И.Г., Гетте И.Ф.</i> БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ И ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ .....	52
<i>Клюева О.В., Слесаренко Н.А., Захарова Н.Б., Утц С.Р.</i> ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ПСОРИАТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА .....	53
<i>Князева О.А.</i> КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ С3 КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА ПРИ ИНКУБАЦИИ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И «ГРУППЫ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА» .....	54
<i>Капулер О.М., Сарварова Н.З., Камилев Ф.Х.</i> ГЛУТАТИОНОВЫЙ И АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ .....	56
<i>Коксин В.П., Мустафин И.Г., Бойчук С.В. *, Цибулькин А.П. **</i> ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА ВИРУСНЫХ БЕЛКОВ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ В ПЕРИОД РЕПРОДУКЦИИ NL4-3 ШТАММА ВИЧ-1 (NEF+, NEF-) В ПЕРВИЧНОЙ ФА-АКТИВИРОВАННОЙ КУЛЬТУРЕ ЛИМФАЦИТОВ ЗДОРОВОГО ДОНОРА, ИНФИЦИРОВАННОЙ IN VITRO ВИЧ .....	58
<i>Лавров О.В., Колеватых Е.П., Опалева С.И.</i> ЗНАЧЕНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В РАЗВИТИИ ИММУНО-ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ И СТРЕССА .....	60
<i>Магомедов М.А., Гуляева С.Ф., Стицын А.П., Царёв Ю.К.</i> ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ТРЕНИРОВОК НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ИБС, ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ОСТРОГО КОРОНАРНОГО ОСЛОЖНЕНИЯ .....	62

<i>Плаксина А.Г., Чернышев А.К., Высокогорский В.Е.</i>	
ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ПРОТЕОГЛИКАНОВ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА .....	63
<i>Походенько-Чудакова И.О., Шевела Т.Л., Оганова Е.Г.</i>	
УРОВЕНЬ СОДЕРЖАНИЯ ИОНОВ Ca <sup>2+</sup> В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ .....	65
<i>Радомская В.М., Кузнецова О.Ю., Дукович Е.В., Бабичев А.В., Кизирова О.А.</i>	
ГРУППЫ КРОВИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ И ДОНОЗОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ .....	66
<i>Реук С.Э., Терёхина Н.А.</i>	
ОСТРОФАЗОВЫЕ БЕЛКИ СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ ДЕТЕЙ ПРИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ .....	67
<i>Сухоруков В.П.*, Попов Д.В.**</i>	
ВОЗМОЖНОСТИ РУТИННОГО БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ В ПРАКТИКЕ ОТДЕЛЕНИЯ НЕЙРОРЕАНИМАЦИИ .....	68
<i>Сухоруков Ю.В., Сведенцов Е.П., Докишина И.А.</i>	
ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ (ЦИК) И ПАРАМЕТРЫ ЕСТЕСТВЕННОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКОМ ВЫЗДОРОВЛЕНИИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛЕЙКОЗОМ .....	69
<i>Терёхина Н.А., Владимиров А.А., Заривчацкий М.Ф.</i>	
БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗОНОТЕРАПИИ ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ХОЛЕЦИСТИТЕ .....	70
<i>Терёхина Н.А., Заривчацкий М.Ф., Солдатенко Н.В.</i>	
НОВЫЙ СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ .....	72
<i>Царькова Л.А.</i>	
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ОСТРЫХ АЛКОГОЛЬНЫХ ПАНКРЕАТИТАХ .....	74
<i>Шараев П.Н., Парулава Н.Ш., Хобта Ю.В., Кошикова С.В.</i>	
ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ГИДРОЛАЗ В СПЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМЕ У МУЖЧИН С БЕСПЛОДИЕМ .....	75
<i>Шешунова М.Г., Кудрявцев В.А., Еликова Е.П., Цапок П.И., Чупраков П.Г., Шилов О.И.</i>	
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ ПРИ ФОТОТЕРАПИИ СИНИМ СВЕТОМ СЕЗОННЫХ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ .....	76
<i>Эпштейн А.М.</i>	
УРОВЕНЬ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ИЗОНИАЗИДА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛ'ЗОМ ЛЕГКИХ, НАХОДЯЩИХСЯ В ПИНАТЕНЦИАРНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ .....	78
<i>Якупов Т.Р., Хазипов Н.З., Коксин В.П.*</i>	
ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИТЕЛ ПРОТИВ ВЛКРС В ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ С АНТИГЕНАМИ ВИЧ. ....	79
<b>Раздел 3.</b>	
<b>БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ И ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ</b>	
<i>Александрова О.И.</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ ЗООТОКСИНОВ В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ БАРОМЕТРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ .....	81
