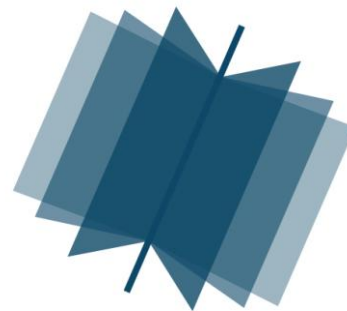


**МЕЖДУНАРОДНЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЖУРНАЛ**

INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL

**ISSN 2303-9868 PRINT
ISSN 2227-6017 ONLINE**

Екатеринбург
2017



Периодический теоретический и научно-практический журнал.
Выходит 12 раз в год.
Учредитель журнала: ИП Соколова М.В.
Главный редактор: Меньшаков А.И.
Адрес редакции: 620075, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская,
д. 4, корп. А, оф. 17.
Электронная почта: editors@research-journal.org
Сайт: www.research-journal.org

**№ 12 (66) 2017
Часть 4
Декабрь**

Подписано в печать 18.12.2017.
Тираж 900 экз.
Заказ 26328.
Отпечатано с готового оригинал-макета.
Отпечатано в типографии ООО "Компания ПОЛИГРАФИСТ",
623701, г. Березовский, ул. Театральная, дом № 1, оф. 88.

Журнал имеет свободный доступ, это означает, что статьи можно читать, загружать, копировать, распространять, печатать и ссылаться на их полные тексты с указанием авторства без каких-либо ограничений. Тип лицензии CC поддерживаемый журналом: Attribution 4.0 International (CC BY 4.0). Журнал входит в международную базу научного цитирования **Agris**.

Номер свидетельства о регистрации в Федеральной Службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций: **ПИ № ФС 77 – 51217**.

Члены редколлегии:

Филологические науки: Растягаев А.В. д-р филол. наук, Сложеникина Ю.В. д-р филол. наук, Штрекер Н.Ю. к.филол.н., Вербицкая О.М. к.филол.н.

Технические науки: Пачурин Г.В. д-р техн. наук, проф., Федорова Е.А. д-р техн. наук, проф., Герасимова Л.Г., д-р техн. наук, Курасов В.С., д-р техн. наук, проф., Оськин С.В., д-р техн. наук, проф.

Педагогические науки: Куликовская И.Э. д-р пед. наук, Сайкина Е.Г. д-р пед. наук, Лукьянова М.И. д-р пед. наук, Ходакова Н.П., д-р пед. наук, проф.

Психологические науки: Розенова М.И., д-р психол. наук, проф., Ивков Н.Н. д-р психол. наук, Каменская В.Г., д-р психол. наук, к. биол. наук

Физико-математические науки: Шамолин М.В. д-р физ.-мат. наук, Глезер А.М. д-р физ.-мат. наук, Свистунов Ю.А., д-р физ.-мат. наук, проф.

Географические науки: Умывакин В.М. д-р геогр. наук, к.техн.н. проф., Брылев В.А. д-р геогр. наук, проф., Огуреева Г.Н., д-р геогр. наук, проф.

Биологические науки: Буланый Ю.П. д-р биол. наук, Аникин В.В., д-р биол. наук, проф., Еськов Е.К., д-р биол. наук, проф., Шеуджен А.Х., д-р биол. наук, проф.

Архитектура: Янковская Ю.С., д-р архитектуры, проф.

Ветеринарные науки: Алиев А.С., д-р ветеринар. наук, проф., Татарникова Н.А., д-р ветеринар. наук, проф.

Медицинские науки: Ураков А.Л., д-р мед. наук, Никольский В.И., д-р мед. наук, проф.

Исторические науки: Меерович М.Г. д-р ист. наук, к.архитектуры, проф., Бакулин В.И., д-р ист. наук, проф., Бердинских В.А., д-р ист. наук, Лёвочкина Н.А., к.ист.наук, к.экон.н.

Культурология: Куценков П.А., д-р культурологии, к.искусствоведения.

Искусствоведение: Куценков П.А., д-р культурологии, к.искусствоведения.

Философские науки: Петров М.А., д-р филос. наук, Бессонов А.В., д-р филос. наук, проф.

Юридические науки: Костенко Р.В., д-р юрид. наук, проф., Мазуренко А.П. д-р юрид. наук, Мещерякова О.М. д-р юрид. наук, Ергашев Е.Р., д-р юрид. наук, проф.

Сельскохозяйственные науки: Важов В.М., д-р с.-х. наук, проф., Раков А.Ю., д-р с.-х. наук, Комлацкий В.И., д-р с.-х. наук, проф., Никитин В.В. д-р с.-х. наук, Наумкин В.П., д-р с.-х. наук, проф.

Социологические науки: Замараева З.П., д-р социол. наук, проф., Солодова Г.С., д-р социол. наук, проф., Кораблева Г.Б., д-р социол. наук.

Химические науки: Абдиев К.Ж., д-р хим. наук, проф., Мельдешов А. д-р хим. наук, Скачилова С.Я., д-р хим. наук

Науки о Земле: Горяинов П.М., д-р геол.-минерал. наук, проф.

Экономические науки: Бурда А.Г., д-р экон. наук, проф., Лёвочкина Н.А., д-р экон. наук, к.ист.н., Ламоттке М.Н., к.экон.н.

Политические науки: Завершинский К.Ф., д-р полит. наук, проф.

Фармацевтические науки: Тринеева О.В. к.фарм.н., Кайшева Н.Ш., д-р фарм. наук, Ерофеева Л.Н., д-р фарм. наук, проф.

ОГЛАВЛЕНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ / BIOLOGY

ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ВАСИЛЕК ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДАГЕСТАНА	6
ВЛИЯНИЕ КОФЕИНА НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ <i>FAGOPYRUM ESCULENTUM</i> M. И <i>LINUM USITATISSIMUM</i> L.	10
ПОЧВЕННАЯ МИКРОФЛОРА В КАЧЕСТВЕ АГЕНТА БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ.....	15
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА.....	18
ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ В ПЕРИОД ОРГАНОГЕНЕЗА ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ НА ОБМЕН ГАМК В СТРУКТУРАХ ЦНС У ТРЕХМЕСЯЧНЫХ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗА	21
МИКРООРГАНИЗМЫ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП В МЕСТОРОЖДЕНИИ МАЛКИНСКИХ ХОЛОДНЫХ УГЛЕКИСЛЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД (КАМЧАТКА, РОССИЯ)	26
КОНСОРТИВНЫЕ СВЯЗИ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО (<i>CLEMATIS VITALBA</i> L., <i>RANUNCULACEAE</i>) С БЕСПОЗВОНОЧНЫМИ ЖИВОТНЫМИ В СТРУКТУРНЫХ ЧАСТЯХ БИОЦЕНОЗОВ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО КАВКАЗА	30
ЭФФЕКТИВНОСТЬ БЛОКОВЫХ ДИЗАЙНОВ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫХ ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	36
POSTURAL BALANCE CHARACTERISTIC IN WOMEN AGED 55-64 YEARS.....	41
ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА ПРИ ТЕРАГЕРЦОВОМ ОБЛУЧЕНИИ КРЫС	45
PROBLEMS IN THE “BROWN BEAR – SALMON – HUMAN” RELATIONSHIP ON THE PACIFIC COAST OF RUSSIA	49
ИНСЕКТОАКАРИЦИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ	52
ПОВЫШЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СОЖ-СОДЕРЖАЩИХ СТОЧНЫХ ВОД ПУТЁМ СТИМУЛЯЦИИ АКТИВНОГО ИЛА ПРЕПАРАТОМ ЭТАФОСФ	57
ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОГО И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ НА ГАЗОВЫЙ СОСТАВ И ГЕМОГЛОБИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ЮНОШЕЙ.....	62
ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ <i>SPONGILLA LACUSTRIS</i> В СИСТЕМЕ БИОМОНИТОРИНГА КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕК ЮЖНОГО УРАЛА.....	66
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОДЕСТРУКТОРОВ В ЦЕЛЯХ ЗАЩИТЫ ОБЪЕКТОВ ТЕХНИКИ	70

ВЕТЕРИНАРНЫЕ НАУКИ / VETERINARY SCIENCE

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ КАРПРОФЕНА НА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ.....	76
ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ ПРИ ТРАВМАХ СЕЛЕЗЕНКИ У СОБАК	79
ОСОБЕННОСТИ БАЙЛИАСКАРИДОЗА ЕНОТА-ПОЛОСКУНА	83
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ И КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ УРОЛИТИАЗА У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ.....	87

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ / MEDICINE

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОК С НАРУШЕНИЕМ ФЕРТИЛЬНОСТИ ЭНДОКРИННОГО ГЕНЕЗА	91
ФЛОТИРУЮЩАЯ ИНТИМА В БАССЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПРЕДИКТОР ОСТРЫХ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ	93
CONCURRENT CHANGES OF <i>CSTB</i> AND <i>ACAP3</i> GENES EXPRESSION IN SYMPTOMATIC EPILEPSY AND PARKINSON'S DISEASE.....	96
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ РАБОЧИХ АСТРАХАНСКОГО ГАЗОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО ЗАВОДА	103
ANTICANCER AND TOXICITY ACTIVITIES OF NEW SYNTHESIZED COMPOUND	107
МУЛЬТИСПИРАЛЬНЫЙ МЕТОД КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ ЭКСПЕРТИЗ ПРИ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ	110

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЯДЕР ГЕПАТОЦИТОВ МЫШЕЙ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ АЦЕТАТА СВИНЦА И АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА.....	115
ВИТАМИН D И ВОЗРАСТНАЯ МАКУЛЯРНАЯ ДЕГЕНЕРАЦИЯ.....	119
НЕПРЕРЫВНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ВРАЧЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДИСТАНЦИОННЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ	121
ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫЕ РОДЫ: КУДА ДВИГАТЬСЯ ДАЛЬШЕ?	124

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ / PHARMACEUTICS

MARKETING RESEARCH OF ASSORTMENT OF ANTACID MEDICINES OF OVER-THE-COUNTER LEAVE IN PHARMACY ORGANIZATIONS.....	128
--	-----

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ / CHEMISTRY

POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF “AVAILABLE CHLORINE” IN ELECTROCHEMICALLY TREATED CHLORINATED ELECTROLYTES.....	136
ВЫДЕЛЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ БАКТЕРИЙ <i>GLUCONOBACTER OXYDANS</i>	140
О ПРИОРИТЕТАХ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ И ПЕРЕРАБОТКИ ЭЛАСТОМЕРОВ.....	145
ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА.....	152
ТРАНСФОРМАЦИЯ ДИМЕТИЛФЕНОЛОВ В ПРИСУТСТВИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ Р-Мо-V ГЕТЕРОПОЛИКИСЛОТ: 2. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ.....	155
ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В УСЛОВИЯХ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИЗА	159

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ / BIOLOGY

ВЛИЯНИЕ АГРОЛЕСОМЕЛИОРАТИВНОГО КОМПЛЕКСА КАМЕННОЙ СТЕПИ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕРНОЗЕМОВ.....	165
--	-----

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ / BIOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.015>Вагабова Ф.А.¹, Раджабов Г.К.², Мусаев А.М.³¹ORCID: 0000-0003-3315-3874, кандидат технических наук, старший научный сотрудник,²ORCID: 0000-0001-9263-5684, научный сотрудник,³ORCID: 0000-0001-6692-8571, и.о. зам директора по научной работе,

Горный ботанический сад ДНЦ РАН, г. Махачкала

ИЗМЕНЧИВОСТЬ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ВАСИЛЕК ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ДАГЕСТАНА

Аннотация

Целью работы было выявление в природной флоре Дагестана источников флавоноидов и антоцианов с высокой антиоксидантной активностью. Для этого проводили изучение суммарного содержания фенольных соединений с антиоксидантной активностью в водно-спиртовых экстрактах надземной части разных видов рода Василек из природных популяций Дагестана. Сырье для анализа собрано в период цветения 2014 года, в природных дагестанских популяциях, высушено до воздушно-сухой массы в темном проветриваемом помещении. Суммарное содержание флавоноидов и антоцианов определяли по стандартной методике согласно государственной фармакопеи. Суммарные антиоксиданты определяли амперометрическим методом, с пересчетом на галловую кислоту.

Полученные впервые результаты показали, что максимальное содержание флавоноидов обнаружено в образцах надземной части василька скабиозового (*C. scabiosa*) и василька иволлистного (*C. phrygia*) (2,29 – 2,85%; 2,43 – 2,74%, в зависимости от места сбора исследуемого сырья, соответственно), а в образце василька Вильденова (*C. cheiranthifolia* subsp. *Wildenovii*) найдено максимальное содержание антиоксидантов (3,47 мг/г) при относительно низких суммарных показателях флавоноидов и антоцианов по сравнению с двумя другими изучаемыми видами.

Результаты представляют несомненный научный и практический интерес и могут быть рекомендованы для медицинской, косметической промышленности.

Ключевые слова: Василек, популяции, флавоноиды, антоцианы, антиоксидантная активность.

Vagabova F.A.¹, Radzhabov G.K.², Musaev A.M.³¹ORCID: 0000-0003-3315-3874, PhD in Engineering, Senior Researcher,²ORCID: 0000-0001-9263-5684, Researcher,³ORCID: 0000-0001-6692-8571, Acting as Deputy Director for Scientific Work,

Mountain Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, Makhachkala

VARIABILITY OF CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS OF SOME SPECIES OF THE BLUE CORNFLOWER FAMILY FROM NATURAL POPULATIONS OF DAGHESTAN

Abstract

The main aim of the work is to identify sources of flavonoids and anthocyanins with high antioxidant activity in the natural flora of Dagestan. For this purpose, the total content of phenol compounds with antioxidant activity in water-alcohol extracts of the aerial part of different species of the blue cornflower family from natural populations of Dagestan was studied. The raw material for analysis was collected during the flowering period in 2014 in natural Dagestan populations and dried to air-dry mass in a dark ventilated room. The total content of flavonoids and anthocyanins was determined by the standard method according to the state pharmacopoeia. Total antioxidants were determined by an amperometric method with conversion to gallic acid.

The results obtained for the first time showed that the maximum content of flavonoids was found in specimens of the aerial part of the scabiosa cornflower (*C. scabiosa*) and cornflower (*C. phrygia*) (2.29 - 2.85%, 2.43 - 2.74% depending on the place where the raw material was collected, respectively), and the maximum content of antioxidants (3.47 mg / g) was found in the sample of the cornflower *Wildenovii* (*S. cheiranthifolia* subsp. *Wildenovii*) with relatively low total flavonoids and anthocyanins in comparison with the other two species studied.

The results are of undoubted scientific and practical interest and can be recommended for the medical and cosmetic industry.

Keywords: blue cornflower, populations, flavonoids, anthocyanins, antioxidant activity.

Род *Centaurea* L. (Asteraceae, tribe Cardueae, subtribe Centaureinae) включает по разным авторам от 600 и более 800 видов [1, С. 349], [2], [3, С. 7] является самым крупным в семействе. Виды этого рода распространены в Европе, Южной и Северной Америке, Северной Африке, на значительной части Азии. Наибольшее число видов встречается на побережье Средиземного моря. Так, Турция является основным центром разнообразия видов рода Василек, где из около 179 видов, 109 – 112 являются эндемичными [3, С. 7], [4, С. 207]. Известно, что в пределах бывшего СССР встречаются 160 видов, а на территории стран СНГ – более 80 видов [3, С. 7], [5, С. 143]. Представители рода встречаются в основном на каменистых известковых скалах, виноградниках, обочине дорог, морских берегах, гипсовых полях, степях, лесах и опушках, скалистых склонах. Надо отметить, что *Centaurea* является наиболее трудным таксономическим родом [4, С. 207].

В Дагестане произрастает 19 видов рода Василек, из которых два вида (*C. avarice* Tzvel и *C. ruprechtii* (Boiss) Czer) являются эндемичными [6, С. 79-83].

Род *Centaurea* L. в настоящее время широко используется в народной медицине в качестве седативного, противовоспалительного, диуретического, вяжущего средства, при гепатите, аллергических дерматитах [3, С. 7].

Фармакологические исследования некоторых видов рода Василек показали диуретическое, гипотензивное, антирадикальное, гипогликемическое, противоопухолевое, антифунгальное, антибактериальное, антипролиферативное, антимуторное действие [3, С. 7], [7, С. 70], [8, С. 284], [9, С. 1404], [10, С. 1109].

У всех видов рода выявлены флавоноиды, антоцианы, кумарины, дубильные вещества, фенолокислоты, сесквитерпеновые лактоны, эфирные масла, углеводы, каротиноиды, лигнаны и другие соединения [11, С. 193], [12, С. 188-189].

Вследствие широкого спектра действия фенольных соединений сегодня очень актуально изучение суммарного содержания флавоноидов, антоцианов в лекарственных растениях. Поэтому целью работы было выявление дагестанских видов из рода *Centaurea* L., богатых флавоноидами и антоцианами с высокой антиоксидантной активностью.

Василек скабиозовый - *C. scabiosa* L. – многолетнее травянистое растение, высотой 80 – 100 см, которое распространено в Европе, Азии, во всех районах Кавказа [13, С. 175]. В Дагестане вид произрастает во всех районах, на сухих склонах, до верхнего горного пояса [6, С. 82-83]. В народной медицине василек шероховатый применяют как седативное, вяжущее, диуретическое средство, рекомендуется при эпилепсии, дерматитах, сыпи, фурункулах. Фармакологическое изучение выявило противосудорожное, противовоспалительное и спазмолитическое действие, гепатопротекторные и антиоксидантные свойства *C. scabiosa* [13, С.175], [14, С. 159], [18, С. 102], [19, С. 25], [20, С. 71], [21, С. 14], [22, С. 19]. У вида *C. scabiosa* обнаружены алкалоиды, сапонины, лигнаны, флавоноиды, антоцианы, дубильные вещества, кумарины, эфиры карбоновых кислот, полисахариды и другие соединения [3, С. 8-11], [13, С. 178], [14, С. 160-162], [15, С. 979], [16, С. 397], [17, С. 19-20].

Василек иволлистный – *C. phrygia* L. – многолетнее растение, высотой 50 – 80 см, произрастает на Кавказе, Юго-Восточной Европе, юго-Западной Азии. В Дагестане встречается во всех горных районах, на лугах, в нижнем и среднем горном поясах [6, С. 82]. Литературные источники свидетельствуют об анатомическом и цитогенетическом исследовании *C. phrygia* [22, С. 11], [23, С. 152]. Имеются данные о содержании кумаринов в образцах данного вида [3, С. 11]. Обнаружены противоопухолевые, антибактериальные, антифунгальные свойства василька иволлистного [3, С. 7].

Василёк Вильденова – *C. cheiranthifolia* subsp. *Wildenowii* (Czer) A.D. Mikheev. (синоним *C. fischeri* Willd.) – многолетнее растение высотой до 45 см, которое произрастает на лугах, в среднем и верхнем горных поясах Кавказа, до 2700 м над уровнем моря [6, С. 79-80], [24, С.8], [25, С.43]. Вид является эндемиком Кавказа и охраняется в Северо-Осетинском государственном заповеднике [25, С.43]. В разных органах этого вида обнаружены антоцианы, дубильные вещества, органические кислоты, алкалоиды, жирные и эфирные масла и другие соединения [24, С. 26].

Надземная часть исследуемых растений из рода *Centaurea* L. была собрана в 2014 году в период цветения из природных популяций Дагестана. Собранный материал сушили до воздушно-сухой массы в темном проветриваемом помещении. Суммарное содержание флавоноидов и антоцианов определяли спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-56 по стандартной методике с использованием реакции образования комплексных соединений с хлоридом алюминия и с хлоридом кобальта, соответственно, согласно Государственной фармакопее [26, С.324-325, 239].

Суммарные антиоксиданты определялись на приборе для экспресс-анализа суммарных антиоксидантов «ЦВЕТ-ЯУЗА-001-ААА», амперометрическим методом, с пересчетом на галловую кислоту [27, С. 133]. Статистическую обработку данных определения суммарного содержания флавоноидов, антоцианов, антиоксидантов проводили по общепринятым алгоритмам обработки данных с использованием лицензионной системы обработки данных Statistica 5.5. и пакета программ «MS EXCEL».

Было исследовано пять образцов трех видов рода *Centaurea* L. Полученные нами результаты представлены в таблице.

Таблица 1 – Суммарное содержание флавоноидов, антоцианов, антиоксидантов в надземной части некоторых видов рода *Centaurea* L. из природных популяций Дагестана, сбора 2014 года

№ п/п	Название вида	Место сбора сырья	ВНУМ, м. над ур. моря	Сум. сод-е ФЛ, %	Сум. сод-е АНТ, %	ССА, мг/г
1	<i>C. chiranthifolia</i> subsp. <i>Wildenowii</i> (Czer) синоним <i>C. fischeri</i> Willd.	Куруш, левый берег р. Муларчай	2465	1,73±0,01	0,15±0,00	3,47±0,00
2	<i>C. scabiosa</i> L.	Талгинское ущелье	580	2,29±0,01	0,12±0,00	1,93±0,00
3	<i>C. scabiosa</i> L.	Гунибское плато,	1650	2,85±0,01	0,15±0,00	1,55±0,00
4	<i>C. phrygia</i> L.	Окр.с. Туруф Табасаранского р-она	900	2,43±0,02	0,21±0,00	2,24±0,00
5	<i>C. phrygia</i> L.	Гунибское плато	1650	2,74±0,02	0,22±0,00	2,96±0,00

Примечание: ВНУМ – высота над уровнем моря; ФЛ – флавоноиды; АНТ – антоцианы; ССА – суммарное содержание антиоксидантов.

Как видно из таблицы, во всех образцах видов василька наблюдается относительно высокое содержание флавоноидов, антоцианов. Межвидовое сравнение показало, что по содержанию флавоноидов выделяются виды *C. scabiosa* и *C. phrygia* (2,29 – 2,85%; 2,43 – 2,74% сумма флавоноидов, соответственно), по сумме антоцианов *C. phrygia* (0,21 – 0,22%) в зависимости от места сбора сырья. Надо отметить, что образец *василька Вильденова* при относительно низких суммарных показателях флавоноидов и антоцианов по сравнению с двумя другими видами показал самое высокое содержание антиоксидантов (3,47 мг/г). Интересно отметить, что дагестанские образцы василька шероховатого по количественному суммарному содержанию флавоноидов почти не отличаются от образцов, собранных в различных районах Сибири (2,85%) [12, С.176], (1,3 -2,0%) [20, С. 14].

Таким образом, впервые исследованы образцы видов *C. scabiosa* L., *C. phrygia* L. и *C. chiranthifolia* subsp. *Wildenowii* из природной флоры Дагестана на содержание фенольных соединений.

Максимальное содержание флавоноидов обнаружено в образцах надземной части *C. scabiosa* и *C. phrygia*, а в образце *C. chiranthifolia* найдено максимальное содержание антиоксидантов, минимальное – в образцах *C. scabiosa*. По количеству антоцинов выделились образцы *C. phrygia*. Кроме того были выявлены популяции василька скабиозового и василька иволистного с более высоким суммарным содержанием фенольных соединений. Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что изученные дагестанские виды рода Василек могут быть рекомендованы как перспективные источники фенольных соединений с антиоксидантными свойствами. Полученные результаты представляют несомненный научный и практический интерес.

Список литературы / References

1. Celik S. Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa* / S. Celik, S. Rosselli, A.M. Maggio and others // *Biochemical Systematics and Ecology*. – 2006. – №34. – P. 349–352.
2. The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/>
3. Ларькина М.С. Фенольные соединения видов рода *Centaurea* мировой флоры (обзор) / М.С. Ларькина, Е.В. Ермилова, Т.В. Кадырова // *Химия растительного сырья*. – 2011. – №4. – С. 7–11.
4. Turkolu I. A new species of *Centaurea* (Asteraceae: sect. *Psephelloideae*) from Turkey / I. Turkolu, H. Akan, E. Civelek // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 2003. – №143. – P. 207–212.
5. Кадырова Т.В. Антиоксидантная активность экстрактов василька лугового (*Centaurea jacea* L.) и василька ложнопятнистого (*Centaurea pseudomaculosa* Dobrocz.) / Т.В. Кадырова, Е.В. Ермилова, М.С. Ларькина // *Химия растительного сырья*. – 2014. – №2. – С. 143–146.
6. Муртазалиев Р.А. Конспект флоры Дагестана. (Campanulaceae – Hippuridaceae) / Отв. ред. чл.-корр. РАН Р. В. Камелин. – Махачкала: Издательский дом «Эпоха». – 2009. – Т. III. – 304 с.
7. Кадырова Т.В. Противосудорожные свойства экстрактов из *Centaurea scabiosa* (Asteraceae) / Т.В. Кадырова, Е.А. Краснов, А.В. Корнякова // *Растительные ресурсы*. – 2006. – №4. – С. 70–75.
8. Gurbuz I. Evaluation of the antiulcerogenic effect of the sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis* by using various in vivo and biochemical techniques / I. Gurbuz, E. Yesilada // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2007. – №112. – P. 284–295.
9. Saroglou V. Sesquiterpene lactones from *Centaurea spinosa* and their antibacterial and cytotoxic activities / V. Saroglou, A. Karioti, C. Demetzos and others // *J. Nat. Prod.* – 2005. – №68. – P. 1404–1407
10. Csopor-Löffler B. Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against Human cancer cell lines. Part II / B. Csopor-Löffler, Z. Hajdu, B. Rethy and others // *Phytother. Res.* – 2009. – №23. – P. 1109–1115.
11. Nowak G. TLC of selected sesquiterpenoids of the Asteraceae family / G. Nowak, R. Dawid-Pac, M. Urbańska and others // *Acta Soc Bot Pol.* – 2011. – 80(3). – P. 193–196.
12. Urbanska M. Detection of pharmacological active compounds of the Asteraceae family and their chemotaxonomical implications / M. Urbanska, J. Nawrot, R. Dawid-Pac and others // *Journal of Plant Sciences*. – 2014. – №2(5). – P. 187–191.
13. Ларькина М.С. Флавоноиды надземной части василька шероховатого (*Centaurea Scabiosa* L.) / М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова, В.В. Коваль и др. // *Химия растительного сырья*. – 2012. – №4. – С. 175–180.
14. Ларькина М.С. Исследование сложных эфиров карбоновых кислот из надземной части *Centaurea scabiosa* L. / М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова, Е.В. Ермилова // *Химия растительного сырья*. – 2013. – №2. – С. 159–163.
15. Vele T. Constituents of the roots of plants species *Centaurea scabiosa* / T. Vele, D. Dejan, V. Vlatka // *J. Serb. Chem. Soc.* – 1994. – V. 59. – №12. – P. 979–981.
16. Краснов Е.А. Выделение гроссгемина из сибирской популяции *Centaurea scabiosa* / Е.А. Краснов, В.А. Ралдугин, Т.В. Кадырова и др. // *Химия природных соединений*. – 2006. – №4. – С. 397.
17. Ларькина М.С. Характеристика полисахаридных комплексов василька шероховатого (*Centaurea Scabiosa* L.) и василька ложнопятнистого (*Centaurea Pseudomaculosa* Dobrocz.) / М.С. Ларькина, С.В. Кривошеков, А.М. Гурьев и др. // *Химия растительного сырья*. – 2016. – №2. – С. 19–24.
18. Кадырова Т.В. Антиоксидантная активность экстрактов из надземной части *Centaurea scabiosa* L. (Asteraceae) / Т.В. Кадырова, М.С. Ларькина, Е.В. Ермилов и др. // *Растительные ресурсы*. – 2010. – Вып. 1. – С. 102–106.
19. Ларькина М.С. Гепатопротекторные свойства василька шероховатого / М.С. Ларькина, Э.В. Сапрыкина, Е.А. Геренг и др. // *Вопросы биологической, медицинской и фармакологической химии*. – 2011. – №8. – С. 25–28.
20. Ларькина М.С. Изучение динамики накопления фенолкарбоновых кислот в надземной части василька шероховатого / М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова, Е.В. Ермилова // *Химия растительного сырья*. – 2008. – №3. – С. 71–74.
21. Ларькина М.С. Количественное определение флавоноидов в надземной части василька шероховатого (*Centaurea scabiosa* L.) / М.С. Ларькина, Т.В. Кадырова, Е.В. Ермилова и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2009. – №4. – С. 14–17.
22. Анцышкіна А.М. Анатомическое строение васильков / А.М. Анцышкіна // *Сборник научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции»*. Пятигорск. – 2011. – Вып. 66. – С. 11–12.
23. Dydak M. Cytogenetic studies of three European species of *Centaurea* L. (Asteraceae) / M. Dydak, B. Kolano, T. Nowak and others // *Hereditas*. – 2009. – №146(4). – P. 152–161.
24. Сайтмазов Т.Б. Биоресурсный потенциал ароматических растений в РСО-Алания и их практическое использование / Т.Б. Сайтмазов // *Автореферат дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук*. Владикавказ. – 2014. – 27 с.
25. Литвинская С.А., Муртазалиев Р.А. Кавказский элемент во флоре Российского Кавказа. – Краснодар. – 2009. – 439 с.
26. Государственная фармакопея СССР. – Вып.1: Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина. – 1987. – С. 252–258, 277 – 282.

27. Яшин А.Я. Инжекционно–проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / А.Я. Яшин // Российский химический журнал (Ж. Рос. хим. о-ва им. Д.И. Менделеева). – 2008. – Т. I. – №2. – С. 130–135.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Celik S. Guaianolides and lignans from the aerial parts of *Centaurea ptosimopappa* / S. Celik, S. Rosselli, A.M. Maggio and others // Biochemical Systematics and Ecology. – 2006. – №34. – P. 349–352.
2. The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/>
3. Lar'kina M.S. Fenol'nye soedinenija vidov roda *Sentaurea* mirovoj flory (obzor) [Phenolic compounds of species of the genus *Centaurea* of the world flora (review)] / M.S. Lar'kina, E.V. Ermilova, T.V. Kadyrova // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2011. – №4. – P. 7–11. [in Russian]
4. Turkolu I. A new species of *Centaurea* (Asteraceae: sect. *Psephelloideae*) from Turkey / I. Turkolu, H. Akan, E. Civelek // Botanical Journal of the Linnean Society. – 2003. – №143. – P. 207–212.
5. Kadyrova T.V. Antioksidantnaja aktivnost' jekstraktov vasil'ka lugovogo (*Centaurea jacea* L.) i vasil'ka lozhnopjatinistogo (*Centaurea pseudomaculosa* Dobrocz.) [Antioxidant activity of cornflower extracts (*Centaurea jacea* L.) and cornflower (*Centaurea pseudomaculosa* Dobrocz.)] / T.V. Kadyrova, E.V. Ermilova, M.S. Lar'kina // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2014. – №2. – P. 143–146. [in Russian]
6. Murtazaliev R.A. Konspekt flory Dagestana. (Campanulaceae – Hippuridaceae) / Otv. red. chl.-korr. RAN R. V. Kamelin / [Abstract of the flora of Dagestan. (Campanulaceae - Nippuridaceae) / Ans. Ed. member corr. RAS V. Kamelin]. – Mahachkala: Izdatel'skij dom «Jepoha». – 2009. – Т. III. – 304 p. [in Russian]
7. Kadyrova T.V. Protivosudorozhnye svojstva jekstraktov iz *Centaurea scabiosa* (Asteraceae) [Anticonvulsant properties of extracts from *Centaurea scabiosa* (Asteraceae)] / T.V. Kadyrova, E.A. Krasnov, A.V. Kornjakova // Rastitel'nye resursy [Vegetable resources] – 2006. – №4. – P. 70–75. [in Russian]
8. Gurbuz I. Evaluation of the antiulcerogenic effect of the sesquiterpene lactones from *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis* by using various in vivo and biochemical techniques / I. Gurbuz, E. Yesilada // Journal of Ethnopharmacology. – 2007. – №112. – P. 284–295.
9. Saroglou V. Sesquiterpene lactones from *Centaurea spinosa* and their antibacterial and cytotoxic activities / V. Saroglou, A. Karioti, C. Demetzos and others // J. Nat. Prod. – 2005. – №68. – P. 1404–1407
10. Csupor-Löffler B. Antiproliferative activity of Hungarian Asteraceae species against Human cancer cell lines. Part II / B. Csupor-Löffler, Z. Hajdu, B. Rethy and others // Phytother. Res. – 2009. – №23. – P. 1109–1115.
11. Nowak G. TLC of selected sesquiterpenoids of the Asteraceae family / G. Nowak, R. Dawid-Pac, M. Urbańska and others // Acta Soc Bot Pol. – 2011. – 80(3). – P. 193–196.
12. Urbanska M. Detection of pharmacological active compounds of the Asteraceae family and their chemotaxonomical implications / M. Urbanska, J. Nawrot, R. Dawid-Pac and others // Journal of Plant Sciences. – 2014. – №2(5). – P. 187–191.
13. Lar'kina M.S. Flavonoidy nadeznoj chasti vasil'ka sherohovatogo (*Centaurea Scabiosa* L.) [Flavonoids above the aerial part of the cornflower rough (*Centaurea Scabiosa* L.)] / M.S. Lar'kina, T.V. Kadyrova, V.V. Koval' i dr. // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2012. – №4. – P. 175–180. [in Russian]
14. Lar'kina M.S. Issledovanie slozhnyh jefirov karbonovyh kislot iz nadeznoj chasti *Centaurea scabiosa* L. [Study of esters of carboxylic acids from the aerial part of *Centaurea scabiosa* L.] / M.S. Lar'kina, T.V. Kadyrova, E.V. Ermilova // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2013. – №2. – P.159–163. [in Russian]
15. Vele T. Constituents of the roots of plants species *Centaurea scabiosa* / T. Vele, D. Dejan, V. Vlatka // J. Serb. Chem. Soc. – 1994. – V. 59. – №12. – P. 979–981.
16. Krasnov E.A. Vydelenie grossgemina iz sibirskoj populjacji *Centaurea scabiosa* [Isolation of grossgemin from the siberian population *Centaurea scabiosa*] / E.A. Krasnov, V.A. Raldugin, T.V. Kadyrova i dr. // Himija prirodnyh soedinenij [Chemistry of plant raw materials] – 2006. – №4. – P. 397. [in Russian]
17. Lar'kina M.S. Harakteristika polisaharidnyh kompleksov vasil'ka sherohovatogo (*Centaurea Scabiosa* L.) i vasil'ka lozhnopjatinistogo (*Centaurea Pseudomaculosa* Dobrocz.) [Characteristics of polysaccharide complexes of a cornflower (*Centaurea Scabiosa* L.) and a cornflower (*Centaurea Pseudomaculosa* Dobrocz.)] / M.S. Lar'kina, S.V. Krivoshekov, A.M. Gur'ev i dr. // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2016. – №2. – P. 19–24. [in Russian]
18. Kadyrova T.V. Antioksidantnaja aktivnost' jekstraktov iz nadeznoj chasti *Centaurea scabiosa* L. (Asteraceae) [Antioxidant activity of extracts from the aerial part of *Centaurea scabiosa* L. (Asteraceae)] / T.V. Kadyrova, M.S. Lar'kina, E.V. Ermilov i dr. // Rastitel'nye resursy [Vegetable resources] – 2010. – Vyp. 1. – P. 102–106. [in Russian]
19. Lar'kina M.S. Gepatoprotekturnye svojstva vasil'ka sherohovatogo [Hepatoprotective properties of *Centaurea scabiosa*] / M.S. Lar'kina, Je.V. Saprykina, E.A. Gereng i dr. // Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmakologicheskoy himii [Questions of biological, medical and pharmacological chemistry] – 2011. – №8. – P. 25–28. [in Russian]
20. Lar'kina M.S. Izuchenie dinamiki nakoplenija fenolkarbonovyh kislot v nadeznoj chasti vasil'ka sherohovatogo [Study of the dynamics of accumulation of phenol carboxylic acids in the aerial part of the *Centaurea scabiosa*] / M.S. Lar'kina, T.V. Kadyrova, E.V. Ermilova // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials] – 2008. – №3. – P.71–74. [in Russian]
21. Lar'kina M.S. Kolichestvennoe opredelenie flavonoidov v nadeznoj chasti vasil'ka sherohovatogo (*Centaurea scabiosa* L.) [Quantitative determination of flavonoids in the aerial part of the cornflower rough (*Centaurea scabiosa* L.)] / M.S. Lar'kina, T.V. Kadyrova, E.V. Ermilova i dr. // Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Chemical-Pharmaceutical Journal] – 2009. – №4. – P. 14–17. [in Russian]
22. Ancyshkina A.M. Anatomicheskoe stroenie vasil'kov [Anatomical structure of *Centaurea*] / A.M. Ancyshkina // Sbornik nauchnyh trudov «Razrabotka, issledovanie i marketing novoj farmaceuticheskoy produkcii». Pjatigorsk [Collection of scientific works "Development, research and marketing of new pharmaceutical products"] – 2011. – Vyp. 66. – P. 11–12. [in Russian]

23. Dydak M. Cytogenetic studies of three European species of *Centaurea* L. (Asteraceae) / M. Dydak, B. Kolano, T. Nowak and others // *Hereditas.* – 2009. – №146(4). – P. 152–161.
24. Sajtmazov T.B. Bioresursnyj potencial aromaticeskikh rastenij v RSO-Alanija i ih praktičeskoe ispol'zovanie [Bioresource potential of aromatic plants in North Ossetia-Alania and their practical use] / T.B. Sajtmazov // *Avtoreferat dis. na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologičeskikh nauk. Vladikavkaz* [Abstract of the dis. for the degree of candidate of biological sciences] – 2014. – 27 p. [in Russian]
25. Litvinskaja S.A., Murtazaliev R.A. Kavkazskij jelement vo flore Rossijskogo Kavkaza. – Krasnodar. – 2009. – 439 s. [in Russian]
26. Gosudarstvennaja farmakopeja SSSR. – Vyp.1: Obshhie metody analiza [State Pharmacopoeia of the USSR. - Issue 1: General methods of analysis] / MZ SSSR. – 11-e izd. – M.: Medicina, 1987. – P. 252–258, 277–282. [in Russian]
27. Jashin A.Ja. Inzhekcionno–protochnaja sistema s amperometricheskimi detektorami dlia selektivnogo opredelenija antioksidantov v pishhevyh produktah i napitkah [Injection-flow system with amperometric detector for selective determination of antioxidants in food and beverages] / A.Ja. Jashin // *Rossijskij himičeskij žurnal (Zh. Ros. him. o-va im. D.I. Mendeleeva)* [Russian Chemical Journal (J. D. Mendeleev D. of the Russian Federation)] – 2008. – T.I. – №2. – P. 130–135. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.007>Гордеева И.В.¹, Бельшева Г.М.²¹Кандидат биологических наук, ²кандидат химических наук,^{1,2}Уральский государственный экономический университет

ВЛИЯНИЕ КОФЕИНА НА ВСХОЖЕСТЬ СЕМЯН И РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ *FAGOPYRUM ESCULENTUM* M. И *LINUM USITATISSIMUM* L.

Аннотация

Исследовали воздействие 1,3,7-триметилксантина (кофеина) на всхожесть семян и развитие проростков гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* M.) и льна посевного (*Linum usitatissimum* L.). Семена обоих видов растений подвергались обработке данным веществом трех концентраций – 0,025%, 0,05% и 0,10% в течение 120 часов в лабораторных условиях. Начиная со вторых суток эксперимента регулярно оценивались масса проростков, а также длина главного корня и гипокотиль; кроме того, определялась суммарная всхожесть семян по итогам исследования. Показано, что кофеин оказывает незначительное ингибирующее влияние на всхожесть семян, которое проявляется только при максимальной концентрации раствора. Установлено, что длина надземной и корневой части растений гораздо более чувствительна к кофеину, нежели масса побегов, причем зависимость между данными показателями и концентрацией вещества носила обратно пропорциональный характер. Также было отмечено, что корневая система проростков гречихи посевной является более чувствительной к кофеину, нежели гипокотиль. У льна посевного подобная закономерность не была обнаружена: достоверное сокращение длины гипокотиль по сравнению с контролем фиксировалось в течение всего эксперимента, начиная с минимальной концентрации кофеина. В целом, экспериментальные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности *Fagopyrum esculentum* M. и *Linum usitatissimum* L. к 1,3,7-триметилксантину, которая носит видоспецифичный характер.

Ключевые слова: кофеин, всхожесть семян, развитие проростков, корневая система, гипокотиль, *Fagopyrum esculentum*, *Linum usitatissimum*.

Gordeeva I.V.¹, Belysheva G.M.²¹PhD in Biology, ²PhD in Chemistry,

Ural State University of Economics

INFLUENCE OF CAFFEINE ON SEED GERMINATION AND DEVELOPMENT OF SEEDLINGS OF *FAGOPYRUM ESCULENTUM* M. AND *LINUM USITATISSIMUM* L.

Abstract

We studied the effect of 1,3,7-trimethylxanthine (caffeine) on seed germination and development of buckwheat seedlings (*Fagopyrum esculentum* M.) and flax seed (*Linum usitatissimum* L.). Seeds of both plant species were treated with the substance of three concentrations – 0.025%, 0.05% and 0.10% for 120 hours in the laboratory. Starting from the second day of the experiment, the weight of the seedlings was regularly assessed, as well as the length of the main root and hypocotyl. In addition, the total germination of seeds was determined based on the results of the study. It is shown that caffeine has an insignificant inhibitory effect on seed germination, which manifests itself only at maximum solution concentration. It was established that the length of the aboveground and root parts of plants is much more sensitive to caffeine than the mass of shoots, while the relationship between these parameters and the concentration of the substance was inversely proportional. It was also noted that the root system of buckwheat seedlings is more sensitive to caffeine than hypocotyl. Similar pattern was not found in flax seed: Significant reduction in the length of the hypocotyl compared to the control was recorded throughout the experiment starting with a minimum concentration of caffeine. In general, experimental results indicate high sensitivity of *Fagopyrum esculentum* M. and *Linum usitatissimum* L. to 1,3,7-trimethylxanthine, which is of a species-specific nature.

Keywords: caffeine, seed germination, development of sprouts, root system, hypocotyl, *Fagopyrum esculentum*, *Linum usitatissimum*.

Кофеин (1,3,7-триметилксантин), представляющий собой пуриновый алкалоид класса ксантинов, является широко известным стимулятором активности центральной нервной системы, входящим в состав разнообразных напитков и фармацевтических препаратов [1], [2]. Поскольку содержащие кофеин напитки, такие как кофе, чай, какао и пр., относятся к числу наиболее популярных во многих экономически развитых государствах мира, то

изучение воздействия данного соединения на различные виды живых организмов привлекает пристальное внимание исследователей уже на протяжении нескольких последних десятилетий [3-10]. Было установлено, в частности, что кофеин уже при субмиллимолярных концентрациях оказывает целый ряд физиологических эффектов, включая неселективное ингибирование фосфодиэстеразы, приводящее к повышению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), активирование окисления жирных кислот, снижение внутриклеточной концентрации ионов калия путем гиперполяризации мембран, а также выступая в качестве антагониста аденозиновых рецепторов [2], [5]. Кроме того, известно, что кофеин играет важную роль в развитии резистентности организмов к бактериальным инвазиям путем повышения концентрации некоторых видов иммунопотентных клеток и усиления активности лизоцима, а также способен снижать летальный эффект ионизирующего излучения и усиливать ингибирующее воздействие таких антибактериальных агентов, как пенициллин и тетрациклин [1], [5].

На онтогенетическом уровне влияние кофеина наиболее изучено на примерах высших животных (в первую очередь млекопитающих) и микроорганизмов. Показано, что в первом случае данное соединение при длительном приеме в малых дозах способно вызывать серьезные проблемы со здоровьем, такие как повышение уровня адреналина, иррегулярная мышечная активность, сердечная аритмия и остеопороз [8], [10]. В случае микроорганизмов был выявлен однозначный ингибирующий эффект кофеина на рост и развитие колоний как бактериальных, так и дрожжевых культур, который зависел не только от концентрации вещества, но и от видовой принадлежности изучаемых объектов [4], [5], [11]. Однако воздействие кофеина на растительные клетки и организм в целом известно в меньшей степени. Ситуация осложняется тем, что само соединение относится к числу аллелопатических веществ – вторичных метаболитов, вырабатываемых целым рядом высших цветковых растений и способных обеспечивать последним ряд конкурентных преимуществ. Первая работа, посвященная изучению влияния кофеина на наиболее распространенные культурные растения, датируется еще началом XX века, а ее автор (F. Ransom) выявил однозначный негативный эффект данного соединения на ранние стадии онтогенеза всех экспериментальных видов, кроме *Tropaeolum majus* [12]. Аналогично A. Tanti и соавторы обнаруживают, что кофеин оказывает угнетающее воздействие на всхожесть семян и развитие проростков *Borella hispida*, усиливающийся по мере нарастания концентрации этого вещества [13]. Другие авторы (O. Montes и соавторы, M. Jadhav и соавторы) установили стимулирующее воздействие кофеина на ранние стадии развития некоторых видов семейств *Solanaceae* и *Fabaceae* [14], [15]. Очевидно, что в случае высших растений зависимость «доза-эффект» развития организмов от концентрации кофеина не является столь однозначной, как для животных и бактерий и во многом обусловлена видовой принадлежностью исследуемых объектов.

Настоящая работа посвящена исследованию влияния кофеина на всхожесть и ранние стадии онтогенеза двудольных растений, относящихся к различным семействам: гречихи посевой (*Fagopyrum esculentum* M.) и льна посевного (*Linum usitatissimum* L.) – зерновых и технических культур, широко распространенных в ряде регионов Российской Федерации. Представленный эксперимент производили в течение февраля-мая 2017 г. в лабораторных условиях в шестикратной повторности. Семена исследуемых растений культивировали в чашках Петри между листами фильтровальной бумаги (в чашку помещали по 20 семян гречихи или 30 семян льна), в которые вносили водный раствор кофеина в количестве 5 мл концентраций 0,025%, 0,05% и 0,10% (по три чашки для каждой концентрации). Культивирование осуществляли при комнатной температуре (22-24 °C) в течение 120 часов. Итоговую всхожесть определяли по завершении эксперимента и рассчитывали согласно стандартной методике [16]. Кроме того, регулярно, начиная со вторых суток культивирования, оценивали длину главного корешка, гипокотили и массу проростков. Обработку результатов эксперимента производили с оценкой средних арифметических значений каждого из показателей по всем выборкам, на основании t-критерия оценивали достоверность различий между контролем и экспериментальными выборками.

На рис.1 отражены результаты определения итоговой всхожести проростков к завершению эксперимента. Как следует из представленных данных, кофеин начиная с концентрации 0,05% оказывал негативный эффект на всхожесть семян гречихи; в то же время для льна посевного данная концентрация не являлась критической, более того, при низких концентрациях кофеина наблюдали даже незначительный положительный эффект для всхожести семян *L. usitatissimum* (96,7% по сравнению с 93,3% в контроле), который однако мог находиться в пределах экспериментальной погрешности. Четкий негативный эффект от воздействия данного вещества на прорастание семян начинает фиксироваться при концентрации 0,10%, когда всхожесть семян льна составляет уже 87,2%. Отметим, что в контрольных условиях всхожесть семян гречихи превышала во всех случаях аналогичный показатель для льна посевного, однако в дальнейшем по мере нарастания концентрации раствора кофеина картина изменяется (рис.1), хотя общая тенденция к незначительному снижению всхожести остается во всех экспериментальных выборках.

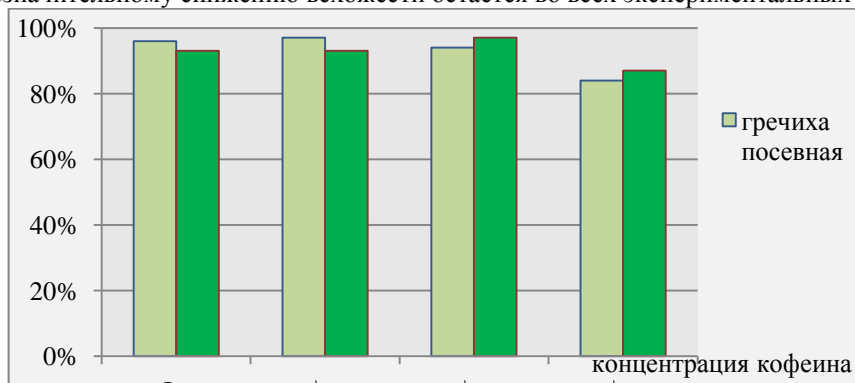


Рис.1 – Влияние кофеина на всхожесть семян гречихи посевой и льна посевного

Для сравнения влияния конкретных веществ на рост и развитие растений, относящихся к различным или одному виду, недостаточно оценить только всхожесть семян, но необходимо учесть также динамику изменения основных морфометрических показателей роста – длины надземной (гипокотил), подземной (корневой) частей растений, соотношение этих показателей, а также массу проростков. В табл.1 объединены средние значения морфометрических параметров проростков гречихи посевной, а в табл.2 – проростков льна посевного по всем повторностям эксперимента через 72 ч и 120 ч культивирования. Результаты, отраженные в табл.1, демонстрируют, что, как и в случае со всхожестью семян, раствор кофеина всех использованных концентраций негативно влияет на оцениваемые величины, хотя масса проростков менее чувствительна к воздействию миллимолярного раствора, нежели другие ростовые показатели. Более того, отрицательный эффект от воздействия кофеина в большей степени сказывается на развитии подземного органа проростков *F. esculentum*, что согласуется с литературными данными: кофеин в первую очередь нарушает процессы митотического цикла в корневой меристеме [15]. Это подтверждается постепенным изменением соотношения длин главного корешка и гипокотил в пользу второй величины по мере нарастания концентрации кофеина. Отметим также, что ингибирующее воздействие кофеина наиболее отчетливо фиксировалось на самых ранних стадиях развития проростков (экспозиция 72 часа), в дальнейшем эффект постепенно нивелировался.

Таблица 1 – Влияние кофеина на развитие проростков гречихи посевной

Показатель	Концентрация раствора				Р между		
	Контроль (1)	0,025% (2)	0,05% (3)	0,10% (4)	1-2	1-3	1-4
Экспозиция 72 ч							
Длина главного корешка, мм	17,4±1,2	15,7±0,9	12,0±0,8	11,5±0,7	–	*	*
±, %	–	-9,8	-31,0	-33,9			
Длина гипокотил, мм	13,4±1,4	12,5±1,1	12,1±0,9	11,5±0,8	–	–	–
±, %	–	-6,7	-9,7	-14,2			
Длина корня/ длина гипокотил	1,30	1,26	0,99	1,00	–	*	*
Масса, мг	76,1±5,4	79,7±6,1	76,4±5,8	67,6±5,4	–	–	*
±, %	–	4,7	0,4	-11,2			
Экспозиция 120 ч							
Длина главного корешка, мм	31,9±2,8	32,1 ±2,6	28,3±2,6	20,9±2,4	–	–	*
±, %	–	0,6	-11,3	-34,5			
Длина гипокотил, мм	28,5±2,9	29,5±2,3	26,1±1,6	20,8±1,7	–	–	*
±, %	–	3,5	-8,4	-27,0			
Длина корня/ длина гипокотил	1,12	1,09	1,08	1,00	–	–	–
Масса, мг	107,3±11,2	107,6±12,1	100,5±11,7	90,0±10,2	–	–	*
±, %	–	0,3	-6,3	-16,1			

Примечание: ±, % - отклонение экспериментальных данных от контроля * - статистически достоверное различие между выборкой и контролем P<0,05.

Таблица 2 – Влияние кофеина на развитие проростков льна посевного

Показатель	Концентрация раствора				Р между		
	Контроль (1)	0,025% (2)	0,05% (3)	0,10% (4)	1-2	1-3	1-4
Экспозиция 72 ч							
Длина главного корешка, мм	15,2±0,5	13,2±0,4	9,9±0,4	7,9±0,3	–	*	**
±, %	–	-13,2	-34,9	-48,0			
Длина гипокотил, мм	17,4±0,8	14,3±0,7	11,3±0,5	9,9±0,3	*	*	**
±, %	–	-17,8	-35,1	-43,1			
Длина корня/ длина гипокотил	0,87	0,92	0,88	0,80	–	–	–
Масса, мг	23,8±0,9	24,4±0,8	25,3±0,7	21,4±0,6	–	–	–
±, %	–	2,5	6,3	-10,1			
Экспозиция 120 ч							
Длина главного корешка, мм	25,6±1,1	22,5±0,9	20,2±0,8	12,3±0,5	–	*	**
±, %	–	-12,1	-21,1	-51,9			
Длина гипокотил, мм	29,9±1,1	26,8±1,0	24,3±1,0	15,0±0,6	–	*	**
±, %	–	-10,4	-18,7	-49,8			
Длина корня/ длина гипокотил	0,86	0,84	0,83	0,82	–	–	–
Масса, мг	41,5±1,3	41,3±1,2	41,9±1,3	30,9±1,1	–	–	*
±, %	–	-0,5	1,0	-25,5			

Примечание: ±, % - отклонение экспериментальных данных от контроля * - статистически достоверное различие между выборкой и контролем P<0,05; ** - P<0,01

Данные, представленные в табл.2, свидетельствуют, что воздействие кофеина на развитие проростков *L. usitatissimum* также носит отрицательный характер, но по динамике изменения параметров существенно отличается от такового для *F. esculentum*. В первом случае через 72 ч культивирования средние значения длины гипокотилия во всех подвергшихся воздействию кофеина выборках достоверно не отличались от таковых в контроле, тогда как в случае льна посевного достоверный ингибирующий эффект данного соединения проявлялся уже в случае его минимальной концентрации (0,025%) и эта тенденция сохранялась на протяжении всего эксперимента. Кроме того, у *L. usitatissimum* длина гипокотилия по мере нарастания концентрации кофеина уменьшается не в меньшей, а даже в несколько большей степени, нежели длина главного корня, что позволяет предположить, что для этого вида характерна равная чувствительность клеток надземной и подземной части растения к воздействию кофеина. Данный тезис подтверждается тем, что соотношение длина корня: длина гипокотилия у льна посевного в отличие от гречихи достоверно не изменяется по сравнению с контролем на протяжении всего эксперимента. Что касается влияния кофеина на массу проростков, то картина, представленная в табл.2, практически не отличается от данных табл.1: отрицательный эффект от воздействия соединения начинает проявляться только через 120 ч культивирования и при максимальной из использованных концентраций вещества – 0,10%; во всех прочих случаях достоверных различий между экспериментальными выборками и контролем выявлено не было – сокращение продольных размеров проростков компенсировалось увеличением диаметра побега.

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод об однозначно негативном воздействии кофеина (1,3,7-триметилксантина) на ранние стадии развития обоих исследуемых видов – *Fagopyrum esculentum* М. и *Linum usitatissimum* L., которое проявляется в уменьшении длины надземной части и корневой системы, выявляющемся уже в течение третьих-пятых суток эксперимента при минимальной концентрации данного соединения – 0,025% и возрастающем по мере увеличения последней. Масса проростков во всех случаях эксперимента демонстрирует гораздо меньшую зависимость от наличия кофеина в водных растворах: достоверное снижение массы и для проростков льна посевного, и для проростков гречихи было зафиксировано лишь через 120 часов эксперимента при концентрации кофеина 0,10%. Одновременно были выявлены особенности реакции проростков на кофеин, обусловленные видовой принадлежностью исследованных растений. У *F. esculentum* обратно пропорциональная зависимость между концентрацией вещества и морфометрическими параметрами в наибольшей степени наблюдалась для длины главного корня, что свидетельствует о большей чувствительности корневой меристемы к кофеину. В то же время у *L. usitatissimum* данное соединение оказывало достоверное ингибирующее воздействие на развитие гипокотилия, длина которого сокращалась уже в случае применения минимальных доз кофеина. Всхожесть семян была в меньшей степени подвержена воздействию этого вещества: незначительное снижение показателя начинает фиксироваться лишь при обработке выборок раствором кофеина максимальной концентрации – 0,10%. В целом, проведенный эксперимент свидетельствует о достаточно высокой чувствительности *F. esculentum* и *L. usitatissimum* к кофеину в лабораторных условиях при длительном воздействии, которая, однако, носит видоспецифичный характер.

Список литературы / References

1. Dash S. Inhibitory effect of caffeine on growth of various bacterial strains / S. Dash, S. Gummadi // Research Journal of Microbiology.– 2008.– Vol. 3 (6).– P.457-465.
2. Pesta D. The effect of caffeine, nicotine, ethanol, and tetrahydrocannabinol on exercise performance / D. Pesta, S. Angadi, M. Burtcher // Nutrition & Metabolism.– 2013.– Vol. 10(71).– URL: www.nutritionandmetabolism.com/content/10/71.
3. Nath J. Effects of caffeine and methylxanthines on the development and metabolism of sea urchin eggs / J. Nath, L. Rebhun // The Journal of Cell Biology.– 1976.– Vol.68.– P.440-450.
4. Gaul J. Caffeine and its effect on bacteria growth / J. Gaul, K. Donegan // The Journal of Biological Sciences.– 2015.– Vol. 1.– P.4-8.
5. Ramanaviciene A. Anti-bacterial effect of caffeine on *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* / A. Ramanaviciene, V. Mostovojus, I. Bachmatova // Acta Medica Lituanica.– 2003.– Vol. 10.– No. 4.– P.185-188.
6. Raj C. Effect of naturally occurring xanthines on bacteria / C. Raj, S. Dhala // Applied Microbiology.– 1965.– Vol. 13.– No. 3.– P.432-436.
7. Zelensky A. Caffeine suppresses homologous recombination through interference with RAD51-mediated joint molecule formation / A. Zelensky, H. Sanchez, D. Ristic // Nucleic Acids Research.– 2013.– Vol. 41.– P. 6475-6489.
8. Simitha J. Effect of caffeine on morphological characteristics and biomass concentration of various microorganisms / J. Simitha, S. Rajapriya // International Journal of Recent Scientific Research.– 2015.– Vol. 6.– P.5621-5624.
9. Valster A. Caffeine inhibition of cytokinesis: effect on phragmoplast cytoskeleton in living *Tradescantia* stamen hair cells / A. Valster, P. Hepler // Protoplasma .– 1997.– Vol. 197.– P. 155-166.
10. Agomuo E. Effect of caffeine on some selected biochemical parameters using rat model / E. Agomuo, M. Duru, B. Amadi // Hindawi. Advanced in Biology.– 2017.– URL: <https://doi.org/10.1155/2017/9303276>.
11. Hu L. Effect of caffeine concentration and incubation time on the cell concentration of wild-type *Saccharomyces cerevisiae* / L. Hu, T. Jeong, J. Kim // The Expedition.– 2016.– Vol. 6.– URL: <http://ojs.library.ubc.ca/index.php/expedition/article/view/189116>.
12. Ransom F. The effect of caffeine upon the germination and growth of seeds / F. Ransom // Bio-chemical Journal.– 1911.– Vol.12.– P.151-155.
13. Tanti A. Allelopathic potential of caffeine as growth and germination inhibitor to popular tea weed, *Boreria hispida* L. / A. Tanti, P. Bhattacharyya, S. Sandilya // Current Life Science.– 2016. – Vol. 2 (4).– P. 114-117.
14. Montes O. Doses of caffeine on the development and performance of pepper crops under greenhouse / O. Montes, F. Dianeze, F. Camacho // Horticultura Brasileira.– 2014.– Vol.32.– No.4.– P.398-403.
15. Jadhav M. Study on effect of caffeine on growth of *Vigna radiata* L. / M. Jadhav, N. Taur, S. Sapkal and others // International Journal of Advanced Research.– 2016.– Vol.4.– No.3.– P. 596-602.

16. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур: методы определения всхожести.— М.: Стандартиформ, 2011.— 64 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Dash S. Inhibitory effect of caffeine on growth of various bacterial strains / S. Dash, S. Gummati // Research Journal of Microbiology.— 2008.— Vol. 3 (6).— P.457-465.
2. Pesta D. The effect of caffeine, nicotine, ethanol, and tetrahydrocannabinol on exercise performance / D. Pesta, S. Angadi, M. Burtscher // Nutrition & Metabolism.— 2013.— Vol. 10(71).— URL: www.nutritionandmetabolism.com/content/10/71.
3. Nath J. Effects of caffeine and methylxanthines on the development and metabolism of sea urchin eggs / J. Nath, L. Rebhun // The Journal of Cell Biology.— 1976.— Vol.68.— P.440-450.
4. Gaul J. Caffeine and its effect on bacteria growth / J. Gaul, K. Donegan // The Journal of Biological Sciences.— 2015.— Vol. 1.— P.4-8.
5. Ramanaviciene A. Anti-bacterial effect of caffeine on *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* / A. Ramanaviciene, V. Mostovojus, I. Bachmatova // Acta Medica Lituanica.— 2003.— Vol. 10.— No. 4.— P.185-188. [in English]
6. Raj C. Effect of naturally occurring xanthines on bacteria / C. Raj, S. Dhala // Applied Microbiology.— 1965.—Vol.13.— No. 3.— P.432-436.
7. Zelensky A. Caffeine suppresses homologous recombination through interference with RAD51-mediated joint molecule formation / A. Zelensky, H. Sanchez, D. Ristic // Nucleic Acids Research.— 2013.— Vol. 41.— P. 6475-6489.
8. Simitha J. Effect of caffeine on morphological characteristics and biomass concentration of various microorganisms / J. Simitha, S. Rajapriya // International Journal of Recent Scientific Research.— 2015.— Vol. 6.— P.5621-5624.
9. Valster A. Caffeine inhibition of cytokinesis: effect on phragmoplast cytoskeleton in living *Tradescantia* stamen hair cells / A. Valster, P. Hepler // Protoplasma.— 1997.— Vol. 197.— P. 155-166.
10. Agomuo E. Effect of caffeine on some selected biochemical parameters using rat model / E. Agomuo, M. Duru, B. Amadi // Hindawi. Advanced in Biology.— 2017.— URL: <https://doi.org/10.1155/2017/9303276>.
11. Hu L. Effect of caffeine concentration and incubation time on the cell concentration of wild-type *Saccharomyces cerevisiae* / L. Hu, T. Jeong, J. Kim // The Expedition.— 2016.— Vol. 6.— URL: <http://ojs.library.ubc.ca/index.php/expedition/article/view/189116>.
12. Ransom F. The effect of caffeine upon the germination and growth of seeds / F. Ransom // Bio-chemical Journal.— 1911.—Vol.12.—P.151-155.
13. Tanti A. Allelopathic potential of caffeine as growth and germination inhibitor to popular tea weed, *Boreria hispida* L. / A. Tanti, P. Bhattacharyya, S. Sandilya // Current Life Science.— 2016.— Vol. 2 (4).— P. 114-117.
14. Montes O. Doses of caffeine on the development and performance of pepper crops under greenhouse / O. Montes, F. Dianeze, F. Camacho // Horticultura Brasileira.— 2014.— Vol.32.— No.4.— P.398-403.
15. Jadhav M. Study on effect of caffeine on growth of *Vigna radiata* L. / M. Jadhav, N. Taur, S. Sapkal and others // International Journal of Advanced Research.— 2016.— Vol.4.— No.3.— P. 596-602.
16. GOST 12038-84 Semena sel'skhozjajstvennyh kul'tur: metody opredelenija vshozhesti [Seeds of agricultural crops: methods of germination assessment].— М.: Standartinform, 2011.— 64 p. [in Russian]

РОССИЙСКИЙ ИНДЕКС
НАУЧНОГО ЦИТИРОВАНИЯ

Science Index



Мы настоятельно рекомендуем всем нашим авторам зарегистрироваться в системе **Science Index РИНЦ**.

Таким образом, авторы могут более детально контролировать список своих публикаций, не только в нашем журнале, но и во всех научных изданиях, входящих в РИНЦ. Регистрация в системе также позволит узнать индекс научного цитирования автора и его публикаций.

Подробную инструкцию по регистрации в системе Science Index РИНЦ Вы можете найти на нашем сайте <http://research-journal.org/> в разделе «Полезно знать».

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.014>Заборская О.Ю.¹, Заборская А.Ю.², Крамм Э.А.³.¹ORCID: 0000-0003-3206-3033, аспирант,²ORCID: 0000-0003-1358-7958, кандидат технических наук, ГБОУ ГМЦ ДОГМ³доктор технических наук, профессор,^{1,3}Московский политехнический университет**ПОЧВЕННАЯ МИКРОФЛОРА В КАЧЕСТВЕ АГЕНТА БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ****Аннотация**

В эксперименте был изучен процесс биodeградации парафинов в почве с использованием разработанного нами биореактора открытого типа с сателлитной мешалкой-аэратором. Контролем служила емкость равного биореактору объема с аналогичным количеством загрязненного торфогрунта, где механического перемешивания (аэрации) не происходило. В ходе эксперимента производились высевы для определения общего количества и состава нефтеокисляющей автохтонной микрофлоры. В работе использовался торфогрунт, искусственно загрязненный парафинами. В результате эксперимента было показано, что при незначительной разнице общего микробного числа относительно контроля в начале эксперимента, в конце эксперимента оно более чем в 1,5 раза выше в разработанном нами биореакторе.

Ключевые слова: биodeградация, ремедиация, почва, углеводороды, микроорганизмы, микроорганизмы-биодеструкторы, нефтеокисляющая микрофлора, нефтезагрязненные почвы, углеводородокисляющие микроорганизмы.

Zaborskaya O.Yu.¹, Zaborskaya A.Yu.², Kramm E.A.³.¹ORCID: 0000-0003-3206-3033, Postgraduate Student, ²ORCID: 0000-0003-1358-7958, PhD in Engineering,³ORCID: Absent, PhD in Engineering, Professor,²Sate Budget Educational Institution of the Moscow City of Additional Professional Education,^{1,3}Moscow Polytechnic University**SOIL MICROFLORA AS AN AGENT OF BIODEGRADATION OF OIL POLLUTANTS****Abstract**

In the course of the experiment, we studied the process of biodegradation of paraffin waxes in the soil using the open-type bioreactor developed by us with the help of a satellite stirrer-aerator. We used the capacity of a volume equal to the bioreactor with a similar amount of contaminated peat soil with no mechanical agitation (aeration) for control. During the experiment, sowings were made to determine the total amount and composition of the oil-oxidizing autochthonous microflora. We used peat and soil in our work, artificially contaminated with paraffin waxes. As a result of the experiment, it was shown that with a slight difference in the total microbial number relative to the control at the beginning of the experiment, it was more than 1.5 times higher in the bioreactor developed by us at the end of the experiment.

Keywords: biodegradation, remediation, soil, hydrocarbons, microorganisms, microorganisms-biodestructors, oil-oxidizing microflora, oil-contaminated soils, hydrocarbon-oxidizing microorganisms.

Продукты переработки нефти, как и сама нефть, при попадании на почвенные покровы оказывают негативное влияние на их общее экологическое состояние. Нарушается структура биоценозов, микроорганизмы, бактерии и животные, обитающие в почве, не могут полноценно выполнять свои функции под влиянием различных фракций нефти.

По уровню воздействия одно из ведущих мест среди различных видов деятельности человека на окружающую среду занимает нефтедобывающая промышленность.

Процесс бурения нефтяных скважин провоцирует появление ряда факторов, отрицательно влияющих на природу: химическое загрязнение почвенного покрова, вод и воздуха веществами и реагентами, применяемыми при бурении и получаемыми в процессе испытательных работ; физическое нарушение растительного и почвенного покрова; нарушение температурного, аэрационного и водного режима почв и грунтов.

Объекты разработки нефтяных месторождений включают в себя непосредственно скважины, хранилища и резервуары нефти, насосные станции, трубопроводы, аппараты подготовки нефти и прочие обслуживающие аппараты и сооружения. Следует заметить, что каждый из этих объектов является потенциально опасным источником загрязнения окружающей среды.

Транспортировка нефти и продуктов переработки осуществляется по трубопроводам, а также железнодорожным, автомобильным, воздушным и водным транспортом. Особое значение имеют случаи возникновения аварийных разливов, возникших в ходе нарушений деятельности различных элементов нефтедобывающего комплекса.

В первую очередь подвергаются загрязнению почвы, расположенные в непосредственной близости от предприятий, объектов жилищно-коммунального хозяйства, сельскохозяйственного сектора, транспортных коммуникаций, трубопроводов.

Одним из критериев состояния почвы является ее санитарное состояние – совокупность физико-химических, химических и биологических свойств почвы, которые обуславливают ее непосредственное влияние на здоровье человека и животных.

Для оценки степени загрязненности почв используются такие критерии, как ПДК (предельно-допустимая концентрация), ОДК (ориентировочно-допустимая концентрация) загрязняющих веществ в почве. Нормативы количества этих веществ в почвах, смежных средах, сельскохозяйственной продукции, а также общие показатели санитарного состояния почв определены ГОСТ 27593-88 и ГОСТ 17.4.2.01-81 соответственно.

Несмотря на то, что значение ПДК нефти и нефтепродуктов в почве не установлено, для незагрязненных почв массовая доля нефтепродуктов не должна превышать 0,1% согласно ГОСТ Р 54039-2010.

Очевидно, что вопрос охраны окружающей среды не может оставаться без внимания. Однако при оценке последствий загрязнений различного рода существует два подхода к решению проблемы. Первый заключается в резком ограничении любого вмешательства в природную среду во избежание тяжелых последствий в дальнейшем. Второй предполагает, что природа обладает достаточным потенциалом для самостоятельного восстановления, по крайней мере, при существующей степени загрязненности [3].

Глобальные последствия разливов нефти точно не известны. С одной стороны, разливы оказывают негативное воздействие в течение десятилетий, но с другой стороны экосистемы имеют огромный восстановительный потенциал.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмов, обитающих в почве, многие загрязняющие вещества претерпевают изменения. Процесс разложения загрязнителей осуществляется естественным путем и называется «биodeградация».

Разложение углеводов происходит под воздействием автохтонной почвенной микрофлоры.

Виды и группы микроорганизмов, способных окислять нефтепродукты, различают по возможности разлагать разные углеводороды в условиях различной кислотности и различного содержания кислорода [1].

Попадая в комфортные условия, микроорганизмы начинают активно размножаться и потреблять загрязнитель, поэтому численность микроорганизмов, разлагающих нефтепродукты определяется типом почвы, наличием грунтовых вод, климатом местности и многими другими факторами.

Спектр микроорганизмов, осуществляющих процесс биodeградации нефти в почве, включает в себя бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, дрожжи рода *Candida*, микромицеты *Fusarium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Penicillium*.

Ранее считалось, что микроорганизмы, которые используют компоненты нефти в качестве источника питания, существуют исключительно там, где есть непосредственные источники попадания нефтепродуктов в среду. Но многочисленные исследования показали, что подобные микроорганизмы распространены повсеместно и могут быть выделены практически из любой почвы, песка, осадка, пресной или соленой воды из природного источника.

На участках, никогда ранее не подвергавшиеся загрязнению нефтью и нефтепродуктами в пробах почвы и воды также обнаруживается значительное количество углеводородоокисляющих бактерий. Их видовой состав не разнообразен – в основном это представители рода *Pseudomonas*. Однако при создании благоприятных условий со временем развиваются весьма активные микробиоценозы.

Известно [12], что были проведены исследования процесса биологической очистки нефтезагрязненных почв в Арктических регионах с использованием различных биопрепаратов в естественных условиях, с искусственным поддержанием температуры почвы и аэрацией, и с использованием аборигенной микрофлоры в естественных условиях. Для интенсификации аборигенной микрофлоры вносились минеральные вещества. В исследовании применяли биопрепараты Микрозим Петро Трит, Деворойл, Родер. Проведенные исследования показали, что полная очистка почвы при внесении биопрепарата и начальном загрязнении нефтью 5% составляет от 3 до 4 лет. Полная очистка от нефтепродуктов с помощью автохтонной микрофлоры без интенсификации процесса кислородом происходит за 10-15 лет. Внесение минеральных веществ в загрязненную почву с целью стимулирования автохтонной микрофлоры не увеличивает скорость разложения нефтепродуктов.

В климатических условиях, характерных для средней полосы, где среднегодовая температура значительно ниже необходимых для активной жизнедеятельности большинства микроорганизмов актуально использование специальных аппаратов – биореакторов для осуществления процесса биологической очистки почвы. Данные аппараты, работающие на основе изъятия почвы, позволяют создавать наиболее благоприятные условия для осуществления и интенсификации естественного процесса восстановления почв или биоремедиации [2].

Вместе с этим, биореакторы дают возможность более полно изучить протекание процесса в лабораторных условиях.

Изучение состава нефтеокисляющей микрофлоры почвы

Целью эксперимента было изучение процесса биodeградации парафинов в почве с использованием разработанного нами биореактора открытого типа с сателлитной мешалкой-аэратором.

Задачи: определение общего количества и состава нефтеокисляющей автохтонной микрофлоры торфогрунта.

Для эксперимента был взят универсальный натуральный торфогрунт фирмы «Агроторф» (Ленинградская обл.). Торфогрунт, искусственно загрязненный парафинами, помещался в биореактор с мешалкой-аэратором. В качестве контроля использовалась аналогичное количество загрязненного торфогрунта, помещенного в емкость объемом равную биореактору, механического перемешивания не происходило. Пробы отбирались в начале эксперимента, через 1 час непрерывного перемешивания и через 24 часа от начала эксперимента.

Таблица 1 – Общее количество микроорганизмов (общее микробное число) в биореакторе и контрольном образце

Время, ч	Количество колоний в 1 г почвы, КОЕ/г почвы	
	Контроль	Биореактор
0	$1,1 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^5$
1	$4,24 \cdot 10^5$	$5,8 \cdot 10^5$
24	$6,2 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$

Высевы осуществлялись на питательные среды:

- МПА (мясопептонный агар);
- среда Чапека;
- крахмал-казеиновая среда.

Выводы:

1. Нефтеокисляющая микрофлора исследуемой почвы представлена микроорганизмами:
 - бактерии родов: *Pseudomonas*, *Rhodococcus*;
 - дрожжи рода *Candida*;
 - актиномицеты рода *Streptomyces*.
2. При незначительной разнице общего микробного числа (относительно контроля) в начале эксперимента, в конце эксперимента оно более чем в 1,5 раза выше в биореакторе.

Список литературы / References

1. Войно Л. И. Биодegradация нефтезагрязнений почв и акваторий / Войно Л. И. // *Фундаментальные исследования*. – 2006. – № 5. – с. 68-70.
2. Демьяненко А.Ф. Микробиологическая очистка грунтов от нефтепродуктов в закрытых биореакторах изотермического типа / Демьяненко А.Ф., Мизгирев Н.С. // *Вестник ВНИИЖТ*. – 2005 г. – №5. – с. 9-12.
3. Полозов М.Б. Учебно-методическое пособие «Экология нефтегазодобывающего комплекса» / Полозов М.Б. // Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет». – 2012 г. – 174 с.
4. РД 51-1-96. Инструкция по охране окружающей среды при строительстве скважин на суше на месторождениях углеводородов поликомпонентного состава, в том числе серосодержащих.
5. РД 39-133-94. Инструкция по охране окружающей среду при строительстве скважин на нефть и газ на суше.
6. РД 52.24.354-94. Методические указания. Организация и функционирование системы специальных наблюдений за состоянием поверхностных вод суши в районах разработки месторождений нефти, газа и газоконденсата.
7. ГОСТ 17.4.2.01-81. Охрана природы. Почвы. Номенклатура показателей санитарного состояния.
8. ГОСТ 17.4.3.04-85 Охрана природы. Почвы. Общие требования к контролю и охране от загрязнения.
9. ГОСТ 1510-84. Нефть и нефтепродукты. Маркировка, упаковка, транспортирование и хранение.
10. ГОСТ 27593-88. Почвы. Термины и определения.
11. ГОСТ 32640-2014. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды.
12. Витовский В.И. Разработка технологии биологической очистки наземных участков, загрязненных нефтепродуктами, в арктических условиях [Электронный ресурс]: краткий отчет ООО «НавЭкс» по проекту. – 2009. – 9 с. – Режим доступа: <http://www.microzym.ru/testarc.pdf>

Список литературы на английском языке / References in English

1. Vojno L. I. Biodegradacija neftezagrjaznenij pochv i akvatorij Fundamental'nye issledovanija [Biodegradation of petropollution of soils and water areas] / Vojno L. I. // *Basic researches*. – 2006. – № 5. – p. 68-70. [in Russian]
2. Demyanenko A.F. Mikrobiologicheskaya ochistka gruntov ot nefteproduktov v zakrytykh bioreaktorakh izotermicheskogo tipa [Microbiological purification of soil of oil products in the closed bioreactors of isothermal type] / Demyanenko A.F., Mizgirev N.S. // *The VNIIZhT Bulletin*. – 2005 г. – №5. – с. 9-12. [in Russian]
3. Polozov M. B. Uchebno-metodicheskoe posobie «Jekologija neftegazodobyvajushhego kompleksa» [Educational and methodical grant "Ecology of an oil and gas extraction complex"] / Polozov M. B. // *Izhevsk: Udmurt University publishing house*. – 2012. – 174 p. [in Russian]
4. CD 51-1-96. Instrukcija po ohrane okruzhajushhej sredy pri stroitel'stve skvazhin na sushe na mestorozhdenijah uglevodorodov polikomponentnogo sostava, v tom chisle serosoderzhashhih [The instruction for environmental protection at construction of wells on the land on fields of hydrocarbons of multicomponent structure, including sulfur-containing]. [in Russian]
5. CD 39-133-94. Instrukcija po ohrane okruzhajushhej sredy pri stroitel'stve skvazhin na neft' i gaz na sushe [The instruction for the protection surrounding the environment at construction of wells on oil and gas on the land]. [in Russian]
6. CD 52.24.354-94. Metodicheskie ukazaniya. Organizacija i funkcionirovanie sistemy special'nyh nabljudenij za sostojaniem poverhnostnyh vod sushi v rajonah razrabotki mestorozhdenij nefti, gaza i gazokondensata [Methodical instructions. The organization and functioning of system of special observations of a condition of a surface water of sushi in areas of development of oil fields, gas and gas condensate]. [in Russian]
7. GOST 17.4.2.01-81. Ohrana prirody. Pochvy. Nomenklatura pokazatelej sanitarnogo sostojanija [Natural conservation. Soils. Product indicators of a sanitary state]. [in Russian]
8. GOST 17.4.3.04-85. Ohrana prirody. Pochvy. Obshhie trebovanija k kontrolju i ohrane ot zagrjaznenija [Natural conservation. Soils. The general requirements to control and protection from pollution]. [in Russian]
9. GOST 1510-84. Neft' i nefteprodukty. Markirovka, upakovka, transportirovanie i hranenie [Oil and oil products. Marking, packing, transportation and storage]. [in Russian]
10. GOST 27593-88. Pochvy. Terminy i opredelenija [Soils. Terms and definitions]. [in Russian]
11. GOST 32640-2014. Metody ispytanij himicheskoj produkcii, predstavljajushhej opasnost' dlja okruzhajushhej sredy [Test methods of the chemical production constituting danger to the environment]. [in Russian]
12. Vitovsky V.I. Razrabotka tekhnologii biologicheskoy ochistki nazemnykh uchastkov, zagryaznennykh nefteproduktami, v arkticheskikh usloviyakh [Development of technology of biological cleaning of the onshore sections polluted by oil products in the Arctic conditions] [Electronic resource]: the summary record of LLC Naveks on the project. – 2009. – 9 p. – The access mode: <http://www.microzym.ru/testarc.pdf> [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.018>Зайнетдинова А.Т.¹, Шамратова В.Г.², Шарафутдинова Л.А.³¹Магистр, ²доктор биологических наук, профессор, ³кандидат биологических наук, доцент,^{1,2,3}Башкирский государственный университет.**РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА****Аннотация**

Увеличение использования наночастиц TiO_2 в различных областях, а как следствие и его потребления, диктует необходимость изучения его воздействия на организм человека. Наночастицы диоксида титана могут проникать в организм пероральным и интраназальным путем, а также через кожный эпителий, однако в любом случае первым уровнем взаимодействия являются клеточные мембраны. Данное исследование, проведенное на модели мембран эритроцитов методом кислотных эритрограмм, выявило токсический эффект исследуемых наночастиц на 15-е сутки эксперимента с восстановлением функции мембран на 30-е сутки. Эти изменения коррелировали с общим количеством эритроцитов.

Ключевые слова: диоксид титана, наноматериалы, мембраны, эритроциты.

Zaynetdinova A.T.¹, Shamratova V.G.², Sharafutdinova L.A.³¹Master's degree; ²PhD in Biology, Professor; ³PhD in Biology, Professor, Associate professor, Bashkir State University.**RESISTANCE OF RAT RED CELL MEMBRANES UNDER CONDITIONS OF LONG-TERM EFFECT OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES****Abstract**

Increasing the usage of the nanoparticles in various areas, and its consumption as a consequence, leads to the need of study its effects on the human body. Nanoparticles of titanium dioxide can penetrate into the body by oral and intranasal route, as well as through the dermic epithelium, however in any case the cell membranes are the first level of interaction. This study, was performed on a model of erythrocyte membranes by the method of acid erythrograms, and revealed a toxic effect of the investigated nanoparticles on the 15th day of the experiment with the membrane functions recovery on the 30th day. These changes were correlated with the total number of red cells.

Keywords: titanium dioxide, nanomaterials, membranes, red cell.

Введение. В настоящее время диоксид титана (TiO_2) входит в число самых изготавливаемых и часто используемых веществ [6, С. 1097], [9, С. 8]. Широкий спектр использования TiO_2 в качестве отбеливателя наблюдается в таких отраслях промышленности как пищевая, косметическая и фармацевтическая [5, С. 580]. В последнее время возрастает использование TiO_2 в качестве наночастиц (НЧ), производство которых увеличивается с каждым годом. Вследствие этого многие источники НЧ TiO_2 могут привести к увеличению их поступления в организм человека [10, С. 5].

Многочисленные исследования указывают на то, что НЧ TiO_2 могут оказывать канцерогенное влияние на органы желудочно-кишечного тракта, печень, альвеолярную систему легких, а также на систему крови [1, С. 7]. Существуют исследования, установившие возможность НЧ TiO_2 проникать в клетки, связываться с белками и индуцировать повреждения ДНК [6, С. 1099], [7, С. 6461]. Однако сравнительный анализ различных исследований выявляет неоднозначность результатов. Так как мембраны являются мишенью экзогенных веществ [4, С.31], изучение влияния НЧ TiO_2 на эритроцитарные мембраны, являющиеся классическим примером структурной организации, свойств и стабильности всех клеточных мембран [8, С. 3628], вызывает научный интерес.

Материалы и методы. Исследование выполнено in vivo на половозрелых самках крыс линии Wistar с исходной массой 180-210 грамм. Крысам экспериментальной группы (n=14) однократно в утренние часы «per os» в течение 30 дней вводился водный раствор НЧ TiO_2 . Расчет индивидуальной дозы производился исходя из соотношения 50 мг/кг массы тела животного. Забор капиллярной крови производился из кончика хвоста крыс на 15-е и 30-е сутки эксперимента. При работе с животными полностью соблюдались международные принципы Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным (2000 год).

Влияние на структурно-функциональные свойства мембран эритроцитов оценивали методом кислотных эритрограмм по Гительзону [2, С.157]. Принцип метода основан на фотоэлектрической регистрации кинетики гемолиза, который развивается под действием кислоты во времени (измерения фиксировались каждые 30 сек). По результатам расчетов строятся дифференциальные кривые распределения эритроцитов, анализ которых проводится по таким показателям как общая продолжительность гемолиза, время начала и окончания, а также время, приходящееся на пик гемолиза [3, С. 153]. По эритрограммам рассчитывались доли клеточных популяций, разрушающихся в интервалах: 0 – 1,5 мин. (низкостойкая); 1,5 – 3 мин. (среднестойкая); от 3 мин. до 4,5 (высокостойкая) и от 4,5 до окончания гемолиза (повышенной стойкости). Количество эритроцитов определяли с помощью автоматического ветеринарного гематологического анализатора Abacus Junion VET.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ «Statistica 10.0» и программного пакета «MS Excel 2010». Статистическая значимость различий исследуемых показателей оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$. Для установления взаимосвязей между показателями кинетики гемолиза и общим количеством эритроцитов был проведен корреляционный анализ.

Результаты исследования. Кислотные эритрограммы по показателям контрольной группы и группы животных, подвергнутых хроническому воздействию НЧ TiO_2 на 15-е и на 30-е сутки эксперимента, представлены на рис. 1.

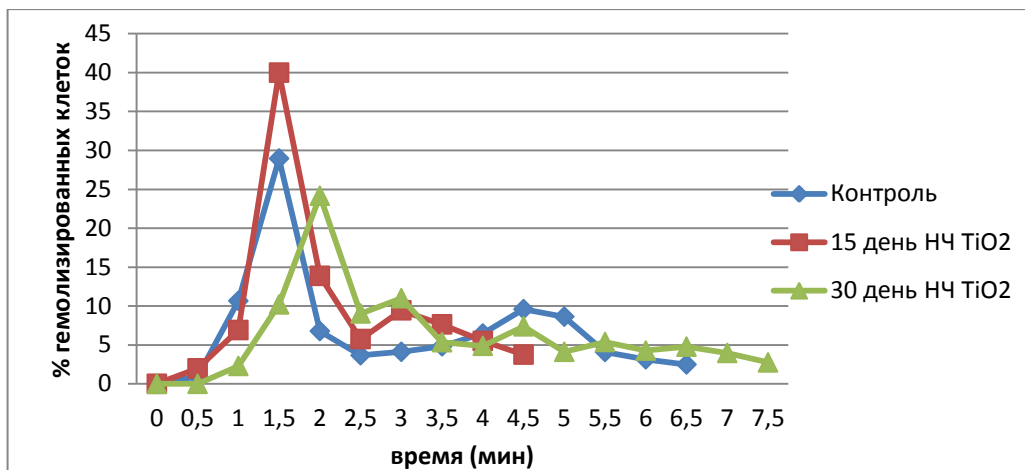


Рис. 1 – Эритрограммы кислотной резистентности в контроле и под влиянием TiO2 in vivo

Контрольная эритрограмма имеет выраженный главный пик, приходящийся на $1,4 \pm 0,39$ мин., с небольшой вершиной в области высокоустойчивых эритроцитов. Продолжительность гемолиза составляет $6,5 \pm 0,39$ мин. Анализ кривой на 15-е сутки эксперимента демонстрирует, что пик приходится на $1,5 \pm 0,10$ мин., что практически соответствует контрольным значениям, однако продолжительность гемолиза составляет $3,1 \pm 0,10$ мин (47,7% от контрольного значения). Таким образом, гемолиз эритроцитов на 15-е сутки эксперимента идет гораздо интенсивнее, чем в контроле. Кривая кинетики кислотного гемолиза на 30-е сутки эксперимента сдвинута вправо, вершина приходится на $2,07 \pm 0,17$ мин., а продолжительность составляет $6,92 \pm 0,45$ мин., что свидетельствует о восстановлении стабильности мембран.

Для общей оценки влияния TiO2 на резистентность эритроцитов были построены интегральные кривые для расчета медианы распределения (рис.2), характеризующей время разрушения половины эритроцитов. Достоверность кривых оценивалась коэффициентом детерминации R^2 , который в среднем оказался равен 0,98.

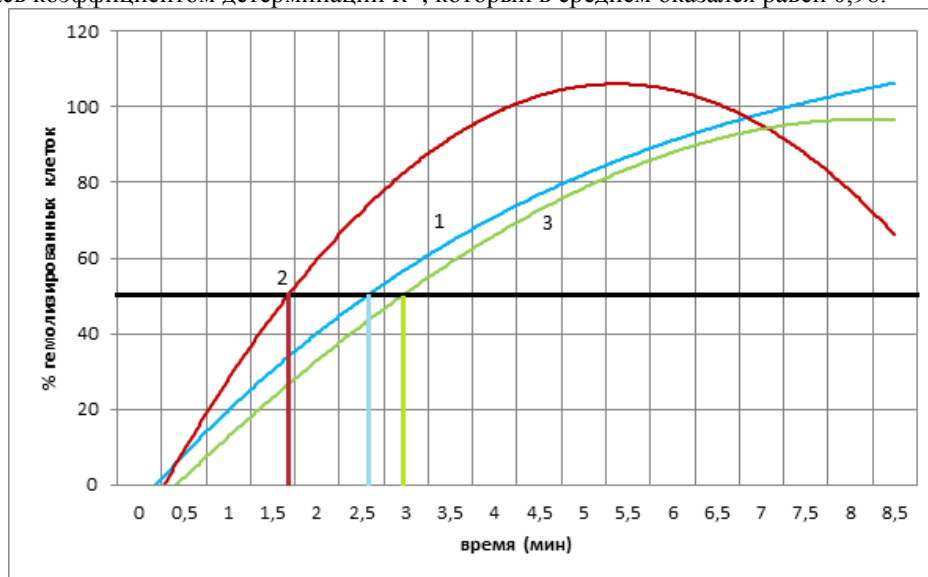


Рис. 2 – Интегральные кривые. 1- контроль, 2 – 15-е сутки, 3 – 30-е сутки эксперимента

Медиана распределения в контроле приходится на $2,56 \pm 0,15$ мин, на 15-е сутки опыта – на $1,73 \pm 0,11$ мин, а на 30-е сутки – на $3,13 \pm 0,25$ мин. Из этого следует, что 50 % клеток гораздо быстрее разрушаются на 15-е сутки эксперимента, а на 30-е сутки время разрушения половины клеток увеличивается не только по отношению к 15-м суткам, но и по отношению к контролю.

В табл. 1 отражено процентное соотношение популяций эритроцитов в контрольной и в опытной группах.

Таблица 1 – Процентное соотношение популяций эритроцитов с разной устойчивостью к кислотному гемолизу в контрольной и опытной группах

Показатели	Контроль	15 день	30 день
Низкостойкая популяция, %	$37,10 \pm 6,30$	$44,65 \pm 8,92^*$	$12,50 \pm 3,37^* \Delta$
Среднестойкая популяция, %	$17,19 \pm 3,1$	$39,39 \pm 7,62^*$	$44,79 \pm 3,1^* \Delta$
Высокостойкая популяция, %	$20,88 \pm 4,55$	$15,99 \pm 3,19^*$	$17,62 \pm 4,05$
Популяция повыш. стойкости, %	$23,50 \pm 5,05$	0	$25,66 \pm 5,83^* \Delta$

Примечание: * - статистически значимые отличия в отношении контроля ($p < 0,05$), Δ - статистические значимые отличия по срокам эксперимента ($p < 0,05$)

Полученные данные свидетельствуют о том, что на 15-е сутки под влиянием НЧ TiO_2 повышается доля низкостойкой популяции эритроцитов, при этом отсутствуют клетки с повышенной стойкостью. Однако на 30-е сутки наблюдается значительное снижение доли низкостойкой популяции как в отношении контроля, так показателей на 15-е сутки, при этом возрастает доля среднестойкой популяции эритроцитов.

Согласно приведенным данным, стабильность мембран эритроцитов под воздействием наночастиц TiO_2 на 15-е сутки существенно снижается. Однако на 30-е сутки наблюдается восстановление показателей кинетики гемолиза, а также снижение доли низкостойкой популяции клеток.

Мембранотропное действие НЧ TiO_2 подтвердило определение общего количества эритроцитов, которое достоверно снижалась на 15-е сутки ($6,97 \pm 0,11 \cdot 10^{12}/л$) и восстанавливалась на 30-е сутки ($7,80 \pm 0,17 \cdot 10^{12}/л$) относительно значений контроля ($7,92 \pm 0,16 \cdot 10^{12}/л$). Для установления связи общего количества эритроцитов с медианой распределения и с продолжительностью гемолиза, был проведен корреляционный анализ, согласно которому между показателями существует тесная связь: $r_1=0,66$ и $r_2=0,58$. Исходя из этого, можно заключить, что обнаруженное на 15-е сутки уменьшение числа эритроцитов в сосудистом русле обусловлено, главным образом, снижением их резистентности. Очевидно, негативное влияние НЧ на красную кровь опосредовано влиянием на структурно-функциональные свойства мембран. Об этом также свидетельствует восстановление численности эритроцитов по мере стабилизации мембран на 30-е сутки.

Список литературы / References

1. Аляхнович Н.С. Распространенность, применение и патологические эффекты диоксида титана / Н.С. Аляхнович, Д.К. Новиков // Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №2. – С. 7–16.
2. Гительзон И. И., Эритрограммы как метод клинического исследования крови / И. И. Гительзон, И. А. Терсков. – Красноярск. – 1959. – 387 с.
3. Игнатьев В.К. Анализатор стойкости эритроцитов / В.К. Игнатьев, А.В. Никитин, С.В. Храмов // Вестник ВолГУ. – 2010. – №13. – С. 151 – 157.
4. Нигматуллина А. А. Сравнительная оценка влияния *in vitro* и *in vivo* наночастиц диоксида титана на резистентность мембран эритроцитов. / А.А. Нигматуллина Д. М. Нигматуллина // НИЦ Аэтерна. – 2016. – Ч.3, №3. – С. 31–34.
5. Фатхутдинова Л.М. Токсичность искусственных наночастиц / Л.М. Фатхутдинова, Т.О. Халиуллин, Р.Р. Залялов // Казанский медицинский журнал. – 2009. – том 90, № 4. – С. 578 – 574.
6. Ghosha M. Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells *in vitro* / M. Ghosha, A. Chakraborty, A. Mukherjee // Applied Toxicology. – 2013. – № 33. – P. 1097 – 1110.
7. Markov D.E. Human erythrocytes as nanoparticle carriers for magnetic particle imaging / D. E. Markov, H. Boeve, B. Gleich, J. Borgert et al. // Physics in medicine and biology. – 2010. – № 55. – P. 6461 – 6473
8. Li S.Q. Nanotoxicity of TiO_2 nanoparticles to erythrocyte *in vitro* / S.Q. Li, R.R. Zhu, H. Zhu // Food Chem. Toxicol. – 2008. – №46 (12). – P. 3626 – 3631.
9. Salomon M. Risks of synthetic nanomaterials for human health / M. Salomon // Umweltmedizin in Forschung und Praxis. – 2009. – Vol. 14, № 1. – P. 7–22.
10. Weir A. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products / A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. Goetz // NIH-PA Author Manuscript. – 2012. – № 46 (4). – P. 4 – 20.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Aljahnovich N.S. Rasprostranennost', primenenie i patologicheskie jeffekty dioksida titana [Prevalence, use and pathological effects of titanium dioxide] / R.S. Aljahnovich, D.K. Novikov // Vestnik VGMU [VSMU Bulletin]. – 2016. – V. 15, № 2. – P. 7–16. [in Russian]
2. Gitel'zon I.I., Jeritrogrammy kak metod klinicheskogo issledovaniya krovi [Erythrograms as a method of clinical blood test] / I. I. Gitel'zon, I.A. Tereskov. – Krasnojarsk. – 1959. – P 387. [in Russian]
3. Ignat'ev V.K. Analizator stojkosti jeritrocitov [Analyzer erythrocyte resistance] / V.K. Ignat'ev, A.V. Nikitin, S.V. Hramov // Vesnik VolGU [Bulletin of the Volgograd State University]. – 2010. – № 3. – P. 151 – 157.
4. Nigmatullina A.A. Sravnitel'naja ocenka vlijaniya *in vitro* i *in vivo* nanochastich dioksida titana na rezistentnost' membran jeritrocitov [Comparative evaluation of influence *in vitro* and *in vivo* titanium dioxide nanoparticles on erythrocyte resistance membranes]. / A.A. Nigmatullina, D.M. Nigmatullina // NIC Ajeterna [Scientific publishing center Ajeterna], V. 3. - 2016. – № 3. – P. 31–34. [in Russian]
5. Fathutdinova L.M. Toksichnost' iskusstvennyh nanochastich [Toxicity of artificial nanoparticles] / L.M. Fathutdinova, T.O. Haliullin, R.R. Zaljalov // Kazanskij medicinskij zhurnal [Kazan Medical Journal]. – 2009. V. 90, №4. – P. 578 – 574. [in Russian]
6. Ghosha M. Cytotoxic, genotoxic and the hemolytic effect of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles on human erythrocyte and lymphocyte cells *in vitro* / M. Ghosha, A. Chakraborty, A. Mukherjee // Applied Toxicology. – 2013. – № 33. – P. 1097 – 1110.
7. Markov D.E. Human erythrocytes as nanoparticle carriers for magnetic particle imaging / D. E. Markov, H. Boeve, B. Gleich, J. Borgert et al. // Physics in medicine and biology. – 2010. – № 55. – P. 6461 – 6473.
8. Li S.Q. Nanotoxicity of TiO_2 nanoparticles to erythrocyte *in vitro* / S.Q. Li, R.R. Zhu, H. Zhu // Food Chem. Toxicol. – 2008. – № 46 (12). – P. 3626 – 3631.
9. Salomon M. Risks of synthetic nanomaterials for human health / M. Salomon // Umweltmedizin in Forschung und Praxis. – 2009. – Vol. 14, № 1. – P. 7–22.
10. Weir A. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products / A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, N. Goetz // NIH-PA Author Manuscript. – 2012. – № 46 (4). – P. 4 – 20.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.010>

Ибрагимова К.И.

Аспирант,

Азербайджанский Государственный Педагогический Университет в г. Баку

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ В ПЕРИОД ОРГАНОГЕНЕЗА ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ НА ОБМЕН ГАМК В СТРУКТУРАХ ЦНС У ТРЕХМЕСЯЧНЫХ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗА*Аннотация*

Целью данной работы было изучение обмена ГАМК (содержание ГАМК, Глу и Асп, активность ГДК и ГАМК-Т) в митохондриальных фракциях различных структур головного мозга у потомства крыс, перенесших пищевую депривацию в период органогенеза.

После пищевой депривации матери в период органогенеза происходит значительное изменение обмена ГАМК в митохондриях коры больших полушарий мозга, мозжечка, ствола мозга и гипоталамуса у 3-месячных крыс. Голодание в период органогенеза как специфический и неспецифический фактор влияет на обмен ГАМК в митохондриях структур ЦНС мозга у 3-месячных крыс.

Ключевые слова: гамма-аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутаматдекарбоксилаза, ГАМК-трансаминаза, пищевая депривация, голодания.

Ibragimova K.I.

Postgraduate student,

Azerbaijan State Pedagogical University in Baku

INFLUENCE OF FOOD DEPRIVATION IN ORGANOGENESIS PERIOD OF PRENATAL DEVELOPMENT FOR EXCHANGE OF GABA IN CNS STRUCTURES OF THREE MONTH RATS IN POSTNATAL ONTOGENESIS*Abstract*

The aim of this work was to study the exchange of GABA (GABA, Glu and Asp content, GAD and GABA-T activity) in mitochondrial fractions of various brain structures in offspring of rats who underwent food deprivation during organogenesis. After food deprivation of mother during organogenesis there is a significant change in GABA metabolism in mitochondria of cortex, cerebral hemispheres, cerebellum, brainstem and hypothalamus in 3-month-old rats. Starvation during organogenesis as a specific and nonspecific factor affects the exchange of GABA in the mitochondria of CNS brain structures in 3-month-old rats.

Keywords: gamma-aminobutyric acid, glutamic acid, aspartic acid, glutamate decarboxylase, GABA transaminase, food deprivation, starvation.

Энергообеспечение лежит в основе адаптивных процессов организма для поддержания оптимального функционирования его систем в экстремальных условиях.

Согласно данным литературы, при голодании – особом процессе адаптации организма к эндогенному питанию – происходит выраженные изменения в активности различных ферментов [1], [2]. Установлено, что в различные сроки голодания в организме взрослых животных существенные изменения претерпевают медиаторные системы, особенно активность ферментов, участвующих в обмене ацетилхолина, норадреналина, адреналина, дофамина, серотонина, глутаминовой, аспарагиновой и гамма-аминомасляной кислот (Глу, Асп, ГАМК) [3], [4], [5].

Содержание свободных Глу, Асп и ГАМК, а также активность глутаматдекарбоксилазы (ГДК) и ГАМК-трансаминазы (ГАМК-Т) на тканевом и субклеточном уровнях в лимбической коре, гиппокампе, амигдале и ретикулярной формации среднего мозга в различные сроки голодания у трехмесячных и годовалых собак подвергается более глубоким изменениям, особенно после 20-суточного голодания [6].

Согласно учению П.Г.Светлова, пренатальный период развития разделяется на «критические периоды». В различные периоды пренатального развития происходит детерминация и дифференцировка клеток, что определяет восприимчивость к воздействующим факторам и уровень репаративных возможностей. После воздействия неблагоприятных факторов в предимплантационный период отмечается высокий уровень гибели зародышей, а в постимплантационный период часто наблюдаются нарушения нормального развития [7].

Показано, что воздействие стрессорных факторов в пренатальном периоде развития приводит к дезорганизации генетически детерминированной миграции клеток, при этом отмечается различная чувствительность разных участков герминальной зоны в различные критические периоды внутриутробного развития. Выявлено нарушение четкой организации слоев коры, нарушение пропорции нейронов и глии в слоях [8].

Голодание во внутриутробном периоде может способствовать развитию отдаленных метаболических нарушений [9].

Исходя из вышесказанного, целью данной работы было изучение обмена ГАМК в митохондриях структур головного мозга у потомства крыс, перенесших пищевую депривацию в период органогенеза.

Материалы и методы

Все эксперименты выполнены с соблюдением принципов международной декларации Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) о защите животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

Эксперименты были проведены на белых крысах линии Вистар. Для опытов брали 16 особей самок крыс в возрасте шести месяцев. В течение всего периода эксперимента крыс содержали в стандартных условиях вивария.

Экспериментальные крысы были разделены на следующие группы:

а) контрольная группа - в качестве контроля использовали потомство интактных самок, которых выращивали в виварии при обычном питании,

б) опытная группа - самок крыс подвергали влиянию пищевой депривации на 9-15 дни беременности (соответствует периоду органогенеза) при свободном доступе к воде. Первый день беременности определяли согласно соответствующей методике [10].

Полученное потомство контрольных и опытных крыс использовалось в опытах в возрасте 3 месяца (период половозрелости) (всего 60 особей). Животных забивали путем мгновенной декапитации. Головной мозг крысы извлекали в течение 3-4 минут и помещали на лед. Структуры головного мозга - кора больших полушарий головного мозга, мозжечок, ствол мозга и гипоталамус идентифицировали по атласам мозга крысы [11].

После обработки ткани мозга (кора больших полушарий головного мозга, мозжечок, ствол мозга и гипоталамус) [12], [13] содержание аминокислот определяли методом электрофореза на бумаге [14] у интактных и опытных 3-месячных крыс. Об активности ферментов ГДК [15] и ГАМК-Т [16] в митохондриальных фракциях судили по увеличению ГАМК и Глу во время инкубирования с Глу (вместе с α -кетоглутаратом) и с ГАМК соответственно в течение 30 минут при температуре 37⁰С в атмосфере азота и выражали в мкмоль глутамата и ГАМК, образовавшихся в грамме свежей ткани за час инкубирования (мкмоль/г.ч).

Исходную митохондриальную фракцию из отделов мозга выделяли по методу Сомогьи и Фонью [17].

Обработка полученных данных проводилась в программе Origin Pro 7.0. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета анализа программы Excel-2007. Данные представлены в виде средней арифметической величины (М) \pm стандартная ошибка средней (m). Оценка значимости различий данных между контрольными и опытными группами проводилась с использованием t критерия Стьюдента при соответствии сравниваемых выборок закону нормального распределения. При значениях $p < 0,05$ различия считались достоверными.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных опытов показали, что у 3-месячных крыс после пищевой депривации матери в период органогенеза содержание ГАМК в митохондриальных фракциях коры больших полушарий, мозжечка, ствола мозга и гипоталамуса увеличивается на 18% ($p < 0,05$), 24% ($p < 0,01$), 22% ($p < 0,01$), 29% ($p < 0,01$), по сравнению с контролем (рис. 1).

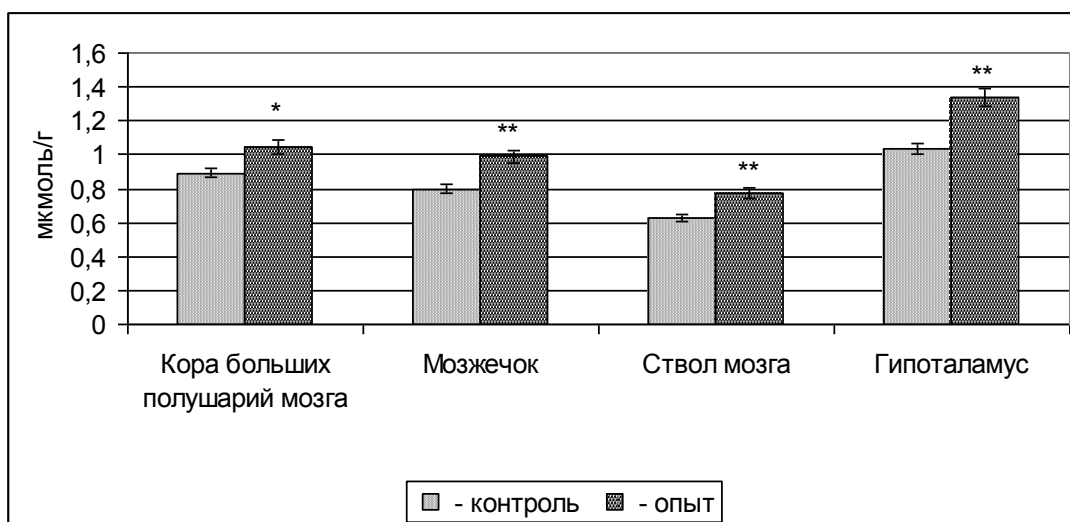


Рис. 1 – Изменение содержания ГАМК в митохондриальных фракциях структур головного мозга 3-месячных крыс при пренатальной (в период органогенеза) пищевой депривации ($M \pm m$, $n=5$)

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

Содержание свободной Глу в митохондриальных фракциях избранных структур ЦНС после внутриутробной пищевой депривации, в отличие от содержания ГАМК, уменьшается: в коре больших полушарий – 13% ($p > 0,05$), мозжечке – 9% ($p > 0,05$), стволе мозга – 17% ($p < 0,01$), гипоталамусе – 23% ($p < 0,01$) (рис. 2).

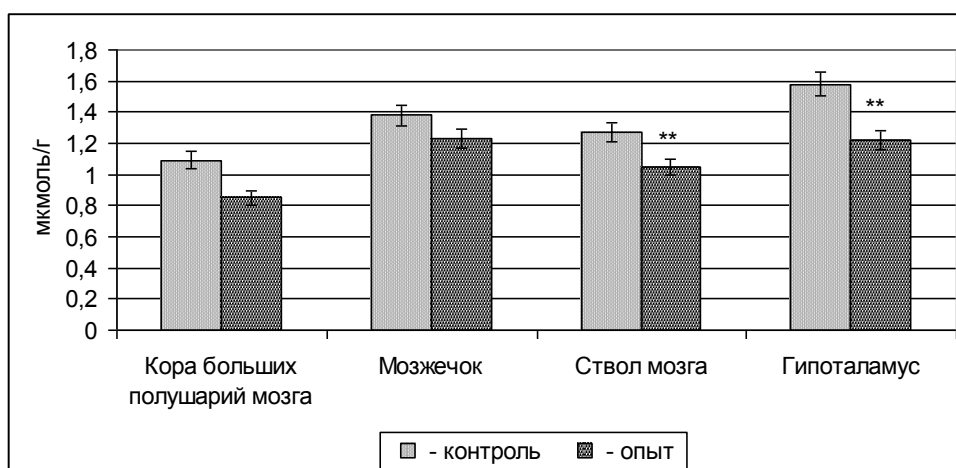


Рис. 2 – Изменение содержания Глу в митохондриальных фракциях структур головного мозга 3-месячных крыс при пренатальной (в период органогенеза) пищевой депривации ($M \pm m$, $n=5$)

Примечание: ** - $p < 0,01$.

При этом содержание Асп у 3-месячных крыс в митохондриальных фракциях коры больших полушарий уменьшается на 12% ($p>0,05$), мозжечка - 10% ($p>0,05$), ствола мозга - 15% ($p<0,05$) и гипоталамуса - 26% ($p<0,001$) (рис. 3).



Рис. 3 – Изменение содержания Асп в митохондриальных фракциях структур головного мозга 3-месячных крыс при пренатальной (в период органогенеза) пищевой депривации ($M\pm m$, $n=5$)

Примечание: * - $p<0,05$; *** - $p<0,001$.

Как видно из полученных данных, увеличение содержания ГАМК происходит за счет повышения ГДК и понижения ГАМК-Т в различных структурах головного мозга 3-месячных крыс в указанных условиях (таб.). Мы можем отметить, что влияние голодания на гипоталамические аминергические системы в целом выражено сильнее.

Таблица 2 – Изменение активности ГДК и ГАМК-Т в митохондриальных фракциях структур головного мозга 3-месячных крыс при пренатальной (в период органогенеза) пищевой депривации ($M\pm m$, $n=5$)

Области мозга	Группы	ГДК (мкмоль ГАМК/г. час)	ГАМК-Т (мкмоль Глу/г. час)
Кора больших полушарий мозга	Контроль	19,83±0,88	25,12±1,05
	Опыт	22,23±1,00	22,11±0,96
	%	112	88
	P	>0,05	>0,05
Мозжечок	Контроль	25,17±1,08	27,63±1,05
	Опыт	30,51±1,46	23,76±1,13
	%	121	86
	P	<0,05	<0,05
Ствол мозга	Контроль	16,11±0,78	18,95±0,76
	Опыт	20,68±1,06	15,75±0,55
	%	128	83
	P	<0,01	<0,01
Гипоталамус	Контроль	37,87±1,53	40,79±1,71
	Опыт	52,70±1,91	31,81±1,24
	P	<0,001	<0,01
	%	139	78

Успехи в изучении организации пищевого центра, и в особенности его гипоталамических отделов, привели к предположению о состоянии голода и сытости, а первичные стимулы в этих процессах зависят от наличия в гипоталамусе специализированных рецепторов, чувствительных к концентрации глюкозы в крови [18]. Эти авторы [19] отмечают, что на уровне гипоталамических ядер (паравентрикулярное ядро (PVN), габулярное ядро HL, вентримедиальное ядро (VM), мамиллярное медиальное ядро (MM)) имеются глюкозочувствительные нейроны, под контролем которых находится «уровень потребления глюкозы», тесно связанный с ГАМК, которые оказывают влияние на уровень потребления глюкозы нейронами гипоталамических ядер. Также известно, что около 70% всей глюкозы, поступающей с пищей, утилизируется мозгом, составляющим всего 2-2,5% массы тела [20].

Мы считаем, что на уровне гипоталамуса взаимодействие нервных и гормональных регуляторных механизмов более выражено, может проявлять себя в виде адаптивно-компенсаторных реакций в нейронах на модели нарушения энергетического (при голодании) гомеостаза.

В период беременности организм матери отдает значительную часть пластических и энергетических ресурсов развивающемуся потомству. Дефицит этих ресурсов восполняется за счет повышения потребления пищи [21].

ГАМК участвует во многих метаболических превращениях, из которых наибольшее значение имеют связанные с обменом дикарбоновых аминокислот и глюкозы [22].

Большинство нейромедиаторных систем, в том числе ферментные, рецепторные и транспортные системы, интенсивно развиваются в течение пренатального периода развития мозга. При этом нейротрансмиттеры имеют также другую роль в развитии мозга в дополнение к нейротрансмиссии. На это указывает – появление ГАМК, ГДК и ГАМК-рецепторов еще до начала развития ГАМК-ергических синапсов [23], [24]; связь мускариновых и метаболитных

глутаматных рецепторов с фосфолипазой C системы сигнальной трансдукции [25], а также переходные сверхэкспрессии NMDA-рецепторов глутамата или дофамина на определенных стадиях развития [26].

Эффект действия тормозных нейромедиаторов ГАМК и глицина инвертируется в течение эмбриогенеза, т.е. в развивающемся мозге основные тормозящие аминокислоты являются возбуждающими, т.е. деполяризующими, только после рождения становятся ингибирующими, что связано с переходом от высокого к низкому содержанию Cl⁻ в нервных клетках. Это имеет важное значение для становления нейронных сетей в раннем онтогенезе. Деполяризующая, т.е. возбуждающая, активность ГАМК в предшественниках нервных клеток контролирует деление клеток, способствует миграции и созреванию нейронов [27].

Пищевая депривация в период органогенеза вызывает нарушение баланса между ГАМК и Глут. ГАМК как одна из стресс-лимитирующей системы [28] активирует адаптацию к пищевой депривации.

В заключение можно заметить, что после пищевой депривации беременных крыс ГАМК как медиатор торможения активно участвует в реализации механизма адаптации и развития компенсаторных процессов в ЦНС.

Список литературы / References

1. Markovska-Gosic B. The influence of starvation and water deprivation upon certain serum enzyme activity in chicks in the first week after hatching / B. Markovska-Gosic, A. Dodovski, V. Stojkovski and others // Macedonian veterinary review. – 2009. – Vol. 32. – № 2. – P. 11-22.
2. Swaiman K. F. The effect of food deprivation on enzyme activity in developing brain / K. F. Swaiman, N. D. Jeanne, R. N. Wolfe J. // Neurochem. – 1970. – Vol. 17. – № 9. – P. 1387-1391.
3. Amer A. 5-Hydroxy-l-tryptophan suppresses food intake in food deprived and stressed rat / A. Amer, J. Breu, J. McDermitt and others // Pharmacology, biochemistry and behavior, – 2004. – Vol. 77. – P. 137-143.
4. Ko K. I. Starvation promotes concerted modulation of appetitive olfactory behavior via parallel neuromodulatory circuits / I. K. Ko, C. M. Root, Lindsay S. A. and others // eLife 2015. – № 4. – e088298. –17 P. doi: 10.7554/eLife.08298
5. Kristophe J. K. Effect of food deprivation and hormones of glucose homeostasis on the acetyl CoA carboxylase activity in mouse brain: a potential role of acc in the regulation of energy balance / J. K. Kristophe, C. John, K. Karthik and others // Nutrition & Metabolism. – 2006. – Vol. 3. – № 15. – 9 P. doi: 10.186/1743-7075-3-15
6. Фараджев А. Н. Возрастные особенности обмена дикарбоновых аминокислот и ГАМК в лимбической системе мозга собак постнатальном онтогенезе и в условиях голодания. Автореф. ... докт. биол. наук /А. Н. Фараджев - Тбилиси. - 1990 - 47 С.
7. Пучков В. Ф. Учение П.Г.Светлова о критических периодах развития и его значение для современной эмбриологии / В. Ф. Пучков // Морфология. - 1993. – Т. 105. – № 11. – С. 147-158.
8. Кассиль В. Г. Критические периоды развития головного мозга / В. Г. Кассиль, В. А. Отеллин, Л. И. Хожай и др. // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2000. Т. 86. – С. 1418-1425.
9. Могучая Е. В. Голодание в начале жизни – возможное влияние на дальнейшее здоровье. Клинический случай / Е. В. Могучая, О. П. Ротарь, А. О. Конради //Артериальная гипертензия. – 2015. – Т.21 - № 6. - С. 639-645.
10. Западнюк И. П. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария - Киев: Медгиз УССР. – 1962.- 350 с.
11. Pellegrino L. J. A stereotaxic atlas of the rat brain / L. J. Pellegrino, A. S. Pellegrino, A. J. Cushman // Plenum Press, N.Y. – 1979. – 122 P.
12. Robert E. Gamma-aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid / E. Robert, S. Frankel // J.Biol. Chem. – 1950. – Vol. 187. – №1. - P. 55-63.
13. Shatunova N. F. On the intracellular localization of glutamate decarboxylase and gamma-aminobutyric acid in mammalian brain / N. F. Shatunova, I. A. Sytinsky // J. Neurochem. - 1964. – Vol. 11. - P. 701-708.
14. Doze K. Die Anwendung der Hochspannungssphographie bei der quantitativen Totalanalyse von Proteinhydrolysaten / K. Doze // Mittell. Biochem. Z. – 1957. – Vol. 329. – № 2. – P. 390-398.
15. Sytinsky I. A. Effect of certain drugs on gamma-aminobutyric acid system on central nervous system / I. A. Sytinsky, T. N. Priyatkina // Biochem. Pharmacol. – 1966. – Vol. 115. – № 1 - P. 49-57.
16. Нилова Н. С. Аммиак и ГАМК-трансаминазная активность ткани головного мозга / Н. С. Нилова // Докл. АН СССР. – 1966. - Т. 2. - С. 483-486.
17. Somogyi J. Preparation of brain mitochondria / J. Somogyi, A. Fonjo, I. Vincze // Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. – 1962. Vol. 21. - P. 295-300.
18. Leibowitz S. F. Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions / S. F. Leibowitz, K. E. Wortley // Peptides. – 2004. – Vol. 25. – № 3 - P. 473-504.
19. Vong L. Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons / L. Vong, C. Ye, Z. Yang and others // Neuron. – Vol. 1. - № 71. - P. 142-154.
20. Eun R. Brain regulation of energy metabolism / R. Eun, K. Min-Seon // Endocrinol Metab. – 2016. – Vol. 31. - P. 519-524.
21. Augustine R. A. From feeding one to feeding many: hormone-induced changes in bodyweight homeostasis during pregnancy / R. A. Augustine, S. R. Ladyman, D. R. Grattan // J. Physiol. – 2008. – Vol. 586. - № 2 - P. 387-397.
22. Tong Q. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance / Q. Tong, C. P. Ye, J. E. Jones and others // Nat. Neurosci. – 2008. - № 11. - P. 998-1000.
23. Costa L. G. Structural effects and neurofunctional sequelae of developmental exposure to psychotherapeutic drugs: experimental and clinical aspects / L. G. Costa, L. Steardo, V. Cuomo // Pharmacological Reviews. – 2004. – Vol. 56. - № 1. - P. 103-147.
24. Kim H. Y. GABA and GABA_A receptors: development and regulation, in Receptor Dynamics in Neural Development (shaw CA ed.) CRC Press, / H. Y. Kim, R. W. Olsen, A. J. Tobin // Boca Raton, FL. - 1996. - P. 54-72.

25. Balduini W. Regional development of catechol-, -glutamate-, norepinephrine- and serotonin-stimulated phosphoinositide metabolism in rat brain / W. Balduini, S. M. Candura, L. G. Costa // *Brain Res. Dev.* – 1991. – Vol. 62. – № 1. – P. 115-120.
26. Retz W. Neurotransmission and the ontogeny of human brain / W. Retz, J. Kornhuber, P. Riederer // *J. Neural. Transm.* – 1996. – Vol. 103. – № 4. – P. 403-419.
27. Salazar P. GABA effects during neuronal differentiation of stem cells / P. Salazar, M. A. Velasco-Velazquez, I. Velasco // *Neurochem. Res.* – 2008. Vol. 33. – P. 1546-1557.
28. Мартюшев-Поклад А. В. Стресс-лимитирующие системы и нейрональная пластичность в патогенезе психических и неврологических расстройств / А. В. Мартюшев-Поклад, Т. А. Воронина // *Обзоры по клинической лекарственной терапии.* – 2003. Т. 2. – № 4. – С. 15-25.

Список литературы на английском языке / References in English

1. 1.Markovska-Gosic B. The influence of starvation and water deprivation upon certain serum enzyme activity in chicks in the first week after hatching / B. Markovska-Gosic, A. Dodovski, V. Stojkovski and others // *Macedonian veterinary review.* – 2009. – Vol. 32. – No. 2. – P. 11-22.
2. 2.Swaiman K. F. The effect of food deprivation on enzyme activity in developing brain / K. F. Swaiman, N. D. Jeanne, R. N. Wolfe J. // *Neurochem.* – 1970. – Vol. 17. – № 9. – P. 1387-1391.
3. 3.Amer A. 5-Hydroxy-l-tryptophan suppresses food intake in food deprived and stressed rat / A. Amer, J. Breu, J. McDermitt and others // *Pharmacology, biochemistry and behavior,* – 2004. – Vol. 77. – P. 137-143.
4. 4/ Ko K.I. Starvation promotes concerted modulation of appetitive olfactory behavior via parallel neuromodulatory circuits / I.K. Ko, C. M. Root, Lindsay S. A. and others // *eLife* 2015. – No. 4. – e088298. – 17 P. doi: 10.7554/eLife.08298
5. 5.Kristophe J. K. Effect of food deprivation and hormones of glucose homeostasis on the acetyl CoA carboxylase activity in mouse brain: a potential role of acc in the regulation of energy balance / J. K. Kristophe, C. John, K. Karthik and others // *Nutrition & Metabolism.* – 2006. – Vol. 3. – No. 15. – 9 P. doi: 10.186/1743-7075-3-15
6. Faradzhev A. N. Vozrastnye osobennosti obmena dikarbonovyh aminokislot i GAMK v limbicheskoj sisteme mozga sobak postnatal'nom ontogeneze i v uslovijah golodanija [Age features of the exchange of dicarboxylic amino acids and GABA in the limbic system of the brain of dogs after postnatal ontogenesis and in conditions of fasting]. Abstract of PhD thesis in Biology / A. N. Faradzhev. – Tbilisi. – 1990 – 47 p. [in Russian].
7. Puchkov V. F. Uchenie P.G.Svetlova o kriticheskih periodah razvitija i ego znachenie dlja sovremennoj jembriologii [Teaching of P.G. Svetlova on Critical Periods of Development and Its Significance for Modern Embryology] / V. F. Puchkov // *Morphology.* – 1993. – V. 105. – No. 11. – P. 147-158. [in Russian]
8. Kassil' V. G. Kriticheskie periody razvitija golovnogogo mozga [Critical Periods of Brain Development] / V. G. Kassil', V. A. Otellin, L. I. Hozhaj et al. // *Ros. fiziol. zhurn. im. I.M.Sechenova* [Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov]. – 2000. V. 86. – P. 1418-1425. [in Russian]
9. Moguchaja E. V. Golodanie v nachale zhizni – vozmozhnoe vlijanie na dal'nejshee zdorov'e. Klinicheskij sluchaj [Fasting at Beginning of Life – Possible Influence on Further Health. Clinical Case] / E.V. Moguchaja, O.P. Rotar', A. O. Konradi // *Arterial'naja gipertenzija* [Arterial hypertension]. – 2015. – V. 21 – No. 6. – P. 639-645. [in Russian]
10. Zapadnjuk I. P. Laboratornye zhivotnye, ih razvedenie, sodержание i ispol'zovanie v jeksperimente [Laboratory Animals, Their Breeding, Content and Use in Experiment] / I.P. Zapadnjuk, V.I. Zapadnjuk, E.A. Zaharija – Kiev: Medgiz USSR. – 1962. – 350 p. [in Russian]
11. Pellegrino L. J. A stereotaxic atlas of the rat brain / L. J. Pellegrino, A. S. Pellegrino, A. J. Cushman // Plenum Press, N.Y. – 1979. – 122 P.
12. Robert E. Gamma-aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid / E. Robert, S. Frankel // *J.Biol. Chem.* – 1950. – Vol. 187. – No.1. – P. 55-63.
13. Shatunova N. F. On the intracellular localization of glutamate decarboxylase and gamma-aminobutyric acid in mammalian brain / N. F. Shatunova, I. A. Sytinsky // *J. Neurochem.* – 1964. – Vol. 11. – P. 701-708.
14. Doze K. Dir anvendug der hochspannungssphero-graphie dei der quantitativen totalanoiyse von protein hydrolysaten / K. Doze // *Mittelling Biochem. Z.* – 1957. – Vol. 329. – No. 2. – P. 390-398.
15. Sytinsky I. A. Effect of certain drugs on gamma-aminobutyric acid system on central nervous system / I. A. Sytinsky, T. N. Priyatkina // *Biochem. Pharmacol.* – 1966. – Vol. 115. – No. 1 – P. 49-57.
16. Nilova N. S. Ammiak i GAMK-transaminaznaja aktivnost' tkani golovnogogo mozga [Ammonia and GABA transaminase activity of brain tissue] / N. S. Nilova // *Reports of the Academy of Sciences of the USSR.* – 1966. – V. 2. – P. 483-486. [in Russian]
17. Somogyi J. Preparation of brain mitochondria / J. Somogyi, A. Fonjo, I. Vincze // *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* – 1962. Vol. 21. – P. 295-300.
18. Leibowitz S. F. Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions / S. F. Leibowitz, K. E. Wortley // *Peptides.* – 2004. – Vol. 25. – No. 3 – P. 473-504.
19. Vong L. Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons / L. Vong, C. Ye, Z. Yang and others // *Neuron.* – Vol. 1. – No. 71. – P. 142-154.
20. Eun R. Brain regulation of energy metabolism / R. Eun, K. Min-Seon // *Endocrinol Metab.* – 2016. – Vol. 31. – P. 519-524.
21. Augustine R. A. From feeding one to feeding many: hormone-induced changes in bodyweight homeostasis during pregnancy / R. A. Augustine, S. R. Ladyman, D. R. Grattan // *J. Physiol.* – 2008. – Vol. 586. – No. 2 – P. 387-397.
22. Tong Q. Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance / Q. Tong, C. P. Ye, J. E. Jones and others // *Nat. Neurosci.* – 2008. – No. 11. – P. 998-1000.

23. Costa L. G. Structural effects and neurofunctional sequelae of developmental exposure to psychotherapeutic drugs: experimental and clinical aspects / L. G. Costa, L. Steardo, V. Cuomo // *Pharmacological Reviews*. – 2004. – Vol. 56. – No. 1. – P. 103-147.
24. Kim H. Y. GABA and GABA_A receptors: development and regulation, in *Receptor Dynamics in Neural Development* (shaw CA ed.) CRC Press, / H. Y. Kim, R. W. Olsen, A. J. Tobin // Boca Raton, FL. – 1996. – P. 54-72.
25. Balduini W. Regional development of catechol-, -glutamate-, norepinephrine- and serotonin-stimulated phosphoinositide metabolism in rat brain / W. Balduini, S. M. Candura, L. G. Costa // *Brain Res. Dev.* – 1991. – Vol. 62. – No. 1. – P. 115-120.
26. Retz W. Neurotransmission and the ontogeny of human brain / W. Retz, J. Kornhuber, P. Riederer // *J. Neural. Transm.* – 1996. – Vol. 103. – No. 4. – P. 403-419.
27. Salazar P. GABA effects during neuronal differentiation of stem cells / P. Salazar, M. A. Velasco-Velazquez, I. Velasco // *Neurochem. Res.* – 2008. Vol. 33. – P. 1546-1557.
28. Martjushev-Poklad A.V. Stress-limitirujushhie sistemy i nejronal'naja plastichnost' v patogeneze psichicheskikh i nevrologicheskikh rasstrojstv [Stress-limiting systems and neuronal plasticity in the pathogenesis of mental and neurological disorders] / A. V. Martjushev-Poklad, T. A. Voronina // *Reviews of clinical drug therapy*. – 2003. - Vol. 2. – No. 4. – P. 15-25. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.013>

Калитина Е.Г.¹, Харитоновна Н.А.², Вах Е.А.³

¹ORCID: 0000-0001-6654-8165, кандидат биологических наук,

²ORCID: 0000-0003-1949-9481, доктор геолого-минералогических наук,

Дальневосточный геологический институт Дальневосточное отделение Российской Академии Наук

³Кандидат геолого-минералогических наук,

Дальневосточный Федеральный Университет

МИКРООРГАНИЗМЫ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП В МЕСТОРОЖДЕНИИ МАЛКИНСКИХ ХОЛОДНЫХ УГЛЕКИСЛЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД (КАМЧАТКА, РОССИЯ)

Аннотация

В статье представлены данные о распространении, структуре и численности микроорганизмов различных функциональных групп в месторождении Малкинских холодных углекислых минеральных вод (Камчатка). Результаты исследований выявили присутствие в углекислых минеральных водах разнообразной микрофлоры, которая способна преобразовывать физико-химический состав минеральных вод, участвуя в геохимических циклах. В подземных водах значительно преобладали хемолитоавтотрофные железоокисляющие бактерии, которые были способны окислять двухвалентное железо до его трехвалентной формы. Дана оценка качества углекислых минеральных вод по санитарно-микробиологическим показателям.

Ключевые слова: микроорганизмы, функциональные группы, углекислые воды, численность.

Kalitina E.G.¹, Haritonova N.A.², Bah E.A.³

¹ORCID: 0000-0001-6654-8165, PhD in Biology,

²ORCID: 0000-0003-1949-9481, PhD in Geology and Mineralogy,

Far East Geological Institute, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences

³PhD in Geology and Mineralogy, Far Eastern Geological University

MICROORGANISMS OF DIFFERENT FUNCTIONAL GROUPS IN OCCURRENCE OF MALKIN COLD ACIDULOUS WATER (KAMCHATKA, RUSSIA)

Abstract

This article represents data on distribution, structure and abundance of various functional groups of microorganisms in the Malkin cold acidulous water (Kamchatka). The results of the studies have revealed the presence of a diverse microflora in the carbonic mineral waters that is able to transform the physical and chemical composition of mineral waters by participating in geochemical cycles. Hemolitoautotrophic iron-oxidizing bacteria that were able to oxidize the bivalent iron to its trivalent form have been significantly prevailed at the groundwater. The estimation of acidulous waters quality is given due to sanitary and microbiological indicators.