<i>Афонина С.Н., Бовбас Е.И., Угольников Т.В.</i>	
ВЛИЯНИЕ АДАПТАЦИИ К БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА СОСТОЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ С ВЕГЕТО-СОСУДИСТОЙ ДИСТОНИЕЙ .....	83
<i>Бондаренко А.Л., Цапок П.И., Любезнова О.Н.</i>	
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛАЙМ-БОРРЕЛИОЗОМ .....	83
<i>Бондаренко А.Л., Савиных М.В., Костяев А.А., Ежова Н.Л.</i>	
СПЕЦИФИКА ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ В+С .....	85
<i>Вавилова Т.П., Китаев В.А., Пушкина А.В., Шишкин С.В.</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В КОСТНОЙ ТКАНИ ВЕРХНЕЙ И НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТЕЙ .....	87
<i>Вострикова Н.Ю*, В.П.Сухоруков **, Е.Р.Бойко***</i>	
ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ РЕАМБЕРИНОМ, КАК ФАКТОР ПРЕДОТВРАЩАЮЩИЙ ПЕРЕХОД ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА В ПАНКРЕОНЕКРОЗ .....	88
<i>Гильмиярова Ф.Н., Гусякова О.А., Зубова И.В., Гергель Н.И., Виноградова Л.Н., Мякишева Ю.В.</i>	
ГРУППЫ КРОВИ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ 90	

<i>Голощанов А.П., Камиров Ф.Х.</i> БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦИТОПАТОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ЭКОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ .....	91
<i>Гунбина Л.И., Иванов С.В., Сухоруков В.П.</i> СОВРЕМЕННЫЙ ЭНЕРГОПРОТЕКТОР РЕАМБЕРИН В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С «СИНДРОМОМ ИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ» .....	94
<i>Еликов А.В., Цапок П.И.</i> СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ЭРИТРОЦИТАХ У СПОРТСМЕНОВ .....	95
<i>Еликова Е.П., Цапок П.И.</i> КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ ПРИ ПОЗДНИХ ДЕПРЕССИЯХ У ЖЕНЩИН .....	96
<i>Жаворонок Т.В., Петина Г.В., Стариков Ю.В., Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Агеева Т.С.</i> УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ И ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ <i>IN VITRO</i> .....	98
<i>Желтышев Е.Н., Барсуков А.К.</i> ПОЛУЧЕНИЕ FAV- И FC-ФРАГМЕНТОВ ПОДКЛАССОВ IGG БЫКА .....	100
<i>Зорин М.Г., Терёхин Г.А., Решетников В.И.</i> АДСОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА И АНТИТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САПРОПЕЛЯ .....	101
<i>Камакин Н.Ф., Колодкина Е.В.</i> ТРОФОСИСТЕМЫ И ИХ ФЕРМЕНТНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ .....	102
<i>Каменских Т.Г., Захарова Н.Б., Андрейченко О.А., Никитина В.В., Слюзова О.В., Лашкова В.Л.</i> ИММУНОПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ .....	103
<i>Камилов Ф.Х., Шакиров Д.Ф.</i> МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ В ОРГАНИЗМЕ У РАБОЧИХ, ПОДВЕРГНУТЫХ КОМПЛЕКСНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ И НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ .....	104
<i>Камилов Р.Ф., Шакиров Д.Ф., Кудрявцев В.П.</i> КИСЛОТНАЯ И ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ .....	106
<i>Камилов Р.Ф.</i> МИТОХОНДРИЙ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАТОХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ, ШИРОКО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ И НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ .....	108
<i>Кориунов Д.А., Хазанов В.А.</i> ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ .....	111
<i>Косых А.А.</i> БИОХИМИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРЫС В НОРМЕ И ПРИ ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ .....	113
<i>Кравченко А.А., Кирилличев А.И., Никоноров А.А.</i> К ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ АНТИОКСИДАНТНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ЦИКЛОХОРИОИДАЛЬНЫХ ОТСЛОЕК У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ АНТИГЛАУКОМАТОЗНЫХ ОПЕРАЦИЙ ..	116
<i>Кудрявцев В.П., Шакирова Э.Д., Абзалов Р.Р., Шакиров Д.Ф.</i> КИСЛОТНЫЕ ЭРИТРОГРАММЫ У ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГНУТЫХ ИНГАЛЯЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ХЛОРИРОВАННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ .....	118
<i>Лебедева Е.Н., Красиков С.И., Лейзерман В.Г., Романов С.В.</i> ВЛИЯНИЕ АДАПТАЦИИ К НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА У ЛИЦ С ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА .....	120