Keywords: microorganisms, functional groups, acidulous waters, abundance.

Наиболее крупным и известным месторождением холодных углекислых минеральных вод полуострова Камчатка является Малкинское, расположенное в Елизовском административном районе Камчатского края РФ. Химический состав Малкинских углекислых минеральных вод и их генезис был изучен достаточно детально [7, С. 529-534], [9, С. 66-75] однако механизмы формирования многих геохимических типов вод все еще остаются не раскрытыми. В последние годы появилось большое число работ показывающих, что микробиологические процессы активно изменяют гидрогеохимическую систему и частично преобразовывают физико-химические свойства подземных вод и пористое пространство водовмещающих пород [3, С. 66-67] [8, С. 107-108] [10, С. 490].

Поскольку минеральные воды активно используются в бальнеологических целях, необходимо проводить не только исследования химического состава минеральных вод, но также осуществлять микробиологический мониторинг данных вод с целью выявления естественной и болезнетворной микрофлоры.

Так как в литературе отсутствуют данные о распространении микроорганизмов в Малкинских холодных углекислых водах (Камчатка) целью работы было изучить распространение, структуру и численность различных

эколого-трофических групп бактерий, а также оценить уровень микробиологического загрязнения углекислых минеральных вод и условия обитания бактерий.

В качестве объектов исследования выбрано месторождение холодных углекислых минеральных вод Малкинское (Камчатка), которое расположено на правом берегу реки Быстрая у подошвы Малкинского хребта недалеко от п. Малки (рис. 1). Минеральные воды самоизливаются из скважины и по химическому составу относятся к углекислым железисто-гидрокарбонатно-натриевым водам с минерализацией 3,0-3,8 г/л. Пробы минеральных вод отбирали из скважины №14 в условиях стерильности в стеклянные бутылки объемом 1500 мл в трех повторностях. Отбор проб воды осуществляли в октябре 2013 года. Нестабильные показатели химического состава (рН, минерализация и температура) измерялись непосредственно на месте. Водные пробы фильтровались через целлюлозный фильтр, с размером пор 0,45 мкм, и собирались в пластиковые пробирки. Пробы для анализа содержаний в воде микрокомпонентов, дополнительно консервировались (азотная кислота), их определение выполнено с помощью масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500с (Agilent Technologies, Inc., USA).

Для выявления и культивирования бактерий использовали традиционные методы практической микробиологии [6, С. 45-61]. Численность физиологических групп бактерий определяли методом предельных разведений, количество санитарно-показательных микроорганизмов учитывали методом Коха согласно МР № 96/225-1997 методом мембранной фильтрации [5, С. 1-18] [6, С. 45-61]. Численность бактерий определяли на специально подобранных селективных средах [4, С. 111-205]. Идентификацию микроорганизмов проводили по определителю Берджи.



Рис. 1 – Карта-схема местоположения месторождения Малкинских холодных углекислых вод, Камчатка

Результаты показали, что Малкинские воды являются холодными ($t=10,0^{\circ}\text{C}$), маломинерализованными (3,33 г/л), кислыми ($\text{pH}=6,37$). Преобладающим катионом является натрий (1055,00 мг/л), затем следуют кальций (81,70 мг/л) и магний (54,52 мг/л) (табл. 1). Среди анионов преобладает хлор-ион (598,00 мг/л), сульфат-ион (2,63 мг/л). Среди микроэлементного состава превалирует железо (12922,00 мкг/л), литий (3171,80 мкг/л), и стронций (1494,60 мкг/л). Содержание марганца достигает 303,10 мкг/л, а бериллий и хром находятся в мизерных количествах (табл.1).

Таблица 1 – Содержание катионов и анионов, а также микроэлементов в Малкинских холодных углекислых минеральных водах Камчатки

Катионы, мг/л	В	Ca	K	Mg	Na	Si
	17,82	81,70	37,19	54,52	1055,00	51,90
Анионы, мг/л	F	Cl	NO ₂	NO ₃	Br	SO ₄
	0	598,00	0	0	0,36	2,63
Микроэлементы, мкг/л	Li	Be	Al	Cr	Mn	Fe
	3171,8	0,14404	9,09	0,288	303,10	12922,00
	As	Se	Rb	Sr	Cs	Ba
	37,65	0,611	143,10	1494,60	16,97	533,70

Результаты микробиологических исследований показали, что количество бактерий различных эколого-трофических групп в углекислых водах было в среднем не высоко и варьировало от 0 до $9,5 \times 10^3$ кл/мл, что совпадало с полученными нами ранее результатами для холодных углекислых минеральных вод Приморского края [2, С. 53-62]. В Малкинских подземных водах значительно преобладали хемолитоавтотрофные железоокисляющие бактерии, которые были способны окислять двухвалентное железо до его трехвалентной формы (табл. 2). По физиолого-биохимическим свойствам выделенные бактерии были близки к *Thiobacillus ferrooxidans*. Гетеротрофных железо и марганец окисляющих бактерий в углекислых водах отмечено не было, что вероятно связано с низким количеством органического углерода в воде (12 мг/л). Численность хемолитотрофных тионовых бактерий, осуществляющих

окисление восстановленных соединений серы, была не высока и составляла $0,9 \times 10^2$ кл/мл, при этом доминировали микроорганизмы вида *Thiobacillus thiooxidans*. Присутствие данных микроорганизмов в углекислых водах свидетельствует о процессах окисления сульфидных минералов во вмещающих породах углекислых вод. Также были распространены сапрофитные бактерии, которые осуществляли разложение готовых органических соединений до CO_2 и воды. Общая численность сапрофитов в Малкинских водах была не высока и составляла в целом $1,9 \times 10^2$ кл/мл, при этом значительно преобладали факультативно анаэробные формы бактерий. В цикле азота доминировали аммонийоокисляющие и денитрифицирующие бактерии, которые окисляли аммонийные соединения до нитритов и нитратов и восстанавливали нитраты до свободного азота, при этом их количество составляло $2,5 \times 10^2$, $0,2 \times 10^2$ кл/мл соответственно. Развитие аммонийоокисляющих бактерий может быть обусловлено наличием большого количества аммония в подземных водах.

Таблица 2 – Численность различных функциональных групп бактерий в Малкинских углекислых минеральных водах Камчатки

Функциональные группы микроорганизмов:	Численность бактерий, кл/мл
Микроорганизмы геохимического цикла углерода:	
Сапрофиты аэробы	$0,4 \times 10^2$
Сапрофиты факультативные анаэробы	$1,5 \times 10^2$
Микроорганизмы геохимического цикла азота:	
Азотфиксаторы	0
Аммонификаторы	0
Аммонийоокисляющие бактерии	$2,5 \times 10^2$
Нитритоокисляющие бактерии	0
Гетеротрофные нитрификаторы	0
Денитрификаторы	$0,2 \times 10^2$
Микроорганизмы геохимического цикла серы:	
Тионовые бактерии	$0,9 \times 10^2$
Сульфатредукторы	0
Микроорганизмы геохимического цикла железа и марганца:	
Железоокисляющие бактерии гетеротрофы	0
Железоокисляющие бактерии автотрофы	$9,5 \times 10^3$
Железовосстанавливающие бактерии	0
Марганецоокисляющие микроорганизмы гетеротрофы	0
Марганцевосстанавливающие бактерии гетеротрофы	0

Санитарно-микробиологический анализ качества Малкинских углекислых вод Камчатки показал, что КМАФАнМ невысоко и достигает до $0,9 \times 10^2$ КОЕ/мл, при этом численность бактерий не превышает нормативных значений (табл. 3). Санитарно-показательными микроорганизмами являются общие (ОКБ) и термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ). ОКБ и ТКБ, в исследованных водах не обнаружены, что свидетельствует о чистоте вод. Не обнаружены также и условно-патогенные бактерии *Pseudomonas aeruginosa*. Таким образом, Малкинские углекислые минеральные воды являются чистыми в отношении санитарно-показательной микрофлоры.

Таблица 3 – Численность санитарно-показательной микрофлоры в Малкинских подземных холодных углекислых минеральных водах Камчатки

Санитарно-показательные микроорганизмы:	Количество бактерий:	Норма ¹
КМАФАнМ, КОЕ/мл	$0,9 \times 10^2$	Не $> 1 \times 10^2$ КОЕ/мл
ОКБ, КОЕ/100 мл	0	Отсутствие в 100 мл
ТКБ, КОЕ/100 мл	0	Отсутствие в 100 мл
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , КОЕ/1000мл	0	Отсутствие в 1000 мл

Примечание: ¹Нормирование согласно [1, С. 1-18] [5, С. 1-18].

Список литературы / References

- ГОСТ Р 54316–2011. Воды минеральные природные питьевые. Общие технические условия. – Введ. 2012–07–01. – М.: Изд-во стандартов, 2011. – 18 с.
- Калитина Е. Г. Микробиологический состав углекислых минеральных вод Приморского края (распространение, численность бактерий, условия их обитания) / Е. Г. Калитина, Н. А. Харитонов, Г. А. Челноков, и др. // Вестник ДВО РАН. – 2015. – №5. – С. 53-62.

3. Копылова Ю. Г. Состав микрофлоры геохимического цикла углерода в углекислых водах природного комплекса Чойган (Тыва) / Копылова Ю. Г., Наливайко Н. Г., Аракчаа К. Д., и др. // Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов. – 2015. – № 2. – С. 66-80.
4. Кузнецов С. И. Методы изучения водных микроорганизмов / С. И. Кузнецов, Г. А. Дубинина. – М.: Наука, 1989. – 288 с.
5. Методические рекомендации № 96/225. Контроль качества и безопасности минеральных вод по химическим и микробиологическим показателям. – Введ. 1997-04-07. – М.: Минздрав России, 1997. – 18 с.
6. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / под ред. Н. С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
7. Харитонов Н. А. Условия формирования холодных углекислых минеральных вод месторождения Малкинское (Камчатка) / Харитонов Н. А., Челноков Г. А., Баркар А. В., Вах Е. А. // Фундаментальные и прикладные проблемы гидрогеологии: материалы XXI совещания по подземным водам Сибири и Дальнего Востока 22-28 июня 2015 г., Якутск / Институт мерзлотоведения им. П. И. Мельникова СО РАН. – Якутск, 2015. – С. 529–534.
8. Челноков Г. А. Гидрогеохимия и генезис термальных вод источника Горячий ключ, Приморье (Дальний Восток России) / Г. А. Челноков, Е. Г. Калитина, И. В. Брагин и др. // Тихоокеанская геология. – 2014. – №6. – Т. 33. – С. 99-110.
9. Чудаева В. А. Минеральные воды Дальнего Востока и их микроэлементный состав / В. А. Чудаева, О. В. Чудаев // Вестник ДВО РАН. – 2005. – №3. – С. 66-75.
10. Sirisena K. A. National survey of molecular bacterial diversity of New Zeland groundwater: relationships between biodiversity, groundwater chemistry and aquifer characteristics / K. A. Sirisena, C. J. Daughney, Moreau-Fournier et al. // FEMS microbiology ecology. – 2013. – №11. P. 490-504.

Список литературы на английском языке / References in English

1. GOST R 54316–2011. Vody mineral'nye prirodnye pit'evye. Obshhie tehicheskie usloviya [Natural mineral water for drinking. General specifications]. – Introduce 2012–07–01. – М.: Izd-vo standartov, 2011. – 18 p. [in Russian]
2. Kalitina E. G. Mikrobiologicheskij sostav uglekislyh mineral'nyh vod Primorskogo kraja (rasprostranenie, chislennost' bakterij, usloviya ih obitaniya) [Microbiological composition of carbonic mineral waters of Primorye territory (distribution, number of bacteria, conditions of their habitat)] / E. G. Kalitina, N. A. Kharitonova, G. A. Chelnokov and others // Vestnik DVO RAN. [Bulletin FEB RAS]. – 2015. – №5. – P. 53-62. [in Russian]
3. Kopylova Ju. G. Sostav mikroflory geohimicheskogo cikla ugleroda v uglekislyh vodah prirodnogo kompleksa Chojgan (Tyva) [Composition of the microflora of the geochemical cycle of carbon in carbonic waters of the natural complex Chojgan (Tyva)] / Ju. G. Kopylova, N. G. Nalivajko, K. D. Arakchaa and others // Kurortnaja baza i prirodnye lechenno-ozdorovitel'nye mestnosti Tuvy i sopredel'nyh regionov [The resort base and natural health-improving areas of Tuva and adjacent regions]. – 2015. – №2. – P. 66-80. [in Russian]
4. Kuznecov S. I. Metody izuchenija vodnyh mikroorganizmov [Methods for studying aquatic microorganisms] / S. I. Kuznecov, G. A. Dubinina. – М.: Nauka, 1989. – 288 p. [in Russian]
5. Metodicheskie rekomendacii № 96/225. Kontrol' kachestva i bezopasnosti mineral'nyh vod po himicheskim i mikrobiologicheskim pokazateljam [Control of the quality and safety of mineral waters by chemical and microbiological indicators]. – Introduce 1997-04-07. – М.: Minzdrav Rossii, 1997. – 18 p. [in Russian]
6. Rukovodstvo k prakticheskim zanjatijam po mikrobiologii [Guide to practical training in microbiology] / edited by N. S. Egorova. – М.: Izd-vo MGU, 1995. – 224 p. [in Russian]
7. Kharitonova N. A. Usloviya formirovaniya holodnyh uglekislyh mineral'nyh vod mestorozhdenija Malkinskoe (Kamchatka) [Conditions for the formation of cold carbonic mineral waters of the Malkinskoye deposit (Kamchatka)] / Kharitonova N. A., Chelnokov G. A., Barkar A. V., Vah E. A. // Fundamental'nye i prikladnye problemy gidrogeologii: materialy XXI soveshhanija po podzemnym vodam Sibiri i Dal'nego Vostoka 22-28 iyunya 2015 g. [Fundamental and applied problems of hydrogeology: materials of the XXI meeting on underground waters of Siberia and the Far East 22-28 June 2015], Yakutsk / Institut merzlovedeniya im. P. I. Mel'nikova SO RAN [Institute for Permafrost Studies named after P. I. Melnikov, SB RAS]. – Yakutsk, 2015. – pp. 529–534. [in Russian]
8. Chelnokov G. A. Hidrogeohimija i genezis termal'nyh vod istochnika Gorjachij kljuch, Primor'e (Dal'nij Vostok Rossii) [Hydrogeochemistry and genesis of the thermal waters of the spring Hot Key, Primorye (Far East of Russia)] / G. A. Chelnokov, E. G. Kalitina, I. V. Bragin and others // Tihookeanskaja geologija [Pacific Geology]. – 2014. – №6. – V. 33. – P. 99-110. [in Russian]
9. Chudaeva V. A. Mineral'nye vody Dal'nego Vostoka i ih mikrojelementnyj sostav [Mineral waters of the Far East and their microelement composition] / V. A. Chudaeva, O. V. Chudaev // Vestnik DVO RAN [Bulletin FEB RAS]. – 2005. – №3. – P. 66-75. [in Russian]
10. Sirisena K. A. National survey of molecular bacterial diversity of New Zeland groundwater: relationships between biodiversity, groundwater chemistry and aquifer characteristics / K. A. Sirisena, C. J. Daughney, Moreau-Fournier et al. // FEMS microbiology ecology. – 2013. – №11. P. 490-504.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.009>Криворотов С.Б.¹, Звержановский М.И.², Землина Г.А.³, Князева Т.В.⁴¹Доктор биологических наук, профессор, ²доктор биологических наук, профессор,³соискатель, ⁴кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,

Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина (г. Краснодар)

**КОНСОРТИВНЫЕ СВЯЗИ ЛОМОНОСА ВИНОГРАДОЛИСТНОГО (CLEMATIS VITALBA L.,
RANUNCULACEAE) С БЕСПОЗВОНОЧНЫМИ ЖИВОТНЫМИ В СТРУКТУРНЫХ ЧАСТЯХ БИОЦЕНОЗОВ
СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО КАВКАЗА****Аннотация**

Настоящая статья посвящена исследованию консортивных связей ломоноса виноградолистного с беспозвоночными животными в структурных частях биоценозов Северо-Западного Кавказа. В результате составлены 2 концептуальных схемы, которые раскрывают структуру этих связей. Описаны две полноценные консорции. Первая консорция включает 3 концентратора: 62, 8 2 консортов, соответственно. В ризосфере детерминанта выявлены виды почвенных беспозвоночных животных, объединенные в 7 групп. Присутствие и показатели их численности можно использовать как индикаторы, указывающие на повышенное содержание гумуса в почве.

Ключевые слова: Консорции, концентраторы, консорты, детерминант, ризосфера, почвенные беспозвоночные животные.

Krivorotov S.B.¹, Zverzhanovskiy M.I.², Zemlina G.A.³, Knyazeva T.V.⁴¹PhD in Biology, Professor, ²PhD in Biology, Professor, ³Postgraduate student, ⁴PhD in Agriculture, Associate professor,

Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilina (Krasnodar)

**CONSORTIVE CONNECTION OF GRAPE-LEAVED CLEMATIS (CLEMATIS VITALBA L.,
RANUNCULACEAE) WITH INVERTEBRATE ANIMALS IN STRUCTURAL PARTS OF BIOCENOSES OF
NORTHWEST CAUCASUS****Abstract**

This article is devoted to the study of consortive connections of grape-leaved clematis with the invertebrate animals in the structural parts of biocenoses of the North-Western Caucasus. As a result, two conceptual schemes have been drawn up, they revealed the structure of these links. Two full-fledged consortia are described and the first one includes 3 concentrates: 62, 8 2 consorts, respectively. The species of soil invertebrate animals, joined into 7 groups, were identified in the rhizosphere of the determinant. Presence and indicators of their abundance can be used as indicators showing the increased content of humus in a soil.

Keywords: Consortia, concentrates, consorts, determinant, rhizosphere, soil invertebrates.

Введение. Для более детального исследования эколого-биологических особенностей представителей рода *Clematis* L. в условиях Северо-Западного Кавказа изучались консортивные связи между растениями и зоокомпонентами. Одним из важных вопросов здесь является изучение консортивных связей между растениями и беспозвоночными животными, в консорциях биоценозов природных и агроландшафтных экосистем.

Для понимания функциональной структуры биоценозов и экосистем большое значение придается консорциям. Консорцией в широком смысле называют совокупность организмов, связанных (трофически и топически) в своём развитии с каким-либо объектом – «хозяином». Это понятие рассматривается и как конкретная структурная единица биоценоза, и как типологическая.

Л.Г. Раменский [17, С. 181-201] указывал, что при анализе обмена веществ в биоценозах, помимо синуз и общеизвестных цепей целесообразно выделять в ценозах также сочетания разнообразных организмов, тесно связанных друг с другом известной общностью их жизни (консортивную группу или консорции). Без выделения и изучения консорций наше знание биоценозов не будет полным и законченным.

И.С. Белюченко [4, С. 3-9] указывает на то, что в биоценозах агроландшафтных экосистем в России слабо изучены консорции и их видовой состав.

С.Б. Криворотов [12, С. 98-101], [13, С. 143-151], [14, С. 86-88] впервые в фитоценозах верхней части горно-лесного пояса Северо-Западного Кавказа подробно изучил ценогические связи лишайников и лишениосинуз.

М.И. Звержановский [8, С. 487-494] впервые в агроландшафтных экосистемах Северо-Западного Кавказа изучил относительную полноценность консорции в ценозе кукурузного поля учхоза «Кубань» Кубанского госагроуниверситета им. И.Т. Трубилина и установил ее энергетические связи.

Основой в консорциях является центральный вид (детерминант) и консорты (совокупность организмов, зависящих от детерминанта энергетически или топически – хищники, паразитные растения, животные и т.д.). В качестве детерминанта выступает ценопопуляция автотрофа. Основная часть консортов представлена гетеротрофами. Консорты, связанные непосредственно с особями детерминанта, формируют первый концентр, все они фитофаги. Организмы, энергетически связанные с консорциями первого концентратора, формируют второй концентр и т.д.

В данной работе характеризуются консорции беспозвоночных животных, связанных трофически и топически с высшим растением лианой – ломоносом виноградолистным, являющимся детерминантом, компонентом консорции.

Изучаемые популяции *Clematis vitalba* L. находятся на Черноморском побережье Краснодарского края, а также в окрестностях города Краснодара и города Горячий ключ. Ломонос виноградолистный, как правило, произрастает в широких речных поймах, а также на хорошо освещенных южных склонах. Растения клематиса наиболее часто встречаются в условиях грунтового увлажнения, вблизи от выходов пресных источников воды по балкам, ложбинам и на открытых склонах.

Clematis vitalba рекомендуется использовать для вертикального озеленения повсеместно и особенно в районах с засушливым климатом. Может выступать в роли почвопокровного растения для покрытия зеленью больших площадок на теплых солнечных сторонах. На ряду с декоративными целями, растения ломоноса виноградолистного

используются как лекарственные. В лекарственных целях используются листья, цветки и стебель. В народной медицине препаратами на основе ломоноса лечат язву желудка, головную боль, венерические заболевания, чесотку, костные опухоли, используют как потогонное, слабительное, мочегонное средство. В гомеопатии растения ломоноса используются при лечении малярии, циститов, конъюнктивитов.

В почвенной среде корни растений выделяют органические вещества, в составе которых имеются легкодоступные для почвенных организмов соединения – органические кислоты, углеводы, некоторые специфические вещества. За счет корневых выделений вокруг корней почва обогащается различными биохимическими соединениями, что влияет на активную деятельность представителей почвенной микро- и мезофауны, а также грибов и бактерий. Поэтому, почвенную биоту можно считать важнейшим компонентом биоценозов экосистем.

Наиболее важным и характерным свойством почвы является плодородие. Оно является качественным признаком почвы, отличающим ее от остальных тел природы.

Север и северо-восток территории Краснодарского края от предгорий Кавказа (исключая дельту реки Кубань и речные долины) в прошлом были заняты луговой и разнотравно-злаковой степью, покрыты черноземными почвами. Лугово-черноземные почвы расположены в днищах балок в дельте реки Кубань, неглубоких и глубоких западинах. Сформировались они на лессовидных глинах и тяжёлых суглинках. Лугово-черноземные почвы формируются в условиях повышенного почвенно-грунтового и поверхностного увлажнения, и являются полугидроморфными аналогами черноземов. Почвы здесь характеризуются значительной уплотненностью горизонта АВ и более крупной структурой. Эти почвы находятся в сильно переувлажнённом состоянии, в результате низкой фильтрационной способности, но летом в период засухи они быстро иссушаются, и подвергаются сильному растрескиванию. Являются слабо гумусными. Содержание гумуса в пахотном слое, примерно, 3,2-3,9%. Количество гумуса постепенно уменьшается вниз по профилю. В составе гумуса доминируют гуминовые кислоты.

Несмотря на относительно небольшую протяженность, прибрежная полоса в районе города-курорта Геленджик, имеет довольно разнообразный почвенный покров. В зависимости от поднятия в горы и удаления от моря, почвы приобретают все более темную окраску. Это связано с резким изменением высот, климата и растительности, а также с более медленным разложением органических остатков, который способствует постепенному накоплению в верхних слоях почвенного профиля перегноя. Наиболее распространенными в этой зоне являются горные дерново-карбонатные, бурые горно-лесные, горно-лесные оподзоленные почвы и желтозёмы.

Значительное распространение горные дерново-карбонатные почвы имеют в юго-восточной и западной части Кавказских гор на делювиальных, элювиальных и пролювиальных карбонатных образованиях. Часто на небольшой глубине почвы подстилаются слабо выветрившимися и не выветрившимися пластами мергеля или блоками известняка. Характеризуются эти почвы более грубой комковатой структурой, более светлой окраской, значительной большей щебневатостью и поверхностным вскипанием от соляной кислоты.

Накопление гумуса в этих почвах напрямую зависит не только от деятельности микробиоты, но и от действия обитающих в ней представителей почвенных беспозвоночных животных сапротрофного уровня, подготавливающих органические остатки в почве к деятельности деструкторов.

Материал и методы исследования. При проведении исследований сбор материала осуществлялся в экосистемах с различными типами почв: горных дерново-карбонатных (окрестности поселка Криница) и лугово-черноземных (окрестности станицы Елизаветинской). В почвах изучаемых экосистем исследовались видовой состав, а также абсолютная плотность (экз./м²) обитающих в ней почвенных беспозвоночных животных.

Закладки одновекторной и четырех векторной трансект, а также отбор почвенных образцов для определения видового состава мезофауны проводилась по известным методикам [6, С. 20-27], [7], [8, С. 487-494]. Всего отобрано 108 проб на стационарных площадях длиной, шириной и глубиной соответственно 25 x 25 x 25 см посезонно (весна, лето, осень). Стационарные площади для отбора проб располагались в окрестностях станицы Елизаветинской (54 пробы), а также в окрестностях поселка Криница (54 пробы). Образцы укладывались полиэтиленовые пакеты, в каждый пакет помещалась пластмассовая этикетка с номером, затем пробы доставлялись в лабораторию. В дальнейшем, в лаборатории, на хорошо освещенной ровной поверхности образцы разбирались вручную мелкими порциями, при помощи ручных луп с двадцатикратным увеличением. Мелких почвенных животных (коллембол) собирали мягкими кисточками, смачивая в 70° спирте, переносили в небольшие стеклянные емкости с фиксаторами (5% формалин или 70° спирт), снабжали этикетками из полуватманской бумаги, подписывая карандашом. Материал доставляли в лабораторию кафедры паразитологии, ветсанэкспертизы и зоогигиены Кубанского госагроуниверситета им. И.Т. Трубилина. Ногохвосток, клещей «выгоняли» из материала подстилki при помощи термоэлектратора, который представляет собой воронку с мельничным газом, на который помещали исследуемый субстрат. Сама воронка освещается электрической лампой (75 ват), а под горлышко воронки помещалась емкость с фиксирующими жидкостями (70° спирт). Определение групп почвенных животных проводили в поле зрения микроскопа МБС – 10, при этом используя различные руководства [1], [3], [10], [14], [15, С. 60-62], а также работу В.Ф. Валькова [6, С. 20-27].

При проведении исследований использовался также метод пробных площадей по известной методике А.Г. Воронова [5]. Насекомые с наземной части растений собирались с помощью энтомологического сачка, пинцетом и моришкой. Легко определяемые многочисленные виды, не требующие камеральной обработки, просто отмечались в качестве посетителей ломоноса виноградолистного.

В изученной литературе отсутствуют данные по видовому составу почвенных животных, их количественному и качественному составу в ризосфере *Clematis vitalba*, образующего популяции в экосистемах региона. Анализ почвенной фауны ризосферы растений *Clematis vitalba*, произрастающих в разных экосистемах, показал, что в ней определяются виды почвенных организмов как типичные, так и специфические для исследуемых нами растений.

Результаты исследования и их обсуждение. При изучении консортивных связей растений ломоноса виноградолистного в биоценозах экосистем Северо-Западного Кавказа, нами использован системный подход и моделирование. В результате проведенной работы были составлены концептуальные схемы структуры консорций

Clematis vitalba, в которых отображены отдельные надземные части растения, а также компоненты его ризосферы с видовым составом организмов в концентраторах и их энергетические связи (Рисунок 1; 2).

В ценозах на экспериментальных участках с разными абиотическими условиями среды, где детерминантом является *Clematis vitalba*, изучались консорции. Обнаруженные консорты (насекомые) по разным типам связей с лианой клематиса распределили по трем концентраторам (I, II, III; Рисунок 1).

В первом концентре с детерминантом топически связаны виды трех семейств насекомых, которые относятся к отряду **Odonata**: *Coenagrionidae* (*Ischnura* sp.), *Calopterygidae* (*Calopteryx virgo* L.), *Libellulidae* (*Sympetrum* sp.), в каждом по одному виду. Эти насекомые используют лиану как субстрат для отдыха.

Нектар детерминанта привлекает бабочек, которые относятся к отряду *Lepidoptera*. Они принадлежат к 36 видам из 8 семейств (табл.1). Их роль, как консортов первого концентратора, топическая. Они посещают детерминант для питания нектаром. Форическая связь проявляется в том, что к хоботку насекомых прилипает небольшое количество пыльцы, которую они переносят на посещаемые растения. По потреблению веществ детерминанта чешуекрылые – антофилы.

Таблица 1 – Состав семейств отряда *Lepidoptera*, консортов первого концентратора

Семейство	Вид
Papilionidae	<i>Iphiclydes podalirius</i> L.
Arctidae	<i>Callimorpha quadripunctata</i> L.
Hesperidae	<i>Carcharodus alcea</i> L., <i>Erynnis tages</i> L., <i>Thymelicus lineola</i> O., <i>Th. hyrax</i> L., <i>Pyrgus malvae</i> L.
Licaenidae	<i>Lycaena phlaeas</i> L., <i>Celastrina argyrolus</i> L., <i>Callophrys chalybeitincta</i> S., <i>Nordmannia pruni</i> L., <i>N. W-album</i> K.
Noctuidae	<i>Helicoverpa armigera</i> H., <i>Agrotis exclamationis</i> L., <i>Autographa gamma</i> L., <i>Diachrysa stenochrysis</i> W., <i>Heliotis virescens</i> H.;
Sphingidae	<i>Agrius convolvuli</i> L., <i>Celerio lineata</i> F., <i>Macroglossum stellatarum</i> L., <i>Deilephila</i> <i>elpenor</i> L., <i>Hemaris fuciformis</i> L.;
Nymphalidae	<i>Polygonia C-album</i> L., <i>Vanessa atalanta</i> L., <i>V. cardui</i> L., <i>Nymphalis polychloros</i> L., <i>Argynnis paphia</i> L., <i>Limenitis camilla</i> L.;
Pieridae	<i>Artogeia rapae</i> L., <i>A. napi</i> L., <i>Pontia daplidice</i> L., <i>Anthocharis cardamines</i> L., <i>Leptidea sinapis</i> L., <i>Gonepteryx rhamni</i> L., <i>Colias erate</i> L., <i>C. crocea</i> G.

Перепончатокрылые (**Hymenoptera**) – это наиболее активная группа консортов из первого концентратора, осуществляющая сбор нектара, а также пыльцы. У них проявляются как топические связи, так и форические, которые преобладают. Осы, пчелы, шмели уносят пергу и нектар для выращивания потомства. Этот отряд представлен в изученной консорции 22 видами консортов, из 7 семейств (табл. 2).

Таблица 2 – Состав семейств отряда *Hymenoptera*, консортов первого концентратора

Семейство	Вид
Colletidae	<i>Hylaeus</i> sp.
Scoliidae	<i>Scolia hirta</i>
Halictidae	<i>Halictus quadricinctus</i> F., <i>H. sexcinctus</i> F.
Crabronidae	<i>Phylanthus triangulum</i> F., <i>Cerceris quadrifasciata</i> P.
Megachilidae	<i>Osmia coerulea</i> L., <i>Megachile</i> sp., <i>Coelioxys</i> sp.
Vespidae	<i>Polistes dominula</i> C., <i>P. nymphe</i> C., <i>Vespa crabro</i> L., <i>Delta unguiculatum</i> L.
Apidae	<i>Apis mellifera</i> L., <i>Bombus pascuorum</i> S., <i>B. terrestris</i> L., <i>B. lucorum</i> L., <i>B.</i> <i>argillaceus</i> S., <i>Xylocopa iris</i> C., <i>X. violacea</i> L., <i>Eucera longicornis</i> L., <i>Anthophora plumipes</i> P., <i>Ceratina cyanea</i> K.)

К первому концентру относится третий отряд – Равнокрылые (**Homoptera**), представленный семейством тли (**Aphidae**), включающим 1 вид (*Aphis* spp.). Этот консорт питается соком детерминанта (клематиса винограднолистного), высасывая его из листьев растений.

К отряду **Odonata** (стрекозы) относятся 3 семейства в каждом из которых по одному виду: *Coenagrionidae* (*Ischnura* spp.), *Calopterygidae* (*Calopteryx virgo* L.), *Libellulidae* (*Sympetrum* sp.).

Таким образом, в целом в первом концентре выявлены 62 консорта из четырех отрядов: **Lepidoptera** (36), **Hymenoptera** (22), **Homoptera** (1) и **Odonata** (3).

Консументы второго концентратора – это фитофаги. Они представлены 7 видами, которые относятся к трем отрядам и 7 семействам. Отряд **Равнокрылые (Homoptera)** представлен 3 семействами: *Membracidae* (*Stictocephala bupalus* F.); *Flatidae* (*Metcalfa pruinosa* S.); *Ricanidae* (*Ricania japonica* M.). Отряд **Прямокрылые (Orthoptera)** представлен 2 семействами. Семейство *Tettigoniidae* включает 2 вида (*Phaneroptera falcata* P., *Tettigonia viridissima* L.); семейство *Gryllidae* включает 1 вид (*Oecanthus pellucens* S.).

Отряд **Жесткокрылые (Coleoptera)** представлен 2 семействами, в каждом из которых по одному виду: *Mordellidae* (*Mordella holomelaena* A.) и *Cerambycidae* (*Cerambyx scopolii* L.). Оба вида являются фитофагами. Консортивные связи проявлялись в повреждении цветков детерминанта, которые эти насекомые выедали (Рисунок 1).

Консумент третьего концентра включает 2 консорта – хищников из отряда *Coleoptera*, представленного одним семейством *Coccinellidae*, включающим 2 вида (*Harmonia axyridis* P., *Adalia bipunctata* L.). По типам консортивных связей это коровки-хищники. Они питаются в колониях цикадки-бабочки (*Ricaria japonica* M.), цикадки белой (*Metcalpa pruinosa* L.) из отряда *Homoptera*.

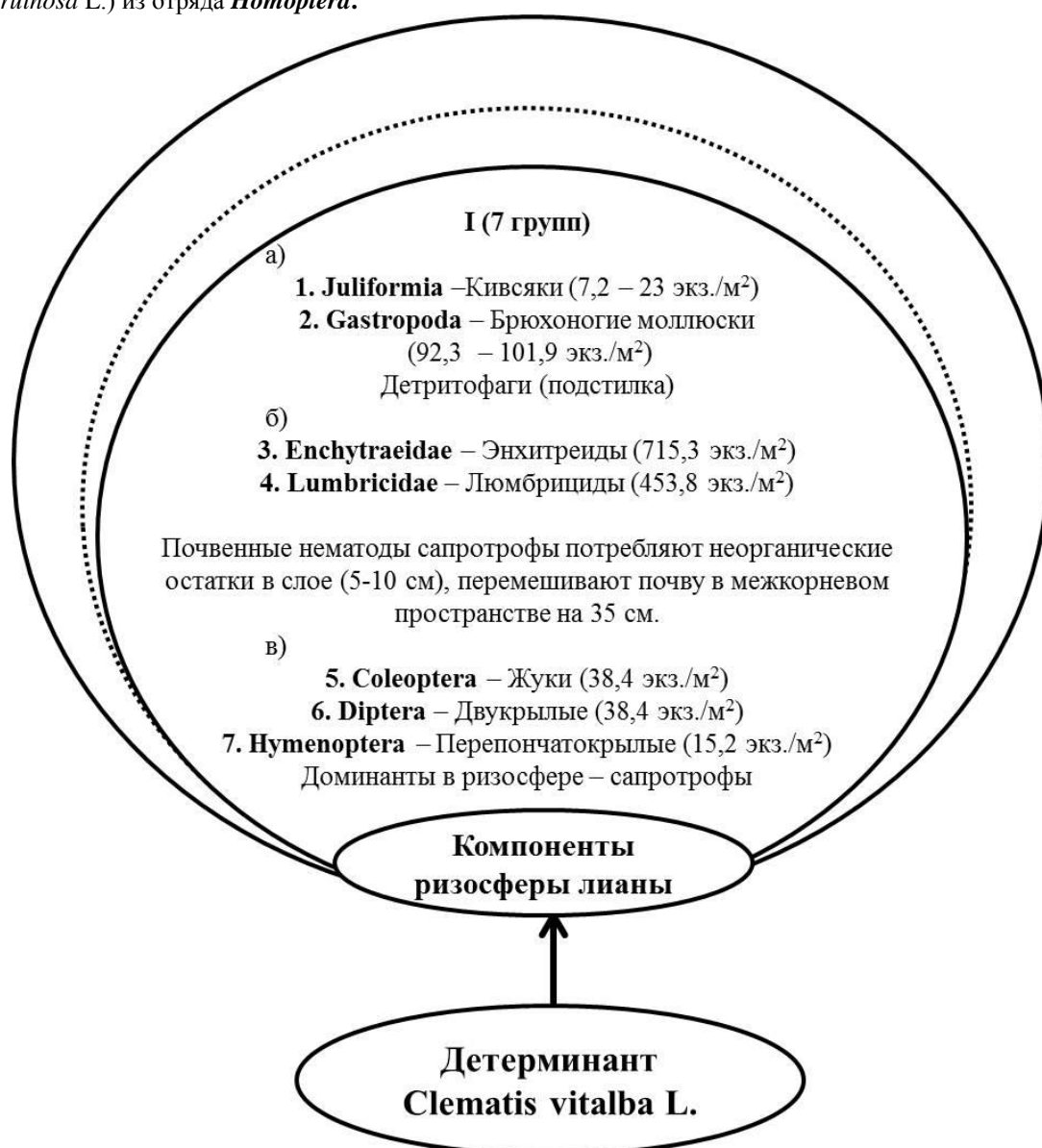


Рис. 1 – Схема структуры консортивных связей детерминанта *Clematis vitalba* с видовым составом насекомых в концентратах. I -III – консортивные группы, отряды. В скобках приведено количество обнаруженных видов, количество семейств. Способы питания насекомых (антофилы, фитофаги, хищники)

Почвенные образцы отбирались нами с поверхностного слоя, а также на глубине 5-10 см и 35 см вокруг корневой системы *Clematis vitalba* L. Собранные почвенные организмы по способу потребления мертвого органического вещества были отнесены 7 группам животных. Эти группы вошли в I концентр. Их них первое место занимает группировка (а): кивсяки (7,2-23 экз./м²) и брюхоногие моллюски (92,3-101,9 экз./м²). По способу связей с детерминантом их можно считать переработчиками листового опада (ветоши) поверхностного слоя почвы. Эти животные – детритофаги, пропуская подстилку через пищеварительный тракт, минерализуют в доступную форму, которая затем используется детерминантом (Рисунок 2).

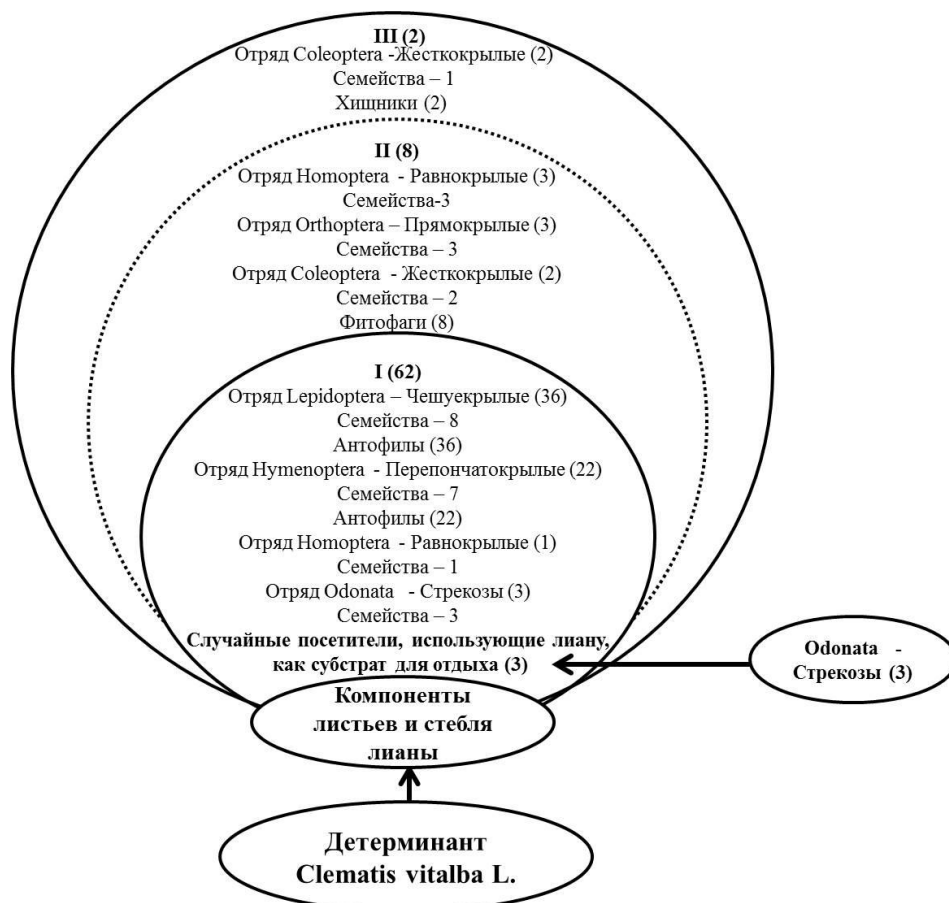


Рис. 2 – Схема структуры консортивных связей в ризосфере детерминанта *Clematis vitalba* L. с видовым составом почвенных организмов

Почвенные черви отнесены ко второй группировке (б): энхитреиды (715,3 экз./м²) и любрициды (453,8 экз./м²). Они имеют не только высокую плотность, но и во внутреннем строении мореновские железы, в которых вырабатывается известь. Выделяемые ими копролиты изменяют pH почвы, приближая ее к нейтральной среде. Кроме этого эти организмы, при активном передвижении, перемешивают почву в горизонтах, способствуя равномерному распределению гумуса.

Почвенные виды животных и их личинки относятся к третьей группировке (в): жуки, двукрылые, перепончатокрылые (38,4 экз./м², 38,4 экз./м², 15,2 экз./м², соответственно). По трофическим связям с ризосферой детерминанта они являются сапротрофами, питаются корневыми выделениями, мертвыми растительными остатками, и способствуют обогащению почвы органикой, повышая содержание гумуса в почве.

Выводы.

1. В структурных частях биоценозов Северо-Западного Кавказа описаны две полночленные консорции: первая консорция включает консорты листьев и стеблей детерминанта *Clematis vitalba* L., а вторая – консорты и трофические связи в ризосфере детерминанта.

2. В результате комплексного подхода к изучению консортивных связей составлены две концептуальные схемы, которые раскрывают структуру этих связей.

3. В первом концентре выявлены 62 консорта. Все 62 вида топически, трофически и форически связаны с детерминантом. По способу питания они являются антофилами, не приносящими вреда детерминанту. Только представители рода *Aphis spp.* повреждают нижнюю часть листовых пластинок, высасывая клеточный сок и нанося вред детерминанту.

Во втором концентре выявлено 8 консортов, из них к отряду *Homoptera* относятся 3 вида, к *Orthoptera* – 3, к *Coleoptera* – 2 вида. Все 8 видов насекомых – фитофаги; взрослые насекомые и их личинки повреждают листья и молодые побеги детерминанта.

В третьем концентре из отряда *Coleoptera* выявлены 2 вида коровок *Harmonia axyridis* P., *Adalia bipunctata* L.; оба вида – хищники. Имаго и личинки коровок регулируют высокую численность опасных вредителей детерминанта (*Metcalta pruinosa*, *Ricania japonica* M.). Имаго фитофагов вызывают некрозы листьев и молодых побегов детерминанта в различных биоценозах региона.

4. В структурных частях биоценозов в ризосфере детерминанта выявлены виды почвенных беспозвоночных животных, которые объединены в группы с учетом потребления ими мертвых органических остатков. Выявлены три группировки почвенных организмов, которые участвуют в процессе гумусообразования. Присутствие и показатели их численности можно использовать как индикаторы, указывающие на повышенное содержание гумуса в почве.

Список литературы / References

1. Арнольди Л.В. Определитель обитающих в почве личинок насекомых / Л.В. Арнольди [и др.] - М.: Наука, 1964. – 919 с.

2. Бабьева И.П. Биология почв / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М.: МГУ, 1989. – 336 с.
3. Бей-Биенко Г.Я. Определитель насекомых Европейской части СССР / Г.Я. Бей-Биенко [и др.] – М.-Л.: Наука, 1964. – 936 с.
4. Белюченко И.С. К вопросу о составе и структуре агроландшафтной системы / И.С. Белюченко // Экологические проблемы Кубани. – Краснодар: 2001. - № 9. – С.3-9.
5. Воронов А.Г. Геоботаника: учеб. пособие / А.Г. Воронов. – изд. 2-е, испр. и доп. – М.: Высш. шк., 1973. – 384 с.
6. Вальков В.Ф. Животный мир и микробиоценозы почв / В.Ф. Вальков [и др.] // Почвы Краснодарского края, их использование и охрана. – Ростов-на-Дону: СКНЦ ВШ, 1996. – С. 20-27.
7. Гиляров М.С. Особенности почвы как среды обитания и ее значение в эволюции насекомых / М.С. Гиляров. – М.-Л.: АН СССР, 1949. – 279 с.
8. Гиляров М.С. Роль почвы в происхождении и эволюции насекомых / М.С. Гиляров // Энтномол. обозрение. – 1956. – Т. 35, № 3. – С. 487-494.
9. Звержановский М.И. Консортивные связи в экосистемах. Структура консорция/ М.И. Звержановский // Трансформация веществ и энергии в трофических цепях биоценозов Северо-Западного Кавказа и Предкавказья: Монография. – Краснодар: КубГАУ, 2003. –С. 208-215.
10. Илюхин С.Р. При реке Кубани, В Карасунском куте, или Ландшафтная экология Екатеринодара в историческом плане / С.Р. Илюхин – Краснодар, 1998. – 152 с.
11. Кожанчиков И.В. Методы исследования экологии насекомых / И.В. Кожанчиков. – М.: Высш. шк., 1961. – 286 с.
12. Криворотов С.Б., Лысенко С.В. Использование индексов общности при изучении синузий эпифитных лишайников в горно-лесных ассоциациях Северо-Западного Кавказа // Бриолихенологические исследования в СССР: Всесоюзн. сб. – Апатиты, 1986. –С. 98-101.
13. Криворотов С.Б. К изучению экологии отдельных лишайников и образуемых ими синузий в фитоценозах верхней части горно-лесного пояса Северо-Западного Кавказа // Эколого-флористические исследования Северо-Западного Кавказа: Межвуз. сб. – Нальчик, 1987. –С. 143-151.
14. Криворотов С.Б. Ценогические связи лишайносинузий и отдельных видов лишайников в горных лесах Северо-Западного Кавказа // Геоботаника 21 века: Мат. Всеросс. научн. конф. – Воронеж, 1999. – С. 86-88
15. Малевиц, И.И. Фауна дождевых червей *Lumbricidae* Северо-Западного Кавказа и ее зоогеографические особенности / И.И. Малевиц // Вторая науч. конф. зоол. педаг. инстит. РСФСР: Тез.докл. / Краснодар. КГПИ. – Краснодар, 1964. – С. 60-62.
16. Мамаев Б.М. Определитель насекомых по личинкам / Б.М. Мамаев. – М.: Просвещение, 1972. – 400 с.
17. Раменский, Л.Г. О некоторых принципиальных положениях современной геоботаники/ Л.Г. Раменский/ Ботан. журн. – 1952. – Т.37. – С.181-201. Соляник Г.М. Почвы Краснодарского края / Г.М. Соляник. – Краснодар, 2004. – 70 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Arnoldi L.V. Opredelitel' obitajushhih v pochve lichinok nasekomyh [The Key to Soil Insect Larvae] / L.V. Arnoldi [et al.] - Moscow: Nauka, 1964. - 919 p. [in Russian]
2. Babieva I.P. Biologija pochv [Soil Biology] / I.P. Babieva, G.M. Zenova. - Moscow: Moscow State University, 1989. - 336 p. [in Russian]
3. Bei-Bienko G.Ya. Opredelitel' nasekomyh Evropejskoj chasti SSSR [The Key to Insects of the European part of the USSR] / G.Ya. Bei-Bienko [et al.] - M.-L. : Science, 1964. - 936 p. [in Russian]
4. Belyuchenko I.S. K voprosu o sostave i strukture agrolandshaftnoj sistemy [On the Composition and Structure of the Agrolandscape System] / I.S. Belyuchenko // Jekologicheskie problemy Kubani [Ecological Problems of the Kuban.] - Krasnodar: 2001. - No. 9. - C.3-9. [in Russian]
5. Voronov A.G. Geobotanika [Geobotany]: Study Guide / A.G.. Voronov. - 2 nd ed., corr.& add. - M. : Higher School, 1973. - 384 p. [in Russian]
6. Valkov V.F. Zhivotnyj mir i mikrobiocenozy pochv [Animal World and Microbiocenoses of Soils] / V.F. Valkov [et al.] // Pochvy Krasnodarskogo kraja, ih ispol'zovanie i ohrana [Soils of the Krasnodar Territory, Their use and Protection.] - Rostov-on-Don: SKNTS VS, 1996. - P. 20-27. [in Russian]
7. Gilyarov M.S. Osobennosti pochvy kak sredy obitaniya i ee znachenie v jevoljucii nasekomyh [Features of Soil as Habitat and its Importance in the Evolution of Insects] / M.S. Gilyarov. - M.-L. : USSR Academy of Sciences, 1949. - 279 p. [in Russian]
8. Gilyarov M.S. Rol' pochvy v proishozhdenii i jevoljucii nasekomyh [The role of soil in the origin and evolution of insects]. M.S. Gilyarov // Jentomol. obozrenie [Entomol. Review.]- 1956. - T. 35, No. 3. - P. 487-494. [in Russian]
9. Zverzhanovskij M.I. Konsortivnye svyazi v jekosistemah. Struktura konsorcija [Consortia in Ecosystems. The Structure of the Consortium] / M.I. Zverzhanovskij // Transformacija veshhestv i jenerгии v troficheskix cepjakh biocенозов Severo-Zapadnogo Kavkaza i Predkavkaz'ja: Monografija [Transformation of Substances and Energy in Trophic Chains of Biocenoses of the North-Western Caucasus and Ciscaucasia: Monograph.] -Krasnodar: KubGAU, 2003. -C. 208-215. [in Russian]
10. Ilyukhin S.R. Pri reke Kubani, V Karasunskom kute, ili Landshaftnaja jekologija Ekaterinodara v istoricheskom plane [At the river Kuban, In the Karasunsky Kut, or Landscape Ecology of Ekaterinodar in the Historical Plan] / S.R. Ilyukhin - Krasnodar, 1998. - 152 p. [in Russian]
11. Kozhanchikov I.V. Metody issledovaniya jekologii nasekomyh [Methods for Studying the Insects Ecology] / I.V. Kozhanchikov. - M. : Higher Shool, 1961. - 286 p. [in Russian]
12. Krivorotov S.B., Lysenko S.V. Ispol'zovanie indeksov obshhnosti pri izuchenii sinuzij jepifitnyh lishajnikov v gorno-lesnyh asociacijah Severo-Zapadnogo Kavkaza [Use of Community Indices in the Study of Sinusias of Epiphytic Lichens in Mountain Forest Associations of the North-West Caucasus] // Briolihenologicheskie issledovaniya v SSSR: Vsesojuzn. sb. – Apatity [Brio- and Lichen Study in the USSR: All-Union Comp. - Apatity], 1986.-P. 98-101. [in Russian]

13. Krivorotov S.B. K izucheniju jekologii otel'nyh lishajnikov i obrazuemyh imi sinuzij v fitocenozech verhnjej chasti gorno-lesnogo pojasa Severo-Zapadnogo Kavkaza [On the study of the Ecology of Individual Lichens and the Synusias Formed by them in Phytocenoses of the Upper Part of the Mountain-Forest Belt of the North-West Caucasus.] // Jekologo-floristicheskie issledovanija Severo-Zapadnogo Kavkaza: Mezhhvuz. sb. – Nal'chik [Ecological and Floristic Study of the North-Western Caucasus. - Nalchik], 1987. - P. 143-151. [in Russian]

14. Krivorotov S.B. Cenoticheskie svyazi lihenosinuzij i otel'nyh vidov lishajnikov v gornyh lesah Severo-Zapadnogo Kavkaza [Cenotic Connections of Lichen Sinusias and Individual Lichen Species in the Mountain Forests of the North-Western Caucasus] // Geobotanika 21 veka: Mat. Vseross. nauchn. konf. – Voronezh [Geobotany of the 21st Century: Mat. All-Russ. Scientific. Conf. - Voronezh,] - 1999. - P. 86-88. [in Russian]

15. Malevich I.I. Fauna dozhdevykh chervej Lumbricidae Severo-Zapadnogo Kavkaza i ee zoogeograficheskie osobennosti [Fauna of Earthworms Lumbricidae of the North-Western Caucasus and its Zoogeographic Features] / II. Malevich // Vtoraja nauch. konf. zool. pedag. instit. RSFSR: Tez.dokl [The Second Scientist. Conf. Zool. The pedagog. Institute. RSFSR: Thesis.] / Krasnodar. KGPI. - Krasnodar, 1964. - P. 60-62. [in Russian]

16. Mamayev B.M. Opredelitel' nasekomykh po lichinkam [The Key to Insects' Larvae] / B.M. Mamayev. - Moscow: Prosv., 1972. - 400 p. [in Russian]

17. Ramensky L.G. O nekotorykh principial'nykh polozheniyakh sovremennoj geobotaniki [On Some Principal Provisions of Modern Geobotanics] / L.G. Ramensky / Botan. Journal. - 1952. - T.37. - P.181-201. [in Russian]

18. Solyanik, G.M. Pochvy Krasnodarskogo kraja [Soil of the Krasnodar Territory] / G.M. Solyanik. - Krasnodar, 2004. - 70 p. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.008>

Машарипов Р.С.¹, Киреев М.В.², Коротков А.Д.³, Медведев С.В.⁴

¹ORCID: 0000-0003-4162-3725, аспирант, ²ORCID: 0000-0003-3409-6293, кандидат биологических наук,

³ORCID: 0000-0003-3527-7205, кандидат биологических наук,

⁴ORCID: 0000-0003-2503-9131, академик Российской академии наук, доктор биологических наук,

Институт мозга человека имени Н.П. Бехтерева Российской академии наук

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БЛОКОВЫХ ДИЗАЙНОВ В ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫХ ТОМОГРАФИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Аннотация

Настоящая работа посвящена оценке эффективности блочного дизайна функционального магнитно-резонансного томографического (фМРТ) исследования в зависимости от длительности блоков, в которых испытуемый находится в состоянии оперативного покоя. Показано, что длительность блоков «покоя» равная длительности блоков экспериментальных условий при наличии нескольких условий и/или относительно большой длительности блоков «условий» снижает эффективность блочного дизайна в обнаружении различий, связанных с повышением нейронной активности в экспериментальных условиях по сравнению с состоянием оперативного покоя. Расчет оптимальной длительности блока «покоя» не только помогает повысить эффективность блочного дизайна, но и позволяет сократить общую длительность фМРТ-исследования, что особенно важно для диагностических исследований.

Ключевые слова: эффективность дизайна, блочный дизайн, функциональная магнитно-резонансная томография.

Masharipov R.S.¹, Kireev M.V.², Korotkov A.D.³, Medvedev S.V.⁴

¹ORCID: 0000-0003-4162-3725, Postgraduate student, ²ORCID: 0000-0003-3409-6293, PhD in Biology,

³ORCID: 0000-0003-3527-7205, PhD in Biology, ⁴ORCID: 0000-0003-2503-9131, Dr.Sci. in Biology,

N.P. Bechtereva Institute of the Human Brain.

EFFICIENCY OF BLOCK DESIGNS IN FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING

Abstract

In this paper we estimate the efficiency of block designs in functional magnetic resonance imaging (fMRI) depending on the duration of the rest blocks. It is shown that the equality of rest block and task block duration can reduce the efficiency of block design in detecting difference of neural activity between rest and task conditions. Estimation of the optimal rest block duration not only allows to improve the efficiency of block design, but also reduces the overall duration of fMRI study, which is especially important for clinical studies.

Key words: design efficiency, block design, functional magnetic resonance imaging.

Блочные дизайны широко применяются при функциональных магнитно-резонансных томографических (фМРТ) исследованиях. Применение блочного дизайна предполагает предъявление испытуемому однотипных стимулов с минимальным промежутком или выполнение испытуемым определенной деятельности в течение определенного интервала времени (обычно от 15 до 50 секунд) [1]. В структурах мозга, нейронная активность которых связана с определенным экспериментальным условием, МР-сигнал, зависящий от уровня оксигенации крови (BOLD-сигнал), повышается и выходит на плато до окончания блока экспериментального условия (далее – блока «условия»). Зачастую в фМРТ-исследованиях требуется определить повышение нейронной активности в экспериментальном условии по сравнению с состоянием оперативного покоя. Для этого блоки с «условиями» разделяют паузами, во время которых испытуемый находится в состоянии оперативного покоя (далее данные промежутки времени будут называться блоками «покоя»).

Важным аспектом создания блоковых фМРТ-дизайнов для психофизиологических исследований является минимизация общей длительности исследования, т.к. испытуемые не могут долго находиться в магнитно-резонансном томографе из-за громкого звука, вызываемого механической вибрацией градиентных катушек МР-томографа (чем выше скорость регистрации данных, тем громче звук) [2], [3], из-за стимуляции периферических нервов быстрым изменением магнитного поля, приводящей к непроизвольному сокращению мышц, из-за стресса от нахождения в непривычном замкнутом пространстве, из-за затекания головы и шеи при их длительной фиксации и других факторов [4], [5]. Особую важность эта проблема приобретает при диагностических исследованиях, например, при определении речевых или моторных областей перед проведением нейрохирургической операции, т.к. пациенты еще более чувствительны к условиям сканирования в МР-томографе [6], [7].

Однако, при сокращении общей длительности исследования уменьшение количества регистрируемых данных приводит к снижению отношения сигнал-шум и, соответственно, к снижению вероятности обнаружения различий, связанных с экспериментальными условиями при статистическом анализе данных. Иными словами, снижается эффективность данного фМРТ-дизайна. В литературе уже рассматривался вопрос о зависимости эффективности блоковых дизайнов от длительности блоков «условия» (оптимальная длительность 15 с, максимальная до 50 с) [8], от порядка предъявления блоков, от периода между началом двух проб в блоке (Stimulus-onset asynchrony, SOA – чем меньше, тем лучше) [9] и других параметров. Согласно стандартной рекомендации, встречаемой в литературе посвященной эффективности блоковых дизайнов, длительность блока «покоя» должна равняться длительности блока «условия» [8]. Но на практике встречаются ситуации, когда длительность блока «условия» невозможно сократить до оптимальных 15 секунд, а также необходимо сравнение более двух экспериментальных условий. В таком случае блоки «покоя» значительно увеличивают общую длительность исследования и возникает вопрос о возможности сокращения длительности блоков «покоя» при минимальной потере эффективности дизайна. Настоящая работа была посвящена оценке эффективности блоковых дизайнов в зависимости от длительности блоков «покоя».

Для статистического анализа локальной нейрональной активности возможно использование общих линейных моделей (ОЛМ) вида [10]:

$$Y_k(t) = X_{k1}(t)\beta_1 + \dots X_{ki}(t)\beta_i + \dots X_{kn}(t)\beta_n + E_k(t) \quad (1)$$

Согласно ОЛМ регистрируемый сигнал $Y_k(t)$ в каждом вокселе k зависит от нескольких факторов $X_{kn}(t)$, например, от экспериментальных условий, индивидуальных особенностей испытуемого, движений головы во время сканирования и др., а оставшаяся часть сигнала $E_k(t)$ считается необъяснимой случайной ошибкой. В рамках ОЛМ предполагается, что случайная ошибка $E_k(t)$ имеет нормальное распределение со средним значением равным нулю и выборочной (обозначено *) дисперсией σ_k^{2*} ($E_k \sim N(0, \sigma_k^{2*})$), а также предполагается, что случайная ошибка в одном вокселе не зависит от ошибки в другом вокселе. Величина параметров β_n указывает на вклад того или иного фактора $X_{kn}(t)$ в регистрируемый сигнал. Расчет данных параметров происходит при помощи метода наименьших квадратов, чтобы оставшаяся необъяснимая часть сигнала $E_k(t)$ принимала минимальные значения. Таким образом, каждому вокселу фМРТ-изображения будет соответствовать свой набор параметров β_n , максимально объясняющих сигнал в этом вокселе: для всего объема головного мозга строятся статистические параметрические карты (англ. «Statistical Parametric Mapping», SPM) [10].

Систему всех ОЛМ для одного вокселя, можно представить в матричном виде:

$$\begin{pmatrix} Y_1 \\ \vdots \\ Y_i \\ \vdots \\ Y_m \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} X_{11} & \dots & X_{1j} & \dots & X_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{i1} & \dots & X_{ij} & \dots & X_{in} \\ \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{m1} & \dots & X_{mj} & \dots & X_{mn} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \vdots \\ \beta_j \\ \vdots \\ \beta_n \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} E_1 \\ \vdots \\ E_i \\ \vdots \\ E_m \end{pmatrix} \quad (2)$$

$$Y_{m \times 1} = X_{m \times n} \beta_{n \times 1} + E_{m \times 1}. \quad (3)$$

Вектор-столбец $Y_{m \times 1}$ содержит значения BOLD-сигнала в динамических сканах от 1 до m , вектор-столбец $E_{m \times 1}$ содержит значения случайной ошибки в сканах от 1 до m ($E \sim N(0, \sigma^{2*})$) вектор-столбец $\beta_{n \times 1}$ содержит значения параметров, определяющих вклад регрессоров от 1 до n в регистрируемый сигнал. Матрица $X_{m \times n}$ содержит значения всех n регрессоров для всех m сканов, её также называют матрицей дизайна исследования. Регрессоры, связанные с экспериментальными условиями, свертывают с функцией гемодинамического ответа для того, чтобы смоделировать ожидаемый BOLD-сигнал. Кроме этого к правой и левой части уравнения применяются фильтр высоких частот (ФВЧ) для того, чтобы устранить низкочастотные колебания сигнала, связанные с дрейфом магнитного поля и другими низкочастотными шумами МР-томографа. В качестве примера рассмотрим блоковый дизайн с 4 условиями, предъявляемых последовательно («условие1», «покой», «условие2», «покой», «условие3», «покой», «условие4», «покой» и т.д.), длительностью блока «условия» 20 с и длительностью блока «покоя» 20 с, а также используем стандартный для фМРТ-исследований ФВЧ [8], отсеивающий колебания с периодом более 128 с. В данном случае матрица X будет состоять из 4 регрессоров, моделирующих амплитуду сигналов, связанных с 4 экспериментальными условиями (см. рис. 1А).

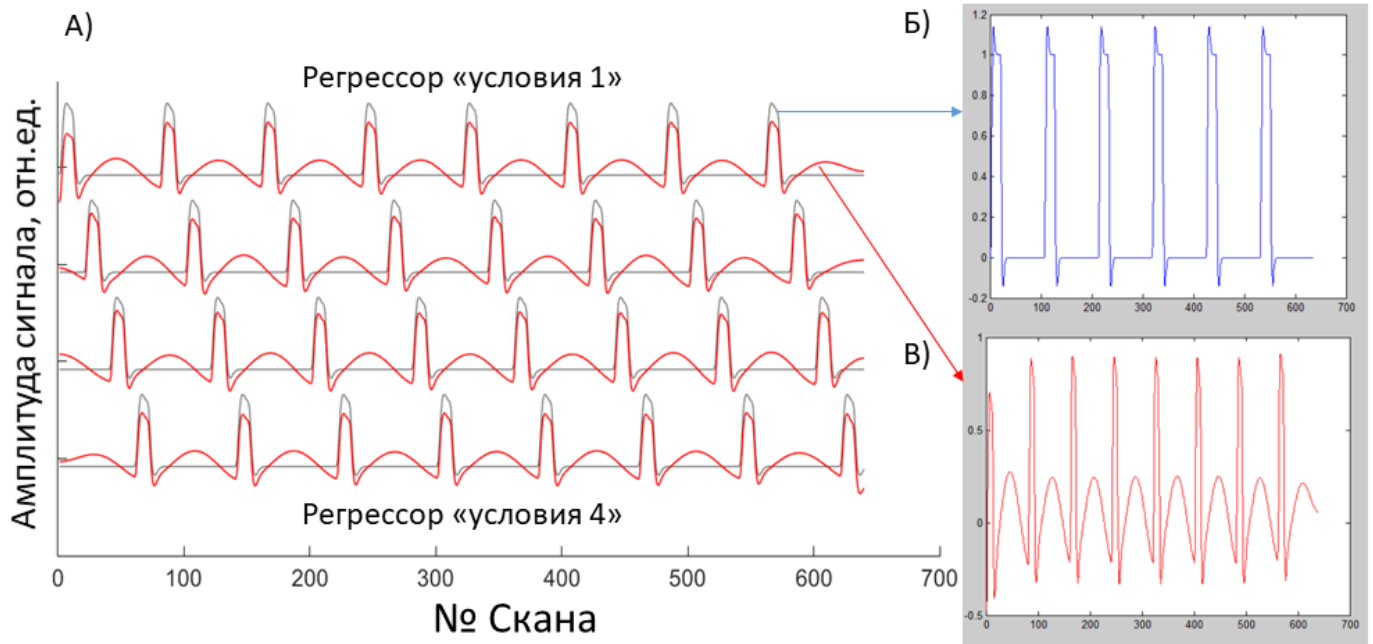


Рис. 1 – А) Относительные значения регрессоров 4 условий, определяемые матрицей дизайна X. Б) Модель сигнала, связанного с «условием 1» до применения ФВЧ и В) после применения ФВЧ с порогом 128 с.