<i>Мазина Н.К., Абрамова Т.В., Вохмянина Т.Г., Ефимова М.О., Зуев О.В., Хазанов В.А.</i> ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭНЕРГОПРОТЕКЦИИ ПРЕПАРАТОМ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ОФТАЛЬМОПАТОЛОГИИ .....	122
<i>Мазина Н.К., Карпова Е.М., Цапок П.И., Косых А.А., Новичков Е.В., Хоробрых В.Г., Караваев С.А., Караваева А.В., Чигарских А.С., Мазин Н.В., Новоселова О.Г., Хуришкainen Т.В., Чукичева И.Ю., Кучин А.В., Шешунов И.В.</i> СКРИНИНГ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПО СОСТОЯНИЮ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНИЗМЕ .....	124

<i>Меньшикова И.А., Щепанский В.О., Рамазанова Л.М.</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИАКАЛЬЦИКА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛИРОВАННОГО ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ОСТЕОПОРОЗА .....	125
<i>Меньшикова И.А., Рамазанова Л.М., Бикметова Э.Р., Щепанский В.О., Нуретдинова Э.У.</i>	
ВЛИЯНИЕ БИВАЛОСА НА МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ .....	127
<i>Мирсаева А.Р.</i>	
ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ .....	129
<i>Никоноров А.А., Гирина Л.В.</i>	
К ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ АПОПРОТЕИНОВ КРОВИ У ЛИЦ С ДИСЛИПОПРОТЕИДЕМИЯМИ АДАПТАЦИЕЙ К ДЕЙСТВИЮ ПГГ .....	131
<i>Немцов Б.Ф., Вязникова О.А.</i>	
ПОКАЗАТЕЛИ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЖЕЛУДКА И ПИЩЕВОДА У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ .....	133
<i>Новикова Л.А., Титова Н.М., Савченко А.А.</i>	
ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛИМФОЦИТОВ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН .....	135
<i>Ноздрунова А.А., Высокогорский В.Е.</i>	
ВЛИЯНИЕ ЖИДКИХ ПРОДУКТОВ ТЕРМОЛИЗА САПРОПЕЛЕЙ НА ПРОЦЕССЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ПОЛНОСЛОЙНОЙ РАНЕ .....	138
<i>Нусратов М.И., Сысаков Д.А., Синицкий Д.А., Саломатова Т.В., Чарная Л.Ф., Маляр К.В., Тимофеева Т.Г.</i>	
ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА И ПИРОГЕНАЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К 2,3,7,8 ТЕТРАХЛОР-Р-БЕНЗДИОКСИНУ .....	140
<i>Петров С.Б., Шешунов И.В., Цапок П.И.</i>	
ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПЫЛИ, ВХОДЯЩЕЙ В СОСТАВ АТМОСФЕРНЫХ ВЫБРОСОВ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА .....	140
<i>Петрова З.В., Коршунов Д.А., Хазанов В.А.</i>	
ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ .....	142
<i>Плаксина А.Г., Высокогорский В.Е., Чернышев А.К.</i>	
ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИЗМА ПРОТЕОГЛИКАНОВ В ДИНАМИКЕ ПРИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА .....	144
<i>Н.З. Сарварова, И.Г. Кулагина, Г.В. Иванова</i>	
ОКСИД АЗОТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ КАК ФАКТОРЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ПСОРИАЗЕ .....	146
<i>Сергеева Е.Ю., Титова Н.М., Щербинина А.С., Сергеев Н.В.</i>	
РЕАКЦИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ МЫШЕЙ С АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМОЙ ЭРЛИХА НА ДЕЙСТВИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ПОСТОЯННОГО И НИЗКОЧАСТОТНОГО ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ .....	147
<i>Соцкова В.А., Романова Т.С., Иванова Е.Н.</i>	
ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЗАВИСИМЫЕ ОТКЛОНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ .....	150
<i>Соцкова В.А., Даминова Ф.Т., Иванова Г.В., Мурзабулатова И.Х.</i>	
ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ У ДЕТЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ .....	152
<i>Суханова Г.А., Романова Н.В., Спирина Л.В.</i>	
КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВАЯ И РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВАЯ СИСТЕМЫ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ .....	154
<i>Сухоруков В.П., Булдаков А.В., Цапок П.И., Караваяев С.А., Мазина Н.К.</i>	
ИНФУЗИОННЫЙ ПРЕПАРАТ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ РЕАМБЕРИН В ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ ПЕЧЕНИ .....	156
<i>Тимирханова Г.А., Абдуллина Г.М., Кулагина И.Г.</i>	
ВИТАМИН С: КЛАССИЧЕСКИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ И НОВЫЕ ФАКТЫ О МЕХАНИЗМАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ .....	158
<i>Тукмачев А.Г., Цапок П.И., Загородний Н.В., Шешунов И.В.</i>	