Оценка параметров β и их выборочной дисперсии в рамках метода наименьших квадратов происходит при помощи решения систем уравнений:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y \quad (4)$$

$$D^*[\hat{\beta}] = \sigma^{2*} (X^T X)^{-1} \quad (5)$$

Для определения различий, связанных с повышением сигнала в «условии 1» по сравнению с покоем (т.н. контраст «условие 1 > покой») рассчитывается значение t-критерия Стьюдента для параметра, описывающего «условие 1»:

$$t = \frac{C^T \hat{\beta}}{\sqrt{D^*[C^T \hat{\beta}]}} \quad (6)$$

$$D^*[C^T \hat{\beta}] = \sigma^{2*} C (X^T X)^{-1} C^T \quad (7)$$

$$t = \frac{C^T \hat{\beta}}{\sqrt{\sigma^{2*} C (X^T X)^{-1} C^T}} \quad (8)$$

где C – вектор-строка, определяющий контраст сравнения, в рассматриваемом случае для определения различия «условие 1 > покой» используется вектор $C = [1 \ 0 \ 0 \ 0]$, а, например, для определения различия «условие 1 > условие 2» используется вектор $C = [1 \ -1 \ 0 \ 0]$ и т.д.).

Согласно нулевой гипотезе H_0 : $C^T \hat{\beta} = 0$. Если значение t-критерия превышает критическое значение, при котором вероятность его обнаружения становится меньше выбранного исследователем порога (например, $p < 0.05$), то различие, связанное с контрастом C , считается статистически значимым. Для того, чтобы t-критерий достиг превысил критическое значение необходимо увеличение разности параметров $C^T \hat{\beta}$, стоящей в числителе уравнения (8), а также уменьшение числителя $\sigma^{2*} C (X^T X)^{-1} C^T$. Как уже говорилось ранее, σ^{2*} – это выборочная дисперсия связанная с необъяснимой частью сигнала (неизвестным «шумом»). Повлиять напрямую на значение σ^{2*} исследователь повлиять не может, однако он напрямую влияет на произведение $C (X^T X)^{-1} C^T$, называемое «дисперсией дизайна», изменяя дизайн исследования, т.к. это произведение зависит от выбранного контраста C и матрицы дизайна исследования X . Минимизируя дисперсию, связанную с дизайном, исследователь повышает эффективность дизайна в обнаружении различия, определяемого контрастом C :

$$Eff = 1 / C (X^T X)^{-1} C^T \quad (9)$$

Эффективность дизайна определяет способность точной оценки параметров β при заданной матрице дизайна X . Она не имеет размерности, т.е. является относительной величиной. Если значение эффективности одного дизайна в два раза больше, чем у другого, то нельзя сказать, что этот дизайн в два раза эффективнее другого, можно только сказать, что он эффективнее.

Применение ФВЧ к рассматриваемому блоковому дизайну приводит к искажению моделей сигналов, связанных с условиями (см. рис. 1Б и рис. 1В), что в свою очередь приводит к увеличению «дисперсии дизайна» и снижению эффективности дизайна. Это происходит потому, что дизайн включает в себя 4 экспериментальных условия при относительно большой длительности блоков «условия» ($dur_{усл}$) и блоков «покоя» ($dur_{покоя}$) – изменения сигнала, связанного с условиями, происходит медленно с периодом: $(dur_{усл} + dur_{покоя}) \times кол - во\ условий = (20+20) \times 4 = 160$ секунд. Часть полезного сигнала отсеивается стандартным фильтром высоких частот (см. рис. 2), который убирает низкочастотные колебания с периодом более 128 секунд (частотой ~ 0.0078 Гц).

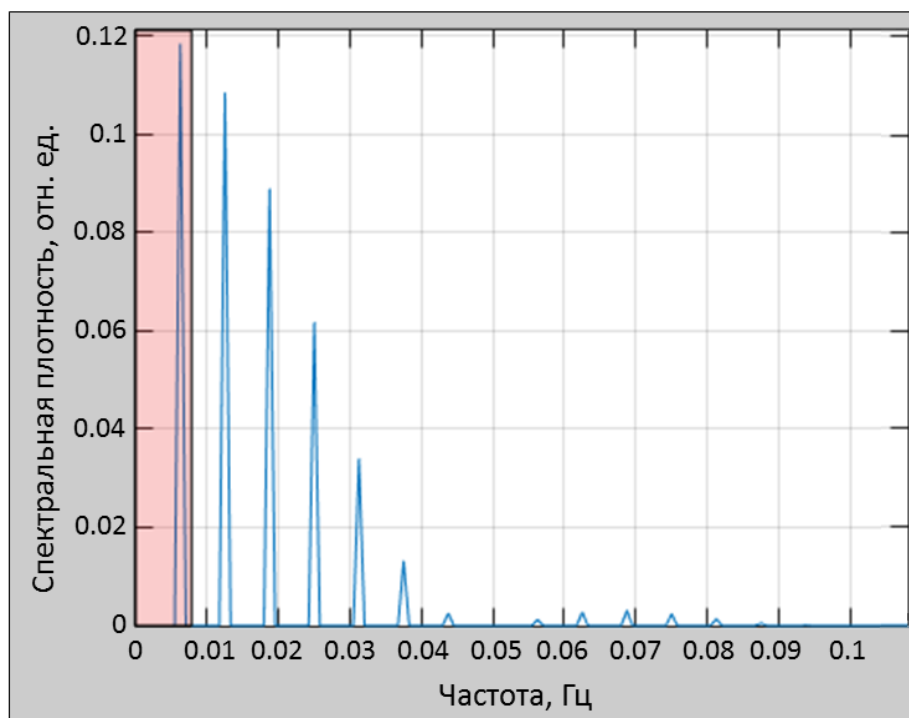


Рис. 2 – График спектральной плотности модели сигнала, связанного с «условием1», полученный при помощи быстрого преобразования Фурье. ФВЧ с порогом 128 с (~ 0.0078 Гц) отсеивает часть полезного сигнала (обозначен розовым цветом)

Расчет эффективности дизайна в зависимости от длительности блока «покоя» для контраста «условие1>покой» до применения ФВЧ показал ожидаемое увеличение эффективности при увеличении длительности блока «покоя». После применения ФВЧ с порогом 128 с эффективность дизайна увеличивается до определенной длины блока «покоя», а затем падает из-за того, что фильтр начинает отсеивать полезный сигнал (см. рис. 3). Оптимальная длительность блока «покоя» для рассматриваемого дизайна равна 11 секунд.

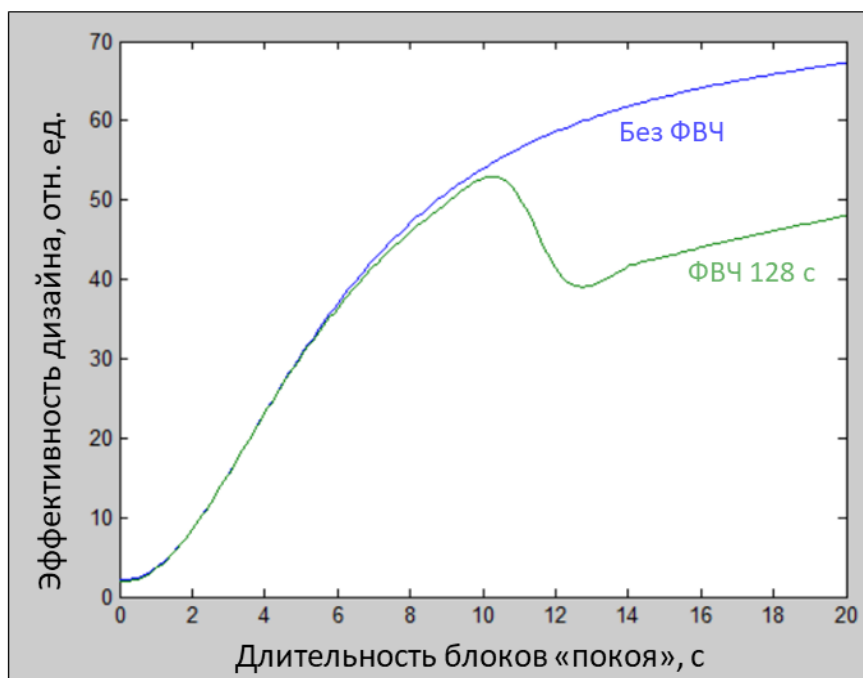


Рис.3 – Зависимость эффективности дизайна для контраста «условие1>покой» от длительности блоков «покоя». Синим — эффективность дизайна до применения ФВЧ. Зеленым — после ФВЧ с порогом 128 с.

Эффективность блокового дизайна после применения ФВЧ при длительности блока «покоя» 20 с равна 48.01, а при длительности блока 11 с равна 50.47. При этом общая длительность продолжительность исследования сокращается на 22,5%. Таким образом длительность блока «покоя» равная длительности блока «условия» не является оптимальной при наличии более двух экспериментальных условий и относительно большое длительности блоков «условия». Расчет оптимальной длительности блока «покоя» позволяет добиться максимальной эффективности дизайна, сокращая при этом общую длительность исследования, что особенно важно для пациентов, испытывающих стресс от длительного нахождения в МР-томографе.

Дополняя вышесказанное необходимо отметить следующее:

1) Для блочного дизайна с последовательным предъявлением блоков «условий» (без рандомизации или контрбалансировки) оптимальную длительность блока «покоя» можно получить не только с помощью расчета зависимости эффективности блока, но и с помощью неравенства:

$$(dur_{\text{усл}} + dur_{\text{покоя}}) \times \text{кол} - \text{во условий} < \text{Порог ФВС}. \quad (10)$$

2) Для дизайнов с длительностью блоков «покоя» равными длительности блоков «условия» при последовательном предъявлении блоков и при использовании стандартного ФВЧ 128с максимальная длительность блоков при которой не происходит снижение эффективности составляет: для 1 условия – 63 с, 2 условий – 31 с, 3 условий – 21 с, 4 условий – 15 с.

3) В случае, если блоки идут в непоследовательном порядке (с применением рандомизации или контрбалансировки порядка предъявления блока), или при варьировании длительности блоков использование неравенства (10) становится не возможным.

4) Также использование неравенства (10) не позволяет определить оптимальную длительность блока «покоя», при такой длительности блока «условия», при которой любое изменение длительности блока «покоя» не позволит сократить период колебания полезного сигнала ниже порога 128 с, который отсекает стандартный фильтр ФВЧ. Для 2 условий – это происходит при приближении длительности блока к 63 с, для 3 условий при 42 с, для 4 условий при 31 с.

5) В ситуации (3) и (4) определение оптимальной длительности блока «покоя» возможно при помощи уравнения (9) и построения графика зависимости эффективности от длительности блока «покоя» (рис. 3).

6) Альтернативный способ повышения эффективности дизайна в ситуациях (3) и (4) – применение менее строго порога ФВС, чем общепринятый [8] порог 128 с. Однако, для этого необходимо знать какие низкочастотные шумы возникают у конкретного МР-томографа, на котором будут регистрируются данные. Перед использованием менее строго порога исследователь должен убедиться, отсеивает ли такой фильтр низкочастотные шумы МР-томографа.

Список литературы / References

- 1) Petersen S.E. The mixed block/event-related design / S.E. Petersen, J.W. Dubis // Neuroimage. –2012. – Vol.62, №2. – P. 1177–1184.
- 2) Moelker A., Pattynama P.M. Acoustic noise concerns in functional magnetic resonance imaging / A. Moelker, P.M. Pattynama // Human Brain Mapping. – 2003. – Vol.20, №3. – P. 123–141.
- 3) McJury M., Shellock F.G. Auditory noise associated with MR procedures: A Review / M. McJury, F.G. Shellock // Journal of Magnetic Resonance Imaging. – 2000. – Vol.12. – P. 37–45.
- 4) Cooke R. The neuroimaging research process from the participants' perspective / R. Cooke [et al.] // International Journal of Psychophysiology. – 2007. Vol.63. – P. 152–158.
- 5) MacKenzie R. Patients' perceptions of magnetic resonance imaging. / R. MacKenzie [et al.] // Clinical Radiology. – 1995. – Vol.50, №3. – P. 137–143.
- 6) Szameitat A.J. The functional magnetic resonance imaging (fMRI) procedure as experienced by healthy participants and stroke patients – A pilot study / A.J. Szameitat, S. Shen, A. Sterr // BioMed Central Medical Imaging. – 2009. – Vol.9, №14. – P. 1–11.
- 7) Grey S.J. Reduction of anxiety during MR imaging: a controlled trial / S.J. Grey, G. Price, A. Mathews // Magnetic Resonance Imaging. –2000. – Vol.18. – P. 351 – 355.
- 8) Henson R. Efficient experimental design for fMRI / R. Henson // Statistical Parametric Mapping: The analysis of functional brain imaging data. – Academic Press, 2006. –P. 193–210.
- 9) Maus B. Optimization of blocked designs in fMRI studies / B. Maus [et al.] // Psychometrika. – 2010. – Vol.75, №2. – P. 373–390.
- 10) Holmes A.P. Characterizing brain images with the general linear model. / A.P. Holmes, J.B. Poline, and K.J. Friston // Human Brain Function. – Academic Press, 1997. – P. 59–84.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.012>Мороз Т.П.¹, Федотов Д.М.², Грибанов А.В.³¹Младший научный сотрудник института медико-биологических исследований,²кандидат медицинских наук, доцент кафедры гигиены и медицинской экологии, магистрант Высшей школы естественных наук и технологий,³доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник института медико-биологических исследований,
^{1,2,3}Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск,²Северный государственный медицинский университет

Исследование проводилось при финансовой поддержке Российского государственного регионального научного фонда и Администрации Архангельской области в рамках регионального конкурса «Русский Север: история, современность, перспективы». 17-16-29003 «Ухудшение пострурального контроля с возрастом как фактор снижения качества жизни людей в циркумполярных условиях»

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТУРАЛЬНОГО БАЛАНСА У ЖЕНЩИН 55-64 ЛЕТ**Аннотация**

Целью нашей работы явилась оценка качества ходьбы у женщин 55-59 лет при сравнении с женщинами 60-64 лет. В исследовании приняли участие 80 женщин в возрасте 55-64 лет. Данная выборка была разделена на 2 подгруппы: (1) женщины в возрасте 55-59 лет (W55-59, n = 36) и (2) женщины в возрасте 60-64 лет (W60-64, n = 44). Оценка параметров ходьбы производилась при помощи компьютерного стабилметрического комплекса «Balance Manager». Были проведены следующие тесты: «Простая ходьба», «Быстрый разворот» и «Шаг-перешагивание». В тесте «Простая ходьба» отмечается статистически значимое снижение длины шага ($p = 0,04$) у женщин W60-64 по сравнению с W55-59. Так же было обнаружено значимое увеличение времени разворота влево ($p = 0,02$) в тесте «Быстрый разворот» у группы женщин W60-64 по сравнению с W55-59. При анализе теста «Шаг-перешагивание» было обнаружено, что в группе женщин W60-64 время движения (справа) ($p = 0,05$) было выше по сравнению с W55-59. По результатам оценки качества ходьбы, установлено, что уровень сложно- координационных движений и сложных двигательных актов был выше в группе W55-59 по сравнению с W60-64. Группа женщин W60-64 продемонстрировала снижение длины шага и более продолжительное время выполнения разворотов, что может рассматриваться как один из признаков старения и стать причиной снижения координации в будущем.

Ключевые слова: Мобильность, поструральный баланс, старение, женщины.

Moroz T.P.¹, Fedotov D.M.², Griбанov A.V.³¹Junior Researcher, Institute of Biomedical Research, ²PhD, Associate Professor of the Department of Hygiene and Medical Ecology, Master student of Higher School of Natural Sciences and Technology,³Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief researcher, Institute of Biomedical Research,^{1,2,3}Northern (Arctic) Federal University, Arkhangelsk,²Northern State Medical University

The study was carried out with the financial support of the Russian State Regional Scientific Fund and the Administration of the Arkhangelsk Region within the regional contest "Russian North: history, modernity, prospects", project No. 17-16-29003 "Deterioration of postural control with aging as a factor of reducing the quality of life of people in circumpolar conditions"

POSTURAL BALANCE CHARACTERISTIC IN WOMEN AGED 55-64 YEARS**Abstract.**

The aim of the recent study was to evaluate gait performance in women aged 55-59 years in comparison with women aged 60-64 years. A total 80 healthy, community-dwelling women aged 55-64 yrs. participated in this study. They were divided into 2 subgroups: (1) women aged 55-59 years (W55-59, n=36) and (2) women aged 60-64 years (W60-64, n=44). The walking performance was assessed by computer stabilometric complex «Balance Manager». The following tests were carried out: Walk Across, Step-Quick Turn and Step Up and Over. WA test showed statistically significant shorter step length ($p = 0.04$) in W60-64 compared to W55-59. It was revealed statistically significant longer time (left) ($p = 0.02$) in SQT test in W60-64 compared to W55-59. While analyzing SUO test found that in W60-64 the movement time (right) ($p = 0.05$) was longer compared to W55-59. Based on the evaluation of walk it is established that the level of hard-coordination and complex motor acts was higher in W55-59 compared to W60-64. Thus, we concluded that spatiotemporal characteristics of walk in middle-aged women were changed with age. The older group of women (W60-64) demonstrated a reduction in step length and prolonged execution turn time, which might be a cause for decreasing of coordination with aging.

Keywords: mobility, postural balance, ageing, women.

Introduction

Studies of gait biomechanics are becoming increasingly important in gerontology and geriatrics, as it allows predicting the degree of deterioration of the mobility and the risk of falls in patients [4, P. 976–981], [8, P. 151-156]. In addition, the identification of the age characteristics of gait in the elderly makes it possible to foresee the medical and social needs of aging [2, P. 835–839], [5, P. 1415–1420]. Of particular importance are the gains for living in the North, in the region of uncomfortable climatic living conditions, which place high demands on functional systems of the human body [9, P. 751–758].

The aim of the recent study was to evaluate walking performance in women aged 55-59 years in comparison with women aged 60-64 years.

Materials and methods

Eighty healthy community-dwelling women volunteered to participate in this study. According to age, they were divided into 2 subgroups: (1) women aged 55-59 years (W55-59, n=36) and (2) women aged 60-64 years (W60-64, n=44). Exclusion

criteria of this study were: inability to walk independently, being registered at the mental hospital, stroke at anamnesis and neuro-degenerative diseases.

The walking performance was assessed by computer stabilometric complex «Balance Manager». The following tests were conducted:

Walk Across (WA). The WA test quantifies characteristics of gait while walking on the force plate. The measured parameters of this test are: step width, step length and speed.

Step-Quick Turn (SQT). The SQT test gives an assessment of turn performance characteristics while patient takes two forward steps, quickly turns 180° and returns to the starting point. The measured parameters are: turn time and sway velocity.

Step Up and Over (SUO). The SUO test gives an assessment of motor control characteristics while patient steps up onto a barrier with one foot, lifting the body through an takes standing position over the barrier, swings the other foot over the barrier, and then lowers the body to land the swing leg on the force plate. The measured parameters are: lift up index (force to rise), movement time and impact index (control of impact force descending onto the swing leg).

Statistical analysis was held with program «SPSS 20.0». Standard statistical methods were used for calculation of mean and standard deviation of the mean (\pm SD). For 100% we have taken the results of W55-59 (the red line). Relatively to this line we have put the results of W60-64 (the blue line) (Fig. 1, 2). Differences between subjects were examined using a Student t-test. Statistical significance was accepted at $p < 0.05$.

Results

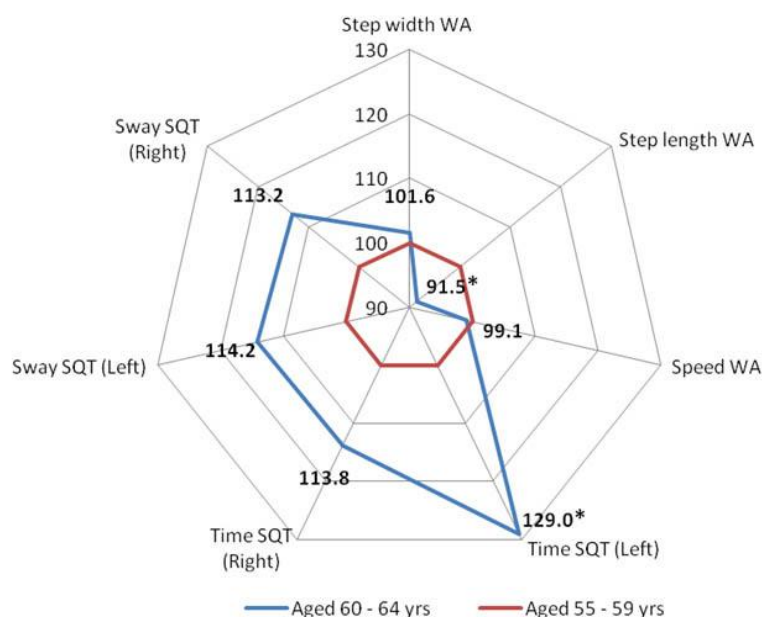


Fig. 1 – Mean characteristics of Step-Quick Turn (SQT) and Walk Across (WA) tests parameters in women aged 55-64 yrs (% from W55-59, taken as 100%)

Note: * $p < 0.05$ compared to W60-64.

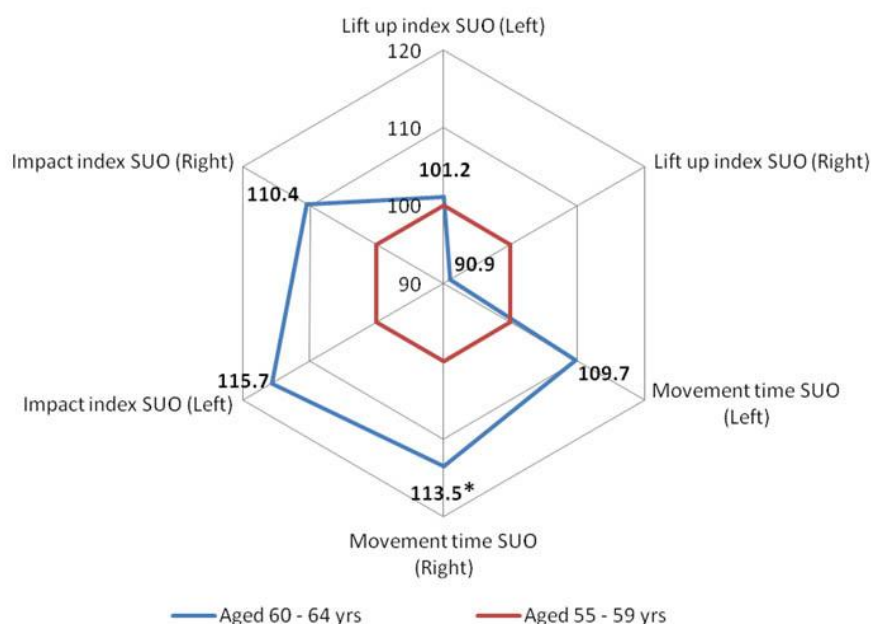


Fig. 2 – Characteristics of Step Up and Over (SUO) test parameters in women aged 55-64 yrs (% from W55-59, taken as 100%)

Note: * $p < 0.05$ compared to W60-64.

No significant differences between measured groups were suggested in step width and speed in WA test and in sway left and right in the SQT test (fig. 1). WA test showed statistically significant shorter step length ($p = 0.04$) in W60-64 compared to W55-59. We revealed statistically significant longer time (left) ($p = 0.02$) and no difference in time (right) in SQT test in W60-64 compared to W55-59. While analyzing SUO test found that in W60-64 the movement time (right) ($p = 0.05$) was longer compared to W55-59. No significant differences between other measured parameters in SUO test were suggested (fig. 2).

Discussion

The results of the „Walk Across” test demonstrated a reduced step length ($p = 0,04$) and speed during the walk, and an increased in the step width in W60-64 compared to W55-59. This necessitates increasing time to support on two legs compared to standing on one leg while walking. It can also be due to the fear of loss of balance with aging, which is especially important in winter in Northern regions. Step length can be shortened (consciously or unconsciously) to reduce the walking speed, which helps to minimize the displacement of the center of gravity in decreasing of its control [1, P. 643–645].

It was found that in the group of women aged 60-64 years turn time left in the „Step-Quick Turn” test was significantly longer ($p = 0,02$) compared to women aged 55-59 years. Prolonged turn time to 180° may indicate insufficient vestibular function, elements of bradykinesia or pathology of the musculoskeletal system. No significant differences in other measured parameters emerged in this test between measured groups, and therefore we can conclude that the results of the older group were lower compared to the younger group. The results may indicate a gradual weakening of the musculoskeletal system with aging. We have found that older women have a reduction in the speed of adaptation to complex motor acts.

Analysis of the "Step Quick Turn" test indicated a decrease in adaptive abilities to complex motor acts in W60-64 compared to W55-59. Neurophysiological mechanisms of complex motor acts in the elderly is one of the development factors of fall syndrome. Changes in the parameters of this test in the elderly may also be due to a reduction in visual and vestibular information in balance control, dysfunction of the musculoskeletal system. H.J. Lee and S. Choi-Kwon [10, P. 1132 – 1135] noticed that vestibular changes in people aged 60 years and older were accompanied by a decrease in the quality of life and increase their level of anxiety.

In the „Step Up and Over” test significant differences were observed in the movement time right ($p = 0,05$) in W60-64 compared to W55-59. Increase in the execution time in older women of motion can be due to stiffness in joints, bradykinesia, balance disorder or attempt to avoid discomfort [4, P. 976–981], [6, P. 365–371], [9, P. 751–758].

N. Beyer et al [3, P. 300–309] noted that rehabilitation programs aimed at preserving the dynamic components of postural control, including patients with postural instability, have a positive impact on reducing the risk of falls and subsequent preservation of mobility. Using the tests "Walk Across", "Step-Quick Turn" in the diagnosis of walk parameters will be useful for predicting the risk of falls and reduction of mobility, as well as for evaluation and correction of quality rehabilitation programs related to postural control changes. Moreover, conducting of sport and recreational activities aimed at preserving the ability to complex motor acts in women 65 years and older, will have a positive impact on mobility, social independence, and also decrease risk of further falls. Thus, it has a positive impact on the duration and quality of life in elderly women [6, P. 365–371], [7, P. 12], [11, P. 44-52], [12, P. 166-170].

Conclusion

In both groups, the average test parameters were within normal limits. Based on the evaluation of walk it is established that the level of hard-coordination and complex motor acts was higher in W55-59 compared to W60-64.

Thus, we concluded that spatiotemporal characteristics in middle-aged women were changed with age. The older group of women (W60-64) demonstrated a reduction in step length and prolonged execution turn time, which might be a cause for decreasing of coordination with aging.

Список литературы / References

1. Hausdorff J.M. Balance and gait in older adults with systemic hypertension / J.M. Hausdorff, T. Herman, R. Baltadjieva and others // The American journal of cardiology. – 2003 – Vol. 91, №5. – P.643–645.
2. Baloh R.W. A longitudinal study of gait and balance dysfunction in normal older people / R.W. Baloh, S.H. Ying, K.M. Jacobson // Archives of Neurology. – 2003. – Vol. 60, № 6. – P. 835–839.
3. Beyer N. Old women with a recent fall history show improved muscle strength and function sustained for six months after finishing training / N. Beyer, L. Simonsen, J. Bülow and others // Aging clinical and experimental research. – 2007. – Vol. 19, № 4. – P. 300–309.
4. Camicioli R. Balance in the healthy elderly: posturography and clinical assessment / R. Camicioli, V.P. Panzer, J. Kaye // Archives of neurology. – 1997. – Vol. 54, № 8. – P. 976–981.
5. Campbell A.J. Examination by logistic regression modelling of the variables which increase the relative risk of elderly women falling compared to elderly men / A.J. Campbell, G.F. Spears, M.J. Borrie // Journal of clinical epidemiology. – 1991. – Vol. 43, № 12. – P. 1415–1420.
6. Carboneau E. Effects of age and lean direction on the threshold of single-step balance recovery in younger, middle-aged and older adults. / E. Carboneau, C. Smeesters // Gait and posture. – 2014. – Vol. 39, № 1. – P. 365–371.
7. LaFont C. Falls, Gait and Balance Disorders in the Elderly: From Successful Aging to Frailty / C. LaFont, A. Baroni, M. Allard and others // Facts and Research in Gerontology. – New York: Springer Publishing Company. – 1996. – 185 p.
8. Грибанов А.В. Возрастные особенности качества жизни у женщин пожилого и старческого возраста с постральной стабильностью / А.В. Грибанов, А.В. Демин, Т.П. Мороз // Врач – аспирант. – 2014. – №4.1 (65). – С. 151-156.
9. Lee H.J. Quality of life and the related factors in patients with dizziness / Lee H.J., Choi-Kwon S. // Journal of Korean Academy of Nursing. – Vol. 39, № 5. – P. 751–758.
10. Ostchega Y. The prevalence of functional limitations and disability in older persons in the US: data from the National Health and Nutrition Examination Survey III. / Y. Ostchega, T.B. Harris, R. Hirsch, and others // Journal of the American Geriatrics Society. – 2000. – Vol. 48, № 9. – P. 1132 – 1135.

11. Мелькова Л.А. Состояние вегетативной регуляции ритма сердца при пассивном ортостазе у женщин пожилого и старческого возраста / Мелькова Л.А., Федотов Д.М. // Журнал медико-биологических исследований. – 2015. – № 2. – С. 44-52.

12. Гудков А.Б. Особенности постурального баланса у мужчин пожилого и старческого возраста с синдромом страха падения / А.Б. Гудков, А.В. Дёмин // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25. № 1. – С. 166-170.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Hausdorff J.M. Balance and gait in older adults with systemic hypertension / J.M. Hausdorff, T. Herman, R. Baltadjieva and others // The American journal of cardiology. – 2003 – Vol. 91, №5. – P.643–645.

2. Baloh R.W. A longitudinal study of gait and balance dysfunction in normal older people / R.W. Baloh, S.H. Ying, K.M. Jacobson // Archives of Neurology. – 2003. –Vol. 60, № 6. – P. 835–839.

3. Beyer N. Old women with a recent fall history show improved muscle strength and function sustained for six months after finishing training / N. Beyer, L. Simonsen, J. Bülow and others // Aging clinical and experimental research. – 2007. – Vol. 19, № 4. – P. 300–309.

4. Camicioli R. Balance in the healthy elderly: posturography and clinical assessment / R. Camicioli, V.P. Panzer, J. Kaye // Archives of neurology. – 1997. – Vol. 54, № 8. – P. 976–981.

5. Campbell A.J. Examination by logistic regression modelling of the variables which increase the relative risk of elderly women falling compared to elderly men / A.J. Campbell, G.F. Spears, M.J. Borrie // Journal of clinical epidemiology. – 1991. – Vol. 43, № 12. – P. 1415–1420.

6. Carbonneau E. Effects of age and lean direction on the threshold of single-step balance recovery in younger, middle-aged and older adults. / E. Carbonneau, C. Smeesters // Gait and posture. – 2014. – Vol. 39, № 1. – P. 365–371.

7. LaFont C. Falls, Gait and Balance Disorders in the Elderly: From Successful Aging to Frailty / C. LaFont, A. Baroni, M. Allard and others // Facts and Research in Gerontology. – New York: Springer Publishing Company. – 1996. – 185 p.

8. Griбанов А.В. Vozrastnye osobennosti kachestva zhizni u zhenshhin pozhilogo i starcheskogo vozrasta s postural'noj stabil'nost'ju [Aged features of quality of life in women elderly and senile age with postural instability] / A.V. Griбанов, A.V. Dyomin, T.P. Moroz // Vrach – aspirant [Postgraduate – Doctor]. – 2014. – № 4. – P. 151-156. [in Russian].

9. Lee H.J. Quality of life and the related factors in patients with dizziness / Lee H.J., Choi-Kwon S. // Journal of Korean Academy of Nursing. – Vol. 39, № 5. – P. 751–758.

10. Ostchega Y. The prevalence of functional limitations and disability in older persons in the US: data from the National Health and Nutrition Examination Survey III. / Y. Ostchega, T.B. Harris, R. Hirsch, and others // Journal of the American Geriatrics Society. – 2000. – Vol. 48, № 9. – P. 1132 – 1135.

11. Mel'kova L.A. Sostojanie vegetativnoj reguljacji ritma serdca pri passivnom ortostaze u zhenshhin pozhilogo i starcheskogo vozrasta [Autonomic regulation of heart rate in elderly and senile women during tilt table test] / L.A. Mel'kova, D.M. Fedotov // Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovanij [Journal of Biomedical Research]. – 2015. – № 2. – С. 44-52. [in Russian].

12. Gudkov A.B. Osobennosti postural'nogo balansa u muzhchin pozhilogo i starcheskogo vozrasta s sindromom straha padenija [Peculiarities of postural balance among elderly men with fear of falling syndrome] / A.B. Gudkov, A.V. Dyomin // Uspehi gerontologii [Advances in Gerontology]. – 2012. – Т. 25. № 1. – С. 166-170. [in Russian].

«Международный научно-исследовательский журнал» включен в систему **OpenAIRE**.

OpenAIRE — европейская поисковая система по академическим материалам открытого доступа. Один из главнейших репозиториев научной информации в Европейском Союзе. Данная база позволяет увеличить цитируемость Ваших материалов в Европе.



DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.006>Ошевенский Л.В.¹, Таламанова М.Н.², Шабалин М.А.³,Дерюгина А.В.⁴, Крылов В.Н.⁵, Цветков А.И.⁶, Глявин М.В.⁷¹ORCID: 0000-0001-7039-5763, кандидат биологических наук, доцент,²ORCID: 0000-0003-0512-6940, кандидат биологических наук,³ORCID: 0000-0003-2070-4948, ассистент,⁴ORCID: 0000-0001-8812-8559, доктор биологических наук, доцент,⁵ORCID: 0000-0001-8344-5619, доктор биологических наук, профессор,

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.

Лобачевского»,

⁶кандидат технических наук, ⁷доктор физико-математических наук, доцент,

Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук» (ИПФ РАН)

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-44-02358 p_поволжье_a***ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА ПРИ ТЕРАГЕРЦОВОМ ОБЛУЧЕНИИ КРЫС****Аннотация**

Изучено действие низкоинтенсивного ТГц-излучения (263 ГГц) на вегетативный статус крыс (по анализу вариабельности ритма сердца, ВРС) при однократном (15 мин) и хроническом (10 дней по 15 мин) тотальном воздействии на животных. Установлено, что в опытах на целостном организме тотальное терагерцовое облучение крыс в изученном диапазоне доз и режимов приводит к изменениям вегетативного статуса животных, свидетельствующим как о стресс-активации висцеральных систем, так и об адекватной адаптации организма к ТГц – воздействию.

Ключевые слова: терагерцовое излучение, вегетативный статус, вариабельность ритма сердца, облучение, стресс-реакция.

Oshevenskiy L.V.¹, Talamanova M.N.², Shabalin M.A.³, Deryugina A.V.⁴, Krylov V.N.⁵, Tsvetkov A.I.⁶, Glavyin M.V.⁷¹ORCID: 0000-0001-7039-5763, PhD in Biology, Associate professor,²ORCID: 0000-0003-0512-6940, PhD in Biology, ³ORCID: 0000-0003-2070-4948, Assistant,⁴ORCID: 0000-0001-8812-8559, PhD in Biology, Associate professor,⁵ORCID: 0000-0001-8344-5619, PhD in Biology, Professor,

FSBEI of HE N. I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,

⁶PhD in Engineering, ⁷PhD in Physics and Mathematics, Associate professor,

Federal state budgetary institution of science Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences (IAP RAS)

*This work was supported by the RFBR grant No.15-44-02358 p_volzhye_a***CHANGE OF VARIABILITY OF HEART RHYTHM AT TERAHERTZ IRRADIATION OF RATS****Annotation**

The effect of low-intensity THz radiation (263 GHz) on the vegetative status of rats (based on the analysis of cardiac rhythm variability, HRV) was studied at a single (15 min) and chronic (10 days for 15 min) total exposure in animals. It is established that total terahertz irradiation on the whole bodies of rats in the studied range of doses and modes leads to changes in the vegetative status of animals, which indicates both stress activation of visceral systems and adequate adaptation of the organism to THz effects.

Keywords: terahertz radiation, vegetative status, heart rate variability, irradiation, stress reaction.

Известно, что терагерцовый диапазон ЭМИ обладает рядом специфических особенностей, делающих его весьма привлекательным для широкого круга фундаментальных и прикладных исследований в биологии и медицине. В этом диапазоне находится большое число сильных линий колебательных и колебательно-вращательных переходов больших молекул, в том числе органических, что открывает возможности, как для их исследования, так и для селективного воздействия на них [1, С. 148], [2, С. 395]. Выявлено, что в ТГц диапазоне сосредоточены частотные спектры излучения и поглощения важнейших активных клеточных метаболитов (NO, O₂, CO₂, CO, OH- и др.) [3, С. 7], [4, С. 22], [5, С. 589]. Кроме того, согласно теоретическим оценкам, подтвержденных экспериментами, в области около 1 ТГц находятся собственные частоты колебаний мембран, цитоскелета и клеток в целом. Это может вызывать резонансные эффекты при совпадении собственных частот клетки с частотами внешнего электромагнитного облучения [6, С. 12]. Терагерцовое излучение обладает достаточно высокой проникающей способностью, но сравнительно безопасно для живых организмов. Поэтому в последнее время интенсивно развивается и расширяется сфера применения ТГц излучения как для диагностики нормальных и патологических процессов в организме, так и для воздействия на них с целью профилактики и терапии распространенных заболеваний [7, С. 1302], [8, С. 423], [9, С. 65]. Вместе с тем практически не изучено влияние ТГц-излучения на вегетативный статус организма. В связи с вышеуказанным в работе было изучено влияние низкоинтенсивного терагерцового излучения на вариабельность ритма сердца (ВРС) крыс при тотальном воздействии на организм.

Объектом исследования являлись нелинейные белые крысы массой 180 - 200 грамм. Крысы содержались на общем рационе вивария. Исследования на животных проводили в соответствии с требованиями Женевской конвенции. Вегетативный статус у животных исследовали методом анализа вариабельности сердечного ритма (ВРС). В экспериментах крысы помещались в камеру, на дне которой находился вращающийся пол (частота вращения – оборот за 5 мин). Таким образом, животные в объеме камеры находились в движении принудительно, перемещаясь по кругу. Эти перемещения животных в камере обеспечивали их равномерное тотальное облучение. В камеру от источника ТГц-излучения направляли пучок излучения, который через регулируемую толщину поглотителя создавал в пространстве камеры поток падающей энергии (ППЭ), имеющий расчётные характеристики в диапазоне 5-10

мВт/см². Указанный диапазон ППЭ был выбран, исходя из ранее полученных нами данных по ТГц-облучению изолированных эритроцитов, как оптимальный, вызывающий обратимые изменения морфо-функционального состояния клеток [10, С. 18].

Действие на животных ЭМИ осуществляли в камере либо однократно, в течение 15 мин, либо по 15 мин ежедневно в течение 10 дней. По окончании ТГц-воздействия у животных регистрировали ЭКГ. Реакции вегетативной нервной системы исследовали с применением компьютерной программы для анализа variability сердечного ритма (BCP), созданную нами на базе пакета LAB View 8,0 по записям ЭКГ (2-е стандартное отведение, интервалы R-R). Электроды для регистрации ЭКГ размещали на спине подкожно, по линии позвоночника с применением местной анестезии (введение 0,5% лидокаина в количестве 0,2-0,3 мл в месте установки электрода). Для анализа использовали показатели временного анализа (частоту ритма сердца HR, стандартное отклонение нормальных кардиоинтервалов SDNN, коэффициент вариации CV, квадратный корень разности величины последовательностей пар кардиоинтервалов RMSSD); геометрического анализа (вариационный размах Dx, мода Mo, амплитуда моды AMo, стресс-индекс SI) и спектрального анализа: TP(Total)мс² (суммарная мощность спектра variability сердечного ритма), HFмс² (мощность спектра высокочастотного компонента variability), LFмс² (мощность спектра низкочастотного компонента variability), LF/HF усл.е. (отношение значений низкочастотного и высокочастотного компонента variability сердечного ритма), относительное значение мощности спектра высокочастотного (HF%) и низкочастотного (LF%) компонентов variability. Спектральный анализ ряда RR-интервалов проводился на основе алгоритма быстрого преобразования Фурье с использованием всех точек без сглаживания. При этом учитывали периодические составляющие спектра: высокочастотные (HL) и низкочастотные (FL, имеющие периодичность в диапазоне (0,9-3,5 Гц) и (0,32-0,9 Гц), соответственно, полагая, что высокочастотные колебания отражают преимущественно активацию парасимпатической системы, а низкочастотные колебания связаны с активностью постганглионарных симпатических волокон и отражают модуляцию сердечного ритма симпатической нервной системой.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием Т-критерия Стьюдента.

Анализ реакций variability сердечного ритма (BCP, M \pm σ), проведенный после тотального ТГц-облучения животных, позволил установить, что при однократном облучении происходило увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС) с 394,7 \pm 25,4 у контрольной группы до 425 \pm 10,9 уд/мин. (p<0,05), величина моды (Mo) уменьшилась от 0,16 \pm 0,02 до 0,14 \pm 0,01 с (p <0,05), так же, как и вариационный размах (BP): с 0,04 \pm 0,01 до 0,03 \pm 0,01 с (p<0,05) (табл. 1). Такие изменения показателей ЧСС и Mo свидетельствовали о повышении регуляции центрального канала управления ВНС, а BP отражал снижение влияния ее парасимпатического отдела. При анализе полученных результатов следует отметить также повышение индекса ИВР с 742,5 \pm 258,071 до 1232,6 \pm 696,5 от. ед (p<0,05), увеличение индекса ПАПР от 179,1 \pm 117,15 в контрольной группе до 342,6 \pm 167,7 от. ед. (p<0,05) – в опытной. Установлено повышение индекса напряжения (стресс индекса) ИН с 2525,1 \pm 1173,8 до 8360 \pm 731,6 от. ед (p<0,05). Выявленные изменения показателей BCP свидетельствовали о значимом повышении активности симпатического отдела ВНС. Спектральный анализ variability ряда RR-интервалов у крыс, при однократном воздействии ЭМИ группы животных, позволил установить, что, наблюдалось снижение общей мощности спектра (TP) с 11,6 \pm 1,7 до 3,3 \pm 3,02 мс² (p<0,05). Данный показатель также отражает активацию срочного этапа адаптации – усиление тонуса симпатического звена регуляции. Снижение общей мощности спектра (TP) произошло за счет повышения диапазона низких (LF) частот с 32,8 \pm 9,4 до 45,2 \pm 15,0% (p<0,05), и снижения уровней высоких частот (HF) от 67,1 \pm 9,4 до 54,8 \pm 15,9% (p<0,05). Соотношение низких и высоких (LF/HF) частот увеличивалось с 0,7 \pm 0,2 до 0,9 \pm 0,2 от. ед. (p<0,05), что говорит о выраженном истощении адаптационного резерва вегетативной нервной системы животных при высокой симпатической активности. Индекс VLF имел тенденцию к увеличению с 23,01 \pm 15,1 до 28,87 \pm 13,8 %, что свидетельствовало об активации гуморального канала управления ВНС. Анализ временных показателей BCP (ЧСС, AMo, ИВР, ПАПР, ВПР BP) при хроническом ТГц-облучении животных не выявил значимых различий по сравнению с однократным облучением. Вместе с тем были выявлены изменения других показателей, таких как индекс напряжения (ИН) и индекс стандартного отклонения кардиоинтервалов (SDNN), свидетельствующих о смене активности звеньев ВНС – от преобладания симпатической активности при однократном воздействии, к повышению парасимпатической при хроническом. Так, наблюдалось снижение величины индекса напряжения (ИН) с 8360 \pm 731,6 при однократном облучении до 5003,71 \pm 134,6 при многократном воздействии (p<0,05) и снижения индекса SDNN с 3,7 \pm 1,7 до 2,08 \pm 0,77 (p<0,05). Такие изменения показателей свидетельствовали о снижении влияния центрального канала висцеральной регуляции через симпатический отдел ВНС. Данное положение было подтверждено спектральным анализом BCP. Было показано повышение общей мощности спектра (TP) в 1,5 раза (p<0,05), который указывает на повышение активности регуляторных механизмов парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. О повышении активности регуляторных механизмов парасимпатического отдела вегетативной нервной системы свидетельствовало также уменьшение LF и увеличение HF (p<0,05).

Таблица 1 – Показатели вариабельности ритма сердца крыс после однократного и хронического ТГц-облучения

Показатели ВСР	Контрольная группа животных	Группа животных с однократным облучением	Группа животных с многократным облучением
ЧСС, уд/мин	394,7±25,4	425±10,9*	426 ± 9,9
Мода, сек	0,16 ±0,02	0,14±0,01*	0,15±0,01*
Ампл. Моды, от.ед.	27,2±3,3	28,09±3,60	30,42±5,08
Вар.разм. сек.	0,04±0,01	0,03±0,01*	0,03±0,02
ИБР, от.ед.	742,5±258,07	1232,6±696,5*	1343,32±915,4
ПАПР, от.ед.	179,1±117,15	342,6±167,7*	202,15±59,26
ВПР,от.ед.	235,4±137,08	588,2±439,8*	375,74±253,61
ИН, от.ед	2525,1±1173,8	8360±731,6*	5003,71±134,6**
SDNN, с	6,3±3,01	3,7±1,7*	2,08±0,77**
RMSSD,мс	3,1±2,5	2,1±1,4	1,57±0,95
CV, %	4,01±1,3	4,1±1,8	2,77±0,53
pNN5 (%)	4,2±9,06	1,9±4,3	0,38±0,33
Total, мс ²	11,6±1,7	3,3±3,02*	4,9±1,2**
VLF, мс ²	1,5±1,4	1,0±0,4	0,48±0,23
LF, мс ²	2,7±4,4	0,9±1,03	0,60±0,36**
HF, мс ²	7,4±13,05	1,3±1,2	3,97±0,46**
LFn, %	32,8±9,4	45,2±15,0*	43,69±3,7**
HFn, %	67,1±9,4	54,8±15,9*	66,31±2,6**
LF/HF, от.ед.	0,7±0,2	0,9±0,2*	0,7±0,16**
VLF, %	23,01±15,1	28,87±13,8	25,48±3,97
LF, %	25,04±15,04	30,7±7,2*	34,56±3,58
HF, %	52,5±13,8	40,4±10,1*	41,96±2,97

Примечание: * - статистически значимые различия по отношению к контрольной группе животных; ** - статистически значимые различия по отношению к группе животных с однократным облучением

Полученные результаты свидетельствуют о типовой стрессовой реакции организма животных на раздражитель, которым в данном случае является ТГц-облучение – как однократное, так и хроническое. При этом также типично, как и при многих других видах стресса, протекает динамика развития стресса и адаптации к нему: при однократном облучении краткосрочная адаптация возникает при умеренном напряжении симпатического отдела ВНС для адекватного обеспечения энерготропных функций, а при хроническом – долгосрочная адаптация с активацией парасимпатического отдела ВНС для обеспечения трофотропных функций организма.

По результатам исследований можно заключить, что в опытах на целостном организме тотальное низкоинтенсивное терагерцовое облучение крыс в изученном диапазоне доз и режимов приводит к изменениям вегетативного статуса животных, свидетельствующих как о стресс-активации висцеральных систем, так и об адекватной адаптации организма к ТГц – воздействию. Полученные данные могут свидетельствовать, что под влиянием терагерцовых волн происходит изменение как нервного, так и гуморального механизмов вегетативной регуляции функций в организме облученных животных. Дальнейшее изучение механизмов выявленных реакций, в том числе их развитие и обратимость во времени после облучения, позволит получить результаты, необходимые как при разработке допустимых санитарных норм ТГц-излучения, так и разработке методик терапевтических воздействий при нарушениях функций организма.

Список литературы / References

1. Nanni E.A. THz dynamic nuclear polarization NMR / E.A. Nanni, A.B. Barnes and R.G. Griffin // IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology. – 2011. – Vol.1 – №1. – P.145-163.
2. Иванов А.Н. Регуляторные эффекты волн терагерцового диапазона частот / А.Н. Иванов // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2012. – Т.2 – № 6. – С. 392-399.
3. Бецкий О.В. Молекулярные HITRAN спектры газов метаболитов в терагерцовом и ИК диапазонах частот и их применение в биомедицинских технологиях / О.В. Бецкий, А.П. Креницкий, А.В. Майбородин и др. // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. – 2007. – № 7. – С. 5-9.

4. Rothman L.S. The HITRAN molecular spectroscopic database: edition of 2000 including updates through 2001 / L.S. Rothman, A. Barbe, D. Chris Benner et.al. // *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. – 2003. – № 82. – P. 5-44.
5. Ramundo-Orlando A. Permeability changes induced by 130 GHz pulsed radiation on cationic liposome's loaded with anhydrase / A. Ramundo-Orlando, G.P. Gallerano, A. Doria // *Bioelectromagnetics*. – 2007. – № 8. – P. 587-598.
6. Гуляев Ю.В. Терагерцовая техника и ее применение в биомедицинских технологиях / Ю.В. Гуляев, А.П. Креницкий, О.В. Бецкий и др. // *Успехи современной радиоэлектроники*. – 2008. – № 9. – С. 8-16.
7. Humphreys K. Medical applications of terahertz imaging: a review of current technology and potential applications in biomedical engineering / K. Humphreys et.al. // *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2004. – Vol. 2. – P. 1302.
8. Киричук В.Ф. Влияние электромагнитных волн терагерцового диапазона на живые системы / В.Ф. Киричук, Е.А. Андронов, О.Н. Антипова и др. // *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. – 2012. – Т. 2 – № 6. – С. 421-425.
9. Семионкин Е.И. Психовегетативный статус больных колоректальным раком / Е.И. Семионкин // *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. – 2011. – №3. – С. 64-66.
10. Дерюгина А.В. Влияние электромагнитных волн терагерцового диапазона на мембранные характеристики эритроцитов / А.В. Дерюгина, Л.В. Ошевенский, М.Н. Таламанова и др. // *Биорадикалы и Антиоксиданты*. – 2015. – Т.2 – №4. – С. 16-20.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Nanni E.A. THz dynamic nuclear polarization NMR / E.A. Nanni, A.B. Barnes and R.G. Griffin // *IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology*. – 2011. – Vol.1 – №1. – P.145-163.
2. Ivanov A.N. Reguljatornye jeffekty voln teragercovogo diapazona chastot [Regulatory effects of waves of the terahertz range of frequencies] / A.N. Ivanov // *Bjulleten' medicinskih internet-konferencij* [Bulletin of medical Internet conferences]. – 2012. – Т.2 – № 6. – P. 392-399. [in Russian]
3. Beckij O.V. Molekuljarnye HITRAN spektry gazov metabolitov v teragercovom i IK diapazonah chastot i ih primeneniye v biomedicinskih tehnologijah [Molecular HITRAN ranges of gases of metabolites in terahertz and Infrared ranges of frequencies and their application in biomedical technologies] / O.V. Beckij, A.P. Krenickij, A.V. Majborodin and others // *Biomedicinskie tehnologii i radiojelektronika* [Biomedical technologies and radiotronics]. – 2007. – № 7. – P. 5-9. [in Russian]
4. Rothman L.S. The HITRAN molecular spectroscopic database: edition of 2000 including updates through 2001 / L.S. Rothman, A. Barbe, D. Chris Benner et.al. // *Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer*. – 2003. – № 82. – P. 5-44.
5. Ramundo-Orlando A. Permeability changes induced by 130 GHz pulsed radiation on cationic liposome's loaded with anhydrase / A. Ramundo-Orlando, G.P. Gallerano, A. Doria // *Bioelectromagnetics*. – 2007. – № 8. – P. 587-598.
6. Guljaev Ju.V. Teragercovaja tehnika i ee primeneniye v biomedicinskih tehnologijah [Terahertz technique and its application in biomedical technologies] / Ju.V. Guljaev, A.P. Krenickij, O.V. Beckij and others // *Uspehi sovremennoj radiojelektroniki* [Progress of the modern radiotronics]. – 2008. – № 9. – P. 8-16. [in Russian]
7. Humphreys K. Medical applications of terahertz imaging: a review of current technology and potential applications in biomedical engineering / K. Humphreys et.al. // *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* – 2004. – Vol. 2. – P. 1302.
8. Kirichuk V.F. Vlijanie jelektromagnitnyh voln teragercovogo diapazona na zhivye sistemy [Influence of electromagnetic waves of the terahertz range on live systems] / V.F. Kirichuk, E.A. Andronov, O.N. Antipova and others // *Bjulleten' medicinskih internet-konferencij* [Bulletin of medical Internet conferences]. – 2012. – Т. 2 – № 6. – P. 421-425. [in Russian]
9. Semionkin E.I. Psihovegetativnyj status bol'nyh kolorektal'nyh rakom [The psychovegetative status of patients with a colorectal cancer] / E.I. Semionkin // *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I.P. Pavlova* [Russian medicobiological messenger of the academician I.P. Pavlov]. – 2011. – №3. – P. 64-66. [in Russian]
10. Derjugina A.V. Vlijanie jelektromagnitnyh voln teragercovogo diapazona na membrannye harakteristiki jeritrocitov [Influence of electromagnetic waves of the terahertz range on membrane characteristics of erythrocytes] / A.V. Derjugina, L.V. Oshevenskij, M.N. Talamanova and others // *Bioradikaly i Antioksidanty* [Bioradicals and Antioxidants]. – 2015. – Т.2 – №4. – P. 16-20. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.016>

Серёдкин И.В.

ORCID: 0000-0003-4054-9236, кандидат биологических наук, доцент,

Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток

ПРОБЛЕМЫ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В СИСТЕМЕ «БУРЫЙ МЕДВЕДЬ – ЛОСОСЬ – ЧЕЛОВЕК» НА ТИХООКЕАНСКОМ ПОБЕРЕЖЬЕ РОССИИ**Аннотация**

Показана роль бурого медведя, лососей и их взаимоотношений в функционировании экосистем тихоокеанского побережья России. Лососи, заходящие в реки на нерест, играют важную роль в питании медведей, влияя на состояние их популяций. Сезонное распределение медведей и их перемещения во многом определяются распределением и обилием лососей. Лососи в свою очередь выполняют функцию переноса питательных веществ с моря на сушу. Между медведями и лососями на Дальнем Востоке имеются тесные межпопуляционные связи. Человек активно влияет на прибрежные экосистемы, добывая лососей и медведей, трансформируя их местообитания. Обозначены основные проблемы взаимоотношений в системе «бурый медведь – лосось – человек» и предложены возможные пути их решения.

Ключевые слова: *Ursus arctos*, *Oncorhynchus*, экосистема.

Seryodkin I.V.

ORCID: 0000-0003-4054-9236, PhD in Biology, Associate Professor,

Pacific Geographical Institute of Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia

PROBLEMS IN THE “BROWN BEAR – SALMON – HUMAN” RELATIONSHIP ON THE PACIFIC COAST OF RUSSIA**Abstract**

The role of brown bear, salmon and their relationship in the ecosystems of the Pacific coast of Russia described in the paper. Salmon entering the rivers for spawning play an important role in the feeding of bears, affecting the population status. Seasonal distribution of bears and their movement is largely determined by the distribution and abundance of salmon. Salmon, in turn, performs the function of transferring nutrients from the sea to land. There are close interpopulation connections between bears and salmon in the Far East. People actively using coastal ecosystems, inhabited by salmon and bears, and transforming their habitats. Outlined the main problems of the relationship in the system “brown bear – salmon – human” with presentation of possible solutions.

Keywords: *Ursus arctos*, *Oncorhynchus*, ecosystem.

Pacific coast of Russia is a part of the brown bear (*Ursus arctos*) area, where it inhabits Magadan Region, Chukotka Autonomous District, Kamchatka Krai, Khabarovsk Krai, Sakhalin Region and Primorye Krai. The population density of bears in the region is one of the highest in Russia, ranging from 0.04 individuals / 10 km² in Chukotka Autonomous District to 0.4 individuals / 10 km² in Kamchatka Region [1]. In some places, particularly, in the basin of Kuril Lake (Kamchatka Peninsula), bears density reached 32 individuals / 10 km² [2]. The population density of bears along the coast usually is higher than that further in the mainland. Presence of food attract bears and they can create temporary concentrations along the coast.

Pacific salmon spawning in the rivers of the Pacific coast is among the main food sources of brown bears in the Far East of Russia. This type of food is high-calorie and feeding on it bears accumulate sufficient amount of fat required for surviving in difficult periods of winter and early spring [3], [4]. Presence of salmon along the Pacific coast is critical for reproductive success and overall well-being of brown bear populations. The most important species of Pacific salmon for brown bear are pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*), chum salmon (*O. keta*), masu salmon (*O. masu*), sockeye (*O. nerka*) and coho salmon (*O. kisutch*). Salmon is the most important food for bears in the summer-autumn period [2], [5], [6].

Brown bears play an important role in coastal ecosystems due to intensive feeding on salmon returning to rivers and lakes for reproduction. The bodies of salmon represent a transfer of nutrients from the ocean to the forest ecosystem by bears, as the main utilizers of dead fish. This role of bear in coastal ecosystems largely determines their function. Brown bears and salmon are the keystone species of the Pacific coast ecosystems and spawning rivers basins. The balance in the interaction of these species determines the well-being, singularity and long-term existence of ecosystems.

People actively using coastal ecosystems, including their natural components – bears and salmon. This influence is expressed in the procurement and displacement of bears, reduction of their food supply, habitat destruction, harvesting of salmon, reduction of the spawning areas and pollution of habitat.

The main threats to the stable existence of brown bear populations in the Far East are poaching, habitat loss, competition for food resources with human, and insufficient management of population. Brown bears are legally hunted species on the whole territory of the Far East. However, poaching of bears is widespread in the region. They are killed for sale of derivatives (distal parts of paws, bile), personal consumption (meat, fat), to eliminate competitors on river when fishing salmon, as well as in conflict situations with people [7].

Nowadays, one of the main threats to the existence of brown bears in the Far East of Russia is displacement of bears from their natural habitat by people, which is leading to the lack of food resources for the animal. In the south of the region (Primorye Krai and southern part of Khabarovsk Krai) another problem is massive collection of Korean pine nuts (*Pinus koraiensis*) by the local population, which is one of the main fattening food source for brown bears. Commercial fishing and poaching of salmon along the Pacific coast creates difficulties in bears feeding, accumulation of fat reserves, limits their distribution and, ultimately, affects the density and health of the population.

Harvesting on the salmon is growing for the last two decades. The annual catch of Pacific salmon in the Sakhalin region was growing constantly reaching the absolute historical maximum in 2009 – 294,000 tons. The high level of catches of salmon is achieved not only by the constantly increasing number of fishnets in the sea, but also by fish counting barriers established in

2009. Commercial fishing of pink salmon and chum salmon using fish counting barriers performed directly in the spawning rivers by complete blocking of the channel. According to the regulations, the number of salmon allowed into the rivers for natural reproduction is increases by 20% from the maximum spawning capacity to compensate for the inevitable death during migration of fish from fish counting barriers to spawning grounds. However, these calculations are not sufficiently substantiated, and control over the execution of the regulations is not carried out adequately. In the context of the growing demand of people in salmon products the science-based approach is needed to create balance between acceptable withdrawal of fish without disturbing the integrity and functioning of coastal and aquatic ecosystems.

Research programs for the study of ecology of brown bears with various methods, including visual observation, study of traces of vital activities, camera traps, radio- and GPS-collaring [8], [9], [10] are implemented on Sakhalin Region, Kamchatka Krai and Primorye Krai. An important goal of these studies is exposing the complex of relations in the “human – salmon – brown bear” system and the prevention of humans-predators conflicts. These programs are aimed to study the most important issues of brown bear biology required for their conservation and conflict-free coexistence with humans. The studies show the exceptional role of salmon in all aspects of the brown bear ecology: feeding, daily and seasonal activity, intensity and the distance of seasonal movement, the use of habitat, preference of habitat in different seasons, intraspecific and interspecific relations etc. For instance, with the use of satellite telemetry it is shown that home ranges of bears in the summer period are confined to the sea coast and spawning rivers where animals feed on salmon [9] (Fig. 1).

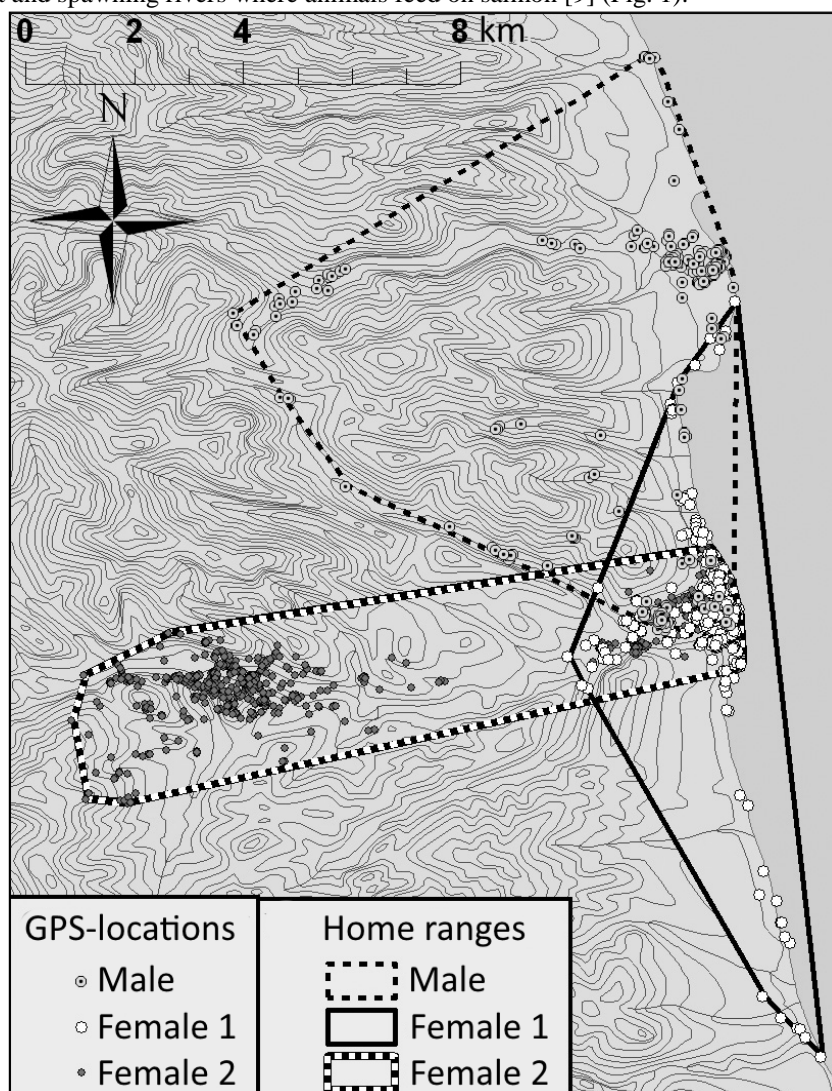


Fig. 1 – Home ranges and habitats of three GPS-collared bears confined to the coast and a spawning river in the eastern Sakhalin in the summer of 2011 [9]

Imbalance in the “bear – salmon” system may affect not only the well-being of populations of these animals, but also the sustainability of ecosystems, there they are the essential elements. Island ecosystems are most vulnerable. For example, the influence of salmon on Sakhalin extends to the whole island and all its ecosystems. Disturbance of the food chain “salmon – bear” can cause changes in the scheme of the drift of substances that has formed historically thru the interaction of species, causing violation of relationships and imbalance in ecosystems.

Well-being of brown highly depends on Pacific salmon and it is an important element of strategy for the conservation of this species in the Russian Far East, based on protection of the populations of salmon entering fresh water for spawning, and salmon resources by people considering the demands of bears and other animals. Poaching of salmon, killing of bears by poachers as competitors on rivers, overfishing of salmon – are the main threats to the population of brown bears in the region. Increasing protection of spawning rivers from poachers and revising the existing standards of permissible withdrawal of salmon are the necessary steps for conservation of the predator.

Список литературы / References

1. Состояние охотничьих ресурсов в Российской Федерации в 2008–2010 гг. / ред. Н. А. Моргунова и др. – Вып. 9. – М.: Центрохотконтроль, 2011. – 219 с.
2. Ревенко И. А. Бурый медведь. Камчатка / И. А. Ревенко // Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь. – М.: Наука, 1993. – С. 380–403.
3. Stringham S. Grizzly bear reproductive rate relative to body size / S. Stringham // Int. Conf. Bear Res. Manage. – 1990. – Vol. 8. – P. 433–443.
4. Hilderbrand G. V. Role of brown bears (*Ursus arctos*) in the flow of marine nitrogen into a terrestrial ecosystem / G. V. Hilderbrand, T. A. Hanley, C. T. Robbins, C. C. Schwartz // Oecologia. – 2000. – Vol. 121. – P. 546–550.
5. Seryodkin I. V. The biology and conservation status of brown bears in the Russian Far East / I. V. Seryodkin // Understanding Asian bears to secure their future. – Japan: Japan Bear Network, 2006. – P. 79–85.
6. Серёдкин И. В. Питание бурого медведя тихоокеанскими лососями на р. Кроноцкая, Камчатка / И. В. Серёдкин, Дж. Пачковский // Бурый медведь Камчатки: экология, охрана и рациональное использование. – Владивосток: Дальнаука, 2006 – С. 78–84.
7. Пикунов Д. Г. Мониторинг, учёт, использование и угрозы популяциям гималайского и бурого медведей Сихотэ-Алиня / Д. Г. Пикунов, И. В. Серёдкин // Медведи России и прилегающих стран: состояние популяций, система человек – медведи, эксплуатация, охрана, воспроизводство. – Красногорск: Деловой Мир, 2006. – С. 97–101.
8. Серёдкин И. В. Программы изучения и сохранения бурого и гималайского медведей на Дальнем Востоке России / И. В. Серёдкин // Медведи. Современное состояние видов. Перспективы сосуществования с человеком. – Великие Луки: Великолукская типография, 2011. – С. 276–281.
9. Серёдкин И. В. Изучение бурого медведя на Сахалине / И. В. Серёдкин, Д. В. Лисицын, М. Ю. Борисов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2012. – Т. 14. – № 1(8). – С. 1925–1928.
10. Seryodkin I. V. Pulsar satellite radio beacon application experience in the telemetry of brown bear (*Ursus arctos* L.) / I. V. Seryodkin, V. A. Zaitsev, Y. K. Petrunenko // Achievements in the Life Sciences. – 2014. – Vol. 8. – P. 43–46.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Sostojanie ohotnich'ih resursov v Rossijskoj Federacii v 2008–2010 gg. [The State of Hunting Resources in the Russian Federation in 2008–2010] / eds. N. A. Morgunova et al. – Vol. 9. – Moscow: Tsentrokhokontrol, 2011. – 219 p. [in Russian]
2. Revenko I. A. Buryj medved' [Kamchatka The brown bear. Kamchatka] / I. A. Revenko // Medvedi: buryj medved', belyj medved', gimalajskij medved' [Bears: brown bear, polar bear, Asian black bear. Distribution, ecology, use and protection]. – Moscow: Nauka, 1993. – P. 380–403. [in Russian]
3. Stringham S. Grizzly bear reproductive rate relative to body size / S. Stringham // Int. Conf. Bear Res. Manage. – 1990. – Vol. 8. – P. 433–443.
4. Hilderbrand G. V. Role of brown bears (*Ursus arctos*) in the flow of marine nitrogen into a terrestrial ecosystem / G. V. Hilderbrand, T. A. Hanley, C. T. Robbins, C. C. Schwartz // Oecologia. – 2000. – Vol. 121. – P. 546–550.
5. Seryodkin I. V. The biology and conservation status of brown bears in the Russian Far East / I. V. Seryodkin // Understanding Asian bears to secure their future. – Japan: Japan Bear Network, 2006. – P. 79–85.
6. Seryodkin I. V. Pitanie burogo medvedja tihookeanskimi lososjami na r. Kronockaja, Kamchatka [Brown bear feeding on Pacific salmon in the Kronotsky river of Kamchatka] / I. V. Seryodkin, J. Paczkowski // Kamchatka brown bear: ecology, conservation, and sustainable use [Buryj medved' Kamchatki: jekologija, ohrana i racional'noe ispol'zovanie]. – Vladivostok: Dalnauka, 2006. – P. 78–84. [in Russian]
7. Pikunov D. G. Monitoring, uchjot, ispol'zovanie i ugrozy populjacijam gimalajskogo i burogo medvedej Sihotje-Alinja [Monitoring, census, use and threats to the populations of the Asiatic black bear and brown bear in Sikhote-Alin] / D. G. Pikunov, I. V. Seryodkin // Medvedi Rossii i prilegajushhih stran: sostojanie populjacij, sistema chelovek – medvedi, jekspluatacija, ohrana, vosproizvodstvo [Bears of Russia and adjacent countries: population status, the system “human – bears”, use, conservation, and reproduction]. – Krasnogorsk: Delovoj Mir, 2006. – P. 97–101. [in Russian]
8. Seryodkin I. V. Programmy izuchenija i sohraneniya burogo i gimalajskogo medvedej na Dal'nem Vostoke Rossii [Programs of study and conservation of brown bears and Asiatic black bear in the Far East of Russia] / I. V. Seryodkin // Medvedi. Sovremennoe sostojanie vidov. Perspektivy sosushhestvovaniya s chelovekom [The current state of the species. The prospects of coexistence with human]. – Velikie Luki: Velikolukskaja tipografija, 2011. – P. 276–281. [in Russian]
9. Seryodkin I. V. Izuchenie burogo medvedja na Sahaline [Study of brown bear at Sakhalin] / I. V. Seryodkin, D. V. Lisitsyn, M. Y. Borisov // Izvestiya of the Samara Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences. – 2012. – Vol. 14(1–8). – P. 1925–1928. [in Russian]
10. Seryodkin I. V. Pulsar satellite radio beacon application experience in the telemetry of brown bear (*Ursus arctos* L.) / I. V. Seryodkin, V. A. Zaitsev, Y. K. Petrunenko // Achievements in the Life Sciences. – 2014. – Vol. 8. – P. 43–46.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.011>Скосырских Л.Н.¹, Столбова О.А.²¹ORCID:0000-0001-6208-6565, кандидат ветеринарных наук, доцент,²ORCID:0000-0002-4545-815X, кандидат ветеринарных наук, доцент, научный сотрудник

Государственный аграрный университет Северного Зауралья, г.Тюмень

Всероссийский НИИ ветеринарной энтомологии и арахнологии- филиал ТюмНЦ СО РАН, г.Тюмень

ИНСЕКТОАКАРИЦИДНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРИМЕНЕНИЯ**Аннотация**

В результате проведенных исследований установлено, что на российском рынке представлен большой спектр лекарственных препаратов - 143 наименования, применяемых для лечения и профилактики арахноэнтомозов домашних животных. На долю отечественных производителей приходится 81 инсектоакарицидный препарат или 56,6%. Наиболее широко представлены жидкие лекарственные формы - 99 наименований или 69,2% от общего числа предлагаемых препаратов. Спрос на инсектоакарицидные препараты формируется, главным образом, за счет рекомендаций ветеринарных врачей (73%).

Ключевые слова: лекарственные средства, инсектоакарициды, клещи, насекомые, животные.

Skosyrskikh L.N.¹, Stolbova O.A.²¹ORCID:0000-0001-6208-6565, PhD in Veterinary Medicine and Science, Associate professor,²ORCID: 0000-0002-4545-815H, PhD in Veterinary Medicine and Science, Associate professor, Researcher,

State agricultural university of Northern Zauralie, Tyumen

All-Russian scientific research institute of veterinary entomology and arachnology, Tyumen

INSEKTOAKARITSIDNY DRUGS FOR VETERINARY USE**Abstract**

The purpose of this work is the research of the modern Russian market the insektoakaritsidnykh of drugs of veterinary appointment and consumer preferences. As a result of the conducted researches it is established that the big range of medicinal preparations - 143 names applied to treatment and prophylaxis of arakhnoentomoz of pets is presented at the Russian market. 81 insektoakaritsidny drugs or 56,6% fall to the share of domestic manufacturers. Liquid dosage forms - 99 names or 69,2% of total number of the offered drugs are most widely presented. Demand for insektoakaritsidny drugs is formed, mainly, at the expense of references of veterinarians (73%).

Keywords: medicines, insectoacaricides, mites, insects, animals.

В современных условиях домашние животные являются компаньонами человека в быту и во всех сферах его деятельности. Во многих случаях домашние плотоядные являются членами семьи современного горожанина, а поэтому состояние их здоровья является постоянной заботой человека (хозяина). Среди домашних плотоядных регистрируются болезни, присущие не только этим видам животных, но и общие для других животных и человека [1, С. 37], [5, С. 65], [6, С. 136], [8, С. 86], [9, С. 237].

Наиболее часто среди домашних плотоядных регистрируются арахноэнтомозы, вызываемые эктопаразитами, питающимися кровью, пухом, шерстью животных, а также чешуйками кожи. Наиболее известными и распространенными эктопаразитами домашних плотоядных являются блохи и клещи, которые, кроме того, оказываются переносчиками возбудителей многих инфекционных и инвазионных болезней [1, С. 38], [2, С. 26], [3, С. 27], [4, С. 23].

Кроме непосредственного воздействия на организм животных эктопаразиты являются переносчиками опасных заболеваний, таких как пироплазмозы, лейшманиозы, трипаномозы, анаплазмоз, африканская лихорадка свиней, шотландский энцефаломиелит, микоплазмозы, риккетсиозы, туляремия, боррелиозы и др. [1, С. 36], [2, С. 27], [5, С. 117], [8, С. 87].

Мировой и отечественной ветеринарной наукой были предложены методы для борьбы с эктопаразитами домашних плотоядных, которые по различным причинам не всегда находят должное применение и использование. [1, С. 39], [8, С. 87], [9, С. 237].

Многие вопросы эпизоотологии и профилактики эктопаразитозов домашних плотоядных и лечения больных животных до сих пор остаются недостаточно изученными и необъяснимыми. Поэтому исследования рынка инсектоакарицидных препаратов является актуальной задачей для ветеринарной науки и практики. [10, С. 2654]

Целью данной работы является исследование современного российского рынка инсектоакарицидных препаратов ветеринарного назначения покупательских предпочтений.

Материалы и методы исследований

Работа проводилась на кафедре незаразных болезней с/х животных Института биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО ГАУ северного Зауралья (г.Тюмень) в период 2015-2016 гг. Ассортимент и номенклатуру инсектоакарицидов изучали на примере Интернет-аптеки «Ветлек», находящейся по адресу г. Москва, ул. Нижняя Красносельская, 28; ООО «ВЕТЛЕК». Аптека имеет лицензию на осуществление фармацевтической деятельности. Вид работ (услуг), выполняемых (оказываемых) в составе лицензируемого вида деятельности: Оптовая торговля лекарственными средствами для ветеринарного применения и их хранение; Розничная торговля лекарственными препаратами для ветеринарного применения и их хранение. Обслуживание клиентов проходит через интернет сайт и действующий стол заказов. Учет покупательских предпочтений при приобретении препаратов для лечения и профилактики арахноэнтомозов осуществляли путем анкетирования посетителей ветеринарных аптек г. Тюмени.

Результаты исследований

При анализе оптового-розничного сегмента рынка инсектоакарицидных препаратов, установлено, что ассортимент лекарственных средств представлен 143 наименованиями: из них 56,6% - отечественного производства и 43,3% - импортного производства.

Лидерами по предложению инсектоакарицидов для ветеринарного применения являются: Российская Федерация – 81 препарат, Германия – 19 препаратов, Нидерланды – 16, Франция-16 (рисунок 1).

Среди отечественных производителей можно отметить наиболее крупные организации, которыми являются ЗАО «НПФ «Экопром», ООО НПО «Агроветзащита», ООО НПО «АПИ-САН», ООО «ВЕДА». «Фармбиомедсервис», ООО НВП «Астрафарм».



Рис. 1 – Страны производители инсектоакарицидов, представленных на российском рынке

По количеству выпускаемых наименований инсектоакарицидов лидирующие позиции занимает компания ООО «Агроветзащита», существующая на отечественном рынке лекарственных средств 23 года. Наименьшее число выпускаемой продукции принадлежит российским компаниям ООО «НПЦ Фокс и Ко» и ЗАО «Агробιοпром», которые существуют на российском рынке также более 20 лет (рисунок 2).

Спектр лекарственных форм инсектоакарицидных препаратов, представленных в аптеке Ветлек, очень широк: растворы для наружного (Амит форте, Бинакар, Ивермек ОН, Сановлай) и парентерального применения (Аверсект, Мерадок), концентраты эмульсий (Альфа ВЕТ, Дельцид, Диазинон С, Бутокс, БайМайт), суспензии (Бутокс), линименты (Демос), мази (Аверсетиновая), гели (Ивермек гель, Амидель-гель Нео), порошки (Агита 100WG, Байцидал WP25) и гранулы (Квик Байт) для приготовления суспензий, пудры (Чистотел), таблетки пероральные (НексгарД Спектра) и жевательные (Бравекто), аэрозоли (ПараСтоп, Дерматол, Больфо), ошейники (Барс, Больфо, Килтикс, Инспектор и др.)

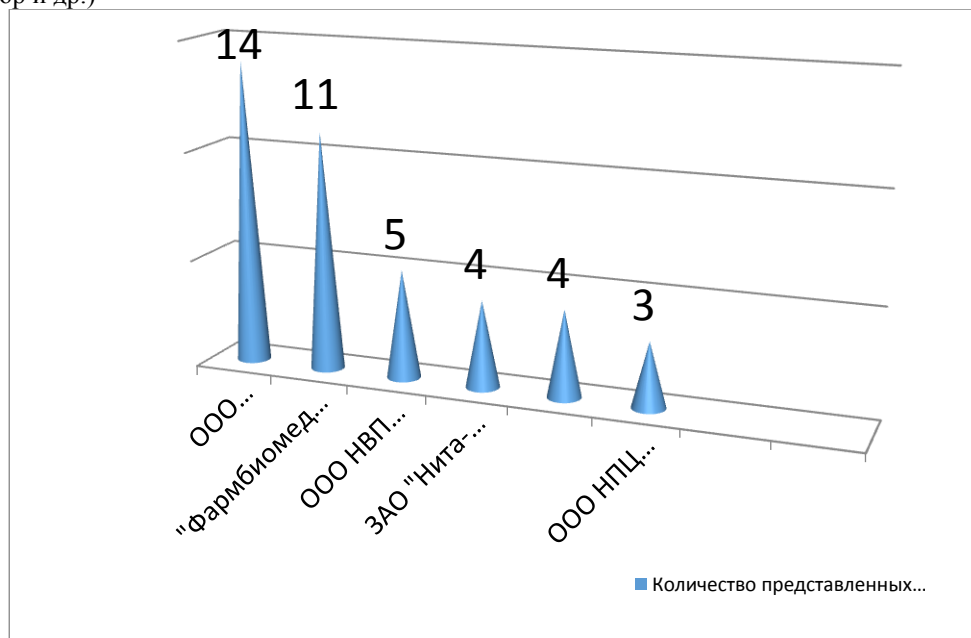


Рис. 2 – Производители и число выпускаемых наименований инсектоакрицидных препаратов

По данным исследований, наиболее широко представлены жидкие лекарственные формы инсектоакарицидных препаратов (69,2%), наименее – мягкие (3,5%) (рисунок 3).

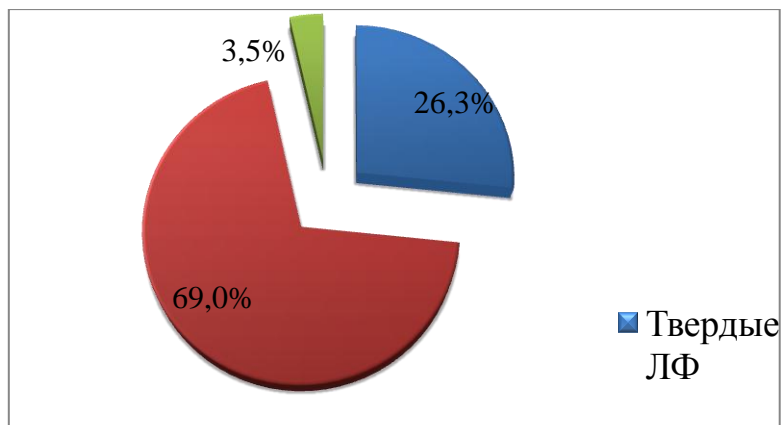


Рис. 3 – Лекарственные формы инсектоакарицидных препаратов

Для оценки и анализа спроса на инсектоакарицидные препараты был проведен опрос владельцев мелких домашних животных. В опросе респондентам было предложено ответить на следующие вопросы:

1. Какие инсектоакарицидные препараты в какой лекарственной форме Вы используете для лечения и профилактики арахноэнтомозов?

2. Почему вы выбрали данный препарат? Варианты ответов: А. По рекомендации врача; Б. По стоимости; В. По удобству применения; Г. Другое.

По данным анкетирования было выяснено, что наиболее популярными средствами у хозяев кошек оказались ошейник «Инспектор» (22%), который в качестве действующего вещества содержит фипронил, и аверсектиновая мазь (действующее вещество – аверсектинС), также респонденты назвали «Амит форте» - раствор для наружного применения на основе фипронила (рисунок 4).

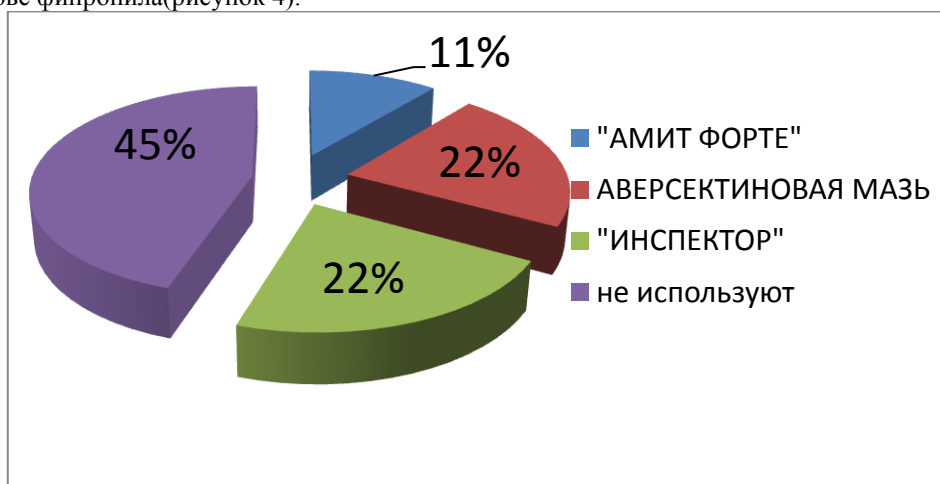


Рис. 4 – Оценка спроса на инсектоакарицидные препараты среди владельцев кошек в г. Тюмени

Среди владельцев собак наибольшей популярностью пользуются жевательные таблетки «Бравекто» (40%) и капли на холку «Фронтлайн» (30%), меньшим спросом пользуются капли «Барс» и «Инспектор-тотал С» (рисунок 5).

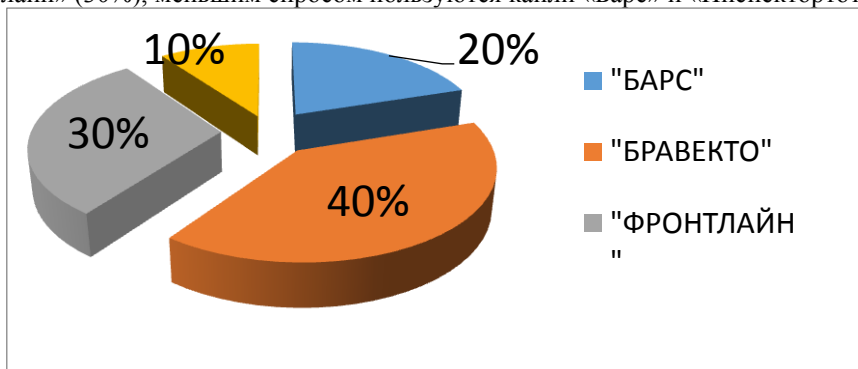


Рис. 5 – Оценка спроса на инсектоакарицидные препараты среди владельцев собак в г. Тюмени

Во время опроса было выяснено, что респонденты, делая выбор в пользу какого-либо препарата, следуют рекомендациям ветеринарного врача 73%. Также при выборе препарата владельцы животных ориентируются на его стоимость и удобство применения.



Рис. 6 – Факторы, влияющие на выбор инсектоакарицидных препаратов

Для профилактики и лечения арахноэнтомозов у кошек, владельцы чаще используют отечественные препараты, в то время как среди владельцев собак отечественные и импортные препараты пользуются одинаковым спросом (рисунок 7).

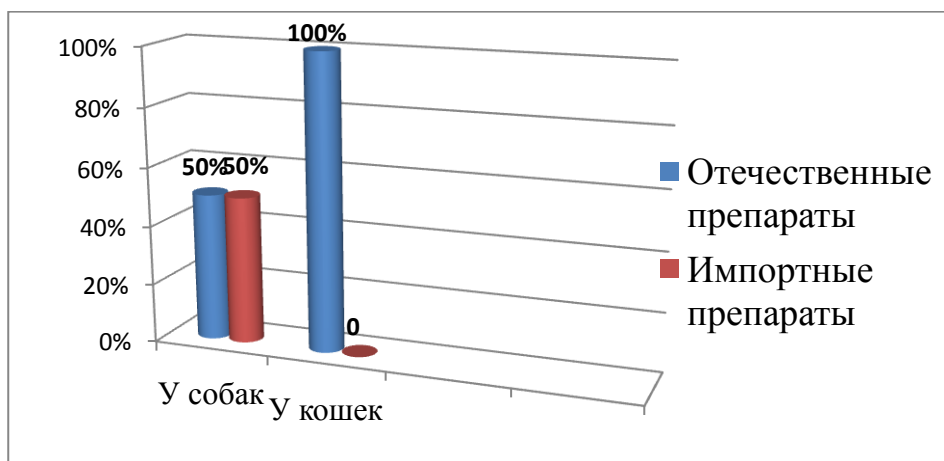


Рис. 7 – Доля отечественных и импортных инсектоакарицидных препаратов по результатам опроса

Среди лекарственных форм, по данным опроса владельцев домашних животных, наиболее популярны растворы спотон (капли на холку), таблетки и ошейники. Главным преимуществом капель на холку является простота и удобство применения, а также безопасность, их можно наносить на места, до которых питомцы не достанут и не смогут слизать; у таблеток - их быстрое действие (таблетка действует уже через 4 часа после применения) и длительность воздействия – обработку рекомендуют повторять через 3-4 недели от клещей и через 2-3 месяца от насекомых. Также популярны инсектоакарицидные ошейники для собак и кошек, их основное преимущество – относительно невысокая цена, недостатком же является необходимость животного постоянно носить ошейник.

Заключение. Таким образом, на российском рынке представлен большой спектр лекарственных препаратов - 143 наименования, применяемых для лечения и профилактики арахноэнтомозов домашних животных. На долю отечественных производителей приходится 81 инсектоакарицидный препарат или 56,6%. Наиболее широко представлены жидкие лекарственные формы - 99 наименований или 69,2% от общего числа предлагаемых препаратов. Спрос на инсектоакарицидные препараты формируется, главным образом, за счет рекомендаций ветеринарных врачей (73%).

Список литературы/References

1. Глазунов Ю.В. Распространение арахнозозов среди скота мясного направления в Тюменской области //Ю.В.Глазунов, В.А.Куртеков, Л.А.Глазунова//Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2015. - № 2. - С. 36-39.
2. Глазунов Ю.В. Эффективность инсектоакарицидных препаратов при дезакаризации объектов ветеринарного надзора //Ю.В.Глазунов, О.А.Столбова//Вестник ветеринарии. 2014. - № 2 (69). - С. 26-29.
3. Кербабаев Э. Б. Основы ветеринарной акарологии. Методы и средства борьбы с клещами /Э.Б.Кербабаев//Труды Всероссийского института гельминтологии им. К. И. Скрябина. М., 1998. - Том 34. - 220 с.
4. Кербабаев Э.Б. Арахноэнтомозы сельскохозяйственных животных /Э.Б.Кербабаев, Ф.И.Василевич, Т.С.Катаева //Учебное пособие для вузов. - М., 2000. - 136 с.
5. Сивков Г.С. Защита крупного рогатого скота от патогенов. /Г.С. Сивков, В.Н.Домацкий, С.Д.Павлов и др. //Методические рекомендации, Тюмень, 2010. - 152с.
6. Столбова О.А. Инсектицидная эффективность препаратов при ктеноцефалидозе у собак в условиях города Тюмени /О.А.Столбова, Д.С.Круглов//Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2017. - Т. 231. - С. 136-139.
7. Столбова О.А. Акарицидная активность препарата «абифипр» при демодекозе крупного рогатого скота /О.А.Столбова, Л.Н.Скосырских//Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2016. - № 1 (112). - С. 145-149.
8. Столбова О.А. Демодекоз животных (учебное пособие)/О.А.Столбова, Л.Н.Скосырских//Успехи современного естествознания. 2014. - № 10. - С. 86-87.

9. Столбова О.А. Сезонная динамика эктопаразитов у мелких домашних животных в условиях города Тюмени /О.А.Столбова, Л.Н.Скосырских, Д.С.Круглов //Современные проблемы науки и образования. 2017. - №2. - С. 237.

10. Столбова О.А. Насекомые и клещи – паразиты крупного рогатого скота в Северном Зауралье /О.А.Столбова, Л.А.Глазунова, А.А.Никонов и др. //Фундаментальные исследования. 2014. - № 11-12. - С. 2650-2655.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Glazunov Ju.V. Rasprostranenie arahnozov sredi skota mjasnogo napravlenija v Tjumenskoj oblasti [Distribution of arachnids among the cattle of the meat direction in the Tyumen region] /Ju.V.Glazunov, V.A.Kurtekov, L.A.Glazunova //Voprosy normativno-pravovogo regulirovanija v veterinarii [Questions of standard and legal regulation in veterinary science]. 2015. - № 2. - P. 36-39. [in Russian]

2. Glazunov Ju.V. Jefferektivnost' insektoakaricidnyh preparatov pri dezakarizacii obektov veterinarnogo nadzora [Efficiency of the insektoakaritsidnykh of medicines at a dezakarization of objects of veterinary supervision] /Ju.V.Glazunov, O.A.Stolbova //Vestnikveterinarii [The Messenger of veterinary science]. 2014. - № 2 (69). - P. 26-29. [in Russian]

3. Kerbabaev Je. B. Osnovy veterinarnoj akarologii. Metody i sredstvabor'by s kleshhami [Bases of a veterinary akarologiya. Methods and means of fight against pincers] /Je.B.Kerbabaev //Trudy Vserossijskogo institute gel'mintologiiim. K. I. Skrjabina [Works of the All-Russian institute of Helminthology of K.I. Scriabin]. M., 1998. - Tom 34. - 220 p. [in Russian]

4. Kerbabaev Je.B. Arahniojentomozy sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh [Arakhnoentomoza of farm animals] /Je.B.Kerbabaev, F.I.Vasilevich, T.S. Kataeva //Uchebnoe posobie dlja vuzov [Manual for higher education institutions]. - M., 2000. - 136 p. [in Russian]

5. Sivkov G.S.Zashhita krupnogo rogatogo skota ot patogenov [Protection of cattle against pathogens] /G.S. Sivkov, V.N. Domatsky, S.D. Pavlov i dr. //Metodicheskie rekomendacii, Tjumen' [Methodical recommendations], 2010. - 152p. [in Russian]

6. Stolbova O.A. Insekticidnaja jefferektivnost' preparatov pri ktenocefalidoze u sobak v uslovijah goroda Tjumeni [Insecticidal efficiency of medicines at a ktenotsefalidoza at dogs in the conditions of the city of Tyumen] /O.A.Stolbova, D.S.Kruglov //Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj medicinyim N.Je.Baumana [Scientists of a note of the Kazan state academy of veterinary medicine of N.E. Bauman]. 2017. - T. 231. - P.136-139. [in Russian]

7. Stolbova O.A. Akaricidnaja aktivnost' preparata «abifipr» pri demodekoze krupnogo rogatogo skota [Acaricide activity of the medicine "abifipr" at a demodekoza of cattle] /O.A.Stolbova, L.N.Skosyrskih //Vestnik Krasnojarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [The Messenger of the Krasnoyarsk state agricultural university]. 2016. - № 1 (112). - P.145-149. [in Russian]

8. Stolbova O.A. Demodekoz zhivotnyh (uchebnoe posobie) [Demodekoz of animals (manual)] /O.A.Stolbova, L.N.Skosyrskih //Uspehi sovremennogo estestvoznaniya [Achievements of modern natural sciences]. 2014. - № 10. - P.86-87. [in Russian]

9. Stolbova O.A.Sezonnaja dinamika jektoparazitov u melkih domashnih zhivotnyh v uslovijah goroda Tjumeni [Seasonal dynamics of ectoparasites at small pets in the conditions of the city of Tyumen] /O.A.Stolbova, L.N.Skosyrskih, D.S.Kruglov //Sovremennye problem nauki i obrazovanija [Modern problems of science and education]. 2017. - №2. - P.237. [in Russian]

10. Stolbova O.A. Nasekomye i kleshhi – parazity krupnogo rogatogo skota v Severnom Zaural'e [Insects and ticks – parasites of cattle in the Northern Trans-Ural region] / O.A. Stolbova, L.A. Glazunova, A.A. NikonovYu.V. Glazunov, L.N. Skosyrskih//Fundamental'nye issledovaniya. [Basic researches]. 2014. - N. 11-12. - P.2650-2655



ПРИМЕР DOI:

10.18454/IRJ.2015.0001

Начиная с ноябрьского выпуска 2015 года /10 (41) Ноябрь 2015/, каждой статье, опубликованной в Международном научно-исследовательском журнале, редакция издания будет присваивать идентификатор цифрового объекта DOI:

- DOI облегчает процедуры цитирования, поиска и локализации научной публикации;
- DOI повышает авторитет журнала, а также свидетельствует о технологическом качестве издания;
- DOI является неотъемлемым атрибутом системы научной коммуникации за счет эффективного обеспечения процессов обмена научной информацией.

(Digital Object Identifier) — идентификатор цифрового объекта, стандарт обозначения представленной в сети информации.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.003>Смирнова Н.Н.¹, Инюшева А.А.², Артемьева И.М.,³ Падемирова Р.М.⁴¹ORCID: 000-001-9977-3860, кандидат биологических наук, ²ORCID: 000-0001-8279-9263, ведущий инженер-эколог³ORCID: 0000-0001-9344-7482, магистрант 2 курса, ⁴ORCID: 0000-0002-4719-8400, старший преподаватель, ^{1,3,4}Набережночелнинский институт (филиал) КФУ, в г. Набережные Челны²ООО «ПЭК регион 2» в г. Набережные Челны**ПОВЫШЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЧИСТКИ СОЖ-СОДЕРЖАЩИХ СТОЧНЫХ ВОД ПУТЁМ СТИМУЛЯЦИИ АКТИВНОГО ИЛА ПРЕПАРАТОМ ЭТАФОСФ****Аннотация**

Приведены технологические и экологические показатели СОЖ-содержащих сточных вод, отобранных для исследования с завода Двигателей ПАО «КамАЗ» и подлежащих биологической очистке. Эффективность биоразложения исследуемых сточных вод только активным илом, используемым на районных очистных сооружениях г. Набережные Челны, и активным илом с добавлением препарата Этафосф в концентрациях 10^{-4} , 10^{-5} г/л., определяли по токсичности и снижению концентрации нефтепродуктов. Установлено, что добавление препарата в концентрации 10^{-4} г/л снижает содержание нефтепродуктов в исследуемых сточных водах в 7 раз по сравнению с исходной пробой (144,6 мг/л) и в 3 раза по сравнению с классической биологической очисткой.

Ключевые слова: СОЖ, Этафосф, активный ил, токсичность, биологическая очистка, СОЖ-содержащие сточные воды.

Smirnova N.N.¹, Inyusheva A.A.², Artemieva I.M.³, Pademirova R.M.⁴¹ORCID: 000-001-9977-3860, PhD in Biology,²ORCID: 000-0001-8279-9263, Leading Environmental Engineer, PEK Region 2 LLC, Naberezhnye Chelny³ORCID: 0000-0001-9344-7482, Master's Degree Student of the 2nd year of study,⁴ORCID: 0000-0002-4719-8400, Senior Lecturer,^{1,3,4}Naberezhnye Chelny Institute (branch) of Kazan Federal University, Naberezhnye Chelny**IMPROVEMENT OF BIOLOGICAL CLEANING OF COOLANT-CONTAINING WASTEWATERS BY STIMULATION OF ACTIVE SLUDGE BY ETAFOSF PREPARATION****Abstract**

Technological and ecological indicators of coolant-containing wastewaters, selected for study from the Kamaz Engine Plant and subjected to biological treatment, are presented in the paper. The effectiveness of biodegradation of the investigated wastewaters only by activated sludge used in local sewage treatment plants in Naberezhnye Chelny, and active sludge with the addition of Etafosf in concentrations of 10^{-4} , 10^{-5} g/l was determined by toxicity and reduced concentration of petroleum products. It was established that the addition of the preparation in a concentration of 10^{-4} g/l reduces the content of petroleum products in the investigated wastewater by 7 times as compared to the initial sample (144.6 mg/l) and 3 times compared to the classical biological treatment.

Keywords: coolant, Etafosf, activated sludge, toxicity, biological purification, coolant-containing sewage.

Несомненной частью технологического процесса механической обработки металлов является применение смазочно-охлаждающих жидкостей (СОЖ). Однако, современные технологические эмульсии являются токсичными для представителей биоценоза водных экосистем в диапазоне концентраций 3,0-0,015% [1, С. 139-141], а в результате микробной деструкции эти жидкости теряют комплекс технологических и санитарно-гигиенических свойств [2, С. 234-238], следствием чего является частая замена СОЖ и увеличение объемов СОЖ-содержащих сточных вод.

Сточные воды машиностроительных предприятий являются многокомпонентными и многофазными водными системами. В состав таких стоков входят минеральные масла, ПАВы, бактерицидные и антикоррозионные присадки, во многих случаях, тяжелые металлы, а также токсичные продукты деструкции компонентов СОЖ. При поступлении на очистку залповых сбросов СОЖ-содержащих стоков нарушается процесс очистки воды, не удаётся достичь необходимого качества воды по показателю «нефтепродукты». Загрязняющие вещества, находящиеся в сточных водах предприятий, использующих технологические жидкости для механической обработки деталей, с трудом поддаются деструкции. Интенсификация очистки СОЖ-содержащих сточных вод является одной из актуальной среди экологических проблем.

Одним из наиболее эффективных методов в системе очистки сточных вод в настоящее время является биологический. Достоинством этого метода является безреагентная деструкция чуждых природной воде соединений.

Биологический метод использует специфические биологические сообщества - активный ил, в состав которого входят бактерии, актиномицеты, микроводоросли, низшие ракообразные [3, С. 17].

Для интенсификации процесса биоразложения компонентов сточных вод применяются биологически активные вещества, стимулирующие жизнедеятельность биоценоза активного ила.

Известен метод предварительной обработки активного ила водным раствором малеиновой или янтарной кислоты в низких концентрациях, что позволяет увеличить химическое потребление кислорода и сократить время аэрации [4, С. 46-49].

Выявлено, что препарат мелафен в низких концентрациях стимулирует численность представителей активного ила и биоценозов открытых водоёмов *Daphnia magna* Straus [5, С.137-139].

Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие об эффективности применения препарата Этафосф, синтезированного на кафедре промышленной экологии КНИТУ (г. Казань), в качестве ингибитора и стимулятора роста численности деструкторов эмульсионной СОЖ марки Инкам-1в зависимости от его концентрации [6, С. 46-49]

Для определения возможности использования вышеуказанного препарата в качестве стимулятора процесса биоразложения СОЖ-содержащих сточных вод на заводе Двигателей ПАО «КамАЗ» были отобраны две пробы отработанных СОЖ, подлежащих очистке на районных очистных сооружениях (РОС) города Набережные Челны.

Перед исследованием были определены основные показатели проб: внешний вид и запах – органолептически, pH – на приборе АНИОН 4100, коррозионную агрессивность – методом отпечаток [7, С. 13], общую численность микроорганизмов [8, С. 3-7].

Исследования показали, что обе пробы представляли собой грязно-серую жидкость с отслоившимся маслом и специфическим запахом нефтепродуктов и сероводорода.

При исследовании коррозионной агрессивности исследуемых сточных вод была выявлена сильная степень коррозионной агрессивности в обеих пробах (табл.1).

Таблица 1 – Коррозионная агрессивность СОЖ – содержащих сточных вод

№ пробы	Балл	Степень коррозии	Внешний вид фильтра
1	4	Сильная коррозия	Сплошная коррозия
2	4	Сильная коррозия	Сплошная коррозия (одно большое пятно диаметром 86 ÷ 86 мм.)

Коррозионная агрессивность стоков объясняется следствием микробной деструкции СОЖ во время эксплуатации, что подтверждается высокой степенью обсеменённости образцов (3×10^8 , 5×10^8 клеток/мл соответственно) и снижением pH с 10,00 до 8,21 в первой пробе и до 8,05 во второй.

Исследования проводились с использованием активного ила, применяемого на РОС города. Перед исследованием был определен индекс активного ила, который составлял 60, что соответствует требованиям микробоценоза очистных сооружений [9, с. 19-21].

Для биологической очистки СОЖ-содержащих сточных вод использовали компоненты в следующем соотношении: активный ил – 30 %, сточная вода – 70% (без Этафосфа); активный ил – 30 %, сточная вода + Этафосф в концентрациях 10^{-4} , 10^{-5} г/л.

Подготовленные для очистки пробы сточной воды аэрировали с использованием прибора ЛАБ–ПУ-02. В исследуемых образцах определяли pH, токсичность [10, с. 6], содержание нефтепродуктов [11, с. 16].

Полученные результаты представлены в таблицах 2,3.

Таблица 2 – Влияние низких концентраций препарата Этафосф на токсичность стока после биологической очистки СОЖ – содержащей сточной воды пробы № 1

Концентрация Этафосфа г/л, внесённая в пробу при биологической очистке	Разведение	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний (в трех параллельных определениях)		Смертность дафний в опыте, в % к контролю	Токсичность
			В контроле	В опыте		
10^{-4}	1:10	через 48 часов	30	6	80	острая
	1:50			18	40	хроническая
	1:100			18	30	хроническая
10^{-5}	1:10			6	80	острая
	1:50			6	80	острая
	1:100			18	40	хроническая
Контроль 1	1:10			0	100	острая
	1:50			0	100	острая
	1:100			0	100	острая
Контроль 2	1:10			6	80	острая
	1:50			12	60	острая
	1:100			18	40	хроническая
Контроль 3	-			10	0	отсутствует

Таблица 3 – Влияние низких концентраций препарата Этафосф на токсичность СОЖ-содержащей сточной воды пробы № 2 после биологической очистки

Концентрация Этафосфа г/л, внесённая в пробу при биологической очистке	Разведение	Время от начала биотестирования	Количество выживших дафний (в трех параллельных определениях)		Смертность дафний в опыте, в % к контролю	Токсичность
			в контроле	в опыте		
10^{-4}	1:10	через 48 часов	30	6	80	острая
	1:50			18	40	хроническая
	1:100			18	30	хроническая
10^{-5}	1:10			6	80	острая
	1:50			6	80	острая
	1:100			18	40	хроническая
Контроль 1	1:10			0	100	острая
	1:50			0	100	острая
	1:100			0	100	острая
Контроль 2	1:10			6	80	острая
	1:50			12	60	острая
	1:100			18	40	хроническая
Контроль 3	-			10	0	отсутствует

Примечание: Контроль 1 - неочищенная СОЖ-содержащая сточная вода. Контроль 2 - СОЖ-содержащей сточная вода, очищенная активным илом. Контроль 3 - культивационная вода.

В результате проведенных исследований установлено, что обе отобранные пробы обладали острой токсичностью. Смертность дафний составляла 100% во всех трех разведениях. Классический метод биоочистки показал снижение токсичности только в разведении 1:100. Добавление Этафосфа в концентрации 10^{-4} г/л снизило токсичность в разведениях 1:50, 1:100, что свидетельствует о повышении биологической очистки СОЖ-содержащих сточных вод.

Результаты исследования токсичности позволяют определить класс опасности данных стоков для окружающей среды (рис.1,2).

Определение класса опасности пробы № 1:

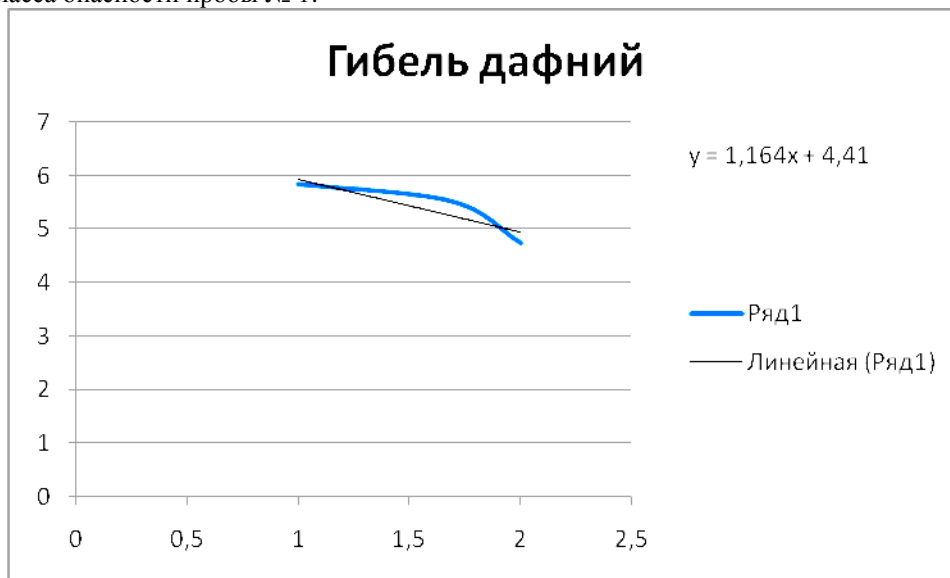


Рис. 1 – Гибель дафний в пробе № 1

$$\text{ЛКР}_{50-48} = 100 / 10^{((5-4,41) / 1,164)} = 31,13$$

$$\text{БКР}_{10-48} = 100 / 10^{((3,72-4,41) / 1,164)} = 391,55$$

Согласно результатам биотестирования и проведенным на их основе расчетам, СОЖ-содержащую сточную воду можно отнести к 3 классу опасности – умеренно опасные, так как безвредная кратность разбавления равна 391,55 (что входит в диапазон от 101 до 1000).

Определение класса опасности пробы №2:

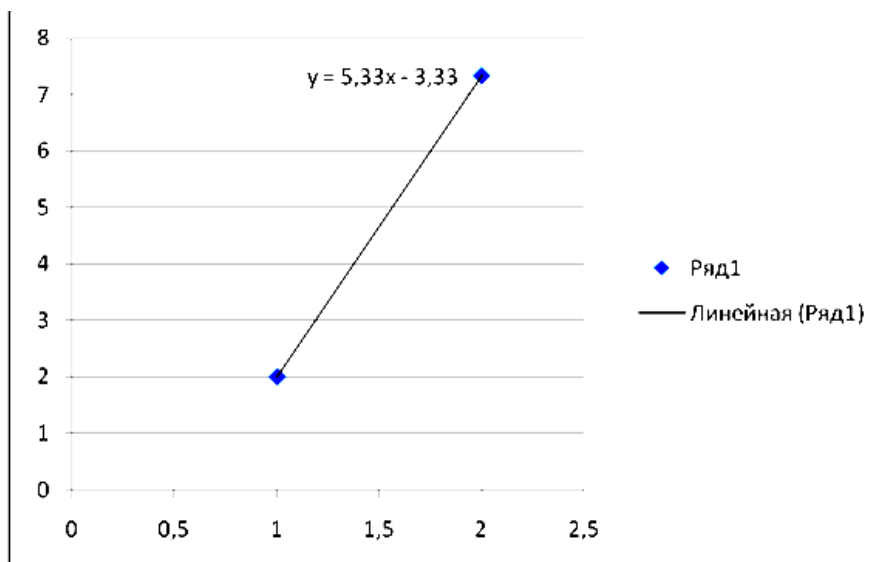


Рис. 2 – Гибель дафний в пробе № 2

$$\text{ЛКР}_{50-48} = 100 / 10^{((5-3,33) / 5,33)} = 48,604$$

$$\text{БКР}_{10-48} = 100 / 10^{((3,72-3,33) / 5,33)} = 84,494$$

Очищенную сточную воду в пробе № 2 можно отнести к 4 классу опасности – малоопасные, так как безвредная кратность разбавления равна 84,494 (что входит в диапазон от 10 до 100).

Эффективность очистки СОЖ-содержащих сточных вод с участием активного ила и препарата Этафосф от нефтепродуктов представлены в таблицах 4,5.

Таблица 4 – Влияние низких концентраций препарата Этафосф на содержание нефтепродуктов при биологической очистке СОЖ-содержащей сточной воды пробы № 1 (без разведения)

Номер образца	Концентрация Этафосфа г/л	pH	Содержание нефтепродуктов, мг/л
1	10^{-4}	7,3	21,75
2	10^{-5}	7,5	44,8
3	Контроль 1	8,2	144,6
4	Контроль 2	7,8	63,99

Премечание: Контроль 1– неочищенная СОЖ-содержащая сточная вода без разведения; Контроль 2 – СОЖ-содержащая сточная вода, очищенная только активным илом.

Как видно из данных таблицы 4, содержание нефтепродуктов наиболее эффективно снижается при очистке исследуемых стоков с добавлением Этафосфа с концентрацией 10^{-4} г/л. (21,75 мг/л). Добавление препарата в этой концентрации позволило снизить содержание нефтепродуктов в 7 раз по сравнению с исходной пробой (144,6 мг/л) и в 3 раза по сравнению с классической биологической очистки неочищенной СОЖ-содержащей (63,99 мг/л).

Таблица 5 – Влияние низких концентраций препарата Этафосф на содержание нефтепродуктов при биологической очистке СОЖ – содержащей сточной воды пробы № 2 (без разведения)

Номер образца	Концентрация Этафосфа г/л, добавленная в пробу при биологической очистке	Содержание нефтепродуктов, мг/л
1	10^{-4}	14,12
2	10^{-5}	24,84
3	Контроль 1: исходная СОЖ-содержащая сточная вода (pH=8,0)	78,72
4	Контроль 2: СОЖ-содержащая сточная вода с активным илом	24,38

Данные таблицы 5 подтверждают эффективность биоочистки и в пробе №2 при добавлении Этафосфа в концентрации 10^{-4} г/л. поскольку содержание нефтепродуктов уменьшилось по сравнению с исходной пробой в 5,57 раз и в 1,7 раза по сравнению с классической биологической очисткой.

Анализ данных табл. 2-5 и рис. 1,2 позволяет сделать вывод о целесообразности использования препарата «Этафосф» в концентрациях 10^{-4} г/л при биологической очистке СОЖ-содержащих сточных вод в качестве стимулятора биоценоза активного ила, а также свести к минимуму гибель аэробных микроорганизмов, участвующих в биологической очистке промстоков.

Список литературы / References

1. Смирнова Н.Н. Токсичность водорастворимых смазочно-охлаждающих жидкостей / Н.Н.Смирнова, А.И. Динмухаметова // Межвузовский научный сборник Проектирование и исследование технических систем. – 2009. – №13. – С.139–141.

2. Смирнова Н. Н. Микробная деструкция эмульсионных смазочно-охлаждающих жидкостей и методы ее предупреждения / Н.Н.Смирнова, Р.Н.Шарафутдинов В.М., Ахметов В.М. // Материалы Итоговой научн. конф. проф.-препод. состава. – НЧ.: Издательство Полиграфический центр Набережнчелнинского института (П)ФУ, 2013. – С. 234–238.

3. Колесников В.П. Современное развитие технологических процессов очистки сточных вод в комбинированных сооружениях / В.П. Колесников, Е.В.Вильсон. – Р-на-Д.: Юг. – 2005. – С.17.

4. Пат. 2445275 Российская Федерация, МПК C02F3/02, C02F3/34. Способ интенсификации биологической очистки сточных вод / Шулаев М.В., Фаттахов С.Г., Хабибуллина Л.И., Резник В.С., Коновалов А.И., Синяшин О.Г. : заявитель и патентообладатель Учреждение Российской академии наук Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук. – заявл. 29.12.2009; опубл. 20.03.2012.

5. Леснова Е.А. Влияние мелафена на представителей активного ила *Daphnia magna* Straus и микроводоросли / Е.А. Леснова, Н.Н. Смирнова, С.В. Фридланд // Вестник технологического университета. – 2014. – №10. – С.137-139.

6. Смирнова Н.Н. Влияние препарата Этафосф на микробиологические и антикоррозионные свойства смазочно-охлаждающей СОЖ Инкам-1 / Н.Н. Смирнова, Г.В. Маврин, Т.Р. Денисова, С.В. Фридланд // Международный научно-исследовательский журнал. – 2014. – №11 (30), Часть 2. – С.46–49.

7. ГОСТ 6243-75. Эмульсолы и пасты. Методы испытаний. – Взамен ГОСТ 6243-64 ; введ. 1976-07-01. – М. : Министерство химической и нефтеперерабатывающей промышленности СССР : Изд-во стандартов, 1975. – С. 9.

8. ФР.1.31.2008.04398. Гидрохимические методы контроля. М.: Акварос. – 2008. – С. 21.

9. ГОСТ 9.085-78. Единая система защиты от коррозии и старения. Жидкости смазочно-охлаждающие. Методы испытаний на биостойкость. Введ. 1979-07-01. – М.: Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР : Изд-во стандартов, 1979. – С. 32.

10. МУК 4.1.1262-03. Методы контроля. Химические факторы измерение массовой концентрации нефтепродуктов флуориметрическим методом в пробах питьевой воды и воды поверхностных и подземных источников водопользования. – Введ. 2003-09-01. – М.: Минздрав России, 2003. – С. 28.

11. ПНД Ф Т 14.1:2.4.12-06. Токсикологические методы анализа. Методика определения токсичности водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia Magna* Straus. – Введ. 2006. – М.: Государственный комитет Российской Федерации по охране окружающей среды. – С. 13.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Smirnova N.N. Toksichnost vodorastvorimyykh smazochno-okhlazhdayushchikh zhidkostey [Toxicity of Water-soluble Lubricating and Cooling Liquids] / N.N. Smirnova, A.I. Dinmukhametova // Mezhvuzovskiy nauchnyy sbornik — Proektirovaniye i issledovaniye tekhnicheskikh sisyem [Interuniversity of works in Designing and research of technical systems.] - 2009. - No. 13. - P.139-141. [in Russian]

2. Smirnova N.N. Mikrobnaya destruktziya emulsiyohhykh smazochno-okhlazhdayushchikh zhidkostey i metody ee preduprezhdeniya [Microbial Destruction of Emulsion of Lubricating and Cooling Liquids and Methods of Its Prevention] / N.N. Smirnova, R.N. Sharafutdinov V.M., Akhmetov // Materialy itogovoy nauchn. konf. prof.-prepod sostava [Materials of the Scientific. Conf. of Professors and Lecturers] - NCh: Publishing house Polygraphic Center of Naberezhnchelninsky Institute (P)FU, 2013. - P. 234-238. [in Russian]

3. Kolesnikov V.P. Sovremennoye razvitiye tekhnologicheskikh protsessov ochistki stochnykh vod v kombinirovannykh sooruzheniyakh [Modern Development of Technological Processes of Wastewater Treatment in Combined Facilities] / V.P. Kolesnikov, E.V. Wilson. - R-on-D.: South. - 2005. - P.17. [in Russian]

4. Pat. No. 2445275 Russian Federation, IPC C02F3/02, C02F3/34. Sposob intensivatsii biologicheskoy ochistki stochnykh vod [Method of Intensification of Biological Wastewaters Purification] / Shulaev M.V., Fattakhov S.G., Khabibullina L.I., Reznik V.S., Konovalov A.I., Sinyashin O.G.: Applicant and patent holder. Institute of Organic and Physical Chemistry, Russian Academy of Sciences, named after pr. A.E. Arbuzov of Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. - claimed. 29.12.2009; publ. 20.03.2012. [in Russian]

5. Lesnova E.A. Vliyaniye melafena na predstaviteley aktivnogo ila *Daphnia Magna* Straus i mikrovodorosli [Effect of Melafen on Representatives of Active Sludge *Daphnia Magna* Straus and Microalgae] / E.A. Lesnova, N.N. Smirnova, S.V. Friedland // Vesnik tekhnologicheskogo universiteta [Bulletin of the Technological University]. - 2014. - No.10. - P.137-139. [in Russian]

6. Smirnova N.N. Vliyaniye preparata Etafosf na mikrobiologicheskiye i antikorroziyonniye svoystva smazochno-okhlazhdayushchey SOZh Inkam-1 [Effect of Etafosf Preparation on Microbiological and Anticorrosive Properties of Lubricating coolant Inkam-1] / N.N. Smirnova, G.V. Mavrin, T.R. Denisova, S.V. Friedland // Mezhdunarodniy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal [International Scientific and Research Journal]. - 2014. - No. 11 (30), Part 2. - P.46-49. [in Russian]

7. GOST 6243-75. Emulsoly i pasty. Metody ispytaniy [Emulsols and Pastes. Testing Methods]. - Substitutes GOST 6243-64; introduced on 1976-07-01. - M.: Ministry of Chemical and Oil Industry of the USSR: Publishing Standards, 1975. - P. 9. [in Russian]

8. FR.1.31.2008.04398. Gidrokhimicheskiye metody kontrolya [Hydrochemical Control Methods]. M.:Aqvaros. - 2008. - P. 21. [in Russian]

9. GOST 9.085-78. Edinaya sistema zashchity ot korrozii i stareniya. Zhidkosti smazochno-okhlazhdayushchiye. Metody ispytaniy na biostoykost. [Unified System of Protection against Corrosion and Aging. Lubricating and Cooling Liquids. Test Methods for Biostability]. Introduced on 1979-07-01. - M.: State Committee of Standards of the Council of Ministers of the USSR: Publishing Standards, 1979. - P. 32. [in Russian]

10. MUK 4.1.1262-03. Metody kontrolya. Khimicheskiye faktory izmereniye massovoy kontsentratsii nefteproduktov fluorimetricheskim metodom v probakh pitievoy vody i vody poverkhnostnykh i podzemnykh istochnikov vodopolzovaniya [Control Methods. Chemical Factors of Mass Concentration Measurement of Petroleum Products by Fluorimetric Method in

Samples of Drinking Water and Water from Surface and Groundwater Sources of Water Use]. - Introduced on 2003-09-01. - Moscow: Ministry of Health of Russia, 2003. - P. 28. [in Russian]

11. HDPE F T 14.1: 2: 4.12-06. Toksikologicheskiye metody analiza. Metodika opredeleniya toksichnosti vodnykh vytiyazhek iz pochvy, osadkov stochnykh vod i otkhodov, pitievoy, stochnoy i prorodnoy vody po smertnosti test-objekta Daphnia Magna Straus.[Toxicological Methods of Analysis. Method for Determining Toxicity of Water Extracts from Soils, Active Sludge and Waste, Drinking, Sewage and Natural Water by Mortality of Daphnia Magna Straus Test Facility.] - Introduced on 2006. - Moscow: State Committee of the Russian Federation for Environmental Protection. - P. 13. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.019>

Усманова С. Р.¹, Антипина Т. В.², Шамратова В. Г.³

¹Кандидат биологических наук, ММЦ "Профилактическая медицина", заведующая лабораторным отделением, Уфа

²магистр 1 года обучения, биологический факультет, ³ доктор биологических наук, профессор,

Башкирский государственный университет г. Уфа

ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОГО И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ НА ГАЗОВЫЙ СОСТАВ И ГЕМОГЛОБИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ЮНОШЕЙ

Аннотация

Изучено влияние средовых (двигательная активность и курение) и наследственных (генотипы гена ангиотензин-превращающего фермента – АПФ) факторов на показатели газового состава и гемоглобинового профиля крови здоровых юношей. Установлено, что физические нагрузки в сочетании с курением по ряду показателей усугубляют отрицательное действие на кровь курения. Совместное влияние наследственного фактора и физической активности проявляется в отношении содержания в крови фетального гемоглобина, генотипов и курения – метгемоглобина.

Ключевые слова: ген АПФ, двигательная активность, курение, кислородтранспортная система.

Usmanova S.R.¹, Antipina T.V.², Shamratova V.D.³

¹PhD in Biology, MMC "Preventive Medicine", head of the laboratory department, Ufa

²Master of the 1st year of study, Faculty of Biology, Bashkir State University, Ufa

³PhD in Biology, Professor, Bashkir State University, Ufa

INFLUENCE OF HEREDITARY AND ENVIRONMENTAL FACTORS ON GAS COMPOSITION AND HEMOGLOBIN PROFILE OF BLOOD IN HEALTHY YOUNG MEN

Abstract

The influence of environmental factors (motor activity and smoking) and hereditary (genotypes of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene) on the gas composition and hemoglobin profile of healthy young men was studied. It was found that physical loads combined with smoking in a number of indicators exacerbate the negative effect of smoking on the blood. The combined effect of the hereditary factor and physical activity is manifested in the content of fetal hemoglobin in the blood; genotypes and smoking – methemoglobin.

Keywords: ACE gene, motor activity, smoking, oxygen transport system.

Фактором, благоприятно влияющим на состояние кислородтранспортной системы и на здоровье человека в целом, является двигательная активность (ДА). Физические нагрузки снижают риск развития многих хронических заболеваний (сосудистые заболевания, сердечная недостаточность и др.) и создают условия для реализации улучшенных механизмов в адаптации к умственному труду, т.е. физическая нагрузка выступает в роли оптимизирующего фактора [5, С. 64], [10, С. 723]. Фактором, оказывающим максимально отрицательное воздействие на здоровье, является курение. В последнее время эта пагубная привычка формируется все в более юном возрасте и число курильщиков с каждым годом увеличивается [4, С. 312]. Несомненно, физические способности каждого индивида детерминируются генетическими факторами. К одному из маркеров показателей физических возможностей человека относят I/D полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) [8, С. 23]. Учитывая, что фенотипические проявления гена могут модифицироваться под влиянием средовых факторов [6, С. 598], мы изучили взаимодействие генетических особенностей, двигательной активности и курения на примере показателей газового состава и гемоглобинового профиля крови у здоровых юношей.

В исследовании участвовало 94 юноши 21-23-летнего возраста, среди них студенты факультета физической культуры БГПУ им. Акмуллы (г.Уфа) и студенты, обучающиеся на иных факультетах. Все студенты были признаны клинически здоровыми по результатам ежегодного медицинского осмотра и осведомлены о целях исследования. В результате анкетирования мы получили данные о физической активности студентов (время, потраченное на физические нагрузки за 7 дней) и сформировали две группы в соответствии с рекомендациями ВОЗ. Первую группу с низкой двигательной активностью (НДА) составили студенты, которые, согласно данным анкет, ведут малоактивный образ жизни, т.е. уделяют физической нагрузке менее 150 минут в неделю. Во вторую группу с высокой двигательной активностью (ВДА) вошли юноши - спортсмены, для которых физические нагрузки являются неотъемлемой частью их повседневной жизни, занимающиеся спортом более 150 – 300 минут в неделю. В каждой из групп (НДА и ВДА) испытуемых выделили подгруппы некурящих и курящих. В периферической крови юношей определяли показатели газового состава крови и гемоглобинового профиля (pO₂, pCO₂, HbO₂, HbCO, HbMet, FetHb, satO₂) на анализаторе Point of Care Testing. Генетическое исследование проводилось на кафедре генетики БГПУ им. Акмуллы. Для генотипирования использовалась ДНК, выделенная из лимфоцитов периферически крови методом фенол-хлороформной экстракции. Методом полимеразной цепной реакции проводили анализ полиморфного локуса ACE на многоканальном амплификаторе фирмы «Герцик». Для оценки влияния наследственного и средовых факторов на

газовый состав и гемоглобиновый профиль крови использовался трехфакторный факторный дисперсионный анализ (Factorial ANOVA).

Результаты. Методом трехфакторного дисперсионного анализа, учитывающего влияние наследственного (аллельные варианты I/D полиморфизма гена ACE) и средовых (курение и уровень двигательной активности) факторов, установлено их раздельное и сочетанное воздействие на показатели газового состава и гемоглобинового профиля крови здоровых юношей. Высокий уровень физических нагрузок оказывает достоверное ($p < 0,05$), независимое от действия других изученных факторов, влияние на величины pCO_2 и pO_2 . Курение раздельно влияет на относительное содержание фракций гемоглобина HbO_2 и HbS . Совместное действие двух средовых факторов (ДА и курения) проявляется в отношении тех же показателей (pO_2 , pCO_2 , HbO_2 , $HbCO$), а также - $satO_2$.

Как вытекает из рис. 1., если при НДА курение существенно не влияет на уровень pO_2 крови, то при возрастании интенсивности физических нагрузок различия становятся ощутимыми. Поглощение кислорода легкими у спортсменов, потребляющих табак, заметно снижается. Представленные графики демонстрируют у некурящих спортсменов более высокий уровень pO_2 , чем у юношей с низкой ДА. В то же время у курящих юношей рост ДА при занятиях спортом не сопровождается адекватным повышением pO_2 .

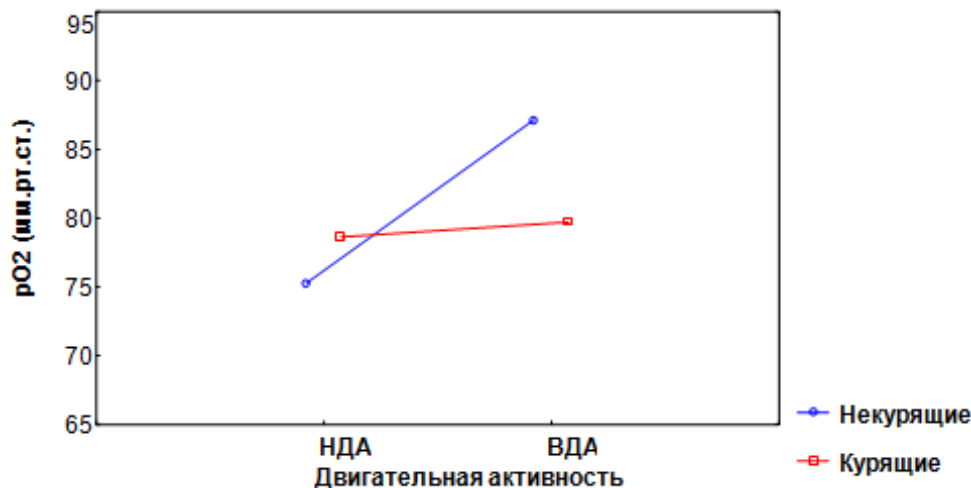


Рис.1 – Совместное влияние ДА и курения на pO_2

Уменьшение поступления кислорода из легких в кровь сопровождается снижением степени насыщения им молекул гемоглобина. Из рис. 2 видно, что уровень HbO_2 существенно выше у некурящих спортсменов, чем у юношей с низкой ДА, противоположная картина наблюдается при курении.