ЛИПИДОГРАММА И ПРОЦЕССЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У ПОСТРАДАВШИХ С ПОВРЕЖДЕНИЕМ СВЯЗОК КОЛЕННОГО СУСТАВА И ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ .....	161

<i>Хлыбова С.В., Циркин В.И., Дворянский С.А., Ежов А.В., Роман В.В.</i>	
СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ И ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ ГЕСТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА .....	164
<i>Цейликман В.Э., Синицкий А.И., Горностаева А.Б., Лавин Е.А., Лантева И.А., Крупицкая Л.И., Цытович А.Л.</i>	
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АДРЕНОМИМЕТИКАМ И СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ СО СНИЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ .....	167
<i>Цейликман О.Б., Борисенков А.В., Бубнов Н.В., Суздальцев А.Л.</i>	
ПСИХОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕТАЛЕЙКИНА И СОДЕРЖАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОДУКТОВ ПОЛ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА .....	168
<i>Шаклеина Н.В., Савельев О.Н., Сухоруков В.П.</i>	
ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РЕАМБЕРИНА ПРИ ИТТ В ПЕРИ- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДАХ У БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА .....	170
<i>Шараев П.Н., Иванов В.Г., Замятин А.Б., Афанасьев С.С., Шкляева Е.В., Гилева О.Г.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ И АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИДАЗ В СТЕНКЕ ЖЕЛУДКА В НОРМЕ И ПРИ СТРЕССОГЕННЫХ ЯЗВАХ .....	170
<i>Щербаков Д.Л., Мещанинов В.Н.</i>	
ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТРИПТОФАНА И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНО-ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТКИ И ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ СТРЕСС – ВОЗДЕЙСТВИИ .....	171
<i>Яновская Е. А.</i>	
АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ СТАБИЛИЗАТОРОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЕЙ В КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ .....	172
<i>Яппаров Р.Н., Сидорчева О.В., Абзалов Р.Р., Шакирова Э.Д.</i>	
ВЛИЯНИЕ НЕГАТИВНЫХ ФАКТОРОВ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ НА ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ, СЛЮНЫ И МОЧИ У РАБОЧИХ .....	173
<b>Раздел 4.</b>	
<b>ОБЩИЕ ВОПРОСЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОХИМИИ</b>	
<i>Захарова Н.Б., Гладилин Г.П., Авдиенко И.В., Кориунов Г.В.</i>	
ПЕРВЫЕ ИТОГИ РЕАЛИЗАЦИИ НАЦИОНАЛЬНОГО ПРОЕКТА “ЗДОРОВЬЕ” В САРАТОВЕ НА УРОВНЕ АМБУЛАТОРНО-ПОЛИКЛИНИЧЕСКОГО ЗВЕНА .....	177
<i>Зубаилов Д.М., Мустафин И.Г.</i>	
75-ЛЕТИЕ ОТКРЫТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В А. ЭНГЕЛЬГАРДТОМ В КАЗАНИ .....	178
<i>Кудрявцев В.А., Галкин А.А., Цапок П.И., Кудрявцева Ю.В.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ В СПЕКТРАЛЬНОМ ИНТЕРВАЛЕ 190 – 255 НМ ПРИ ОЗОНИРОВАНИИ ВОДЫ И РАСТВОРОВ ХЛОРИДА НАТРИЯ .....	180
<i>Кудрявцев В.А., Галкин А.А., Цапок П.И., Кудрявцева Ю.В., Шилов О.И.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ОЗОНИРОВАННЫХ РАСТВОРОВ ХЛОРИДА НАТРИЯ В СПЕКТРАЛЬНОМ ИНТЕРВАЛЕ 255 - 300 НМ .....	185
<i>Кузнецов В.Ф., Кулемин Л.М., Бондаренко В.М.</i>	
ФЕРМЕНТИРОВАННЫЕ ПИЩЕВЫЕ ВОЛОКНА И КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КАК КОМПОНЕНТЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ .....	188
<i>Лазарева О.Н., Высокогорский В.Е.</i>	
ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ СТЕРИЛИЗОВАННОГО МОЛОКА .....	192
<i>Мазина Н.К.</i>	
СИСТЕМНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ: ФЕНОМЕНОЛОГИЯ И ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ .....	193
<i>Перевалова Ю.В., Цапок П.И., Колеватых Е.П.</i>	
ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ И МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ БИФИДОБАКТЕРИИ И ЛАКТИТ .....	195
<i>Храмов В.А., Барсуков А.К.</i>	
ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА ПОДКЛАССОВ IgG БЫКА (BOS TAURUS) .....	196
<i>Шакиров Д.Ф., Ханов Т.В., Гайсин С.Ж., Камбаров Р.Ф.</i>	
АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СЛЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ПЛАЗМЫ КРОВИ И СЛЮННОЙ ЖИДКОСТИ .....	197
<i>Штирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И.</i>	
ПОДАВЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ИНГИБИТОРАМИ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ .....	200



---