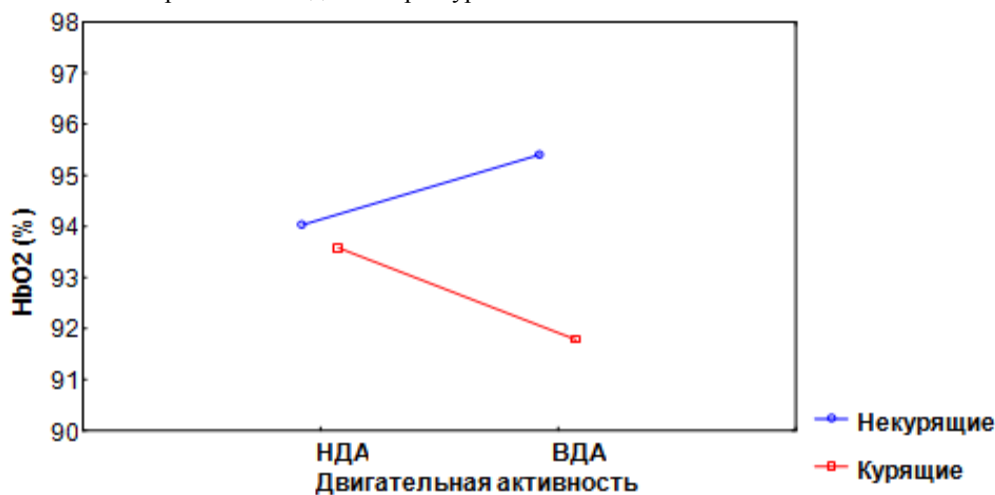


Рис.2 – Совместное влияние ДА и курения на содержание HbO_2

Наиболее выраженные различия в группах курящих и некурящих юношей проявляются в отношении доли в крови $HbCO$ (рис. 3). Здесь действие курения обнаруживается при любой ДА, но у спортсменов этот показатель многократно превышает физиологическую норму.

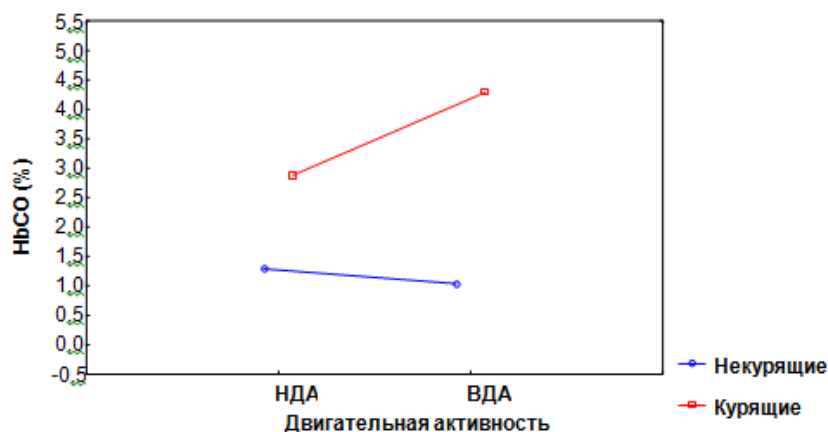


Рис. 3 – Совместное влияние ДА и курения на содержание HbCO

Очевидно, это обусловлено возрастанием вентиляционной функции легких при занятиях спортом, проявляющееся увеличением в крови не только O_2 , но и CO [2, С. 40]. Наибольший интерес представляют данные о сочетанном действии на показатели крови наследственных и средовых факторов. Согласно результатам трехфакторного дисперсионного анализа, генетический фактор отдельно, а также в сочетании с курением влияет на содержание MetHb, генотипы гена АПФ и уровень ДА - на относительное содержание фетального гемоглобина (FetHb). Как видно из рис. 4, у некурящих юношей с генотипом I/I уровень MetHb ниже, чем у юношей с генотипами D/D и I/D. У курящих юношей уровень MetHb у лиц всех изученных генотипов практически не различается. Известно, что MetHb вызывает резкое снижение кислородной емкости крови [7, С. 19]. Возможно, особенности энергетического метаболизма при генотипе I/I [1, С. 87] в определенной степени способствует предотвращению окисления железа и повышению доли в крови MetHb.

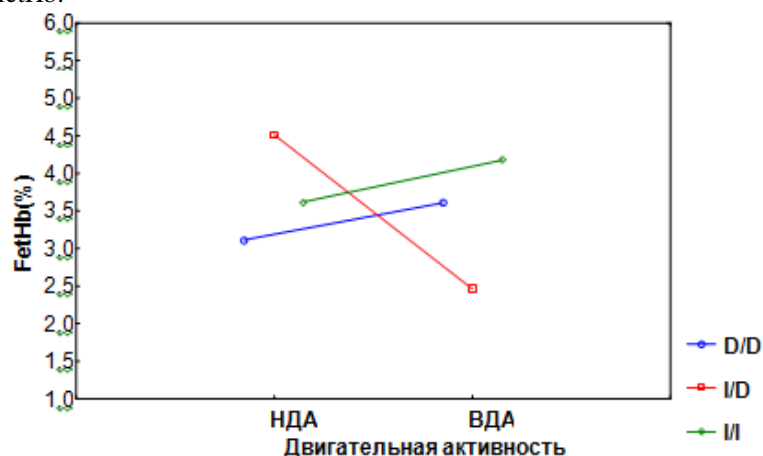


Рис. 4 – Совместное влияние курения и гена АПФ на содержание MetHb

Роль наследственного фактора отчетливо проявляется и в отношении фракции плодного гемоглобина. Из рис. 5 видно, что при низкой ДА наиболее высокий показатель FetHb наблюдается у лиц с генотипом I/D. При возрастании интенсивности мышечных нагрузок уровень FetHb у юношей с генотипом I/I превышает этот показатель у носителей аллели D. Известно, что синтез добавочных молекул фетального гемоглобина сверх установленного уровня, обладающего повышенным сродством к O_2 относится к ряду механизмов, способствующих улучшенной эффективности транспорта O_2 при возрастании потребностей в нем клеток.

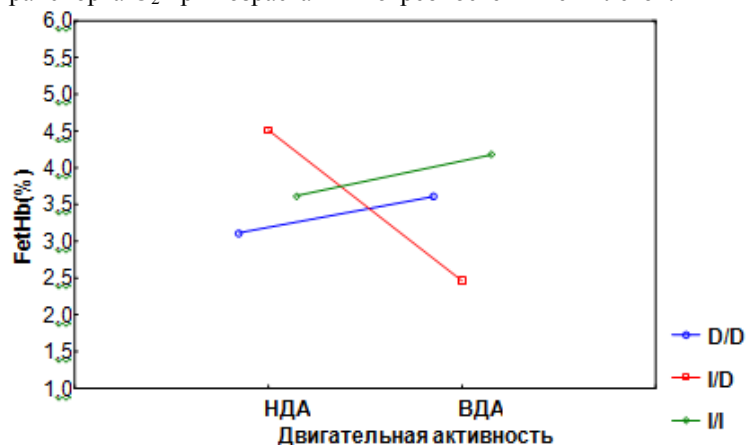


Рис.5 – Совместное влияние ДА и гена АПФ на содержание FetHb.

Концентрация в крови FetHb, как нами было показано ранее, при возрастании уровня ДА отрицательно коррелирует как с pO_2 , так и $SatO_2$ [9, С. 38]. Синтез FetHb обеспечивает долговременную и стабильную адаптацию к кислородному дисбалансу. Очевидно, у лиц с генотипом I/I при повышенной в результате мышечной деятельности потребности клеток в кислороде функционирование этого механизма может восстановить баланс между доставкой и потреблением O_2 .

Список литературы / References

1. Ахметов И. И. Использование молекулярно-генетических методов для прогноза аэробных и анаэробных возможностей у спортсменов / И. И. Ахметов, Д. В. Попов, И. В. Астраненкова и др. // Физиология человека. Том 34. – 2008. - №3. – С. 86 – 91.
2. Ахметова Е. В. Образ жизни и здоровье студентов. – НН: НИСОЦ, 2003. – 113 с.
3. Василенко Д. В. Клинико-лабораторная интерпретация показателей карбокси метгемоглобина в крови у работников вредного производства / Д. В. Василенко, К. В. Боев и др. // Современная медицина: актуальные вопросы. – 2013. - №23. – С. 181 – 186.
4. Миняева В. А. Общественное здоровье и здравоохранение / В. А. Миняева, Н. И. Вишнякова. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – 656 с.
5. Молоканова Ю. П. Факторы, определяющие ритм сердечных сокращений у лиц юношеского возраста / Ю. П. Молоканова // Вестник МГУ. Естественные науки. – 2013. - №2. – С. 63 – 69.
6. Усманова С. Р. Адаптационные резервы кислородтранспортной системы крови в зависимости от средовых факторов и генотипа на примере гена ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) / С. Р. Усманова, В. Г. Шамратова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. - №10. – С. 598 – 603.
7. Фаткуллин К. В. Клиническое значение и современные методологические аспекты определения уровня карбокси и метгемоглобина в крови / К. В. Фаткуллин, А. Ж. Гильманов, Д. В. Костюков // Практическая медицина. – 2014. - №3. – С. 17 – 21.
8. Федяков А. М. Анализ полиморфизма генов ACE и BDKRB₂ у спортсменов / А. М. Федяков, П. И. Лидов, Д. А. Гаврилов и др. // Вестник спортивной науки. – 2006. - №1. – С. 23 – 26.
9. Шамратова В. Г. Оценка функционирования кислородтранспортной системы крови у студентов / В. Г. Шамратова, Е. Е. Исаева, Ю. К. Крапивко // Вестник БашГУ. Том 12. – 2007. - №4. – С. 38 – 40.
10. Joanna Kruk Physical Activity and Health / Kruk Joanna // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2009. – Vol.10. – P. 721 – 728.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Achmetov I. I. Ispolzovanie moleculyarno-geneticheskikh metodov dlya prognoza aerobnich i anaerobnich vizmognoitei u sportsmenov [Use of molecular genetic methods for predicting aerobic and anaerobic abilities in athletes] / I. I. Achmetov, D. V. Popov, I. V. Astranenkova and others // Fiziologiya cheloveka. Tom 34. [Human physiology. Volume 34]. – 2008. - №3. – P. 86 – 91.[in Russian]
2. Akhmetova E. V. Obraz zhizni i zdorov'ye studentov [The way of life and health of students]. -NN: NISOTS. – 2003. – P. 113.
3. Vasilenko D. V. Kliniko-laboratornaya interpretatsiya pokazateley karboksi metgemoglobina v krovi u rabotnikov vrednogo proizvodstva [Clinico-laboratory interpretation of the parameters of carboxymethemoglobin in the blood of workers of harmful production] / D. V. Vasilenko, K. V. Boyev and others // Sovremennaya meditsina: aktual'nyye voprosy [Modern medicine: current issues]. – 2013. - №23. – P. 181 – 186.
4. Minyaeva V. A. Obshestvennoe zdorovie i zdravoochranenie [Public health and health servie] / V. A. Minyaeva, N. I. Vishnyakova. – Moscow.:MEDpress-inform, 2012. – 656 с.
5. Molocanova U. P. Factoty, opredelyaushie ritm cerdechnych cokrasheniy u liz unosheskiego visrasta [Factors determining the rhythm of cardiac contractions in adolescents] / U. P. Molokanova // Vestnik MGU. Estestvennye nauki [Journal of the MSU. Natural Sciences]. – 2013. - №2. – P. 63 – 69.
6. Usmanova S. R. Adaptazionnye rezervy kislorodtransportnoy sistemy krovi v zavisimosti ot sredovykh faktorov i genotipa na primere gena angiotenzin-prevrashaushego ferments (APF) [Adaptation reserves of the oxygen transportation system of blood depending on environmental factors and genotype on the example of the gene of the angiotensin-converting enzyme (ACE)] / S. R. Usmanova, V. G. Shamratova // Medgunarodnyi dgurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy [International Journal of Applied and Fundamental Research]. – 2016. - №10. – С. 598 – 603.
7. Fatkullin K. V. Klinicheskoe znachenie i sovremennyye metodologicheskie aspect opredeleniya urovnya karboksi i metgemoglobina v krovi [Clinical significance and modern methodological aspects of determining the level of carboxy and methemoglobin in the blood] / K. V. Fatkullin, A. G. Gilmanov, D. V. Kostukov // Prakticheskaya medizina [Practical medicine]. – 2014. - №3. – С. 17 – 21.
8. Fedyakov A. M. Analiz polimorfizma genov ASE i BDKRB₂ u sportsmenov [Analysis of the polymorphism of the ACE and BDKRB₂ genes in athletes] / A. M. Fedyakov, P. I. Lidov, D. A. Gavrilov and others // Vestnik sportivnoy nauki [Journal of sports science]. – 2006. - №1. – P. 23 – 26.
9. Shamratova V. G. Ocenka funkcionirovaniya kislorodtransportnoy sistemy krovi u stutentov [Assessment of the functioning of the oxygen transport system of blood in students] / V. G. Shamratova, E. E. Usaeva, U. K. Krapivko // Vestnik BashGU. Tom 12 [Journal of the Bashkir University. Volume 12.]. – 2007. - №4. – P. 38 – 40.
10. Joanna Kruk Physical Activity and Health / Kruk Joanna // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2009. – Vol.10. – P. 721 – 728.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.004>

Чаус Б. Ю.

ORCID: 0000-0003-4465-6872, кандидат биологических наук, доцент,
Башкирский государственный университет (филиал) в г. Стерлитамаке**ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *SPONGILLA LACUSTRIS* В СИСТЕМЕ БИОМОНИТОРИНГА
КАЧЕСТВА ВОДЫ РЕК ЮЖНОГО УРАЛА****Аннотация**

В статье приводится анализ возможности использования *Spongilla lacustris* (тип Porifera) в системе биоиндикационных исследований в ходе экологического мониторинга рек Южного Урала. Анализ встречаемости *Spongilla lacustris* проводился в районах 17 государственных водопостов, находящихся на реках, протекающих по территории Южного Урала в летнюю межень с 2005 по 2016 годы. В качестве химических характеристик на створах, использовались данные по содержанию в речных водах соединений марганца, никеля и железа, нефтепродуктов, фенолов, азота аммонийного, меди, цинка, сульфатов, хлоридов, азота нитритного. В качестве комплексного показателя использовался удельный комбинаторный индекс загрязненности воды. Впервые изучена динамика встречаемости *Spongilla lacustris* и выявлены статистически значимые корреляционные связи между показателем встречаемости *Spongilla lacustris* с рядом загрязнителей, определяемых в воде на изученных участках рек Южного Урала.

Ключевые слова: биоиндикация, *Spongilla lacustris*, Южный Урал, динамика встречаемости вида, гидрохимические показатели, загрязнители, удельный комбинаторный индекс загрязненности воды.

Chaus B.Yu.

ORCID: 0000-0003-4465-6872, PhD in Biology, Associate professor,
Bashkir State University (branch) in Sterlitamak**OPPORTUNITIES FOR USAGE OF *SPONGILLA LACUSTRIS* IN BIOMONITORING SYSTEM OF WATER
QUALITY OF SOUTH URAL RIVERS****Abstract**

The article presents the analysis of the feasibility of using of *Spongilla Lacustris* (Porifera type) in the bioindication research system during the ecological monitoring of rivers of the Southern Urals. *Spongilla Lacustris* was analyzed in the districts of 17 state water points located on the rivers flowing through the territory of the Southern Urals during the summer low-water period from 2005 to 2016. Data on the content of manganese, nickel and iron compounds, petroleum products, phenols, ammonium, copper, zinc, sulfate, chloride, nitrogen nitrite in water from these rivers were used as chemical characteristics on the sections. The specific combinatorial index of water pollution was used as a complex indicator. The dynamics of occurrence of *Spongilla Lacustris* was first studied, statistically significant correlations between the *Spongilla lacustris* incidence rate and a number of pollutants determined in water in the studied sections of the South Urals rivers were revealed.

Keywords: bioindication, *Spongilla Lacustris*, Southern Urals, species occurrence dynamics, hydrochemical parameters, pollutants, specific combinatorial index of water pollution.

Контроль качества водной среды осуществляется в настоящее время посредством химических и физико-химических методов. Однако анализ концентрации отдельных химических веществ не в состоянии дать полную характеристику вредного действия антропогенных факторов. Этим недостатком лишены биологические методы (биоиндикация и биотестирование) оценки качества вод [1, С. 41-51]. Несмотря на большое количество видов-эндемиков и бедность видового состава в целом, пресноводные губки являются весьма успешной группой, о чем свидетельствует их чрезвычайно широкое распространение [2, С. 27–33]. Успешная стратегия выживания заключена в необыкновенной организационной и эволюционной пластичности пресноводных губок. Существовая в дискретных пресноводных экосистемах, космополитические виды пресноводных губок выработали адаптивные приспособления в виде резистентных тел – геммул, которые позволяют губкам переживать неблагоприятные условия среды, связанные с промерзанием или пересыханием водоемов [3, С. 1–44]. Было показано, что соли многих тяжелых металлов (Cd, Pb, Hg, Ni, Co, Cr, Mo, Sn, As и др.), а также галогены (Cl, Br, I) накапливаются пресноводными губками [4, С. 209–231] в очень высоких концентрациях (в десятки, сотни и тысячи раз превышающих концентрации этих веществ в окружающей воде). Таким образом, губки являются удобным объектом для оценки уровня антропогенного загрязнения водной среды [5, С. 397-408]. Анализ научной литературы не позволил выявить работы, посвященные изучению индикаторных качеств губок, обитающих в поверхностных водах Южного Урала.

Исходя из вышеизложенного, цель работы - анализ возможности использования пресноводной губки *Spongilla lacustris* для биоиндикационных исследований в ходе экологического мониторинга рек Южного Урала.

Для достижения цели с 2005 по 2016 гг. решались 2 задачи: 1) изучение динамики встречаемости *Spongilla lacustris* в районах 17 государственных водопостов на реках, протекающих по территории Южного Урала; 2) анализ связи показателя встречаемости на створах *Spongilla lacustris* с концентрацией химических веществ, определяемых в воде в районах изученных створов.

Исследования проводились с 2005 по 2016 гг. в летнюю межень в районах 17 государственных водопостов (створов) на 8-ми реках, протекающих по территории Южного Урала - на р. Белой в р-не ж/с станция «Шушпа» (створ 1), в р-не д/о «Арский камень» (створ 2), выше г. Мелеуз (створ 3), ниже г. Мелеуз (створ 4), выше г. Салават (створ 5), ниже г. Ишимбай (створ 6), выше г. Стерлитамака (створ 7), ниже г. Стерлитамака (створ 8), ниже п. Прибельский (створ 9), выше г. Уфы (створ 10); на р. Нугуш, д. Нижнеташево (створ 11); на р. Ашкадар, в черте г. Стерлитамак (створ 12); на р. Селеук, д. Нижнеиткулово (створ 13); на р. Инзер, д. Азово (створ 14); на р. Юрюзань,

д. Чулпан (створ 15); на р. Зилаир, с. Зилаир (створ 16); на р. Большой Ик, с. Мраково (створ 17).

Анализ встречаемости *Spongilla lacustris* проводился на десяти участках (N) (расстояние между участками 100—150 м) на каждом створе. Данный подход был применен для оценки динамики встречаемости *Spongilla lacustris* (С, в долях единицы) на биотопах: $C = n/N$, где n — число участков, где был встречен изучаемый вид, N — общее число участков. Наименование категорий постоянства *Spongilla lacustris* приводилось по А. С. Степановских [6, С. 288]. В зависимости от значения встречаемости вида на створе определялись следующие его категории: постоянный вид — ($C > 0,5$); добавочный вид — ($0,25 < C < 0,5$); случайный вид — $C < 0,25$.

Определение *Spongilla lacustris* проводилось непосредственно на створе. Для изучения гемул, макро и микросклер небольшой, расщепленный препаровальной иглой кусочек губки (2-4 мм), включающий участок дермальной мембраны с подлежащим мезохилом и базальный участок, содержащий гемулы, помещался в мелкую пробирку и заливался хозяйственным отбеливателем «Белизна». После растворения тканей жидкость сливалась, осадок несколько раз промывался водой, после чего лишняя вода отсасывалась фильтровальной бумагой, а осадок заливался 90° спиртом. Затем на предметное стекло помещалось несколько капель осадка и препарат подсушивался на воздухе. После этого он заключался в глицерин и накрывался покровным стеклом [7, С. 9-10].

Для анализа корреляционной связи между динамикой встречаемости *Spongilla lacustris* на створах и гидрохимическими показателями использовались данные из ежегодно публикуемых докладов [8, С. 21-44], [9, С. 60-79], [10, С. 65-84], [11, С. 54-72], [12, С. 53-69], [13, С. 73-93], [14, С. 79-100], [15, С. 74-91], [16, С. 73-98], [17, С. 75-98], [18, С. 69-91]. Это данные по содержанию соединений марганца (Mn), никеля (Ni), железа (Fe), нефтепродуктов (H/n), фенолов (Фен), азота аммонийного (NH₄), меди (Cu), цинка (Zn), сульфатов (SO₂), и азота нитритного (NO₂). В качестве обобщенного показателя анализировался удельный комбинаторный индекс загрязненности воды (УКИЗВ).

Статистическая обработка материала проводилась в прикладной программе MS Excel for Windows. Для окончательной обработки - проведения регрессионного анализа и интерпретации результатов использовался калькулятор онлайн-сервиса сайта Математического форума Math Help Planet [10].

В ходе исследования рек Южного Урала в качестве объекта была использована пресноводная губка *Spongilla lacustris* Linnaeus (1758) (рис. 1,2), которая относительно легко определяется визуально, что очень важно для проведения регулярного биомониторинга на водотоках.



Рис. 1 – Внешний вид *Spongilla lacustris*

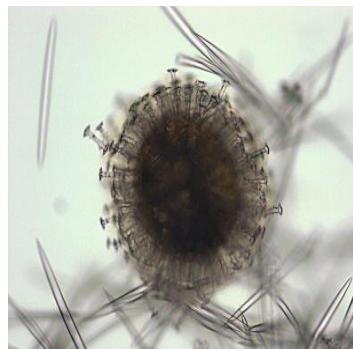


Рис. 2 – Геммулы *Spongilla lacustris* с микро- и макросклерами

Анализ встречаемости *Spongilla lacustris* показал, что данный вид на створах в разные годы исследований может быть отнесен как к категории постоянного, так и добавочного и случайного вида (рис. 3).

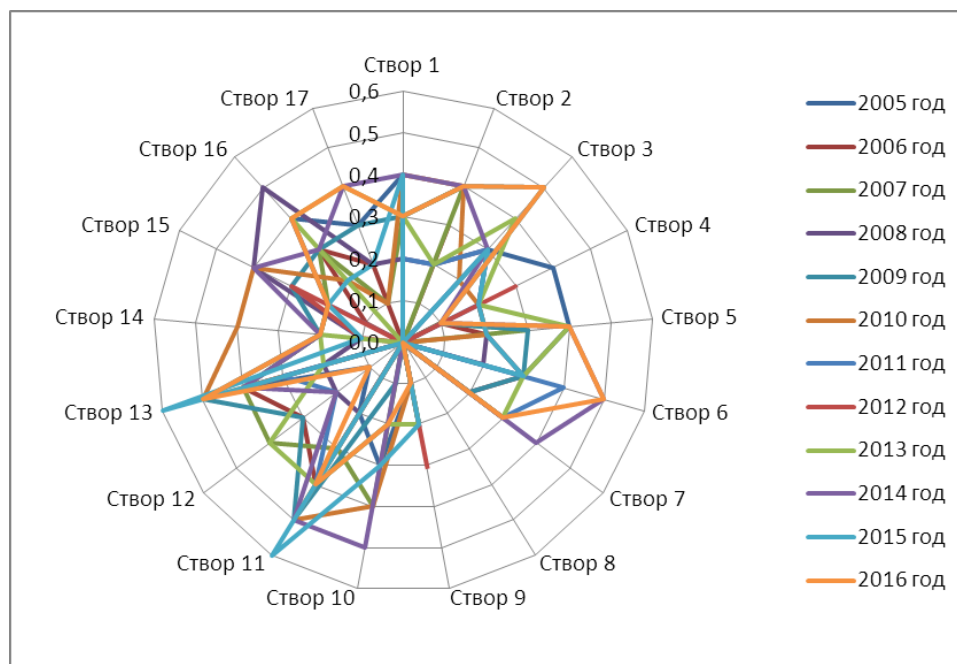


Рис. 3 – Динамика встречаемости *Spongilla lacustris* в реках Южного Урала за период с 2006 по 2016 годы

Результаты исследований за период с 2005 по 2016 годы показали, что встречаемость озерной губки в р. Белой ниже г. Мелеуз и ниже п. Прибельский характеризуется относительным постоянством (P - интервал = $\max - \min = 0,2$), что, по-видимому, связано адаптацией данного вида губок к экологическим условиям на этих участках рек.

На остальных створах встречаемость *Spongilla lacustris* обладала значительной динамикой по годам, что, по-видимому, можно объяснить влиянием динамики качества воды (в том числе и гидрохимического режима) на этот вид в этих районах исследований.

Корреляционный анализ показал отсутствие значимых связей между динамикой встречаемости *Spongilla lacustris* с УКИЗВ на изученных участках рек за период с 2005 по 2016 гг. Анализ корреляционных матриц связи встречаемости *Spongilla lacustris* и химическими веществами, определяемых в воде рек Южного Урала, позволил выявить сильную отрицательную связь между встречаемостью *Spongilla lacustris* с содержанием в воде р. Белой азота нитритного (р-н Д/о «Арский камень», $r = -0,8$) и с содержанием меди (ниже г. Мелеуз и ниже п. Прибельский, $r = -0,7$). В р. Юрюзань (д. Чулпан) вышеуказанная связь встречаемости *Spongilla lacustris* выявлена с содержанием азота аммонийного ($r = -0,7$). Данное обстоятельство позволило рассчитать регрессионные зависимости между встречаемостью *Spongilla lacustris* и коррелирующими с ней поллютантами (табл. 1).

Таблица 1 – Результаты регрессионного анализа связи между встречаемостью *Spongilla lacustris* (Y) и химическими поллютантами (x, в кратности превышения ПДК), содержащимися в водах рек Южного Урала

(x)	r	mr _{xy}	Y = ax+b	R ²	F		A (%)
					F факт.	F табл.	
Река Белая							
р-н Д/о «Арский камень»							
NO ₂	-0,8	0,2	Y = -0,3x+0,5	0,6	14,4	5,1	—
ниже г. Мелеуз							
Cu	-0,7	0,2	Y = -0.1x+0.4	0,5	9,7	5,1	31,5
ниже п. Прибельский							
Cu	-0,7	0,3	Y = -0,8x+0,3	0,5	7,6	5,1	—
Река Юрюзань, д. Чулпан							
NH ₄	-0.7	0.2	Y = -0.5x+0.1	0.6	11.4	5.1	—

Примечание: r – коэффициент корреляции; m_{rxy} – ошибка коэффициента корреляции; R² – коэффициент детерминации; F – критерий Фишера; A(%) – средняя ошибка аппроксимации (— – A = Infinity 11·100%\approx Infinity%;).

Исходя из вышеизложенного можно составить диагностические карты (пример карты представлен в табл. 2) прогноза и индикации содержания в воде реки Белой азота нитритного (р-н ж/д ст. «Шушпа») и меди (ниже г. Мелеуз и ниже п. Прибельский) по показателю встречаемости *Spongilla lacustris*. В р. Юрюзань (д. Чулпан) подобную карту можно составить для прогноза и индикации содержания в воде азота аммонийного.

Таблица 2 – Диагностическая карта прогноза и индикации содержания азота нитритного (X, в кратности превышения ПДК) в воде р. Белой (р-н Д/о «Арский камень») в зависимости от встречаемости (Y) на створе *Spongilla lacustris*

X	1,7	1,3	1,0	0,7	0,3	0,0	—	—	—	—	—
Y	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0

Проведенные прогностические расчеты показывают, что если встречаемость *Spongilla lacustris* в р. Белой в районе дома отдыха «Арский камень» будет равна 0,2, то можно предположить, что содержание азота нитритного в воде на этом створе будет в пределах 1 ПДК (3,3 мг/л). Такой подход, по-видимому, позволит разработать рекомендации по замене ряда химических анализов на менее дешевые биологические анализы и выявлять влияющие на водную фауну химические вещества, что крайне важно для принятия технологических решений по очистке сточных вод, сбрасываемых в поверхностные воды Южного Урала.

Список литературы / References

- Абакумов В. А., Сушня Л. М. Гидробиологический мониторинг пресноводных экосистем и пути его совершенствования / В. А. Абакумов, Л. М. Сушня // Экологические модификации и критерии экологического нормирования: труды Международного симпозиума. - Ленинград, 1991. С.41- 61.
- Manconi R., Pronzato R. Global diversity of sponges (Porifera: Spongillina) in freshwater / R. Manconi, R. Pronzato // Hydrobiologia. – 2008. – Vol. 595. – P. 27–33.
- Fell P. E. Porifera / P. E. Fell // Reproductive biology of invertebrates: asexual propagation and reproductive strategies. – 1993. – Vol. VI. – Part. A. – P. 1– 44.
- Rishelle E., Degoudenne Y., Dejonghe L., Van De Viver G. Experimental and field studies on the effect of selected heavy metals on three freshwater sponge species: Ephydatia fluviatilis, Ephydatia muelleri and Spongilla lacustris / E. Rishelle, Y. Degoudenne, L. Dejonghe, G. Van De Viver // Archiv für Hydrobiologie. – 1995. – Vol. 135. – P. 209–231.
- Анакина Р. П. Губки - биологические индикаторы и оздоравливающие составляющие пресноводных экологических систем / Р. П. Анакина // Биосфера. Фонд научных исследований «XXI век». – 2010. – Т.2. – № 3. – С. 397-408.

6. Степановских А. С. Экология: Учебник для вузов. / А. С. Степановских. – Москва: ЮНИТИ-ДАНА, 2001. – С. 288.
7. Иванова Л. В. Porifera / Л. В. Иванова // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. Низшие беспозвоночные. – Санкт-Петербург, 1994. – Т. 1. – С. 9-10.
8. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2005 году». – Уфа. – 2006. – С. 21-44.
9. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2006 году». – Уфа. – 2007. – С. 60-79.
10. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2007 году». – Уфа. – 2008. – С. 65-84.
11. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2008 году». – Уфа. – 2009. – С. 54-72.
12. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2009 году». – Уфа. – 2010. – С. 53-69.
13. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2010 году». – Уфа. – 2011. – С. 73-93.
14. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2011 году». – Уфа. – 2012. – С. 79-100.
15. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2012 году». – Уфа. – 2013. – С. 74-91.
16. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2013 году». – Уфа. – 2014. – С. 73-98.
17. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2014 году». – Уфа. – 2015. – С. 75-98.
18. Государственный доклад «О состоянии природных ресурсов и окружающей среды республики Башкортостан в 2015 году». – Уфа. – 2016. – С. 69-91.
19. Математический форум Math Help Planet – URL: <http://mathhelpplanet.com/static.php?p=onlayn-mnk-i-regressionniy-analiz> (дата обращения: 25.01.2017).

Список литературы на английском языке / References in English

1. Abakumov V. A., Sushchenya L. M. Gidrobiologicheskij monitoring presnovodnyh jekosistem i puti ego sovershenstvovaniya [Hydrobiological monitoring of freshwater ecosystems and way of its perfecting] / V. A. Abakumov, L. M. Sushchenya // Jekologicheskie modifikacii i kriterii jekologicheskogo normirovaniya: trudy Mezhdunarodnogo simpoziuma [Ecological modifications and criteria of ecological rationing: works of the International symposium]. – Leningrad, 1991. P. 41 - 61. [in Russian]
2. Manconi R., Pronzato R. Global diversity of sponges (Porifera: Spongillina) in freshwater / R. Manconi, R. Pronzato // Hydrobiologia. – 2008. – Vol. 595. – P. 27–33.
3. Fell P.E. Porifera / P. E. Fell // Reproductive biology of invertebrates: asexual propagation and reproductive strategies. – 1993. – Vol. VI. – Part. A. – P. 1–44.
4. Rishelle E., Degoudenne Y., Dejonghe L., Van De Viver G. Experimental and field studies on the effect of selected heavy metals on three freshwater sponge species: Ephydatia fluviatilis, Ephydatia muelleri and Spongilla lacustris / E. Rishelle, Y. Degoudenne, L. Dejonghe, G. Van De Viver // Archiv für Hydrobiologie. – 1995. – Vol. 135. – P. 209–231.
5. Anakina R. P. Gubki - biologicheskie indikatory i ozdoravlivajushhie sostavlajushhie presnovodnyh jekologicheskikh sistem [Sponges - biological indicators and the revitalizing components of freshwater ecological systems] / R. P. Anakina // Biosfera. Fond nauchnyh issledovanij «XXI vek» [The Biosphere. Fund of scientific research "21-st century"]. – T.2. – No. 3. – 2010. – P. 397-408. [in Russian]
6. Stepanovskikh A. S. Ekologia: Jekologija: Uchebnik dlja vuzov. [Ecology: The textbook for higher education institutions]. / A. S. Stepanovskikh // UNITY-DANA. – 2001. – P. 288. [in Russian]
7. Ivanova L. V. Porifera / L. V. Ivanova // Opredelitel' presnovodnyh bespozvonochnyh Rossii i sopredel'nyh territorij. Nizshie bespozvonochnye. [Continuant of freshwater invertebrates of Russia and adjacent territories. The lowest invertebrates]. – St. Petersburg, 1994. – T. 1. – P. 9-10. [in Russian]
8. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2005 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2005"]. – Ufa. – 2006. – P. 21-44. [in Russian]
9. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2006 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2006"]. – Ufa. – 2007. – P. 60-79. [in Russian]
10. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2007 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2007"]. – Ufa. – 2008. – P. 65-84. [in Russian]
11. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2008 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2008"]. – Ufa. – 2009. – P. 54-72. [in Russian]
12. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2009 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2009"]. – Ufa. – 2010. – P. 53-69. [in Russian]
13. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnih resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2010

godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2010"]. – Ufa. – 2011. – P. 73-93. [in Russian]

14. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnyh resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2011 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2011"]. – Ufa. – 2012. – P. 79-100. [in Russian]

15. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnyh resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2012 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2012"]. – Ufa. – 2013. – P. 74-91. [in Russian]

16. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnyh resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2013 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2013"]. – Ufa. – 2014. – P. 73-98. [in Russian]

17. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnyh resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2014 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2014"]. – Ufa. – 2015. – P. 75-98. [in Russian]

18. Gosudarstvennyj doklad «O sostojanii prirodnyh resursov i okruzhajushhej sredy respubliki Bashkortostan v 2015 godu [The state report "About a condition of natural resources and a surrounding medium of the Republic of Bashkortostan in 2015"]. – Ufa. – 2016. – P. 69-91. [in Russian]

19. Matematicheskij forum Math Help Planet [The mathematical forum Math Help Planet]. – URL: <http://mathhelpplanet.com/static.php?p=onlayn-mnk-i-regressionniy-analiz>

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.005>

Ярков С.П.¹, Третьяков С.И.², Башарова Л.А.³, Шаулина Е.К.⁴

¹доктор биологических наук, ²кандидат технических наук, ³кандидат биологических наук, ⁴младший научный сотрудник

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения»

Благодарности. Авторы приносят глубокую благодарность канд. биол. наук О.Б. Пудовой за помощь в проведении работы. Исследование проведено в рамках государственного контракта с ФМБА России от 08 августа 2016 года № 42.143.17.0.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОДЕСТРУКТОРОВ В ЦЕЛЯХ ЗАЩИТЫ ОБЪЕКТОВ ТЕХНИКИ

Аннотация

Изучены возможности иммунохроматографических тестов для идентификации микроорганизмов биодеструкторов, способных вызывать повреждения конструкционных материалов и изделий техники. Исследованы влияние примесей неорганической и органической природы и сопутствующей микрофлоры на возможность иммунохроматографического выявления спор бактерий рода *Bacillus*, плесневых грибов рода *Aspergillus* в смывах с поверхности конструкционных материалов. Предложена конструкция иммунохроматографического стрип-теста, позволяющего осуществить обнаружение микроорганизмов биодеструкторов в условиях пониженной гравитации. Разработанные приемы иммунохроматографического анализа могут применяться в обитаемых замкнутых объемах (пилотируемых космических аппаратах, подводных лодках, кессонах) с целью уменьшения техногенных рисков и угроз здоровью людей, связанных с повреждением конструкционных материалов, электроники, систем жизнеобеспечения микроорганизмами биодеструкторами.

Ключевые слова: иммунохроматографический анализ, микроорганизмы биодеструкторы, технические средства идентификации.

Yarkov S.P.¹, Tretyakov S.I.², Basharova L.A.³, Shaulina E.K.⁴

¹PhD in Biology, ²PhD in Engineering, ³PhD in Biology, ⁴Junior researcher

FSUE State Scientific and Research Institute of Biological Instrumentation

The study was conducted within the state contract with FMBA of Russia of August 08, 2016 No. 42.143.17.0.

EVALUATION OF POSSIBILITY OF IMMUNOCHROMATOGRAPHY METHOD FOR IDENTIFICATION OF DEGRADER MICROORGANISMS FOR PROTECTION OF ENGINEERING OBJECTS

Abstract

The possibilities of immunochromatographic tests for the identification of degrader microorganisms, which are capable of causing damage to structural materials and engineering products have been studied in the paper. The influence of impurities of inorganic and organic nature and concomitant microflora on the possibility of immunochromatographic detection of bacteria spores (genus *Bacillus*), mold fungi (genus *Aspergillus*) in the washouts from the surface of structural materials is studied. The construction of an immunochromatographic strip test, which makes it possible to detect degrader microorganisms under the conditions of reduced gravity is proposed. The developed methods of immunochromatographic analysis can be used in habitable closed volumes (manned space vehicles, submarines, caissons) in order to reduce man-caused risks and threats to human health associated with damage to construction materials, electronics, life support systems by microorganisms, biodestructors.

Keywords: immunochromatographic analysis, degrader microorganisms, technical means of identification.

Введение

Длительная эксплуатация изделий техники в условиях замкнутого пространства (обитаемые подводные и космические аппараты) связана с риском повреждения аппаратуры и конструкционных материалов микроскопическими грибами, бактериями, дрожжами. Микроорганизмы не только принимают участие, но и могут

играть первостепенную роль в инициировании и развитии коррозионного процесса металлов (бактерии и микромицеты), наиболее активными биодеградантами полимерных материалов являются микроскопические грибы [1, С. 162].

Стремясь создавать и поддерживать в замкнутом объеме адекватную своим потребностям среду обитания, человек неминуемо обеспечивает благоприятные условия для жизнедеятельности микроорганизмов. Многолетний опыт эксплуатации орбитальной станции «Мир» позволил выявить проблемы связанные с биоповреждениями аппаратуры и конструкционных материалов станции, влияющие на надежность техники, комфортность и безопасность обитания экипажа [2, С. 9-19]. Процессы микробной контаминации внутренней среды, оснащения и оборудования обитаемых отсеков протекают с высокой интенсивностью в условиях непрерывной работы сменяющихся экипажей на борту орбитальных комплексов, при осуществлении грузообмена (доставки с Земли приборов и оборудования, расходных материалов, пищевых продуктов и т.п.), использовании ряда систем, обеспечивающих регенерацию и утилизацию продуктов жизнедеятельности человека [3, С. 101].

Особую значимость проблемы биологического повреждения конструкционных материалов микроорганизмами приобретут при реализации перспективных космических программ: создания обитаемой лунной станции, длительного полета космического корабля с людьми к Марсу. Учитывая многолетние сроки эксплуатации космической техники, создаются необходимые предпосылки для реализации механизмов отбора и адаптации микробиоты, развития процессов резидентного заселения среды обитаемого объема различными группами микроорганизмов в качестве своеобразной экологической ниши.

Сказанное выше подтверждает актуальность создания средств обнаружения и идентификации микроорганизмов биодеструкторов, пригодных для работы в замкнутых объемах, в том числе и в условиях пониженной гравитации. Такие средства должны обеспечивать раннее обнаружение микроорганизмов биодеструкторов на поверхностях аппаратуры непосредственно персоналом, работающим в замкнутых обитаемых объемах и не использовать токсичные или коррозионные вещества, которые могут нанести ущерб здоровью экипажа. Иммунохроматография как метод выявления микроорганизмов является довольно эффективным инструментом [4, С. 57-118]. Ранее было предложено использовать иммунохроматографические стрип-тесты (ИСТ) для выявления бактерий рода *Bacillus*, плесневых грибов рода *Aspergillus* и дрожжей *Candida albicans*, известных как микроорганизмы биодеструкторы [5 С. 28-31], [6, С. 413-415], [7, С. 51-58].

В настоящей работе исследованы перекрестные реакции разработанных ИСТ с другими микроорганизмами, сохранность аналитических свойств ИСТ во времени, влияние бытовой пыли и примесей неорганического происхождения на эффективность выявления микроорганизмов биодеструкторов, предложена процедура отбора и последующего анализа жидкой пробы, исключающая образование взвеси частиц жидкости в воздухе в условиях пониженной гравитации.

Материалы и методы эксперимента

Наночастицы коллоидного золота (НКЗ) получали по методу Френса [8, С. 20-22]. Размер НКЗ оценивали спектрофотометрически, как это описано в [9, С. 340]. Получение конъюгатов НКЗ с антителами против антигенов микроорганизмов, используемые при этом материалы и реактивы, а также сборка ИСТ подробно описана нами ранее [7, С. 51-58], [10, С. 1-8], [11, С. 22-26]. Для получения конъюгатов наночастиц коллоидного золота (НКЗ) с антителами использовали поликлональные кроличьи антитела (ПКА) производства фирмы ThermoFisher Scientific (США): к микромицетам рода *Aspergillus* (кат. № РА 1-7202), к спорам *Bacillus* (кат. № РА 1-73032).

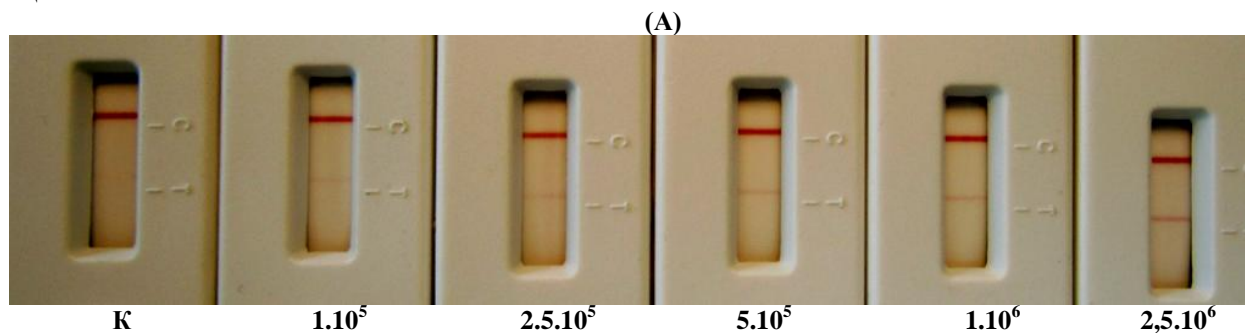
Для проведения количественных измерений регистрировали интенсивность окрашивания аналитической зоны ИСТ с помощью видеоцифрового анализатора иммунохроматограмм «Рефлекс» (НТЦ «Компонент», Россия).

В качестве поверхностей для искусственной микробной контаминации использовали пластины из гладкого ударопрочного полистирола, окрашенные эмалью металлические поверхности и пластины из алюминия.

Экспериментальные результаты

Типичные иммунохроматограммы микроорганизмов биодеструкторов на примере спор бактерий *Bacillus cereus* var. *anthracoides* 250 и плесневых грибов *Aspergillum niger*, полученные с помощью разработанных ИСТ приведены на рисунке 1.

Изучение перекрестных реакций с проводили путем внесения в ИСТ суспензий гетерологичных микроорганизмов в концентрации 1×10^8 м.к./мл в буфере для проведения иммунохроматографического анализа (БИХРА), производства ФГУП «ГосНИИБП». Время иммунохроматографии составляло 25 мин, по истечении этого времени регистрировали степень окрашивания аналитической зоны иммунохроматографического теста визуально. Результаты приведены в таблице 1



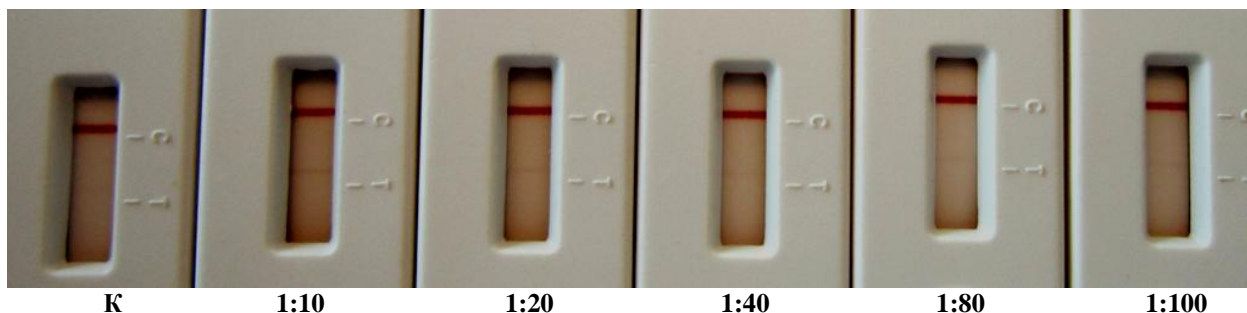


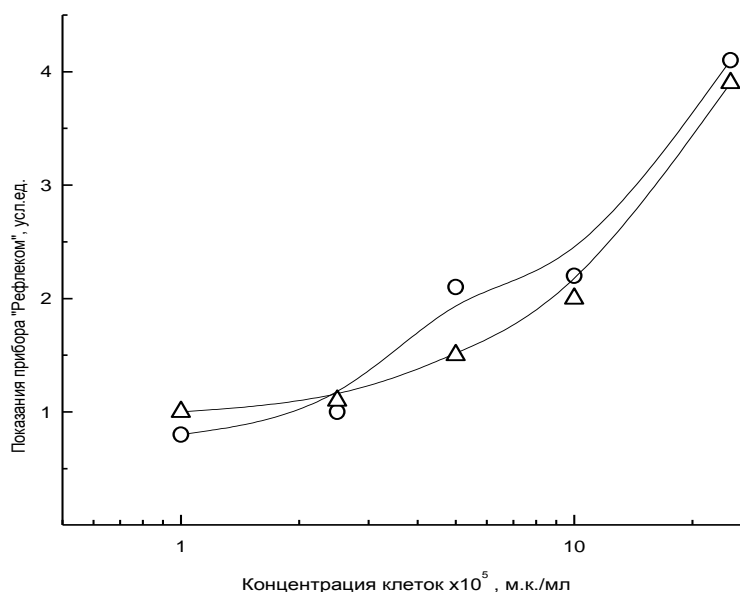
Рис. 1 – Типичные иммунохроматограммы микроорганизмов. А - *Bacillus cereus* var. *anthracoides* 250, концентрация выражена в м.к./мл; В - плесневые грибы *Aspergillum niger*, исходная концентрация $3 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Интенсивная полоса вверху ИСТ – контрольная зона, менее интенсивная полоса внизу аналитическая зона. К- «холостой опыт»

Сохранность аналитических свойств ИСТ во времени приведена на рисунке 2. ИСТ хранились в течение 12,5 месяцев, при температуре окружающей среды $18-25^{\circ}\text{C}$. Интенсивность окрашивания аналитической зоны ИСТ пропорциональна концентрации микроорганизмов в анализируемой пробе.

Таблица 1 – Результаты перекрестных реакций микроорганизмов биодеструкторов выявляемых с помощью ИСТ

Наименование микроорганизма	ИСТ для выявления бактерий рода <i>Bacillus</i>	ИСТ для выявления плесневых грибов рода <i>Aspergillus</i>
<i>E. coli</i> шт. 9637	(-)	(-)
<i>E. coli</i> шт. M17	(-)	(-)
<i>E. coli</i> шт. JM83	(-)	(-)
<i>E. coli</i> шт. 3/15	(-)	(-)
<i>B. cereus</i> var. <i>anthracoides</i> 250 (4×10^6 м.к./мл)	(++)	(-)
<i>B. cereus</i> 96	(++)	(-)
<i>B. cereus</i> IP 5832	(++)	(-)
Смесь <i>B. subtilis</i> 3 и <i>B. licheniformis</i> 31	(++)	(-)
<i>B. anthracis</i> СТИ	(++)	(-)
<i>P. mirabilis</i>	(-)	(-)
<i>Y. enterocolitica</i>	(-)	(-)
<i>A. niger</i> (3×10^6 КОЕ/мл)	(-)	(++)
<i>P. chrysogenum</i> ($\approx 10^7$ КОЕ/мл)	(-)	(-)

Примечание: 1. (-) – отрицательный результат; (+) - слабое окрашивание аналитической зоны теста; (++) - интенсивная окраска. 2. Концентрация микроорганизмов 10^8 м.к./мл, если не указано иное.



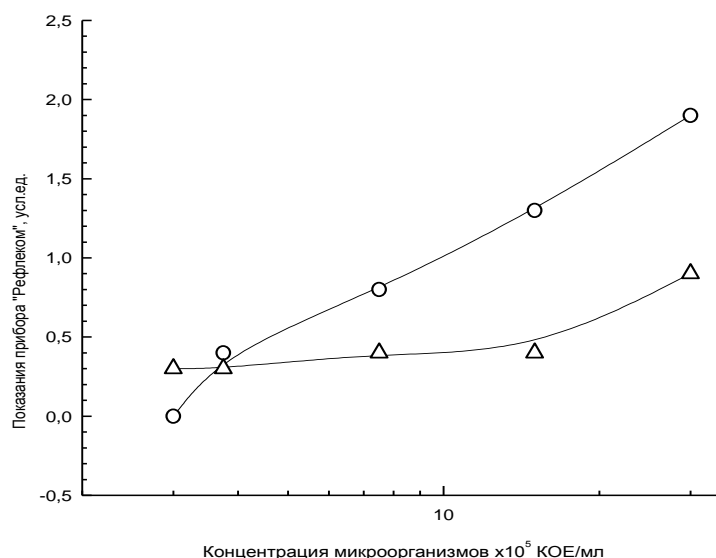
**В**

Рис. 2 – Графики зависимости окрашивания аналитической зоны ИСТ от концентрации микроорганизмов и времени хранения: (о)- дата измерения 21.09.2016 г, (Δ)- измерение спустя 12,5 мес. А) - *B.cereus* var. *anthracoides* 250; В) - *A.niger*. Регистрировали интенсивность окрашивания аналитической зоны иммунохроматографического теста с помощью видеоцифрового анализатора «Рефлексом»

Исследовали возможность возникновения ложноположительных реакций при наличии в анализируемой пробе примесей - веществ, сопровождающую бытовую деятельность человека, например, бытовой пыли, содержащей частички эпителия кожи, кератина волос, волокна одежды и постельных принадлежностей, микрочастицы средств гигиены, а также сопутствующую микрофлору. В качестве примесей использовали экстракт бытовой пыли, отобранной из бумажного фильтра пылесоса циклонного типа. Препарат экстракта бытовой пыли был получен в соотношении по весу 15,4 мг пыли к 1000 мг БИХрА. Были получены отрицательные результаты при взаимодействии ИСТ с экстрактом бытовой пыли и 0,1 мг/мл взвеси порошкообразного карбоната магния (талька) в воде. Интенсивность окрашивания аналитической линии ИСТ при анализе смеси, состоящей из экстракта бытовой пыли и чистой культуры микроорганизмов, статистически не отличалась от результатов анализа чистой культуры.

Для изучения эффективности сбора микроорганизмов с поверхности конструкционных материалов проводили искусственную контаминацию поверхностей суспензией микроорганизмов: *B. cereus* var. *anthracoides* 250 и *A. niger* с известной концентрацией, затем поверхности высушивали при комнатной температуре в течение 12-24ч.

Салфеткой из микрофибры размером 10х10 мм, увлажненной 40 мкл БИХрА протирали 10 см² искусственно контаминированной поверхности, затем салфетку помещали в пробирку эппендорф с 150 мкл БИХрА и вортиксовали 1 мин. Полученный экстракт в количестве 110 мкл вносили в ИСТ, регистрировали результаты анализа спустя 25 мин. За 100% эффективность сбора микроорганизмов с поверхности принимали значения интенсивности окрашивания аналитической зоны при внесении в ИСТ соответствующего объема суспензии исходных контаминирующих микроорганизмов в БИХрА. В таблице 2 приведены данные об эффективности выявления микроорганизмов биодеструкторов на твердых поверхностях таким методом.

Эффективность сбора вычислялась по формуле: $\mathcal{E} = (I_c/I_n) \times 100\% \quad (1)$

где: I_c - интенсивность окрашивания аналитической зоны ИСТ после внесения смыва с поверхности; I_n - интенсивность окрашивания аналитической зоны ИСТ исходной контаминирующей суспензией.

Таблица 2 – Эффективность выявления микроорганизмов на искусственно контаминированных поверхностях с помощью ИСТ

Интенсивность окрашивания аналитической зоны теста	Материал поверхности		
	Пластик	Алюминий	Окрашенная эмалью металлическая поверхность
<i>B. cereus</i> var. <i>anthracoides</i> 250, плотность контаминации $4,1 \times 10^6$ м.к./см ²			
I_c	2,83	2,23	2,57
I_n	2,80	2,80	2,80
$\mathcal{E}, \%$	101,7	79,6	92,0
<i>A. niger</i> , плотность контаминации $8,5 \times 10^6$ КОЕ/см ²			
I_c	0,57	0,53	0,53
I_n	0,77	0,77	0,77
$\mathcal{E}, \%$	74,0	68,8	68,8

Примечание: Площадь сбора образца для последующего анализа $S=10$ см²

Обсуждение результатов

Построение иммунохроматографических тестов с высокой специфичностью (на уровне штамма или вида) по отношению к микроорганизмам биодеструкторам нецелесообразно, ввиду низкой вероятности обнаружения конкретного микроорганизма в окружающей среде. Ранее была предпринята попытка исследовать возможность идентификации микроорганизмов биодеструкторов на уровне рода, применяя ПКА, специфичные к общим антигенам [7]. Экспериментальные данные, полученные в настоящей работе, показывают, что ИСТ, использующие поликлональные антитела к общим антигенам выявляют споровые формы бацилл и микромицеты рода аспергилл, относящиеся к микроорганизмам биодеструкторам, что подтверждает полученные ранее результаты.

Как следует из данных таблицы 1 ИСТ специфичны по отношению к сопутствующей микрофлоре при 20-100 кратном избытке последней по отношению к порогу детекции искомого микроорганизма.

Чувствительность выявления микроорганизмов *B. cereus* var. *anthracoides* 250 составила 1×10^5 м.к./мл, а микромицетов *A. niger* 1×10^6 КОЕ/мл. Как следует из данных рисунка 1А за время хранения аналитический отклик ИСТ для выявления бацилл практически не изменился, аналитический отклик ИСТ для выявления микромицетов снизился на 50% для концентрации *A. niger* 1×10^6 КОЕ/мл. Сохранность свойств ИСТ в упаковке при температуре 18-25°C составляет как минимум 12,5 месяца (время наблюдения).

Изучение эффективности смывов микроорганизмов и последующего выявления их с помощью иммунохроматографии показало, что споры бацилл более легко удаляются с поверхностей алюминия, окрашенных металлов и пластика, по сравнению с колониями микромицетов. Наиболее эффективно происходит удаление микроорганизмов с поверхности пластика. Метод иммунохроматографии позволяет выявлять споровые формы бактерий и плесневые грибы на конструкционных поверхностях в таких условиях, когда колонии микроорганизмов невооруженным глазом не видны.

Преимущества иммунохроматографии для выявления микроорганизмов на поверхностях объектов техники в условиях пониженной гравитации еще более очевидны. Известно, что при пониженной гравитации капли жидкости принимают сферическую форму и способны легко увлекаться током воздуха. Важным фактором безопасности экипажа является избежание образования при проведении анализа микрокапель жидкостей содержащих реагенты, например БИхрА, суспензии микроорганизмов, которые могут попасть в дыхательные пути человека. Нами предложена процедура проведения анализа, включающая сбор анализируемой пробы с контаминированной поверхности увлажненной БИхрА салфеткой из микрофибры, хранящейся в фольгированном герметичном пакете, экстракцию пробы в БИхрА с помощью специального приспособления. Последующий анализ проводится с помощью модифицированной конструкции ИСТ, когда собранная жидкая проба вводится короткой тупой иглой медицинского шприца в подложку для образца изготовленную из пористой целлюлозы, которая прилегает непосредственно к подложке с высушенным конъюгатом наночастиц коллоидного золота и имеет выход в торцевую часть корпуса индикаторного элемента (рисунок 3). Такая схема практически исключает контакт оператора с микроорганизмами, БИхрА, реагентами ИСТ и образования взвесей капель жидкости в условиях пониженной гравитации.

Анализ с помощью ИСТ имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами индикации и идентификации микроорганизмов, таких как культуральные методы, метод флуоресцирующих антител, твердофазный иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

Эти преимущества заключаются в одностадийном анализе, исключая применение процедур многократного диспенсирования реагентов, промывок, регистрирующей аппаратуры, соблюдение температурного режима хранения жидких и твердых реактивов. Типичное время иммунохроматографии микроорганизмов не превышает 25-30 мин.

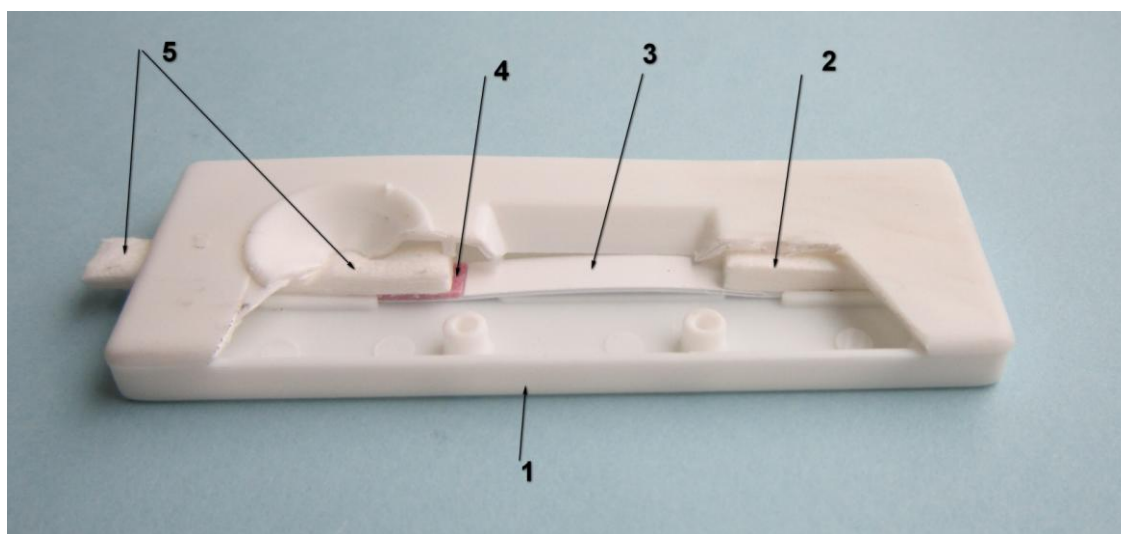


Рисунок 3 – ИСТ для выявления микроорганизмов биодеструкторов в условиях пониженной гравитации. 1-корпус ИСТ, 2- впитывающая мембрана, 3 - аналитическая мембрана; 4 - мембрана с конъюгатом НКЗ и антителами; 5 – мембрана для нанесения анализируемого жидкого образца

Токсичные реагенты при проведении иммунохроматографического анализа не используются и не образуются, также, как и не содержатся в составе ИСТ. Сбор и подготовка пробы к анализу заключается в переносе микроорганизмов с поверхности в буфер для проведения иммунохроматографического анализа и нанесения пробы на

ИСТ. Простота операций при анализе делает его доступным для оператора с минимальным уровнем подготовки. Сказанное выше делает иммунохроматографию микроорганизмов привлекательным методом для контроля обсемененности поверхностей объектов техники в обитаемых замкнутых объемах, таких как орбитальные станции, подводные аппараты.

Список литературы / References

1. Varfolomeev S. V. Biotechnology in Medicine Foodstuffs, Biocatalysis, Environment and Biotechnology./ S. V. Varfolomeev - New York: Nova Science Publishers, 2010 - 162 P.
2. Алехова Т. А. Микроскопические грибы на Российском сегменте международной космической станции / Т. А. Алехова, А. В. Александрова, Н. А. Загустина и др. // Микология и фитопатология. - 2009. - Т 43. - № 5. - С. 9-19.
3. Новикова Н. Д. Микробное сообщество среды обитания пилотируемых орбитальных комплексов: проблемы, методы контроля и коррекции. Дисс. ...докт. биол. наук: 14.00.32. Новикова Наталья Дмитриевна. - М., С. 2002. - 215.
4. Ярков С. П. Применение иммунохроматографии для выявления патогенов и диагностики заболеваний. Современные методы индикации патогенов и токсинов в объектах окружающей среды и диагностики социально - значимых инфекционных заболеваний для обеспечения химической и биологической безопасности / С. П. Ярков, И. В. Шиленко; под ред. В. Н. Злобина, - М.: ООО «Баллада РПК», 2010. - С. 57-118. ISBN 978-5-9902452-1-1
5. Скопинская С. Н. Разработка иммунохроматографического теста для быстрого обнаружения грибов рода *Aspergillus* / Скопинская С. Н., Курбатова И. В. // Успехи медицинской микологии: материалы VI Всероссийского конгресса по медицинской микологии под ред. Сергеева Ю. В./ Национальная Академия Микологии – Москва, 2014. Т. XIII. С. 28-31. ISBN 978-5-901578-17-9.
6. Башарова Л. А. Разработка иммунохроматографических тестов для выявления микроскопических грибов биодеструкторов в обитаемых гермозамкнутых объемах / Башарова Л. А., Третьяков С. И., Ярков С. П. // Современная микология в России: материалы четвертого съезда микологов России под ред. Ю.Т. Дьякова и Ю.В. Сергеева/ Национальная Академия Микологии – Москва, 2017. - Т. 6. - С. 413-415. ISBN 978-5-901578-26-1. DOI: 10/14427/cmr.2017.vi.11
7. Ярков С.П. Исследование возможности иммунохроматографической индикации микроорганизмов биодеструкторов/ С.П. Ярков, С.И. Третьяков, Л.А. Башарова и др.// Медицина экстремальных ситуаций.- 2017.-№3.- С. 51-58.
8. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions ./ G Frens // Nature Phys. Sci. - 1973. - Vol. 241. - № 1. - P. 20-22.
9. Дыкман Л.А. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинское применение/ Л.А. Дыкман, В.А. Богатырев, С.Ю. Щеголев и др. // Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. М. Наука. – 2008. - С. 319 ISBN 978-5-02-035892-8
10. Титов А.А. Разработка и оптимизация иммунохроматографических тестов для выявления ботулинических токсинов/ А.А. Титов, И.В. Шиленко, С.П. Ярков и др.// Прикладная биохимия и микробиология. - 2012. - Т. 48 -№2. - С. 1-8.
11. Ярков С.П. Индикация возбудителей особо опасных заболеваний с помощью иммунохроматографии и видеоцифрового анализа/ С.П. Ярков, С.И. Третьяков, Л.А. Башарова и др.// Вестник РАМН – 2007. - №12. – С.22-26.

Список литературы на английском языке/ References in English

1. Varfolomeev S.V. Biotechnology in Medicine Foodstuffs, Biocatalysis, Environment and Biotechnology. / S. V. Varfolomeev - New York: Nova Science Publishers, 2010 - 162 P.
2. Alehova T. A. Mikroskopicheskie griby na Rossijskom segmente mezhdunarodnoj kosmicheskoy stancii [Microscopic fungi on the Russian segment of the international space station] / T. A. Alehova, A. V. Aleksandrova, N. A. Zagustina and others. // Mikologija i fitopatologija [Mycology and phitopathology]. - 2009. - T 43. - № 5. - P. 9-19. [in Russian]
3. Novikova N. D. Mikrobnoe soobshhestvo sredy obitanija pilotiruemyh orbital'nyh kompleksov: problemy, metody kontrolja i korrekcii [Microbial community of habitat of manned orbital complexes: problems, methods of control and correction]: diss. ... doctor of Biological Sciences: 14.00.32/ Novikova Natal'ja Dmitrievna.- M., 2002. P. – 215. [in Russian]
4. Jarkov S. P. Primenenie immunohromatografii dlja vyjavlenija patogenov i diagnostiki zabolevanij. Sovremennye metody indikacii patogenov i toksinov v ob#ektah okružhajushhej sredy i diagnostiki social'no-znachimyh infekcionnyh zabolevanij dlja obespechenija himicheskoj i biologicheskoj bezopasnosti [The use of immunochromatography for the detection of pathogens and diagnosis of diseases. Modern methods of indicating pathogens and toxins in environmental objects and diagnosing socially significant infectious diseases to ensure chemical and biological safety] / S. P. Jarkov, I. V. Shilenko; edited by. V. N. Zlobina, - M.: ООО «Ballada RPK», 2010. - P. 57-118. [in Russian] .
5. Skopinskaja S. N. Razrabotka immunohromatograficheskogo testa dlja bystrogo obnaruzhenija gribov roda *Aspergillus* [Development of an immunochromatographic test for rapid detection of fungi of the genus *Aspergillus*] / Skopinskaja S. N., Kurbatova I. V. // Uspehi medicinskoj mikologii: materialy VI Vserossijskogo kongressa po medicinskoj mikologii pod red. Sergeeva Ju. V. / Nacional'naja Akademija Mikologii [The successes of medical mycology: the materials of the 6th All-Russian Congress on Medical Mycology, ed. Sergeev Yu. V. / National Academy of Mycology] – Moskva, 2014 . T. XIII. P. 28-31. [in Russian]
6. Basharova L. A. Razrabotka immunohromatograficheskix testov dlja vyjavlenija mikroskopicheskix gribov biodestruktorov v obitaemyh germozamknutyh ob#emah [Development of immunochromatographic tests for the detection of microscopic fungi of biodestructors in inhabited hermo climatic cells]/ Basharova L. A., Tret'jakov S. I., Jarkov S. P.// Sovremennaja mikologija v Rossii: materialy chetvertogo s#ezda mikologov Rossii [Recent modern mycology in Russia: materials of the fourth edition of the Russian Mycology] edited by Ju.T. D'jakova i Ju.V. Sergeeva/ Nacional'naja Akademija Mikologii [National Academy of Mycology] – Moskva, 2017. - T. 6. - P. 413-415. [in Russian]

7. Jarkov S.P. Issledovanie vozmozhnosti immunohromatograficheskoy indikacii mikroorganizmov biodestruktorov [Investigation of the possibility of immunochromatographic indication of microorganisms biodestructors] / S.P. Jarkov, S.I. Tret'jakov, L.A. Basharova and other. // Medicina jekstremal'nyh situacij [Medicine of extreme situations]. - 2017. - №3. - P. 51-58.
8. Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions / G Frens // Nature Phys. Sci. - 1973. - Vol. 241. - № 1. - P. 20-22.
9. Dykman L.A. Zolotyie nanochasticy: sintez, svoystva, biomedicinskoe primeneniye [Gold nanoparticles: synthesis, properties, biomedical applications] / L.A. Dykman, V.A. Bogatyrev, S.Ju. Shhegolev and other. // Institut biohimii i fiziologii rastenij i mikroorganizmov RAN [Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences]. M. Nauka. - 2008. - P. 319 [in Russian]
10. Titov A. A. Razrabotka i optimizacija immunohromatograficheskikh testov dlja vyjavleniya botulinicheskikh toksinov [Development and optimization of immunochromatographic tests for the detection of botulinum toxins] / A.A. Titov, I.V. Shilenko, S.P. Jarkov and other. // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija [Applied Biochemistry and Microbiology]. - 2012. - T. 48 - №2. - P. 1-8. [in Russian]
11. Jarkov S.P. Indikacija vzbuditelej osobo opasnyh zabolevanij s pomoshh'ju immunohromatografii i videocifrovogo analiza [Indication of pathogens of especially dangerous diseases with the help of immunochromatography and video-digital analysis] / S. P. Jarkov, S. I. Tret'jakov, L.A. Basharova and other. // Vestnik RAMN [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences] - 2007. - №12. - P.22-26. [in Russian]

ВЕТЕРИНАРНЫЕ НАУКИ / VETERINARY SCIENCE

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.023>

Карамян А.С.¹, Савочкина А.Ю.²

¹Доцент, кандидат ветеринарных наук, Департамент Ветеринарной медицины

²аспирант, Департамент Ветеринарной медицины,

Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ КАРПРОФЕНА НА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Аннотация

Нестероидные противовоспалительные препараты в практике ветеринарной медицины применяют для коррекции патологических процессов, сопровождающихся воспалением и болевым симптомом. При этом увеличивается риск возникновения побочных эффектов, связанных с желудочно-кишечным трактом животных. Применение желатиновых пленок Карпрофен позволяет снизить риск возникновения побочных проявлений действия этого препарата, по результатам исследований, проведенных на лабораторных животных и клинических испытаний на собаках.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), желатиновые пленки, карпрофен, норокарп, токсичность, лабораторные животные, собаки.

Karamyan A.S.¹, Savochkina A.Yu.²

¹Assistant Professor, PhD in Veterinary Medicine and Science, Department of Veterinary

²Postgraduate student, Department of Veterinary Medicine,

Russian Peoples' Friendship University, Moscow, Russia;

CLINICAL JUDGMENT OF INFLUENCE OF CARPHOPHENUM PHARMACEUTICAL FORM ON GASTROINTESTINAL TRACT OF FINE PET ANIMAL

Abstract

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are used in the practice of veterinary medicine for correction of pathological processes, accompanied by inflammation and pain symptoms. This increases the risk of collateral damage related to the gastrointestinal tract of animals. The use of gelatin films of Karprofen allows to reduce the risk of adverse drug event, according to the results of studies, conducted on laboratory animals and clinical trials on dogs.

Keywords: non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gelatin films, Karprofen, norocarp, toxicity, laboratory animals, dogs.

Развитие ветеринарии и ветеринарной фармакологии требует разработки инновационных форм доставки лекарственных средств в очаг патологического процесса в организме животных [6, С. 635], [7, С. 12]. Многие заболевания, поражающие животных, сопровождаются развитием болевых симптомов и воспалительного процесса [9, С.3]. В современной ветеринарной медицине уделяется большое внимание купированию таких симптомов [2, С. 25], [4, С. 28], [5, С.49]. Нестероидные противовоспалительные препараты применяют при заболеваниях опорно-двигательного аппарата, купировании болевого синдрома и в послеоперационный период [10, С. 55]. Применяя препараты этой фармакологической группы, следует обращать внимание на риск возникновения побочных эффектов, связанных с нарушением функций желудочно-кишечного тракта, работы печени, почек и сердечно-сосудистой системы [3, С. 17], [8, С. 1494]. Также в практике ветеринарной медицины немаловажным является снижение стресс-фактора при применении лекарственных средств в различных формах (таблетки, инъекции) [10, С.60]. В связи с чем, актуальной является разработка таких лекарственных форм, которые смогут обеспечить простоту применения препарата и одновременно позволят снизить частоту возникновения побочных эффектов.

Таким образом, нами поставлена цель: изучить клинико-морфологические проявления побочных эффектов при применении пленок Карпрофен и таблеток Норокарп.

Методы: Проведение гематологических и биохимических исследований крови животных по следующим показателям: эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), лейкоциты (WBC), палочкоядерные нейтрофилы (BAND), сегментоядерные нейтрофилы (SEGS), эозинофилы (EOS), базофилы (BASO), моноциты (MONO), лимфоциты (LYMP), тромбоциты (PLT), билирубин общий, билирубин прямой, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), мочевины, креатинин, общий белок, альбумин, щелочная фосфатаза, α -амилаза, глюкоза, лактатдегидрогеназа (ЛДГ).

Отбор проб цельной крови у кроликов осуществляли через прокол краевой ушной вены, расположенной вдоль наружного края ушной раковины. Отбор проб цельной крови у морских свинок осуществляли из латеральной подкожной вены голени после фиксации животного, отбор проб цельной крови у собак производился из подкожной вены предплечья. Взятие материала для исследований проводилось с соблюдением правил асептики и антисептики, в утренние часы до кормления по установленной методике (Берестов В.А., 1981).

Собакам, не имевшим выраженных побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, а также при невозможности оценки у собак патоморфологических изменений, для оценки поражений пищеварительного тракта исследовали кал на наличие скрытой крови. Для проведения данного исследования использовали набор реагентов ЭКОлаб для обнаружения в кале скрытой крови, стеркобилина и билирубина, а также для приготовления препаратов для микроскопического исследования кала.

Результаты исследований.

Клинический анализ крови. К 30-м суткам наблюдения мы выявили снижение уровня эритроцитов у кроликов в группе I Карпрофен 4 мг/кг на 8,2%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 27,2%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 2,4% и увеличение в группе II Карпрофен 8 мг/кг на 5,3%. Уровень лимфоцитов в группе II Карпрофен 8 мг/кг снизился на 14,8%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 18,6%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 16,0%. Уровень гемоглобина в группе II Карпрофен 8 мг/кг снизился на 3,5%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 15,9%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 10,4%, в контрольной группе на 15,2%. Уровень Гематокрита в группе I Карпрофен 4 мг/кг снизился на 5,2%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 8,6%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 8,3%, V Контроль на 14,5%, увеличился в группе II Карпрофен 8 мг/кг на 1,5% ($p \leq 0,05$).

В группах морских свинок на 30 день после начала исследования мы выявили отклонения уровня эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и лимфоцитов. Уровень эритроцитов группе I Карпрофен 4 мг/кг к 30-му дню снизился на 10,8%, II Карпрофен 8 мг/кг на 12,4%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 15,9%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 20,2%. Уровень гемоглобина в группе I Карпрофен 4 мг/кг снизился на 5,8%, II Карпрофен 8 мг/кг увеличился на 14,9%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг увеличился на 4,9%. Уровень гематокрита в группе II Карпрофен 8 мг/кг уменьшился на 8,9%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 7,8%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 11,7%. Уровень Лимфоцитов в группе I Карпрофен 4 мг/кг уменьшился на 4,6%, II Карпрофен 8 мг/кг на 11,9%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 8,7%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 0,4%, в контроле увеличился на 1,1% ($p \leq 0,05$).

Снижение уровня эритроцитов в крови может быть связано с развитием анемии в связи с дачей препарата «Норокарп» в дозе превышающей терапевтическую в 2 раза.

В первой группе собак (N=7), получавших Карпрофен пленки на 3-и сутки наблюдали снижение показателей уровня гематокрита на 4,9%, лимфоцитов на 7,9%, лимфоцитов на 40,9% ($p \leq 0,05$) и увеличение уровня эритроцитов на 3,3%. Во второй группе собак (N=5), получавших Норокарп таблетки снижение уровня эритроцитов на 12,0% ($p \leq 0,05$), лимфоцитов на 30,1% ($p \leq 0,05$) и увеличение уровня гематокрита 6,4%. В третьей группе собак (N=6) на 8-е сутки после дачи пленок наблюдали увеличение уровня эритроцитов на 3,5% и снижение уровня лейкоцитов на 34,8% ($p \leq 0,05$) и лимфоцитов на 29,2% ($p \leq 0,05$). В группе 4 на 8-е сутки применения Норокарпа наблюдали снижение показателей уровня эритроцитов на 2,1%, гемоглобина на 10,5%, лейкоцитов на 36,0% ($p \leq 0,05$) и лимфоцитов на 18,9%.

Биохимический анализ крови. Через 30 дней после начала эксперимента в группах кроликов мы наблюдали отличия по показателям общего билирубина, АЛТ, АСТ, мочевины, креатинина, щелочной фосфатазы. В группах I-IV мы наблюдали снижение уровня общего билирубина на 9,1%, 17,5, 5,4, 12,5 соответственно, и незначительное снижение уровня прямого билирубина. В группе IV Норокарп 8 мг/кг норму превышали следующие показатели: АЛТ на 21,2% выше нормы и статистически значимо превышает значение в контрольной группе на 29,0%; щелочная фосфатаза на 32,6% выше нормы статистически значимо превышает значение в контрольной группе на 39,6%. В группе I Карпрофен 4 мг/кг и II Карпрофен 8 мг/кг щелочная фосфатаза также превышает норму 17,9 и 9,5% соответственно. Изменение уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови используется для диагностики заболеваний печени, желчевыводящих протоков и костей. Также изменение уровня ЩФ в крови может наблюдаться в результате приема некоторых лекарств. Многие патологические процессы сопровождаются массовой гибелью клеток, в результате находящаяся на их мембранах фосфатаза оказывается в крови, что и приводит к увеличению ее концентрации в сыворотке [1, С. 80].

В группе I Карпрофен 4 мг/кг статистически значимо от контроля отличаются показатели: мочевины – ниже на 7,5%, креатинина – выше на 20,1%, альбумина – выше на 28,2%. Уровень альбумина в группе IV Норокарп 8 мг/кг статистически значимо выше контроля на 12,1%.

Через 30 дней после начала дачи препаратов у морских свинок мы отмечали изменение уровня АСТ, АЛТ, мочевины и щелочной фосфатазы. Уровень АСТ на 30-е сутки эксперимента в группах I-IV превышал норму и фоновые показатели в группе I Карпрофен 4 мг/кг на 0,6%, II Карпрофен 8 мг/кг на 6,3%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 25,6%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 59,6%. Уровень АЛТ на 30-е сутки эксперимента в группах I-IV также превышал норму и фоновые показатели. Данный показатель превышал фоновые значения в группе I Карпрофен 4 мг/кг на 10,5%, II Карпрофен 8 мг/кг на 13,9%, III Норокарп таб. 4 мг/кг на 16,2%, IV Норокарп таб. 8 мг/кг на 26,1%. Уровень щелочной фосфатазы в группах I-IV уменьшился на 1,8%, 3,3%, 2,1% и 4,4% соответственно. На 30-е сутки наблюдали протеинемию, уровень белка снизился в группах I на 0,4 %, III на 3,0%, IV на 9,8%, в группе II увеличился

на 1,9%. Уровень мочевины на 30-е сутки по сравнению с фоновыми показателями в группах I и III уменьшился на 2,7% и 1,8%, в группах II и IV увеличился на 3,2 и 12,4% соответственно.

В группе собак на 3-и сутки приема пленок Карпрофен отмечали увеличение уровня АЛТ на 10,4%. Во второй группе собак, получавших таблетки Норокарп на 3-и сутки отмечали достоверное увеличение АСТ на 22,7%. В третьей группе на 8-й день снизился уровень билирубина на 1,2% и на 3,4% увеличился уровень АЛТ. У животных 4-й группы на 8-й день снизился уровень билирубина на 9,8% и увеличился уровень АСТ и АЛТ на 23,1 и 28,2% соответственно. Также у животных во всех группах наблюдали снижение уровня белка и альбуминемию.

Исходя из полученных результатов биохимического анализа крови можно сделать вывод, что прием НПВП оказывает влияние на организм животных, вызывая изменения уровня печеночных ферментов, а так же снижение уровня белка в сыворотке крови.

Анализ образцов кала. Исследование скрытых поражений желудочно-кишечного тракта собак методом выявления скрытой крови в анализе кала животных показало, что при приеме препаратов в лекарственной форме пленки и таблетки 3-х дневным курсом для 85,7% животных в группе Карпрофен и 66,7% в группе Норокарп был получен отрицательный результат. Положительный результат был отмечен у одной собаки, получавшей препарат в форме таблеток Норокарп 8-ми дневным курсом. Единичные клетки крови были обнаружены у 14,2% собак на 3-и сутки в группе Карпрофен и у 33,3% в группе Норокарп и на 8-е сутки у 33,3% в группе Карпрофен и 60,0% в группе Норокарп.

Выводы. 1. Изменение показателей клинического анализа крови не дает четкой картины проявления побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта животных при применении препаратов Карпрофен и Норокарп. Снижение уровня эритроцитов указывает на начало развития анемического процесса при применении таблетированной формы препарата.

2. Биохимические исследования крови кроликов характеризуются увеличением активности печеночных ферментов, билирубинемией. В экспериментальных группах морских свинок наблюдали увеличение показателей АСТ и АЛТ, снижение уровня щелочной фосфатазы. Также у всех животных (кролики, морские свинки, собаки) наблюдали протеинемию и альбуминемию.

3. Обнаружение единичных клеток крови в образцах кала собак всех групп и положительного результата у одной собаки, получавшей таблетированную форму препарата в течение 8 дней, говорит о возможности бессимптомного появления побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта животных.

Список литературы / References

- Бажибина Е.Б. Методологические основы оценки клинико-морфологических показателей крови домашних животных /Е.Б. Бажибина, А.В. Коробов. - М.: Аквариум-Принт, 2005. - 128 с.
- Карамян А.С. НПВП-индуцированные гастроэнтеропатии/ А.С. Карамян, А.Ю. Савочкина, Ю.А. Ватников // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург - №11 (53) – Ч.5 – 2016 г. – с. 24-27.
- Кемельман Е.Л. Оценка частоты возникновения гастроэнтерологических осложнений при назначении собакам карпрофена в комбинации с омепразолом /Е.Л. Кемельман, К.С. Варенов, А.А. Архипова// - Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикie животные. – 2015. – №1. – С. 16-19
- Леонова М.В. Новые лекарственные формы и системы доставки лекарственных средств: особенности пероральных лекарственных форм /М.В. Леонова// - Лечебное дело. - 2009. - №2. - с. 21-31
- Пахомова И.Г. Поражения верхних отделов желудочно-кишечного тракта, ассоциированные с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов /И.Г. Пахомова, Л.Н. Белоусова// Эффективная фармакотерапия. Неврология. – 2014. - №5 (49).
- Берг М.С. Коксибы: клиническая и фармакологическая практика применения в ветеринарной медицине. / М.С. Берг, С.К. Будсберг // Журнал ветеринарной медицины. - 2005. - Vol. 19, № 5. - p. 633-643.
- Бупиндер Б. Пероральные быстрорастворимые пленки: Современные технологические решения /Б. Бупиндер, Дж. Сарита, К. Мандиип, С. Харманприт// Международный фармакологический журнал. Обзоры и исследования. – 2011. – № 9. – Vol.2 – p. 9-15.
- Фокс С.М. Применение карпрофена для терапии боли и воспаления у собак /С.М. Фокс, С.А. Джонстон// Журнал американской ветеринарной ассоциации. - 1997. – № 210. – p. 1493-1498
- Мэтьюс К Рекомендации по диагностике, оценке и лечению боли / К. Мэтьюс, П. Кронен, Д. Лэслесс// Журнал Практика терапии мелких домашних животных.. – 2014. - № 55. – p. 1-59
- Рокка Г. Диагностика боли у мелких домашних животных /Г. Рокка, А. Кантазаро, А. Сальво, М. Голдберг// Американский журнал ветеринарных наук. – 2015. - №10 (2). – p. 57-66

Список литературы / Referenses in English

- Bazhibina E.B. Metodologicheskie osnovy ocenki kliniko-morfologicheskikh pokazatelej krovi domashnih zivotnyh [Methodological framework for the assessment of clinical and morphological blood parameters of animals] /E.B. Bazhibina, A.V. Korobov. - M.: Akvarium-Print, 2005. - 128s. [in Russian]
- Karamjan A.S. NPVP-inducirovannye gastroenteropatii [NSAID-induced gastroenteropathy] /A.S. Karamjan, A.Ju. Savochkina, Ju.A. Vatinov// Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Research Journal]. - Ekaterinburg. - №11(53). - Ch.5. - 2016g. - s. 24-27. [in Russian]
- Kemel'man E.L. Ocenka chastoty vozniknoveniya gastroehnterologicheskikh oslozhnenij pri naznachenii sobakam karpofena v kombinacii s omeprazolom [Evaluation of the incidence of gastrointestinal events during administration of carprofen in combination with omeprazole in dogs] /E.L. Kemel'man, K.S. Varenov, A.A. Arhipova// - Rossijskij veterinarnyj zhurnal. Melkie domashnie i dikiye zhivotnye [Russian veterinary journal. Small domestic and wild animals]. – 2015. – №1. – S. 16-19. [in Russian]
- Leonova M.V. Novye lekarstvennyye formy i sistemy dostavki lekarstvennyh sredstv: osobennosti peroral'nyh lekarstvennyh form [New dosage forms and delivery systems of medicines: features of oral dosage forms] /M.V. Leonova// - Lechebnoe delo [General medicine]. - 2009. - №2. - s. 21-31. [in Russian]

5. Pahomova I.G. Porazheniya verhnih otdelov zheludochno-kishechnogo trakta, associirovannye s priemom nesteroidnyh protivovospalitel'nyh preparatov [Lesions of the upper gastrointestinal tract associated with intake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs] /I.G. Pahomova, L.N. Belousova// Effektivnaya farmakoterapiya. Nevrologiya [Effective pharmacotherapy. Neuroscience.]. – 2014. - №5 (49). [in Russian]
6. Bergh M.S. Koksiby: klinicheskaya i farmakologicheskaya praktika primeneniya v veterinarnoj medicine. [The COXIB NSAIDS: potential clinical and pharmacologic importance in veterinary medicine] / M.S. Bergh, S.C. Budsberg // Zhurnal veterinarnoj mediciny [Journal. of Veterinary Internal Medicine]. - 2005. - Vol. 19, № 5. - p. 633-643.
7. Bhupinder B. Peroral'nye bystrorastvorimye plenki: Sovremennye tehnologicheskie resheniya [Orally Fast Dissolving Films: Innovations in Formulation and Technology] /B. Bhupinder, J. Sarita, K. Mandeep, S. Harmanpreet// Mezhdunarodnyj farmakologicheskij zhurnal. Obzory i issledovaniya [International Journal of Pharmacology Sciences. Review. & Research]. – 2011. – № 9. – Vol.2 – p. 9-15.
8. Fox S.M. Primenenie karprofena dlya terapii boli i vospaleniya u sobak [Use of carprofen for the treatment of pain and inflammation in dogs] /S.M. Fox, S.A. Johnston// Zhurnal amerikanskoj veterinarnoj asociacii [Journal of American Veterinary Medicine Association]. - 1997. – № 210. – p. 1493-1498
9. Mathews K. Rekomendacii po diagnostike, ocenke i lecheniyu boli [Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain] / K. Mathews, P. Kronen, D. Lascelles// Zhurnal Praktika terapii melkih domashnih zhivotnyh [Journal of Small Animal Practice]. – 2014. - № 55. – p. 1-59
10. Rocca G. Diagnostika boli u melkih domashnih zhivotnyh [Diagnosis of Pain in Small Companion Animals] /G. Rocca, A. Catanzaro, A. Salvo, M. Goldberg// Amerikanskij zhurnal veterinarnykh nauk [American Journal of Animal and Veterinary Sciences]. – 2015. - №10 (2). – p. 57-66

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.020>Маслова Е.Н.¹, Кончакова А.А.²¹ORCID: 0000-0002-2441-7586, кандидат ветеринарных наук, ²ORCID: 0000-0001-5132-7247,
Государственный аграрный университет Северного Зауралья (г. Тюмень).**ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ ПРИ ТРАВМАХ СЕЛЕЗЕНКИ У СОБАК****Аннотация**

Цель работы – оценка органосохраняющих операций у собак при травмах селезенки. По результатам исследований, изменения реологических свойств крови в отдаленном послеоперационном периоде, проявляющиеся повышением вязкости крови при всех скоростях сдвига не были выражены после органосохраняющих операций и отмечены в 90% случаев после спленэктомии. После выполнения органосохраняющих операций у собак в отдаленном послеоперационном периоде не происходит нарушения агрегационной активности тромбоцитов. При органосохраняющих операциях на селезенке в отдаленном послеоперационном периоде показатели иммунитета (иммуноглобулины Ig G, Ig M, Ig E; фагоцитарная активность лейкоцитов, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс) остаются в пределах физиологической нормы.

Ключевые слова: собаки, травмы селезенки, органосохраняющие операции, спленэктомия.

Maslova E.N.¹, Konchakova A.A.²¹ORCID: 0000-0002-2441-7586, PhD in Veterinary Medicine and Science, ²ORCID: 0000-0001-5132-7247,
State Agrarian University of the Northern Trans-Ural Region (Tyumen)**ORGAN-PRESERVING OPERATIONS IN CASE OF SPLEEN INJURIES OF DOGS****Abstract**

The aim of the work is to evaluate organ-preserving surgeries on dogs with spleen injuries. According to the results of the research, changes in the rheological properties of blood in the distant postoperative period manifested by the increase in blood viscosity are not expressed after organ-preserving surgeries and are noted in 90% of cases after splenectomy. After performing organ-preserving surgeries on dogs in the distant postoperative period, there is no disruption of aggregation activity of platelets. Immunity parameters (immunoglobulins Ig G, Ig M, Ig E, phagocytic activity of leukocytes, phagocytic number, phagocytic index) remain within the physiological norm during organ-preserving surgeries on spleen in a remote postoperative period.

Keywords: dogs, spleen injuries, organ-preserving surgeries, splenectomy.

Заболевания незаразной патологии у собак на территории Тюменской области являются доминирующими среди заболеваний этих видов животных [1, С. 61], [2, С. 521]. Травматические повреждения селезенки у мелких домашних животных представлены гематомами, надрывом органа, пулевыми ранениями, тромбозом вен селезенки [3, С. 99]. Анатомическое строение селезенки, хрупкость ее паренхимы приводят к значительному кровотечению даже при минимальных травмах капсулы и не обеспечивают надежного гемостаза, поэтому хирургическое лечение поврежденной селезенки после травм, как правило, заключается в спленэктомии. Наиболее опасными считаются послеоперационные осложнения в том случае, если они появляются в течение двух лет после проведенной операции [4, С. 16]. На современном этапе обсуждаются вопросы о необходимости сохранения селезенки [5, С. 2], [6, С. 29], [7, С. 2]. Как известно, селезенка выполняет важные и необходимые функции, основные из которых - участие в кроветворении и иммунном статусе организма. Известно, что селезенке принадлежит важная роль и в системе гемостаза [8, С. 157], [9, С. 97], [10, С. 6]. Выше изложенное не оставляет сомнений в том, что изучение различных способов хирургического лечения травм селезенки у собак, способных повысить качество жизни животных, являются актуальной задачей неотложной абдоминальной хирургии.

Целью исследований являлась оценка органосохраняющих операций у собак при травмах селезенки.

Исследования выполнены в период с 2014 по 2016 г.г. на кафедрах незаразных болезней сельскохозяйственных животных, анатомии и физиологии животных ФГБОУ ВО "ГАУ Северного Зауралья", а также в производственных условиях ветеринарной клиники «Доктор А - вет» (г. Тюмень). Органосохраняющие операции (ОСО) выполнены 8 собакам и заключались в: ушивание раны селезенки с тампонадой раны большим сальником (п -5) (рисунок 1), аппликации раны биологическими пластинами «Тахокомб» (п-3) (рисунок 2). Спленэктомия (СЭ) была выполнена у 6 голов собак. После хирургического вмешательства, у всех животных была проведена инфузионная терапия, в индивидуальном порядке назначались инфузионные растворы, антибиотики, препараты с гепатопротекторными свойствами, сердечные средства и др. (примеры 1, 2). Ежедневно, проводили контроль тромбоцитов, так как, последние после спленэктомии, возрастают. При повышении тромбоцитов собакам внутривенно вводили гепарин.



Рис. 1 – Ушивание раны селезенки с тампонадой раны большим сальником



Рис. 2 – Аппликация пластиной "Тахокомб"

Пример 1. Внутривенная инфузия:

- Раствор гелофузина – 50, 0 мл на 5-7 кг.м. ж.;
- NaCl 0,9% – 50, 0 мл на 5-7 кг.м. ж.;
- Аспаркам – 0,1 – 02 мл на 5 кг м.ж.;
- Гептрал – 160 мг на 5 кг м.ж.
- Цефоперазон+сульбактан – 200 мг/5 кг м.ж.

Пример 2. Внутривенная инфузия:

- Стерофундин изотонический – 70, 0 мл на 5-7 кг.м. ж.;
- NaCl 0,9% – 50, 0 мл на 5-7 кг.м. ж.;
- В12 – 1-2 мл на животное;
- Аспаркам – 0,1 – 02 мл на 5 кг м.ж.

После проведенных операций, в крови у собак регистрируется понижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина и повышение СОЭ. При применении инфузионной терапии с применением гелофузина или стерофундина восстановление этих показателей отмечается на третьи сутки после операции, а полное – к шестым - восьмым суткам.

Путем ультразвукового исследования установлено, что при ОСО 3-5 степени, на третьи – четвертые сутки после операции происходит постепенное восстановление однородности структуры паренхимы, что указывает на положительную динамику и отсутствие осложнений. Полное восстановление однородности структуры селезенки отмечено на 22-28 день.

При изучении картины послеоперационных осложнений установлено, что при ОСО, при травмах селезенки был выявлен лишь один случай плевро-легочного осложнения в виде пневмонии, что составляет 12,5%. При СЭ послеоперационные осложнения составили 66,6%: два плевро-легочных осложнения, клинически выраженных плевритом и пневмонией (33,3%), по одному осложнению в виде перитонита (16,6%) и воспаления послеоперационной раны (16,6%). Следовательно, ОСО является щадящей и рациональной операцией, в отличие от СЭ.

В отдаленном послеоперационном периоде в 90% случаев после спленэктомии зарегистрированы изменения реологических свойств крови: повышение вязкости крови при всех скоростях сдвига. Данные изменения не были выражены у собак после органосохраняющих операций. Рекомендовано, собакам, после спленэктомии, пожизненно не менее одного раза в квартал проходить обследования у ветеринарного врача с обязательным проведением общего анализа крови с целью профилактики тромбозов и их последствий.

Показатели агрегационной активности тромбоцитов у собак после операций при травмах селезенки суммированы и представлены в таблице 1. Данные таблицы 1 показывают, что у собак, которым были проведены органосохраняющие операции на селезенке показатели агрегационной активности тромбоцитов не выходили за пределы физиологических констант.

У животных после проведения спленэктомии наблюдаются: увеличение максимальной степени агрегации тромбоцитов (в среднем на 18% по сравнению с первой группой животных), максимальной скорости образования наибольших тромбоцитарных агрегатов (на 28%), максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегатов (на 20%), времени достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегатов (на 21%). У здоровых животных агрегация является положительной функцией. Однако, в некоторых случаях образование тромбов нежелательно, поскольку они перекрывают сосуды в жизненно важных органах и тканях, вызывая тромбозы, что и происходит у животных, перенесших спленэктомию.

Таблица 1 – Показатели агрегационной активности тромбоцитов у собак после операций при травмах селезенки

Показатели	Результаты в группах	
	после ОСО (n – 3)	после СЭ (n-3)
Максимальная степень агрегации тромбоцитов (с АДФ), %	67,1 ± 0,5	79,6 ± 0,7%
Максимальная скорость образования наибольших тромбоцитарных агрегатов, с	5,7 ± 0,6.	7,3 ± 0,4
Максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегатов, у.е.	8,6±0,6	10,3 ± 0,5
Время достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегатов, с	14,7 ± 0,3	17,8 ± 0,5

Результаты исследований, характеризующих показатели иммунитета в группе собак после спленэктомии и органосберегающих операций показали, что у собак после спленэктомии происходит достоверное снижение (по сравнению с группой контроля) концентрации Ig G 15,9 ± 0,3 и Ig M 2,6 ± 0,4. Вместе с тем, отмечается повышение концентрации Ig E - 5,7±0,8. Отмечается фагоцитарная недостаточность: фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ) у собак опытных групп понизилась до 54,60% по сравнению со здоровой группой собак; фагоцитарное число (ФЧ) здоровой группы животных составляло 8,26 ± 0,42. У собак после спленэктомии понизилось до 6,42 ± 0,58; фагоцитарный индекс (ФИ) у здоровых собак составил 45,30 ± 3,06, после спленэктомии наблюдается снижение ФИ до 40,75 ± 2,12. В группе собак после проведенных органосберегающих операций показатели были близки к физиологическим значениям, а именно: концентрации Ig G 15,9 ± 0,6 и Ig M 2,7 ± 0,4, Ig E - 5,7±0,4. ФАЛ - 59,4%; ФЧ – 7,21; ФИ – 46,32.

Заключение. Удаление селезенки в отдаленном послеоперационном периоде приводит не только к изменениям реологических свойств крови, но и к изменениям иммунного статуса собак, в следствие чего такие животные чаще болеют инфекционными заболеваниями. В то время, как органос/охраняющие операции не ведут к изменениям реологических свойств крови и иммунного статуса животных. Поэтому, при травмах селезенки 1-4 степени рекомендуем выполнять органосохраняющие операции, при этом при травмах селезенки 1-2 степени допускается фиксирование краев раны селезенки с помощью гемостатических пластин «Тахокомб».

Список литературы / References

1. Маслова, Е.Н. Отиты и дерматиты наружного слухового прохода у мелких домашних животных // Е.Н. Маслова, К.А. Сидорова, О.А. Драгич, К.С. Борисова / Современные проблемы науки и образования. - 2015. - №6. - С. 61.
2. Газизова, А.Д. Комплексное лечение парезов и параличей у животных // А.Д. Газизова, Л.Н. Скосырских, Е.Н. Маслова / Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: межд. студ. науч.-практ. конф. Тюмень, 2016. - С. 521-523.
3. Цыганский, Р.А. Диагностика травм селезенки у мелких домашних животных при ультразвуковом исследовании // Р.А. Цыганский, И.И. Некрасова, П.А. Хоришко, А.Н. Шулунова / Профессионал года: сборник статей III междунауч.-практ. конф. Пенза, 2017. - С.94-100.
4. Белов, А.Д. Болезни собак // А.Д. Белов, Е.П. Данилов, И.И. Докур - М.: «Колос», 1992- 389 с.
5. Тимофеев, С. В. Хирургия желудка и селезенки у собак / С.В. Тимофеев, С.В. Позябин, В.А. Бахтинов, Ю.И. Филиппов. - М.: Зоомедлит, 2009. - 103 с.
6. Масляков В.В., Ермилов П.В., Поляков А.В. Виды операций на селезенке при ее травме // успехи современного естествознания. - 2012. - № 7. - С. 29-35; URL: <https://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=30283> (дата обращения: 13.03.2017).
7. Дамбаев, Г. Ц. Способы органосохраняющих операций на селезенке / Г.Ц. Дамбаев / под ред. проф. В. Э. Гюнтера. - Томск: Изд-во. «НПП «МИЦ», 2007. - 73с.
8. Клименкова И.В. Особенности топографии и морфологии периферических органов иммунной системы // Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: материалы междунар. науч.-практ. конф. / под ред. А.А. Волкова. — Саратов: ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2012. — С. 157—159.
9. Андреева С.Д. Характеристика лимфоидных структур селезенки свиней // Междунар. журн. прикладных и фундамент. исслед. 2013. № 4. С. 97—98.
10. Волков В.П. Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки. Universum: медицина и фармакология. - 2015. № 5-6 (18). С. 6.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Maslova, E.N. Otitis and dermatitis of external auditory canal of small animals // E.N. Maslova, K.A. Sidorova, O.A. Dragich, K.S. Borisova / Modern Problems of Science and Education. - 2015. - No.6. - P. 61. [in Russian]
2. Gazizova, A.D. Complex treatment of paresis and paralysis in animals // A.D. Gazizova, L.N. Skosyrskikh, E.N. Maslova / Topical Issues of Science and Economy: New Challenges and Solutions: Stud. Scientific-Pract. Conf. Tyumen, 2016. - P. 521-523. [in Russian]
3. Tsyganskii, R.A. Diagnosis of spleen injuries of small pets with ultrasound // R.A. Tsygansky, I.I. Nekrasov, P.A. Khorishko, A.N. Shulunova / Professional of the Year: Collection of Articles of the III Intern. Conf. Penza, 2017. - P. 94-100. [in Russian]
4. Belov, A.D. Diseases of Dogs [Diseases of Dogs] // A.D. Belov, E.P. Danilov, I.I. Dokur - M.: "Kolos," 1992- 389 p. [in Russian]
5. Timofeev, S. V. Surgery of the stomach and spleen on dogs [Surgery of the Stomach and Spleen on Dogs] / S.V. Timofeev, S.V. Pozyabin, V.A. Bakhtinov, Yu.I. Filippov. - M.: Zoomedlit, 2009. - 103 p. [in Russian]
6. Maslyakov V.V., Ermilov P.V., Poliakov A.V. Types of operations on spleen in case of its injury // Successes of Modern Natural Science. - 2012. - No. 7. - P. 29-35; URL: <https://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=30283> (Reference date: 03/13/2017). [in Russian]
7. Dambaev, G. Ts. Methods of organ-preserving operations on spleen / G.Ts. Dambayev / ed. by prof. V. E. Gunther. - Tomsk: Publishing House. "NPP "MITS," 2007. - 73 p. [in Russian]
8. Klimenkova I.V. Features of topography and morphology of peripheral organs of the immune system [Features of Topography and Morphology of Peripheral Organs of the Immune System] // Veterinary Medicine of the XXI Century. Innovation, Exchange of Experience and Development Prospects: Materials of the International Scientific-Practical. Conf. / Ed. by A.A. Volkova. - Saratov: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Saratov SAU," 2012. - P. 157-159. [in Russian]
9. Andreeva S.D. Characteristics of lymphoid structures of spleen of pigs [Characteristics of Lymphoid Structures of Spleen of Pigs] // Intern. Journal of Applied and Fundamental Research. 2013. No. 4. P. 97-98. [in Russian]
10. Volkov V.P. New algorithm for morphometric evaluation of the functional immunomorphology of the spleen. [New Algorithm for Morphometric Evaluation of the Functional Immunomorphology of the Spleen.] Universum: Medicine and Pharmacology. - 2015. No. 5-6 (18). P. 6. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.021>Сибен А.Н.¹, Мигранова Е.М.²¹ORCID: 0000-0002-1094-9995, кандидат ветеринарных наук, доцент, старший научный сотрудник,

Государственный аграрный университет Северного Зауралья,

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии - филиал ТюмНЦ СО РАН

²Студентка,

Государственный аграрный университет Северного Зауралья

ОСОБЕННОСТИ БАЙЛИАСКАРИДОЗА ЕНОТА-ПОЛОСКУНА**Аннотация**

Приведены данные по распространению байлиаскаридоза енота-полоскуна. Отмечено, что енот-полоскун наиболее инвазирован байлиаскаридами на территории США и Канады, где максимальная экстенсивность инвазии достигает 86%. В странах Европы (Польша) экстенсивность байлиаскаридозной инвазии у диких енотов-полоскунов достигает 3,7%, в Азии (Азербайджан) 4,2%. На территории России байлиаскаридоз енота-полоскуна не регистрируется. В связи с высокой опасностью для человека рекомендуется применение пирантела эмбоната, ивермектина, моксидектина, альбендазола, фебендазола, флюбендазола, с контролем качества проведенной дегельминтизации.

Ключевые слова: енот-полоскун, байлиаскаридоз, распространение, терапия, профилактика.

Siben A.N.¹, Migrantova E.M.²¹ORCID: 0000-0002-1094-9995, PhD in Veterinary Medicine and Science, Associate Professor, Senior Researcher,

Northern Trans-Ural State Agricultural University

All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology – Branch of Tyumen Scientific Centre of SB RAS

²Student, Northern Trans-Ural State Agricultural University**MAIN FEATURES OF BAYLISASCARIASIS OF NORTH AMERICAN RACCOON****Abstract**

The article contains data on the distribution of baylisascariasis of the North American raccoon. It is noted that the North American raccoon is a species highly infested with baylisascariasis on the territory of the USA and Canada, where the maximum invasive extent reaches 86%. In European countries (Poland), the extent of baylisascariasis infestation in the wild North American raccoon is 3.7%, in Asia (Azerbaijan) it comprises 4.2%. On the territory of Russia, baylisascariasis of the North American raccoon is not recorded. In connection with its high danger for humans, the use of pyrantel embonate, ivermectin, moxidectin, albendazole, febendazole, flubendazole is highly recommended along with the quality control of the performed anthelmintic treatment.

Keywords: North American raccoon, baylisascariasis, distribution, therapy, prevention.

Байлиаскаридоз вызывается паразитированием *Baylisascaris procyonis* нематоды из отряда *Ascarididae* является опасный зооантропонозом. Основной хозяин - енот-полоскун (*Procyon lotor*), так же отмечено инвазирование скунсов, бурых и белых медведей, лис, шиншиллы, белок и человека. Енот – полоскун эндемичный вид Северной Америки, является чужеродным для Евразии, в том числе России [1, С. 78-96]. За счет неоднократной интродукции в 20 веке и последующем естественном расселении, в настоящее время на территории России встречается в Дагестане и на Северном Кавказе [2, С. 194-197]. При случайной интродукции на Дальнем Востоке распространения не получил [3, С. 31]. В связи с тем, что енот-полоскун имеет тенденцию к дальнейшему расселению на территории нашей страны (Северо-Кавказский регион, Краснодарский край) и является основным хозяином *B. procyonis*, изучение особенностей данного паразита является актуальной задачей исследования.

Целью нашего исследования явилось проведение анализа литературных данных о распространении, терапии и опасности для человека возбудителя байлиаскаридоза енота-полоскуна.

Енот полоскун преимущественно распространен на территории Северной Америки (США, Канада), на территории Европы встречается в Германии, Дании, Польше, России, на территории Азии регистрируется в Азербайджане, Китае и Японии. Только на территории Северной Америки является эндемичным видом, на остальных территориях является вселенцем, либо в результате целенаправленной интродукции либо в результате покупки частными лицами для содержания в домашних условиях.

Байлиаскаридоз енота-полоскуна в США регистрируется на территории Луизианы, Джорджии, Техаса, Оклахомы, Северной Каролины, восточном Колорадо, Теннесси, Орегоне, Индиане, Нью-Йорке, Иллинойсе.

По данным Hernandez S.M. et al. [4, С. 639-698] на территории Северной Каролины инвазированность енотов-полоскунов *B. procyonis* составляла 12%. Пораженность животных в штате Теннесси составляла 12,7% [5, С. 1231-1234], в лесистых зонах Индианы - 14% [6, С. 180-185], в г. Итаке (штат Нью-Йорк) варьировала от 35 до 48% [7, С. 870], в г. Портленде (штат Орегон) достигала 58% [8, С. 14-18], в Колорадо - 58,5% [9, С. 330-334], в Техасе - 70% [10, С. 653-655], Иллинойсе - 86% [11, С. 141-145], Пенсильвании 32,9% - 38% [12, С. 923-927]. Интенсивность инвазии байлиаскаридами у енотов-полоскунов в г. Портленд по данным Yeitz J.L. et al. [8, С. 14-18] составляла в среднем 35 особей, в Иллинойсе по данным Snyder D.E., Fitzgerald P.R. [11, С. 141-145] варьировала от 13,3±2,7 до 62,4±69,1, в Колорадо по данным Chavez D.J. et al. [9, С. 330-334] в среднем составляла 11,7, а по данным Hernandez S.M. et al. [4, С. 639-698] - 20, при максимальной инвазированности - 122 байлиаскарид на животное. Результаты исследования зависимости пораженности животных возбудителем байлиаскаридоза в разрезе пола и возраста енотов-полоскунов разнятся. Так Hernandez S.M. et al. в своей работе «*Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) from North Carolina and current status of the parasite in the USA» [4, С. 639-698] подчеркивают отсутствие зависимости между

возрастом животных и их инвазированностью *B. Procyonis*, однако отмечают, что самки поражены больше чем самцы. Такой же точки зрения придерживаются в своих работах Souza M.J. et al. [5, С. 1231-1234] и Chavez D.J. et al. [9, С. 330-334]. Однако исследования Yeitz J.L. et al. представленные в статье «Prevalence of *Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) in Portland, Oregon, USA» [8, С. 14-18] отмечается более высокое распространение и степень инвазированности енотов-полоскунов не достигших половозрелого возраста (младше одного года) по сравнению с взрослыми животными. Что подтверждают ранее опубликованные работы Kidder J.D. et al. «Prevalence of patent *Baylisascaris procyonis* infection in raccoons (*Procyon lotor*) in Ithaca, New York» [7, С. 870] и Snyder D.E., Fitzgerald P.R. «Contaminative potential, egg prevalence, and intensity of *Baylisascaris procyonis*-infected raccoons (*Procyon lotor*) from Illinois, with a comparison to worm intensity» [11, С. 141-145], при достоверности $P < 0,001$ и $P < 0,005$ соответственно. Сезонная динамика распространения байлиаскаридоза в популяции енота-полоскуна согласно данным Page L.K. et al. представленных в статье «The structure and seasonality of baylisascaris procyonis populations in raccoons (*Procyon lotor*)» [13, С. 286-292], характеризуется пиком в октябре – ноябре, затем наблюдается снижение с января по июнь и последующем постепенным ростом до следующего пика в октябре – ноябре.

На территории Канады байлиаскариды у енота-полоскуна выявлены в Виннипеге [14, С. 846], Онтарио [15, С. 784-791] и Британской Колумбии [16, С. 107], при этом экстенсивность инвазии в Виннипеге варьировала от 37,08% до 50,0%, Британской Колумбии составила 61%, в Онтарио - 38%.

На территории Польши байлиаскаридоз был обнаружен при вскрытии павшего енота-полоскуна в зоопарке Лодзи [17, С. 199-203] и у диких животных в национальном парке Уйсьце-Варты при экстенсивности инвазии 3,7% [18, С. 357-360].

На юге Норвегии при проведении мероприятий по недопущению чужеродных видов на территории страны были умерщвлены еноты-полоскуны при вскрытии которых выявлено их инвазирование возбудителем байлиаскаридоза при этом интенсивность инвазии составляла от 11 до 115 экземпляров [19, С. 986-990]. В Дании байлиаскариды обнаруживались только при обследовании енотов содержащихся в зоопарках при низкой экстенсивности инвазии [19, С. 55-58].

В Китае еноты-полоскуны содержатся преимущественно как декоративные животные, в связи с этим их пораженность байлиаскаридами несет особую опасность для человека. В отдельных регионах Китая, по данным Xie Y. et al. [21, С. 2170 - 2172] инвазированность енотов-полоскунов достигает 23%.

В природном парке Японии при обследовании енотов-полоскунов содержащихся в клетках байлиаскаридоз выявлен при экстенсивности инвазии 25% [22, С. 105-108].

На территории Азербайджана по данным Азизовой А.А. [23, С. 86-90] инвазированность енотов-полоскунов байлиаскаридами достигает 4,2%.

В России при исследовании паразитов енота-полоскуна обитающего на территории Северо-Западного Кавказа по данным Итина Г.С. и Кравченко В.М. [2, С. 194-197] *B. procyonis* не выявлена.

Инвазированность енота-полоскуна *B. procyonis* имеет важное эпидемиологическое значение в связи с тем, что данный возбудитель вызывает у человека тяжелые в некоторых случаях необратимые поражения нервной системы. Так по данным ряда авторов у человека в результате паразитирования байлиаскарид наблюдается быстро прогрессирующее поражение нервной системы с признаками эозинофильного менингоэнцефалита, поражение сосудистой оболочки глаз, легочной ткани [24, С. 868-872], [25, С. 888-890]. У человека возможно и субклиническое течение данной инвазии, так по данным Weinstein Sara B., et al. [26, С. 1397-1399] при серологическом исследовании на байлиаскаридоз 150 взрослых людей (Калифорния) без признаков заболевания 11 из них оказались серопозитивными.

Для терапии енота-полоскуна при пораженности *B. procyonis* по данным успешных испытаний рекомендуется применение пирантела эмбоната, ивермектина, моксидектина, альбендазола, фебендазола, флюбендазола [27, С. 155-159], [28, С. 417-420].

Профилактика байлиаскаридоза енота-полоскуна должна складываться из дегельминтизации животных вышеуказанными препаратами с обязательным проверкой качества проведенной дегельминтизации и соблюдением зоогигиенических условий содержания и кормления. Необходимо уделять особое внимание качеству дезинвазии помещений в связи с тем, что яйца байлиаскарид способны сохранять свою жизнеспособность в течение двух лет [29, С. 608-612].

Таким образом, байлиаскаридоз енота-полоскуна является опасным зооантропонозом широко распространенным в США и Канаде и в меньшей мере на территории Европы и Азии. На территории России не регистрируется, но в связи с активным использованием енотов-полоскунов в зоопарках, в том числе контактных необходимо проведение обязательных копроскопических исследований, при необходимости с последующей дегельминтизацией и дезинвазией помещений где содержались животные.

Список литературы / References

1. Хляп Л. А. Биологические инвазии на территории России: млекопитающие / Л. А. Хляп, В. В. Бобров, А. А. Варшавский // Российский журнал биологических инвазий. – 2008. – №. 2. – С. 78-96.
2. Итин Г. С. В. М. Видовая структура гельминтоценозов диких хищных млекопитающих в ландшафтно-географических зонах Северо-Западного Кавказа / Г. С. Итин, В. М. Кравченко // Теория и практика паразитарных болезней животных. – 2016. – №. 17. – С. 194-197.
3. Бобров В. В. Виды-вселенцы млекопитающих на Дальнем Востоке России / В. В. Бобров, А. А. Варшавский, Л. А. Хляп // Ареалы, миграции и другие перемещения диких животных: материалы Международной науч.-практ. конф. 25–27 ноября 2014 г. Владивосток / ФГБУН Тихоокеанский институт географии ДВО РАН – Владивосток, 2014. – С. 24-31.
4. Hernandez S. M. Baylisascaris procyonis in raccoons (*Procyon lotor*) from North Carolina and current status of the parasite in the USA / S. M. Hernandez, B. Galbreath, D. F. Riddle, A. P. Moore, M. B. Palamar, M. G. Levy, C. S. DePerno, M. T. Correa, M. J. Yabsley // Parasitology research. – 2013. – Vol. 112. – №. 2. – P. 693-698.

5. Souza M. J. Baylisascaris procyonis in raccoons (*Procyon lotor*) in eastern Tennessee / M. J. Souza, E. C. Ramsay, S. Patton, J. C. New // *Journal of wildlife diseases*. – 2009. – Vol. 45. – №. 4. – p. 1231-1234.
6. Page L. K. Raccoon latrine structure and its potential role in transmission of *Baylisascaris procyonis* to vertebrates / L. K. Page, R. K. Swihart, K. R. Kazacos // *The American Midland Naturalist*. – 1998. – Vol. 140. – №. 1. – p. 180-185.
7. Kidder J. D. Prevalence of patent *Baylisascaris procyonis* infection in raccoons (*Procyon lotor*) in Ithaca, New York / J. D. Kidder, S. E. Wade, M. E. Richmond, S. J. Schwager // *The Journal of parasitology*. – 1989. – Vol. 75. – №. 6. – p. 870-874.
8. Yeitz J. L. Prevalence of *Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) in Portland, Oregon, USA / J. L. Yeitz, C. M. Gillin, R. J. Bildfell, E. E. DeBess // *Journal of wildlife diseases*. – 2009. – Vol. 45. – №. 1. – p. 14-18.
9. Chavez D. J. *Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) from eastern Colorado, an area of undefined prevalence / D. J. Chavez, I. K. LeVan, M. W. Miller, L. R. Ballweber // *Veterinary parasitology*. – 2012. – Vol. 185. – №. 2. – p. 330-334.
10. Kerr C. L. *Baylisascariasis* in raccoons from southern coastal Texas / C. L. Kerr, S. E. Henke, D. B. Pence // *Journal of wildlife diseases*. – 1997. – Vol. 33. – №. 3. – p. 653-655.
11. Snyder D. E. Contaminative potential, egg prevalence, and intensity of *Baylisascaris procyonis*-infected raccoons (*Procyon lotor*) from Illinois, with a comparison to worm intensity / D. E. Snyder, P. R. Fitzgerald // *Proc Helminthiol Soc Wash.* – 1987. – Vol. 54. – p. 141-145.
12. Cottrell W. O. Geographic and temporal prevalence of *Baylisascaris procyonis* in raccoons (*Procyon lotor*) in Pennsylvania, USA / W. O. Cottrell, R. L. Heagy, J. B. Johnson, R. Marcantuno, T. J. Nolan // *Journal of wildlife diseases*. – 2014. – Vol. 50. – №. 4. – p. 923-927.
13. Page L. K. The structure and seasonality of *baylisascaris procyonis* populations in raccoons (*procyon lotor*) / L. K. Page, D. A. P. Delzell, S. D. Gehrt, E. D. Harrell, M. Hiben, E. Walter, C. Anchor, K. R. Kazacos // *Journal of wildlife diseases*. – 2016. – Vol. 52. – №. 2. – p. 286-292.
14. Sexsmith J. L. Prevalence and distribution of *Baylisascaris procyonis* in urban raccoons (*Procyon lotor*) in Winnipeg, Manitoba / J. L. Sexsmith, T. L. Whiting, C. Green, S. Orvis, D. J. Berezanski, A. B. Thompson // *The Canadian Veterinary Journal*. – 2009. – Vol. 50. – №. 8. – p. 846.
15. Jardine C. M. The impact of land use, season, age, and sex on the prevalence and intensity of *Baylisascaris procyonis* infections in raccoons (*Procyon lotor*) from Ontario, Canada / C. M. Jardine, D. L. Pearl, K. Puskas, D. G. Campbell, L. Shirose, A. S. Peregrine // *Journal of wildlife diseases*. – 2014. – Vol. 50. – №. 4. – p. 784-791.
16. Ching H. L. Intestinal parasites of raccoons (*Procyon lotor*) from southwest British Columbia / H. L. Ching, B. J. Leighton, C. Stephen // *Canadian Journal of Veterinary Research*. – 2000. – Vol. 64. – №. 2. – p. 107.
17. Stefanski W. *Ascaris procyonis* n. sp. from the intestine of *Procyon lotor* L / W. Stefanski, E. Zarnowski // *Annales Musei Zoologicae Polonicae*. – 1951. – Vol. 14. – №. 15. – p. 199-203.
18. Popiołek M. Helminth parasites of an introduced invasive carnivore species, the raccoon (*Procyon lotor* L.), from the Warta Mouth National Park (Poland) / M. Popiołek, J. Szczęśna-Staśkiewicz, M. Bartoszewicz, H. Okarma, B. Smalec, A. Zalewski // *The Journal of parasitology*. – 2011. – Vol. 97. – №. 2. – p. 357-360.
19. Davidson R. K. Illegal Wildlife Imports More than Just Animals—*Baylisascaris procyonis* in Raccoons (*Procyon lotor*) in Norway / R. K. Davidson, Ø. Øines, I. S. Hamnes, J. E. Schulze // *Journal of wildlife diseases*. – 2013. – Vol. 49. – №. 4. – p. 986-990.
20. Al-Sabi M. N. S. *Baylisascaris procyonis* in wild raccoons (*Procyon lotor*) in Denmark / M. N. S. Al-Sabi, M. Chriél, M. S. Hansen, H. L. Enemark // *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. – 2015. – Vol. 1. – p. 55-58.
21. Xie Y. Zoonotic *Baylisascaris procyonis* roundworms in raccoons, China / Y. Xie, X. Zhou, M. Li, T. Liu, X. Gu, T. Wang, W. Lai, X. Peng, G. Yang // *Emerging infectious diseases*. – 2014. – Vol. 20. – №. 12. – p. 2170-2172.
22. Sato H. First outbreak of *Baylisascaris procyonis* larva migrans in rabbits in Japan / H. Sato, H. Furuoka, H. Kamiya // *Parasitology international*. – 2002. – Vol. 51. – №. 1. – p. 105-108.
23. Азизова А. А. Эколого-фаунистический анализ паразитов енота-полоскуна (*Procyon lotor* L.) по различным зонам Азербайджана / А. А. Азизова // *Юг России: экология, развитие*. – 2010. – №1. – С. 86-90.
24. Cunningham C. K. Diagnosis and management of *Baylisascaris procyonis* infection in an infant with nonfatal meningoencephalitis / C. K. Cunningham, K. R. Kazacos, J. A. McMillan, J. A. Lucas, J. B. McAuley, E. J. Wozniak, L. B. Weiner // *Clinical Infectious Diseases*. – 1994. – Vol. 18. – №. 6. – p. 868-872.
25. Mets M. B. Eye findings of diffuse unilateral subacute neuroretinitis and multiple choroidal infiltrates associated with neural larva migrans due to *Baylisascaris procyonis* / M. B. Mets, A. G. Noble, S. Basti, P. Gavin, A. T. Davis, S. T. Shulman, K. R. Kazacos // *American journal of ophthalmology*. – 2003. – Vol. 135. – №. 6. – p. 888-890.
26. Weinstein S. B. Seroprevalence of *Baylisascaris procyonis* infection among humans, Santa Barbara County, California, USA, 2014–2016 / S. B. Weinstein, C. M. Lake, H. M. Chastain, D. Fisk, S. Handali, P. L. Kahn, S. P. Montgomery, P. P. Wilkins, A. M. Kuris, K. D. Lafferty // *Emerging Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 23. – №. 8. – p. 1397-1399.
27. Bauer C., Gey A. Efficacy of six anthelmintics against luminal stages of *Baylisascaris procyonis* in naturally infected raccoons (*Procyon lotor*) / C. Bauer, A. Gey // *Veterinary parasitology*. – 1995. – Vol. 60. – №. 1. – p. 155-159.
28. Hill Jr. R. E. Use of ivermectin against several nematodes in naturally infected raccoons (*Procyon lotor*) / Jr. R. E. Hill, J. J. Zimmerman, J. H. Greve, G. W. Beran // *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. – 1991. – Vol. 22. – №. 4. – p. 417-420.
29. Ogdee J. L. Permeability and Viability of *Baylisascaris procyonis* Eggs in Southern Texas Soils / J. L. Ogdee, S. E. Henke, D. B. Wester, A. M. Fedynich // *Journal of Parasitology*. – 2016. – Vol. 102. – №. 6. – p. 608-612.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Hlajap L. A. Biologicheskie invazii na territorii Rossii: mlekopitajushhie [Biological invasions on Russian territory: mammals] / L. A. Hlajap, V. V. Bobrov, A. A. Varshavskij // *Rossijskij zhurnal biologicheskikh invazij* [Russian journal of biological invasions]. – 2008. – №. 2. – p. 78-96. [in Russian]
2. Itin G. S. V. M. Vidovaja struktura gel'mintocenofov dikih hishhnyh mlekopitajushhih v landshaftno-geograficheskikh zonah Severo-Zapadnogo Kavkaza [Species structure of helminthiases in the wild predatory mammals in the landscape-

geographical zones of the Northwest Caucasus] / G. S. Itin, V. M. Kravchenko // *Teorija i praktika parazitarnyh boleznej zhivotnyh* [Theory and practice of parasitic diseases of animals]. – 2016. – №. 17. – p. 194-197. [in Russian]

3. Bobrov V. V. Vidy-vselency mlekopitajushhih na Dal'nem Vostoke Rossii [Types vselenets of mammals in the Far East of Russia] / V. V. Bobrov, A. A. Varshavskij, L. A. Hljap // *Arealy, migracii i drugie peremeshhenija dikih zhivotnyh: materialy Mezhdunarodnoj nauch.-prakt. konf. 25–27 nojabrja 2014 g. Vladivostok* [Areas, migrations and other movements of wild animals: materials International scientific and practical conference on November 25-27, 2014 Vladivostok] / FGBUN Tihookeanskij institut geografii DVO RAN – Vladivostok, 2014. – p. 24-31. [in Russian]

4. Hernandez S. M. Baylisascaris procyonis in raccoons (Procyon lotor) from North Carolina and current status of the parasite in the USA / S. M. Hernandez, B. Galbreath, D. F. Riddle, A. P. Moore, M. B. Palamar, M. G. Levy, C. S. DePerno, M. T. Correa, M. J. Yabsley // *Parasitology research*. – 2013. – Vol. 112. – №. 2. – P. 693-698.

5. Souza M. J. Baylisascaris procyonis in raccoons (Procyon lotor) in eastern Tennessee / M. J. Souza, E. C. Ramsay, S. Patton, J. C. New // *Journal of wildlife diseases*. – 2009. – Vol. 45. – №. 4. – p. 1231-1234.

6. Page L. K. Raccoon latrine structure and its potential role in transmission of Baylisascaris procyonis to vertebrates / L. K. Page, R. K. Swihart, K. R. Kazacos // *The American Midland Naturalist*. – 1998. – Vol. 140. – №. 1. – p. 180-185.

7. Kidder J. D. Prevalence of patent Baylisascaris procyonis infection in raccoons (Procyon lotor) in Ithaca, New York / J. D. Kidder, S. E. Wade, M. E. Richmond, S. J. Schwager // *The Journal of parasitology*. – 1989. – Vol. 75. – №. 6. – p. 870-874.

8. Yeitz J. L. Prevalence of Baylisascaris procyonis in raccoons (Procyon lotor) in Portland, Oregon, USA / J. L. Yeitz, C. M. Gillin, R. J. Bildfell, E. E. DeBess // *Journal of wildlife diseases*. – 2009. – Vol. 45. – №. 1. – p. 14-18.

9. Chavez D. J. Baylisascaris procyonis in raccoons (Procyon lotor) from eastern Colorado, an area of undefined prevalence / D. J. Chavez, I. K. LeVan, M. W. Miller, L. R. Ballweber // *Veterinary parasitology*. – 2012. – Vol. 185. – №. 2. – p. 330-334.

10. Kerr C. L. Baylisascariasis in raccoons from southern coastal Texas / C. L. Kerr, S. E. Henke, D. B. Pence // *Journal of wildlife diseases*. – 1997. – Vol. 33. – №. 3. – p. 653-655.

11. Snyder D. E. Contaminative potential, egg prevalence, and intensity of Baylisascaris procyonis-infected raccoons (Procyon lotor) from Illinois, with a comparison to worm intensity / D. E. Snyder, P. R. Fitzgerald // *Proc Helminthol Soc Wash*. – 1987. – Vol. 54. – p. 141-145.

12. Cottrell W. O. Geographic and temporal prevalence of Baylisascaris procyonis in raccoons (Procyon lotor) in Pennsylvania, USA / W. O. Cottrell, R. L. Heagy, J. B. Johnson, R. Marcantuno, T. J. Nolan // *Journal of wildlife diseases*. – 2014. – Vol. 50. – №. 4. – p. 923-927.

13. Page L. K. The structure and seasonality of baylisascaris procyonis populations in raccoons (procyon lotor) / L. K. Page, D. A. P. Delzell, S. D. Gehrt, E. D. Harrell, M. Hiben, E. Walter, C. Anchor, K. R. Kazacos // *Journal of wildlife diseases*. – 2016. – Vol. 52. – №. 2. – p. 286-292.

14. Sexsmith J. L. Prevalence and distribution of Baylisascaris procyonis in urban raccoons (Procyon lotor) in Winnipeg, Manitoba / J. L. Sexsmith, T. L. Whiting, C. Green, S. Orvis, D. J. Berezanski, A. B. Thompson // *The Canadian Veterinary Journal*. – 2009. – Vol. 50. – №. 8. – p. 846.

15. Jardine C. M. The impact of land use, season, age, and sex on the prevalence and intensity of Baylisascaris procyonis infections in raccoons (Procyon lotor) from Ontario, Canada / C. M. Jardine, D. L. Pearl, K. Puskas, D. G. Campbell, L. Shirose, A. S. Peregrine // *Journal of wildlife diseases*. – 2014. – Vol. 50. – №. 4. – p. 784-791.

16. Ching H. L. Intestinal parasites of raccoons (Procyon lotor) from southwest British Columbia / H. L. Ching, B. J. Leighton, C. Stephen // *Canadian Journal of Veterinary Research*. – 2000. – Vol. 64. – №. 2. – p. 107.

17. Stefanski W. Ascaris procyonis n. sp. from the intestine of Procyon lotor L / W. Stefanski, E. Zarnowski // *Annales Musei Zoologicae Polonicae*. – 1951. – Vol. 14. – №. 15. – p. 199-203.

18. Popiolek M. Helminth parasites of an introduced invasive carnivore species, the raccoon (Procyon lotor L.), from the Warta Mouth National Park (Poland) / M. Popiolek, J. Szczesna-Staskiewicz, M. Bartoszewicz, H. Okarma, B. Smalec, A. Zalewski // *The Journal of parasitology*. – 2011. – Vol. 97. – №. 2. – p. 357-360.

19. Davidson R. K. Illegal Wildlife Imports More than Just Animals—Baylisascaris procyonis in Raccoons (Procyon lotor) in Norway / R. K. Davidson, Ø. Øines, I. S. Hamnes, J. E. Schulze // *Journal of wildlife diseases*. – 2013. – Vol. 49. – №. 4. – p. 986-990.

20. Al-Sabi M. N. S. Baylisascaris procyonis in wild raccoons (Procyon lotor) in Denmark / M. N. S. Al-Sabi, M. Chriél, M. S. Hansen, H. L. Enemark // *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. – 2015. – Vol. 1. – p. 55-58.

21. Xie Y. Zoonotic Baylisascaris procyonis roundworms in raccoons, China / Y. Xie, X. Zhou, M. Li, T. Liu, X. Gu, T. Wang, W. Lai, X. Peng, G. Yang // *Emerging infectious diseases*. – 2014. – Vol. 20. – №. 12. – p. 2170-2172.

22. Sato H. First outbreak of Baylisascaris procyonis larva migrans in rabbits in Japan / H. Sato, H. Furuoka, H. Kamiya // *Parasitology international*. – 2002. – Vol. 51. – №. 1. – p. 105-108.

23. Azizova A. A. Jekologo-faunisticheskiy analiz parazitov enota-poloskuna (Procyon lotor l.) po razlichnym zonam Azerbajdzhana [Ekologo-faunisticheskiy analysis of parasites of a raccoon-poloskuna (Procyon lotor l.) on various zones of Azerbaijan] / A. A. Azizova // *Jug Rossii: jekologija, razvitie* [South of Russia: ecology, development]. – 2010. – №1. – p. 86-90. [in Russian]

24. Cunningham C. K. Diagnosis and management of Baylisascaris procyonis infection in an infant with nonfatal meningoencephalitis / C. K. Cunningham, K. R. Kazacos, J. A. McMillan, J. A. Lucas, J. B. McAuley, E. J. Wozniak, L. B. Weiner // *Clinical Infectious Diseases*. – 1994. – Vol. 18. – №. 6. – p. 868-872.

25. Mets M. B. Eye findings of diffuse unilateral subacute neuroretinitis and multiple choroidal infiltrates associated with neural larva migrans due to Baylisascaris procyonis / M. B. Mets, A. G. Noble, S. Basti, P. Gavin, A. T. Davis, S. T. Shulman, K. R. Kazacos // *American journal of ophthalmology*. – 2003. – Vol. 135. – №. 6. – p. 888-890.

26. Weinstein S. B. Seroprevalence of Baylisascaris procyonis infection among humans, Santa Barbara County, California, USA, 2014–2016 / S. B. Weinstein, C. M. Lake, H. M. Chastain, D. Fisk, S. Handali, P. L. Kahn, S. P. Montgomery, P. P. Wilkins, A. M. Kuris, K. D. Lafferty // *Emerging Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 23. – №. 8. – p. 1397-1399.
27. Bauer C., Gey A. Efficacy of six anthelmintics against luminal stages of Baylisascaris procyonis in naturally infected raccoons (*Procyon lotor*) / C. Bauer, A. Gey // *Veterinary parasitology*. – 1995. – Vol. 60. – №. 1. – p. 155-159.
28. Hill Jr. R. E. Use of ivermectin against several nematodes in naturally infected raccoons (*Procyon lotor*) / Jr. R. E. Hill, J. J. Zimmerman, J. H. Greve, G. W. Beran // *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. – 1991. – Vol. 22. – №. 4. – p. 417-420.
29. Ogdee J. L. Permeability and Viability of Baylisascaris procyonis Eggs in Southern Texas Soils / J. L. Ogdee, S. E. Henke, D. B. Wester, A. M. Fedynich // *Journal of Parasitology*. – 2016. – Vol. 102. – №. 6. – p. 608-612.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.022>

Штагер И.В.

ORCID: 0000-0002-4066-3162, аспирант 1 курса

ФГБОУ ВО "Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, г. Абакан

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Республики**Хакасия в рамках научного проекта № 17-44-190265***ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ И КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ УРОЛИТИАЗА У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ****Аннотация**

В статье рассмотрена выявленная патология мочевыводящих путей, частота встречаемости и клиническое проявление уролитиаза у собак и кошек Республики Хакасия. На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы: частота встречаемости отдельной патологии органов мочевого выделения имеет четко выраженную видовую, половую, а в некоторых случаях и породную предрасположенность, цистопатология занимает преобладающее положение над нефропатологией, что обусловлено рядом факторов: резистентностью организма, путями заноса инфекции в органы мочевого выделения, наличием стресса, условиями содержания животных. Уролитиаз у собак и кошек в Республике Хакасия зарегистрирован в 19,5% случаев.

Ключевые слова: кошки, собаки, уролитиаз, ультразвуковое исследование, анализ, моча, почки, мочевого пузыря, кристаллы, уролиты.

Stager I.V.

ORCID: 0000-0002-4066-3162, Postgraduate student

FSBEI of HE "Khakassian State University named after N.F. Katanov" in Abakan

The study was carried out with the financial support of the RFBR and the Ministry of Education and Science of the Republic of Khakassia within the framework of the scientific project No. 17-44-190265.

FREQUENCY OF OCCURRENCE AND CLINICAL MANIFESTATION OF UROLITHIASIS IN DOMESTIC ANIMALS OF REPUBLIC OF KHAKASIA**Abstract**

The article examines the revealed pathology of the urinary tract, the frequency of occurrence and clinical manifestation of urolithiasis in dogs and cats of the Republic of Khakassia. Based on the studies, the following conclusions were drawn: the frequency of occurrence of an individual pathology of urinary organs has a distinct specific, sexual and, in some cases, breed predisposition, cystopathology occupies a predominant position over nephropathology, due to a number of factors: resistance of the organism, ways of drifting infection into the organs of urination, stress, conditions of animal welfare. Urolithiasis in dogs and cats in the Republic of Khakassia is registered in 19.5% of cases.

Keywords: cats, dogs, urolithiasis, ultrasound examination, analysis, urine, kidneys, bladder, crystals, uroliths.

В практике ветеринарных специалистов, повреждения органов мочевого выделения являются одними из наиболее распространенной патологии у мелких домашних животных. При этом с каждым годом отмечается тенденция к увеличению количества животных, страдающих болезнями мочеполовой системы [4, С. 23], [1], [2], [3].

По сообщениям отечественных исследователей, на долю патологий мочевого выделительной системы приходится 7,5 – 11,0 % от всех выявленных заболеваний, причем подавляющее число случаев в этой группе принадлежит уролитиазу – 60,0 – 70,0 % [5, С. 19].

Мочекаменная болезнь является одной из наиболее распространенных патологий мочевого выделительной системы и носит эндемический характер [6, С. 15], [7, С. 23], [8, С. 415], [9, С. 90].

Нефрологами отмечается неоднородность распространения уролитиаза в связи с географическими особенностями среды обитания [10, С. 307].

По данным всемирной ассоциации ветеринарных врачей, у кошек уролитиаз диагностировали в 7,0 %, а у собак – в 3,0 % случаев. Ранние методы диагностики заболеваний органов мочевого выделения и особенно их дифференциация друг от друга, является важнейшей проблемой практической ветеринарии. Существующие методы диагностики не раскрывают полностью причин возникновения тех или иных патологий, остаются нераспознанными факторы, предполагающие и осложняющие течение заболевания.

Цель работы. Исследовать клиническое проявление уролитиаза у домашних плотоядных животных, а также выявить частоту возникновения этого заболевания в условиях Республики Хакасия.

Материалы и методы. Исследование выполнялось на базе центра ветеринарных услуг «Ваш ВетВрач» (г. Абакан, г. Черногорск). Для изучения распространенности уролитиаза у домашних плотоядных животных в условиях

Республики Хакасия были обследованы собаки и кошки, поступившие на прием за весь период исследования. Всего было обследовано 2029 животных, из них $n=971$ собак, $n=1058$ кошек.

Исследования включали следующие этапы:

- анализ клинических проявлений патологии органов мочевого выделения;
- описание морфологических изменений органов мочевыделительной системы при ультразвуковом исследовании;
- лабораторные исследования мочи домашних плотоядных;
- статистическая обработка полученных данных.

С помощью ультразвукового метода диагностики устанавливали степень структурного поражения, размеры органов брюшной и тазовой полостей, а также наличие, количество, характер и локализацию конкрементов или новообразований. Для ультразвукового исследования органов мочевого выделения использовали портативную ультразвуковую систему MindrayDP-50 с конвексным, микроконвексным и линейным датчиками различной частоты. Исследования выполнялись согласно методикам, изложенным в руководствах Е.В. Бушаровой [11, С. 32], П. Манниона [12, С. 51].

Лабораторные исследования мочи. Мочу для исследования получали путем цистоцентеза, так как этот метод для мелких плотоядных является менее травматичным (в сравнении с катетеризацией), проба мочи не загрязняется содержимым мочеполового тракта, и позволяет получить наиболее достоверные результаты. Мочу отбирали в стерильные одноразовые шприцы емкостью 5 мл. К исследованию приступали сразу же после отбора проб.

Лабораторные исследования мочи проводили по общепринятым методикам, изложенным в руководствах Л.В. Козловской, М.А. Мартыновой [13, С. 73], М. Уилларда с соавт. [14, С. 115], С.В. Середы с соавт. [15, С. 33]. Органолептически определяли макроскопические показатели: цвет, запах, прозрачность.

Физико-химические свойства мочи определяли с помощью специализированных тест-полосок LabStripU11Plus, на автоматическом анализаторе мочи DocUReader.

Общий анализ мочи дополняли микроскопией осадка. Осадок получали путем центрифугирования мочи в лабораторной центрифуге в течение 5 минут при 1500 об/мин. Далее осторожно сливали надосадочную жидкость, каплю полученного осадка помещали на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и микроскопировали. В ходе исследования определяли наличие, количество, размеры и вид эпителиальных клеток, цилиндров, кристаллов, лейкоцитов, эритроцитов.

Для определения в моче микроорганизмов, мазки из надосадочной жидкости после центрифугирования мочи высушивали и окрашивали по методу Романовского-Гимзе, затем высушивали и микроскопировали под иммерсией при увеличении 10×90 .

Статистическую обработку полученных данных проводили в соответствии с правилами получения репрезентативных выборок генеральных совокупностей для биологических объектов [16, С. 187], [17, С. 93]. Все расчеты были выполнены при помощи персонального компьютера с использованием пакета прикладных программ электронной таблицы MicrosoftExcel 7,0. Для каждого показателя вычисляли среднее арифметическое и его ошибку. Критерий достоверности определяли по таблице Стьюдента. Различия считали достоверными при вероятности 95% ($P<0,05$).

Результаты исследования.

Цистоуролитиаз характеризуется образованием мочевых кристаллов и уролитов в мочевом пузыре и уретре.

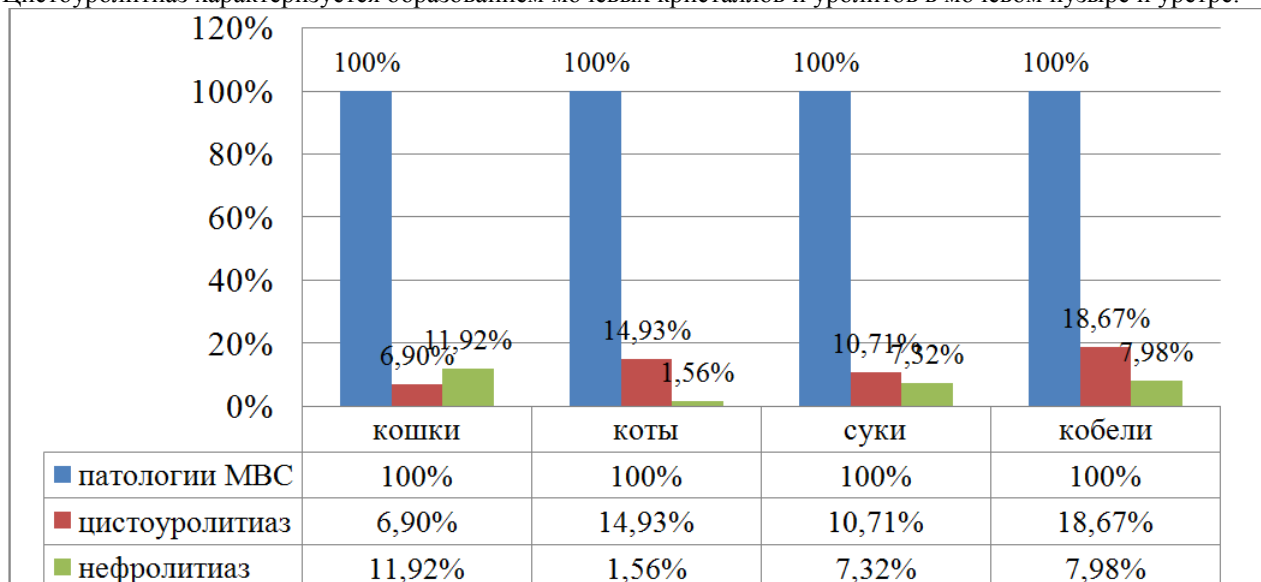


Рис. 1 – Выявленная частота встречаемости уrolитиаза у собак и кошек в Республике Хакасия

В ходе исследования было установлено (см. рис. 1), что в Республике Хакасия среди патологий мочевыводящих путей у самок кошек ($n=415$) цистоуролитиаз встречается в 6,90%, а нефролитиаз в 11,92% случаев.

Среди самцов кошек ($n = 643$) цистоуролитиаз встречается в 14,93%, нефролитиаз в 1,56% случаев.

Среди самцов собак ($n = 411$) цистоуролитиаз был выявлен в 18,67%, нефролитиаз 7,98% случаев.

Среди самок собак ($n=560$) цистоуролитиаз выявляли в 10,71%, нефролитиаз в 7,32% случаев.

При клиническом обследовании у животных с данным заболеванием регистрировали усиленное вылизывание гениталий, частые позывы к мочеиспусканию, болезненное мочеиспускание, наличие крови в последней порции мочи, при закупорке уретры – увеличение объема мочевого пузыря, общее угнетение. При полной непроходимости уретры

по истечении 48 часов отмечали постренальную уремию, характеризующуюся анурией, рвотой, коматозным состоянием.

При ультразвуковом исследовании устанавливали факт наличия, размер, количество, локализацию уrolитов (см рис. 2, рис. 3).

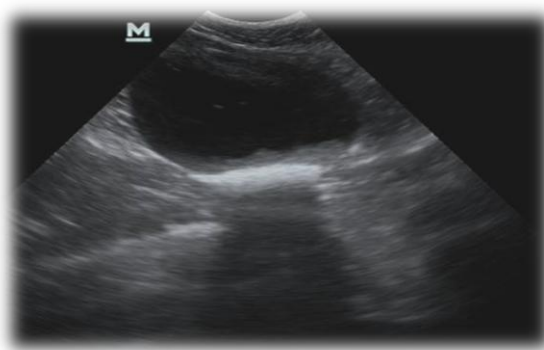


Рис. 2 – Ультрасканограмма с наличием в полости мочевого пузыря гиперэхогенного уросидимента у кота в возрасте 4 лет

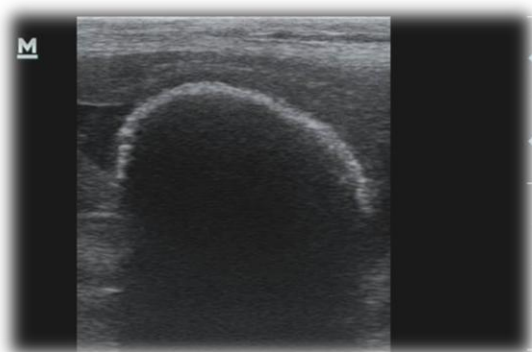


Рис. 3 – Ультрасканограмма с наличием в полости мочевого пузыря макролита у собаки породы померанский шпиц в возрасте 2 лет

При лабораторном исследовании мочи особое внимание уделяли мочевому осадку и наличию мочевых кристаллов.

Нефролитиаз характеризуется образованием в паренхиме почек или в лоханке уrolитов. При обследовании животных с данным заболеванием отмечали болезненность почек при пальпации, гематурию. При ультразвуковом исследовании был установлен факт наличия, размер и количество нефролитов в паренхиме почек и почечной лоханке. Поскольку минерализованные образования не пропускают ультразвук, их наличие в почечных структурах характеризовалось четкой дистальной акустической тенью. В некоторых случаях выявляли гидронефроз, на фоне нахождения уrolита в мочеточнике, что сопровождалось нарушением оттока мочи. При лабораторном исследовании мочи при нефролитиазе обнаруживали лейкоциты, эритроциты, соли, эпителий почечных лоханок, уросидимент.

Выводы. Частота встречаемости отдельных патологий органов мочевого выделения имеет четко выраженную видовую, половую, а в некоторых случаях и породную вариабельность. Из анализа общей заболеваемости собак и кошек Республики Хакасия было выявлено, что цистопатологии занимают преобладающее положение над нефропатологиями, что обусловлено рядом факторов: резистентностью организма, путями заноса инфекции в органы мочевого выделения, наличием стресса, условиями содержания животных. Среди патологий мочевыводящих путей у собак и кошек в Республике Хакасия уролитиаз зарегистрирован в 19,5% случаев.

Список литературы / References

1. Динченко О.И. Особенности уролитиаза у собак и кошек в условиях мегаполиса (распространение, этиология, патогенез, диагностика и терапия): дисс. ... канд. ветеринар. наук:16.00.02, 16.00.01: защищена 11.03.2015 : утв. / Динченко Оксана Ивановна. – М., 2005. – 166 с.
2. Мелешков С.Ф. Ультразвуковые исследования органов мочеотделения у кошек (Методические рекомендации) / С.Ф. Мелешков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. Биология. Молекулярная биология. – 2009. – №1(1). – С. 28
3. Новикова М. В. Морфологические и биохимические изменения показателей крови и мочи у кошек при гидронефрозе в эксперименте / М. В. Новикова, Г. Г. Егорова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2010. – №1. – Т. 204. – С. 169–173.
4. Летов И.И. Рентгенодиагностика мочеполовой системы мелких домашних животных: автореф. дисс.канд. ветеринар. наук: 16.00.01: защищена 12.07.2005 : утв. / Летов Иван Иванович. – Воронеж, 2005. – 23 с.
5. Барышев Д. Ю. Морфофункциональные и биохимические показатели крови и мочи у кошек в норме и при комплексном лечении мочекаменной болезни / Д. Ю. Барышев, И. Р. Шашанов, И. А. Пахмутов, А. Чвала // Ветеринарная практика. – 2005. – № 1 (28). – С 19–23.

6. Громова О. В. Ранняя диагностика мочекаменной болезни у кошек и собак / О. В. Громова, Д. Ю. Челночников // Российский ветеринарный журнал. – 2005. – №2. – С. 15–16.
7. Складнева Е. Ю. Морфофункциональные особенности лимфатического русла мочевого пузыря домашних плотоядных в постнатальном онтогенезе, при уролитиазе и лимфотропной коррекции: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 06.02.01 : защищена 21.03.2012 : утв. / Складнева Евгения Юрьевна. – Красноярск, 2012. – 48 с.
8. Тареева И. Е. Почечнокаменная болезнь / И. Е. Тареева, А. В. Кухтевич // Нефрология: руководство для врачей / под ред. И. Е. Тареевой. – Москва, 2000. – 2-е изд., перераб. и доп. – Гл. 18. – С. 413–421.
9. Чумаков В. Ю. Алгоритм диагностики уролитиаза у домашних плотоядных / В. Ю. Чумаков, Е. Ю. Складнева // Ветеринарная патология. – 2008. – № 1. – С. 90–92.
10. Пытель Ю. А. Нephrolithiaz / Ю. А. Пытель // Клиническая нефрология. Т. 2. / под ред. Е. М. Тареева / АМН СССР. – Москва, 1983. – Гл. 21. – С. 305–322.
11. Бушарова Е. В. Основы применения ультразвуковой диагностики у мелких домашних животных / Е. В. Бушарова; под ред. И. В. Чуваева. – СПб.: НОУДО «Институт Ветеринарной Биологии», 2008. – 100 с.
12. Маннион П. Ультразвуковая диагностика заболеваний мелких домашних животных. – М.: Аквариум, 2008. – 320 с. ISBN 978–5–9934–0053–2
13. Козловская Л. В. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования (с элементами программирования) / Л. В. Козловская, М. А. Мартынова ; Под ред. акад., проф. Е. М. Тареева и проф. А. В. Сумарокова. – Москва : Медицина, 1975. – 352 с.
14. Уиллард М. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных. / М. Уиллард, Г. Тведтен, Г. Торнвальд. – М.: Аквариум, 2004. – 432 с.
15. Середа С. В. Микроскопические исследования в диагностике заболеваний мелких домашних животных / С. В. Середа, Е. Б. Бажибина, Е. В. Маслюк // Под ред. Ф. И. Василевича. – М.: Зоомедлит, 2009. – 96 с.
16. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : Руководство / Г. Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 382, [1] с. ISBN 5–225–00753–8.
17. Автандилов Г. Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. / Г. Г. Автандилов, Н. И. Яблучанский, Н. И. Губенко – М.: Медицина, 1981. – 192 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Dinchenko O. I. Osobennosti urolitiaz u sobak i koshek v usloviyah megapolisa (rasprostranenie, ehtologiya, patogeneze, diagnostika i terapiya) [Peculiarities of urolithiasis in dogs and cats in metropolis (distribution, etiology, pathogenesis, diagnosis and therapy)]: dis. ... PhD in Veterinary Medicine and Science: 16.00.02, 16.00.01 : defense of the thesis 11.03.2015 : approved. / Dinchenko Oxana Ivanovna. – M., 2005. – 166 p. [in Russian]
2. Meleshkov S. F. Ul'trazvukovye issledovaniya organov mocheotdeleniya u koshek (Metodicheskie rekomendacii) [ultrasonic research of organs of a uropoiesis in cats (guidelines)] / S. F. Meleshkov // Aktual'nye voprosy veterinarnoy biologii. Biologiya. Molekulyarnaya biologiya [Actual questions of veterinary biology. Biology. Molecular biology]. – 2009. – №1(1). – P. 28 [in Russian]
3. Novikova M. V. Morfologicheskie i biohimicheskie izmeneniya pokazatelej krovi i mochi u koshek pri gidronefroze v ehksperimente [Morphological and biochemical changes of indicators of blood and urine in cats hydronephrosis in the experiment] / M. V. Novikova, G. G. Egorova // Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N. E. H. Bauman [Scientific notes of the Kazan state Academy of veterinary medicine. N. E. Bauman]. – 2010. – №1. – T. 204. – P. 169–173. [in Russian]
4. Letov I. I. Rentgenodiagnostika mocheopolovoj sistemy melkih domashnih zhivotnyh [Diagnostic radiology of urinary system of small animals]: abstract. dis. ... PhD in Veterinary Medicine and Science: 16.00.01: defense of the thesis 12.07.2005 : approved / Letov Ivan Ivanovich. – Voronezh, 2005. – 23 p. [in Russian]
5. Baryshev D. YU. Morfofunkcional'nye i biohimicheskie pokazateli krovi i mochi u koshek v norme i pri kompleksnom lechenii mochekamennoj bolezni [Morphofunctional and biochemical parameters of blood and urine of cats in normal conditions and in complex treatment of urolithiasis] / D. YU. Baryshev, I. R. SHashanov, I. A. Pahmutov, A. CHvala // Veterinarnaya praktika [Veterinary practice]. – 2005. – № 1 (28). – P. 19–23. [in Russian]
6. Gromova O. V. Rannaya diagnostika mochekamennoj bolezni u koshek i sobak [Early diagnosis of urolithiasis in cats and dogs] / O. V. Gromova, D. YU. CHelnochnikov // Rossijskij veterinarnyj zhurnal [Russian veterinary journal]. – 2005. – №2. – P. 15–16. [in Russian]
7. Skladneva E. YU. Morfofunkcional'nye osobennosti limfaticeskogo rusla mochevogo puzyrya domashnih plotoyadnyh v postnatal'nom ontogeneze, pri urolitiaz i limfotropnoj korrekcii [Morphological and functional features of lymphatic bed bladder domestic carnivores in postnatal ontogenesis, in urolithiasis and lymphotropic correction]: abstract. dis. ... PhD in Veterinary Medicine and Science: 06.02.01 : defense of the thesis 21.03.2012 : approved / Skladneva Evgeniya Yur'evna. – Krasnoyarsk, 2012. – 48 p. [in Russian]
8. Tareeva I. E. Pochechnokamennaya bolezni' [Nephrolithiasis] / I. E. Tareeva, A. V. Kuhtevich // Nefrologiya: rukovodstvo dlya vrachej [Nephrology: a guide for physicians] // edited by I. E. Tareevoy. – M., 2000. – 2nd edition. – Gl. 18. – P. 413–421. [in Russian]
9. CHumakov V. YU. Algoritm diagnostiki urolitiaz u domashnih plotoyadnyh [Algorithm for the diagnosis of urolithiasis domestic carnivorous] / V. YU. CHumakov, E. YU. Skladneva // Veterinarnaya patologiya [Veterinary pathology]. – 2008. – № 1. – P. 90–92. [in Russian]
10. Pytel' YU. A. Nephrolitiaz [Nephrolithiaz] / YU. A. Pytel' // Klinicheskaya nefrologiya [Clinical Nephrology]. Т. 2. / edited by E. M. Tareeva / АМН СССР. – М., 1983. – Gl. 21. – P. 305–322. [in Russian]
11. Busharova E. V. Osnovy primeneniya ul'trazvukovoj diagnostiki u melkih domashnih zhivotnyh [Basis for the use of ultrasound diagnostics in small animals] / E. V. Busharova // edited by I. V. CHuvaeva. – SPb.: NOUDO «Institut Veterinarnoy Biologii», 2008. – 100 p. [in Russian]

12. Mannion P. Ul'trazvukovaya diagnostika zabolevanij melkih domashnih zhivotnyh [Ultrasonic diagnostics of diseases of small animals]. – М.: Аквариум, 2008. – 320 p. ISBN 978–5–9934–0053–2. [in Russian]
13. Kozlovskaya L.V. Uchebnoe posobie po klinicheskim laboratornym metodam issledovaniya (s ehlementami programmirovaniya) [Textbook on clinical laboratory methods of research (with programming elements)] / L. V. Kozlovskaya, M. A. Martynova // edited by E. M. Tareeva, A. V. Sumarokova. – М.: Medicina, 1975. – 352 p. [in Russian]
14. Uillard M. Laboratornaya diagnostika v klinike melkih domashnih zhivotnyh [Laboratory diagnosis in the clinic of small animals]. / M. Uillard, G. Tvedten, G. Tornval'd. – М.: Аквариум, 2004. – 432 p. [in Russian]
15. Sereda S.V. Mikroskopicheskie issledovaniya v diagnostike zabolevanij melkih domashnih zhivotnyh [Microscopic examination in the diagnosis of diseases of small animals] / S.V. Sereda, E.B. Bazhibina, E.V. Maslyuk // edited by F.I. Vasilevicha. – М.: Zoomedlit, 2009. – 96 p. [in Russian]
16. Avtandilov G.G. Medicinskaya morfometriya : Rukovodstvo [Medical morphometry : a Guide] / G. G. Avtandilov. – М.: Medicina, 1990. – 382, [1] p. ISBN 5–225–00753–8. [in Russian]
17. Avtandilov G.G. Sistemnaya stereometriya v izuchenii patologicheskogo processa [System stereometry in pathological process studying] / G.G. Avtandilov, N. I. Yabluchanskij, N. I. Gubenko – М.: Medicina, 1981. – 192 p. [in Russian]

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ / MEDICINE

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.047>

Абрамова С.В.¹, Курганова О.Ю.², Богомолова Т.Ю.³, Миронова И.Н.⁴

¹ К.м.н., доцент, ^{2,3,4} студент,

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА У ПАЦИЕНТОК С НАРУШЕНИЕМ ФЕРТИЛЬНОСТИ ЭНДОКРИННОГО ГЕНЕЗА

Аннотация

Проблема инфертильности становится особенно актуальной и требует кардинального подхода для успешного разрешения, именно это и предопределило цель нашего исследования: установление закономерностей между дискоординированной работой системы ПОЛ, антиоксидантной протекцией и бесплодием эндокринного генеза. В исследовании приняли участие 45 женщин репродуктивного возраста. Из них 15 женщин (основная группа), не страдающие никакой патологией, и 30 женщин с бесплодием эндокринного генеза. Всем женщинам было проведено клиничко-лабораторное обследование с исследованием ключевых маркеров антиоксидантной защиты и оксидативного стресса, таких как: диеновые конъюгаты, кетодиены и сопряженные триены, антиокислительная активность, малоновый диальдегид, глутатион, ретинол, α-токоферол.

Ключевые слова: бесплодие эндокринного генеза, оксидативный стресс, антиоксидантная протекция.

Abramova S.V.¹, Kurganova O.Yu.², Bogomolova T.Yu.³, Mironova I.N.⁴

¹MD, Associate Professor, ^{2,3,4}Student,

National Research Mordovia State University

ESTIMATION OF INDICATORS OF ANTIOXIDANT STATUS IN PATIENTS WITH VIOLATION OF FERTILITY OF ENDOCRINE GENESIS

Abstract

The problem of infertility becomes especially urgent and requires a cardinal approach for successful resolution, which is what predetermined the purpose of our study: the establishment of patterns between the non-coordinated work of the LPO system, antioxidant protection and infertility of the endocrine genesis. The study involved 45 women of reproductive age. Of these, 15 women (the main group), not suffering from any pathology, and 30 women with infertility of endocrine genesis. All women underwent a clinical and laboratory examination with the study of key markers of antioxidant protection and oxidative stress, such as diene conjugates, ketodienes and conjugated trienes, antioxidant activity, malonic dialdehyde, glutathione, retinol, α-tocopherol.

Keywords: infertility of endocrine genesis, oxidative stress, antioxidant protection.

На сегодняшний день проблема бесплодного брака носит не только медицинский, социально-демографический, но и экономический характер. Данные официальной статистики неумолимо говорят, что частота бесплодных браков в Российской Федерации в начале 21 в. составила примерно 12-17% и имеет отчетливую тенденцию к росту [1, С. 126]. В рамках негативных тенденций, приведших к демографическому коллапсу, проблема инфертильности становится особенно актуальной и требует кардинального подхода для успешного разрешения [1, С. 126]. Основу патогенеза нейроэндокринных заболеваний (НЗ) органов репродуктивной системы (ОРС) составляет дискоординированная работы системы антиоксидантной защиты (САЗ) [2, С. 1042]. Под воздействием избыточной пероксидации начинают возникать сбои в биохимических процессах, протекающих как на уровне клетки, так и на уровне всего организма, тем самым воздействуя на реактивность и адаптивную перестройку. При дискоординированных состояниях в результате переактивизации системы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме происходит нарушение процессов антиоксидантной протекции (АП) [3, С. 16], что свидетельствует о развитии оксидативного стресса (ОС) [4, С. 223]. В связи с чем, определение взаимоотношений гипоталамо-надпочечниковой системы и системы ПОЛ выступают в новом ключе [5, С. 189], и в будущем позволят создавать и совершенствовать патогенетические принципы терапии, что в настоящее время особенно актуально [6, С. 122].

Цель исследования: установить закономерности между дискоординированной работой системы ПОЛ, антиоксидантной протекцией и бесплодием эндокринного генеза.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 45 женщин репродуктивного возраста. Из них 15 женщин (основная группа), не страдающие никакой патологией (средний возраст $23,4 \pm 3,2$ года), и 30 женщин с бесплодием эндокринного генеза (БЭГ), данная группа пациенток имела подтвержденный синдром гиперпролактинемического гипогонадизма (средний возраст пациенток $27,3 \pm 2,2$ года). Методика исследования заключалась в следующем: изучение анамнеза, основные клинические методы исследования, гинекологический осмотр, УЗИ органов малого таза. Всем пациенткам, принявшим участие в исследовании, было проведено: анкетирование, составленное с учетом всех анамнестических особенностей; общеклиническое и гинекологическое обследование; спектрофотометрическое определение продуктов перекисидации (диеновые конъюгаты – ДиК; кетодиены и сопряженные триены – КДИСТ); антиокислительная активность (АА), малоновый диальдегид (МД), глутатион, ретинол, α -токоферол. Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы Statistica 7.0. Был применен t-критерий Стьюдента. Достоверным считали результаты при $p < 0,005$.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования установлено, что в группе женщин с БЭГ уровень АА был выше на 54,4% и составил $20,1 \pm 1,13$ ЕД в сравнении с основной группой ($p < 0,001$), помимо этого уровень ДиК у женщин с БЭГ был повышен до $1,45 \pm 0,03$ ЕД, уровень КДИСТ был также выше и составил $0,67 \pm 0,05$ ЕД. Отмечено снижение уровня МД в группе у женщин с БЭГ до $1,23 \pm 0,09$ мкмоль/л, что на 14,45% ниже, чем в основной ($p < 0,001$). Таким образом, можно сказать об установленном факте гиперактивации системы ПОЛ. В ходе анализа полученных данных, нами было отмечено, что действительно, в группе пациенток с БЭГ наряду с повышением уровня АА крови, также отмечено повышение глутатиона до $2,12 \pm 0,09$ мкмоль/л. Вероятно, что данные изменения связаны с чрезмерным понижением активности глутатионредуктазы, либо с увеличением активности глутатионпероксидазы. Смещения равновесия в сторону того или иного показателя, негативно влияет на деятельность клетки, так как семейство глутатионпероксидаз, рассматривается в качестве фактора протекции, защищающего клеточные структуры от H_2O_2 [7, С. 359], восстанавливая перекиси до H_2O , а семейство глутатионредуктаз, напротив, способствует поддержанию высоких внутриклеточных концентраций восстановленных форм глутатиона, катализируя процесс восстановления окисленного глутатиона [8, С. 1387]. Помимо этого у пациенток с БЭГ в сравнении с группой женщин без патологии отмечено снижение ключевых компонентов системы АП: содержание α -токоферола снизилось до $9,95 \pm 1,23$ мкмоль/л, что на 23,2% ниже, чем в основной группе, ($p < 0,001$); содержание аскорбата понизилось до $49,98 \pm 5,12$ мкмоль/л, что на 15,45% ниже чем в группе женщин без БЭГ ($p < 0,001$). Мы, также отметили следующую закономерность, содержание ретинола в крови у женщин с БЭГ было снижено в 2,5 раза в сравнении с контрольными значениями у женщин в основной группе ($p < 0,001$). Возможно, данный эффект связан с повышенным расходом ретинола на инактивацию системы ПОЛ, за счет обеспечения физиологических уровней α -токоферола, обусловленного их синергическими взаимоотношениями [10, С. 635].

В процессе анализа статуса системы АП в группе больных с БЭГ и группой пациенток без патологии отмечено повышение АА крови. Ввиду различной активности ПОЛ в начальных фазах процесса содержание конечного метаболита перекисидации — МД в группах значительно разнится. Данная особенность может быть обусловлена инициацией компенсаторно-приспособительных механизмов. К таким механизмам можно отнести действие пролактина. До сегодняшнего дня значение пролактина в процессах перекисидации и антиоксидантной протекции весьма неоднозначна и даже скорее сомнительна, но вполне доказанным фактом является то, что процентное содержание в крови пролактина влияет на амфотерные свойства пролактина (может выступить и как в качестве антиоксиданта, и как в роли протоксиданта, выступая иницирующим фактором ПОЛ) [9, С. 19]. Результаты клинико-лабораторного обследования женщин, принявших участие в исследовании, доказали, что при равных уровнях АА крови с повышенным содержанием ДиК более чем в 50% случаев имелось высокое содержание пролактина. Данную особенность можно интерпретировать следующим образом: ввиду высокой концентрации пролактина в крови у пациенток и при снижении работы системы антиоксидантной протекции, проявляющуюся снижением ферментативных и молекулярных фракций антиоксидантов, вызывает повышение антиокислительной активности крови, что отчетливо можно проследить, сравнивая данные с основной группой.

Таким образом, БЭГ сопряжено с чрезмерным повышением АА крови. Процессы, сопряженные с системой ПОЛ приобретают негативный и неконтролируемый характер, что отражается в консолидации первичных метаболитов липопероксидации, а именно, ДиК. Помимо этого, концентрация конечного метаболита-МД в группе с БЭГ достоверно выше, в сравнении с пациентками, не страдающих БЭГ и прочими ассоциируемыми заболеваниями. Маркеры, отражающие характеристики антиоксидантного статуса у пациенток с БЭГ достоверно не отличаются, но в сравнении с показателями у пациенток в основной группе, установлено, что количественные изменения метаболитов АП, ввиду больших расходов аскорбата, α -токоферола, ретинола и кумуляции окисленного глутатиона с восстановленной дисульфидной связью. Полученные в ходе нашего исследования результаты, послужили экспериментальной основой патогенетического обоснования для внедрения в комплексную терапию для пациенток с БЭГ антиоксидантных препаратов, ингибирующих чрезмерную инициацию перекисидации.

Список литературы / References

1. Agarwal A. Role of oxidative stress in infertility/ A. Agarwal, S. Gupta, N. Krajcir// Reproductive BioMedicine Online. -Vol. 13. -№ 1.- July 2016. -Pp. 126-134.
2. Barcz E. Role of cytokines in pathogenesis of endometriosis/E. Barcz, P. Kamieski, L. Marianowski// 11 Med. Sci. Monit. -2010. - Vol. 6.-№5. - Pp. 1042-1046.
3. Brock, J.H. The physiology of lactoferrin/ J.H. Brock//Biochem Cell Biol.-2012.-№ 80. -P.16.
4. Burgova E.N. Nitric oxide, metals and endothelial function/ E.N. Burgova, M.S. Gubareva, L.E. Murashko, V.D. Mikoyan, A.F. Vanin// Eur J Clin Invest 2014.-V. 34. –Supl. I, - Pp.223-224.
5. De Leon F.D. Peritoneal fluid volume, estrogen, progesterone, prostaglandin, and epidermal growth factor

concentrations in patients with and without endometriosis/F.D. de Leon, R. Vijayakumar// Obstet. and Gynec. -2009. - Vol.68. - Pp. 189-194.

6. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence/ B. Halliwell//Lancet. - 2014. -№1344. -Pp.121-124.

7. Hayashida K. Bovine lactoferrin has a nitric oxide-dependent hypotensive effect in rats/ K. Hayashida, T. Takeuchi, T. Ozaki// Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. -2014.-№ 286. -Pp.359-365.

8. Ulrich D. Toward the use of endometrial and menstrual blood mesenchymal stem cells for cell-based therapies/ D. Ulrich, R. Muralitharan// Expert Opin Biol Ther. -2013.-№123 -Pp.1387-1400.

9. Winslow T. Regenerative Medicine. <http://stemcells.nih.gov/staticresources/info/scireport/PDFs/RegenerativeMedicine>. -2016. pdf.104 p.

10. Wobus A.M., Boheler K.R. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy// A.M. Wobus, K.R. Boheler/Physiol Rev. -2005. -№ 85. -Pp.635-678.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.048>

Бахметьев А.С.¹, Степченкова Е.А.², Лойко В.С.³, Коваленко В.И.⁴,
Зоткин В.В.⁵, Аванесян Г.А.⁶, Сухоручкин А.А.⁷, Курсаченко А.С.⁸

¹ORCID: 0000-0003-3814-5515, соискатель кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВПО РМАНПО,, ассистент кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии им. Н.Е. Штерна Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского;

²кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по лечебной работе Клинической больницы им. С.Р. Миротворцева СГМУ, г. Саратов;

³кандидат медицинских наук, ассистент кафедры урологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов

⁴доктор медицинских наук, профессор кафедры сердечно-сосудистой хирургии ФГБОУ ВПО РМАНПО, г. Москва;

⁵врач НИИТОН ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов;

⁶студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского;

⁷ORCID: 0000-0001-8039-1600, врач ультразвуковой диагностики ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского;

⁸клинический ординатор кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии им. Н.Е. Штерна, ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского

ФЛОТИРУЮЩАЯ ИНТИМА В БАСЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПРЕДИКТОР ОСТРЫХ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Аннотация

В статье приведен обзор литературы и собственные клинические наблюдения 122 пациентов с флотирующей интимой в бассейне общей и внутренней сонных артерий. Проанализированы возможные факторы риска образования подвижной структуры, инструментально-диагностические особенности выявления, а также возможная связь мобильных лоскутов интимы с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Также в заключительном разделе рассмотрены ультразвуковые отличительные особенности рассматриваемой находки и возможных артефактов.

Ключевые слова: атеросклероз, ультразвуковое ангиосканирование, брахиоцефальные артерии, острое нарушение мозгового кровообращения.

Bakhmetev A.S.¹, Stepchenkova E.A.², Loyko V.S.³, Kovalenko V.I.⁴,
Zotkin V.V.⁵, Avanesyan G.A.⁶, Sukhoruchkin A.A.⁷, Kursachenko A.S.⁸

¹ORCID: 0000-0003-3814-5515, Assistant, department of radiation diagnosis and radiotherapy, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky;

²MD, vice-chief medical officer, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky;

³MD, assistant, department of urology, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky Saratov;

⁴MD, professor RMAPE, Moscow; ⁵doctor, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky;

⁶student of medical faculty, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky; ⁷doctor of ultrasound diagnostics, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky;

⁸postgraduate, department of radiation diagnosis and radiotherapy, Saratov State Medical University named by V.I. Razumovsky.

FLOTATION INTIMA IN CAROTID ARTERIES AS A POSSIBLE PREDICTOR OF ACUTE DISTURBANCE OF CEREBRAL CIRCULATION

Abstract

The article gives a review of the literature and own clinical observations of 122 patients with flotation intima in the common carotid artery and internal carotid artery. Possible risk factors for the formation of a mobile structure, instrumental diagnostic features of detection, as well as possible connection of mobile intima flaps with acute disturbance of cerebral circulation were analyzed. Also in the final section, the ultrasonic distinctive features of the considered find and possible artifacts are considered.

Keywords: atherosclerosis, ultrasound diagnostics, brachiocephalic arteries, acute disturbance of cerebral circulation.

Атеросклеротическое поражение брахиоцефальных артерий (БЦА) является одной из основных причин развития острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) по ишемическому типу [1]. Принято считать, что гемодинамически-значимая атеросклеротическая бляшка (АСБ), расположенная в бифуркации общей

сонной артерии (ОСА) или в устье внутренней сонной артерии (ВСА), является независимым фактором риска ОНМК [2]. Выделяют АСБ разных типов в зависимости от концентрации того или иного вещества в структуре бляшки, среди которых особое место занимают «нестабильные» АСБ с нарушенной целостностью покрышки, склонные к распаду и быстрому росту [3], [4], [5].

Наряду с изученными эмболоопасными АСБ некоторые авторы выделяют наличие подвижных элементов интимы в виде визуализируемых при ультразвуковом ангиосканировании гиперэхогенных подвижных тонких полосок, прикрепленных или непосредственно к стенке артерии или же являющихся частью сформированной АСБ [6], [7], [8], [9]. Единичные сообщения указывают на возможную связь появления флотирующих элементов с такими заболеваниями, как артериит Такаясу и синдром Марфана. Так, корейские исследователи во главе с Kwang Kyun Yang в 2013 г. описали случай флотирующей интимы в бифуркации правой ОСА (задняя стенка) у женщины 39 лет с артериитом Такаясу [6]. Немаловажно отметить, что описываемый подвижный элемент сопровождался наличием сужения просвета артерии за счет утолщения стенки не более чем на 30% по диаметру (связи с атеросклеротическим процессом выявлено не было). Пациентку беспокоили головные боли, эпизодов ОНМК отмечено не было. В другом клиническом случае, описанном J.U. Hagger et al., флотирующую интиму длиной 13 мм при ультразвуковом исследовании выявили у 52-летней женщины с синдромом Марфана [7]. Подвижное образование было локализовано в проксимальной части левой общей сонной артерии (задняя стенка) и вызывало локальную турбулентность кровотока. Толщина комплекса «интима-медиа» (ТКИМ) не превышала нормальные значения (0,9 мм). Пациентка оставалась бессимптомной на протяжении всего периода наблюдения.

Помимо указанных выше единичных случаев наличия флотирующей интимы в ОСА, нам встретилась работа итальянских авторов во главе с Luigi Di Pino, в которой рассматриваются 96 пациентов с подвижным элементом в бассейне сонных артерий, обследованных ультразвуковым методом диагностики в период с октября 2015 г. по октябрь 2016 г. [8]. Абсолютно у всех пациентов при проведении ангиосканирования выявлены те или иные атеросклеротические изменения стенки артерии (большинство пациентов имело лишь увеличенную ТКИМ). В своей публикации авторы предлагают трактовать мобильную находку как эволюционное звено атеросклеротического процесса на ранних этапах. Стоит отметить, что большинство пациентов (57,3%) страдало артериальной гипертензией и дислипидемией (61,5%). О связи флотирующего элемента с развитием ОНМК не сообщается.

В свою очередь, мы располагаем собственными аналогичными наблюдениями за 122 пациентами в период с март 2015 г. по ноябрь 2017 г. Целью нашей работы является выявление клинических и инструментальных особенностей у пациентов с флотирующими элементами интимального слоя стенки артерии, выявление предполагаемых факторов риска мобильных структур и определение их возможной связи с развитием ОНМК.

Материал и методы. Проанализирована ультразвуковая и клиническая картина 144 ОСА и ВСА с подвижным флотирующим элементом у 122 пациентов (мужчины – 60; женщины – 62) в возрасте 19-82 лет (средний возраст – 49,8 лет). Исследование проведено на базе отделения ультразвуковой и функциональной диагностики клинической больницы им. С.Р. Миротворцева (г. Саратов) и кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии им. Н.Е. Штерна Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского на ультразвуковых приборах экспертного класса Philips HD 11 XE и Siemens SC2000 Prime. Ультразвуковое ангиосканирование БЦА проводилось по стандартной методике с измерением диаметра магистральных артерий, степени сужения при выявлении стенозирующего поражения, а также оценкой параметров гемодинамики. Стенозирующим поражением считали сужение просвета артерии более чем на 20% при измерении в поперечном сечении. Помимо оценки пролонгации субстрата и степени сужения артерии, проанализирована экоструктура сформировавшихся АСБ. У всех пациентов оценивали ТКИМ. За нормальные показатели неизменной стенки артерии принимали значения не более 0,9 мм.

Результаты и обсуждение. В подавляющем большинстве случаев (109 ОСА; 75,7%) флотирующая интима лоцировалась в месте утолщенной задней стенки (начальные атеросклеротические изменения) бифуркации при отсутствии стенозирующего атеросклеротического поражения. В устье ВСА рассматриваемая флотирующая структура диагностирована в 28 случаях (19,4%) и практически всегда ассоциировалась с наличием сформированной атеросклеротической бляшки. Среди пациентов с образованием подвижного элемента в устье ВСА необходимо выделить двух пациентов, перенесших каротидную эндартерэктомию в связи со значимым атеросклеротическим поражением устья. Необходимо отметить, что в этом случае мы имеем дело с флотирующими лоскутами АСБ, которые при ультразвуковом сканировании выглядят совершенно также, как флотирующая интима при отсутствии атеросклероза. В бифуркации 7 ОСА (4,9%) подвижная интима выявлена по передней стенке (7 пациентов). Средняя протяженность флотирующей интимы у исследуемых пациентов составила 7,7 мм (min-3 мм, max-14,5 мм).

Эпизоды ОНМК на стороне имеющегося флотирующего элемента зарегистрированы у 15 (12,3%) пациентов (во всех случаях транзиторные ишемические атаки – ТИА). Примечательно, что только в одном случае с ТИА подвижная интима обнаружена вкупе с гемодинамически-значимой АСБ (стеноз 66% по площади; гиперэхогенный мобильный элемент лоцировался у дистального окончания АСБ). У всех пациентов с ОНМК отмечалась локальная турбулентность кровотока в фазу систолы. Примечательно, что у лиц с ТИА минимальная длина флотирующей интимы составляла 8 мм (в среднем – 11,2 мм) и, по-видимому, именно в связи с этим возникала локальная турбулентность кровотока. Необходимо отметить, что при осмотре неврологом не было выявлено каких-либо других возможных причин ОНМК у рассматриваемых больных. Также не обнаружено корреляции между наличием ТИА и факторами риска атеросклероза. Но отдельно стоит отметить о наличии артериальной гипертензии у подавляющего количества пациентов (101 пациент, 82,8%).

Нарушение липидного обмена при проведении лабораторных тестов крови отмечено у 67 (54,9%) пациентов. Наиболее частым вариантом дислипидемии являлось увеличение общего холестерина (48,3%) и липопротеидов низкой плотности (38,5%). Корреляции между наличием флотирующей интимы и такими заболеваниями, как сахарный диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, ишемическая болезнь сердца не выявлено.

Ультразвуковое ангиосканирование БЦА является наиболее доступным и информативным инструментальным

неинвазивным методом диагностики нестабильных АСБ и подвижных интраваскулярных элементов в ОСА и ВСА, а также оценки ТКМ [8], [9], [10]. По мере улучшения качества получаемой визуализации на современных ультразвуковых приборах экспертного класса, стало возможным не только охарактеризовать структуру АСБ или выявить начальные признаки атеросклеротического процесса, но и обнаружить ранее малозаметные на приборах высокого класса разрешения подвижные гиперэхогенные интраваскулярные элементы стенки артерии или уже сформировавшейся АСБ, отрыв которых потенциально может привести к ОНМК по типу артерио-артериальной эмболии. В то же время, выявление рассматриваемых структур может представлять весьма значимый клинический интерес, учитывая наличие симптоматики (ОНМК) у ряда пациентов на основе собственных наблюдений.

Как отличить рассматриваемую флотирующую находку от артефакта? Прежде всего, на наш взгляд, подвижная структура должна визуализироваться как в поперечном, так и в продольном ультразвуковом сечениях. В наше исследование не вошли пациенты с локализуемой подвижной интимой, визуализируемой из какой-либо одной плоскости. Немаловажно выявить подвижность интимы в такт сердечному ритму. Именно этот факт достоверно указывает на непринадлежность находки к венозному клапану. Помимо использования серошкального режима мы также рассматриваем зону интереса в режиме цветовой доплеровской визуализации. У всех пациентов с флотирующей интимой длиной более 5 мм локализуется характерный цветовой дефект заполнения, что дополнительно, независимо от всего вышесказанного, указывает на достоверность наличия подвижного образования.

Выводы.

1. Эпизоды ОНМК в виде ТИА зарегистрированы у 12,3% пациентов на стороне наличия флотирующего элемента. Учитывая отсутствие каких-либо других причин ишемических эпизодов у этих пациентов, можно с большой долей вероятности предполагать наличие подвижных структур в бифуркации ОСА в качестве основной причины.
2. В большинстве случаев (75,7% пациентов) флотирующая интима располагалась по задней стенке в области бифуркации и сопровождалась нестенозирующим атеросклеротическим процессом (утолщение ТКМ).
3. Наличие артериальной гипертензии сопровождало образование флотирующих структур у 82,8% пациентов, что, вероятно, может являться значимым фактором риска. Дислипидемия выявлена у 54,9% пациентов.
4. Несмотря на достаточное количество пациентов с флотирующей интимой, этиопатогенетические механизмы образования структуры не изучены и требуют дальнейших исследований как на инструментальном, так и молекулярном уровнях.

Список литературы / References

1. Суслина З.А., Пирадова М.А. Инсульт: диагностика, лечение, профилактика / З.А. Суслина. – МЕДпресс-информ, 2008. – 288 с.
2. Hacke W. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials / W. Hacke, G. Donnan, C. Fieschi // *Lancet*. – 2004. – Vol. 363. – № 9411. – P. 768–774.
3. Bentzon J.F. Mechanisms of plaque formation and rupture / J.F. Bentzon, F. Otsuka, R. Virmani // *Circ Res*. – 2014. – Vol. 114. – P. 1852–1866.
4. Yin R. Biomarkers of cerebral microembolic signals / R. Yin, A. Ma, X. Pan, S. Yang // *Clin Chem Acta*. – 2017. – Vol. 475. – №3. – P. 164–168.
5. Skagen K. Unstable carotid artery plaque: new insights and controversies in diagnostics and treatment / K. Skagen, M. Skjelland, M. Zamani, D. Russel // *Croat Med J*. – 2016. – Vol. 31. – №57 (4). – P. 11–320.
6. Konstantinos V. Flapping of the Dissected Intima in a Case of Traumatic Carotid Artery Dissection in a Jackhammer Worker / V. Konstantinos, J. Heliopoulos, F. Serdari // *J Clin Ultrasound*. – 2009. – Vol. 37. – P. 221–222.
7. Harrer J.U. Intimal Flap in a Common Carotid Artery in a Patient with Marfan's Syndrome / J.U. Harrer, A. Sasse, C. Klötzsch // *Ultraschall in Med*. – 2006. – Vol. 27. – P. 487–488.
8. Di Pino L. Carotid Thin Fluttering Bands: Fact or Artifact? / L. Di Pino, L. Costanzo, C. Tamburino // *J Non Invasive Vasc Invest*. – 2017. – Vol. 2. – P. 6–8.
9. Бокерия Л.А. Ультразвуковая оценка подвижных элементов интимы и атеросклеротических бляшек в бассейне сонных артерий / Л.А. Бокерия, А.С. Бахметьев, М.В. Шумилина, В.И. Коваленко и др. // *Клиническая физиология кровообращения*. – 2017. – Т. 14 (3). – С. 152–157.
10. Бахметьев А.С. Толщина комплекса «интима-медиа» плечевой артерии у клинически здоровых лиц / А.С. Бахметьев, А.А. Сухоручкин, В.С. Лойко, В.А. Сухоручкин и др. // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2017. – № 1-1 (55). – С. 86–88.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Suslina Z.A. Insult: diagnostika, lechenie, prophylaktika [Stroke: diagnostics, treatment, prevention] / Z.A. Suslina. – MEDpress-inform, 2008. – 288 p. [in Russian]
2. Hacke W. Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials / W. Hacke, G. Donnan, C. Fieschi // *Lancet*. – 2004. – Vol. 363. – № 9411. – P. 768–774.
3. Bentzon J.F. Mechanisms of plaque formation and rupture / J.F. Bentzon, F. Otsuka, R. Virmani // *Circ Res*. – 2014. – Vol. 114. – P. 1852–1866.
4. Yin R. Biomarkers of cerebral microembolic signals / R. Yin, A. Ma, X. Pan, S. Yang // *Clin Chem Acta*. – 2017. – Vol. 475. – №3. – P. 164–168.
5. Skagen K. Unstable carotid artery plaque: new insights and controversies in diagnostics and treatment / K. Skagen, M. Skjelland, M. Zamani, D. Russel // *Croat Med J*. – 2016. – Vol. 31. – №57 (4). – P. 11–320.
6. Konstantinos V. Flapping of the Dissected Intima in a Case of Traumatic Carotid Artery Dissection in a Jackhammer Worker / V. Konstantinos, J. Heliopoulos, F. Serdari // *J Clin Ultrasound*. – 2009. – Vol. 37. – P. 221–222.
7. Harrer J.U. Intimal Flap in a Common Carotid Artery in a Patient with Marfan's Syndrome / J.U. Harrer, A. Sasse, C. Klötzsch // *Ultraschall in Med*. – 2006. – Vol. 27. – P. 487–488.

8. Di Pino L. Carotid Thin Fluttering Bands: Fact or Artifact? / L. Di Pino, L. Costanzo, C. Tamburino // J Non Invasive Vasc Invest. – 2017. – Vol. 2. – P. 6-8.
9. Bockeria L.A. Ultrazvukovaya otsenka podvizhnykh elementov intimy i atheroscleroticheskikh blyashek v basseine sonnykh arterij [Ultrasound assessment of mobile elements of intima and atherosclerotic plaques in carotid arteries] / L.A. Bockeria, A.S. Bakhmetev, M.V. Shumilina, V.I. Kovalenko and others // Klinicheskaya fiziologiya krovoobrascheniya [Clinical physiology of Circulation]. – 2017. – Vol. 14 (3). – P. 152-157 [in Russian]
10. Bakhmetev A.S. Tolschina kompleksa «intima-media» plechevoi arterij u klinicheski zdorovykh lits [intima-media thickness of brachial artery in healthy persons] / A.S. Bakhmetev, A.A. Sukhoruchkin, V.S. Loyko, V.A. Sukhoruchkin and others // Mezhdunarodny nauchno-issledovatel'skij zhurnal [International Research Journal]. – 2017. – № 1-1 (55). – P. 86-88 [in Russian]

DOI: <https://doi.org/>Белоцерковская Е.В.¹, Сучкова И.О.², Борисова Е.В.³, Боровкова Н.К.⁴, **Павлинова Л.И.**⁵, Паткин Е.Л.⁶.¹ORCID: 0000-0003-3985-9552, кандидат биологических наук, научный сотрудник,²ORCID: 0000-0003-2127-0459, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,³ORCID: 0000-0002-7057-3096, кандидат медицинских наук, зав. Отделением,⁴ORCID: 0000-0003-1804-6368, аспирант,⁵ORCID: 0000-0002-5848-5544, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова, ведущий научный сотрудник⁶ORCID: 0000-0002-6292-4167, Доктор биологических наук, профессор,

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-04642-а

СОЧЕТАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *CSTB* И *ACAP3* ПРИ СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИИ И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.**Аннотация**

С помощью ПЦР в режиме реального времени проведен анализ уровня мРНК генов центаурина бета 5 (*ACAP3*) и цистатина Б (*CSTB*) в лейкоцитах периферической крови у здоровых людей, а также у пациентов с симптоматической эпилепсией и болезнью Паркинсона (форма с ранним дебютом). По сравнению с контролем обнаружено повышение уровня мРНК гена *ACAP3* у мужчин и женщин с эпилепсией (в 2,5- и 5-раз соответственно), а также у женщин с болезнью Паркинсона (примерно в 6 раз). Кроме того, у женщин наблюдалось снижение уровня мРНК гена *CSTB* при эпилепсии (примерно в 3 раза) и при болезни Паркинсона (примерно в 2,5 раза). Полученные данные указывают на возможное участие исследованных генов в патогенезе симптоматической эпилепсии и болезни Паркинсона.

Ключевые слова: периферическая венозная кровь, ПЦР в режиме реального времени, экспрессия генов *ACAP3* и *CSTB* gene expression, симптоматическая эпилепсия, болезнь Паркинсона.

Belotserkovskaya E.V.¹, Suchkova I.O.², Borisova E.V.³, Borovkova N.K.⁴,**Павлинова Л.И.**⁵, Patkin E.L.⁶.¹ORCID: 0000-0003-3985-9552, PhD in Biology, scientist, ²ORCID: 0000-0003-2127-0459, PhD in Biology,³ORCID: 0000-0002-7057-3096, MD, The Neurology, ⁴ORCID: 0000-0003-1804-6368, Postgraduate student,⁵ORCID: 0000-0002-5848-5544, PhD in Biology, leading scientist⁶ORCID: 0000-0002-6292-4167, PhD in Biology, Professor,

FSBSI "The institute of experimental medicine".

The work was supported by RFBR grant № 15-04-04642-a

CONCURRENT CHANGES OF *CSTB* AND *ACAP3* GENES EXPRESSION IN SYMPTOMATIC EPILEPSY AND PARKINSON'S DISEASE**Abstract**

Real-time PCR analysis of the mRNA level of the genes of cetaurin beta 5 (*ACAP3*) and cystatin B (*CSTB*) in peripheral blood leukocytes in healthy people and in patients with symptomatic epilepsy and Parkinson's disease (early debut form) was performed. Compared to the control, an increase in the mRNA level of the *ACAP3* gene in men and women with epilepsy (2.5 and 5 times, respectively) was found, as well as in women with Parkinson's disease (approximately 6-fold). In addition, a decrease in the mRNA level of the *CSTB* gene was observed in women with epilepsy (approximately 3-fold) and Parkinson's disease (approximately 2.5-fold). The data obtained indicate the possible involvement of the investigated genes in the pathogenesis of symptomatic epilepsy and Parkinson's disease.

Keywords: periphery venous blood, real-time PCR, *ACAP3* and *CSTB* gene expression, symptomatic epilepsy, Parkinson's Disease.

Introduction

Epilepsy is one of the most common neurological disorders with neurodegenerative features connected with numerous changes at the cellular or synaptic level such as defective arborization of the neurons and synaptic reorganization [1, P. 99]. Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder affecting both dopaminergic and non-dopaminergic neuronal systems. Pathogenesis of PD is associated with the destruction of specific neuron populations, synaptic damage and the presence of misfolded or aggregated proteins [2, P. 151], [3, P. 12]. The clinical findings support the assumption of the neurological comorbidity of epilepsy with PD [4, P. 45], [5, P. 1613], [6, P. 349]. The link between neurodegenerative diseases

(including PD) and progressive myoclonus epilepsies [7, P. 390], [8, P. 293], [9, P. 61] may be explained by some common molecular and cellular mechanisms due to dysfunction of the mutual genes responsible for the structure and functioning of nerve cells.

Cystatin B protein (also known as CSTB; StB; stefin B) is one of numerous proteins possibly involved in process of neurodegeneration. Cystatin B is a member of a large family of intracellular inhibitors of cysteine proteinases [10, P. 5406]. It downregulates the cathepsins and interacts with a number of proteins involving in cell growth and cytoskeletal organization as part of a multiprotein complex [11, P. 2941], [12, P. 557], [13, P. 205]. It is well established that a cause of progressive myoclonus epilepsy (EPM1) of Unverricht-Lundborg type is mutations in the *CSTB* gene [14, P. 847], [15, P. 1731], [16, P. 5910]. The cystatin B deficiency leads to oxidative stress and neurodegeneration [17, P. 85], [18, P. 319], [19, P. 88]. The involvement of *CSTB* gene in the general mechanisms that regulate the cell survival [20, P. 561] is also confirmed by the increased lysosomal dysfunction [21, P. 2256], microglial activation [22, P. 40] and axonal degeneration [23, P. e90709] obtained in cystatin B-deficient mouse brains. Cystatin B may be involved in deregulation of autophagy which was found in myoclonus epilepsies [24, P. 991], [8, P. 293], [25, P. 15704]. It is important that PD is also characterized by an activated microglia [26, P. 113] and an impaired autophagy [27, P. 317], [28, P. 728], [29, P. 13].

Together with CSTB proteins, an emerging class of cellular proteins -Arf GAPs (GTPase-activating proteins that induce hydrolysis of GTP bound to ADP-ribosylation factor, also Arf GTPases), is integral component of important signaling pathways [30, P. 347], [31, P. 362]. Arf GAPs participate in dendritic differentiation [32, P. 2683], cytoskeleton reorganization [33, P. 792], membrane remodeling and trafficking due to specific interactions with phospholipids and proteins [34, P. 541], [35, 258], [36, P.329] as well as secretion, endocytosis, phagocytosis, cytokinesis, cell adhesion [37, P. 2646], [38, P. 59]. Like CSTB proteins, the Arf GTPases have been shown to play key roles in autophagy [39, P. 1059]. Thus, along with other factors, the disturbances in enzymatic activities of Arf GAPs leading to destruction of membrane remodeling processes may be reasons of human disease [40, P.624], as it was shown in some forms of PD [41, P. S92], [42, P. 1074], [43, P. e1002526].

We previously showed that the gene *ACAP3* (*ArfGAP* encodes centaurin β -5) may be connected with epilepsy and PD. Polymorphism of intronic minisatellite UPS29 of gene *ACAP3* have been associated with onset of PD and with some forms of epilepsy in women [44, P. 128], [45, P. 33]. At the same time, this minisatellite exhibited an enhancer-like activity in neuronal type cells [46, P. 715]. It is possible, that disturbances in this minisatellite referred to these pathologies may be reflected in the change of the *ACAP3* gene expression.

Taken together, these data indicate a potential common metabolic pathways in some forms of epilepsy and PD and a possible involvement of *ACAP3* and *CSTB* genes in pathogenesis of these diseases. We suppose that these two genes jointly participate in metabolic network of epilepsy and PD disorders and coexisting changes in their expression could be expected. Moreover, we assume that involvement of *CSTB* gene will be more common sign of other forms of epilepsy along with a clearly defined mutations of this gene in the pathogenesis of EPM1.

Thus, the aim of this study was to detect the mRNA levels of *ACAP3* and *CSTB* genes in leukocytes of periphery venous blood of patients with symptomatic epilepsy and PD.

Methods

Subjects (patients and control group)

Informed written consent was obtained from all participants according to the ethical committee of the Institute of Experimental Medicine RAMS. All the patients (from Neurologic Clinic of the Institute of Experimental Medicine) and controls were residents of St-Petersburg (Russian Federation) and Caucasian. The healthy subjects included 11 men ($M \pm SD$, $34,1 \pm 14,1$ years old) and 21 women ($M \pm SD$, $30,3 \pm 10,1$ years old); the PD subjects included 9 men ($M \pm SD$, $41,0 \pm 9,2$ years old) and 10 women ($M \pm SD$, $42,4 \pm 9,9$ years old), and the epilepsy subjects included 11 men ($M \pm SD$, $36,5 \pm 16,6$ years old) and 11 women ($M \pm SD$, $37,1 \pm 14,3$ years old). Symptomatic epilepsies (polymorphous convulsive and partial attacks) are easily diagnosed by the presence of developmental delay, neurologic abnormalities, and a characteristic seizure and EEG pattern. PD (early onset (30–50 years of age) diagnoses are based on the combination of the clinical motor signs of bradykinesia, rigidity, tremor and postural instability and non-motor symptoms such as depression and apathy. Healthy controls had no apparent neurological symptoms, had no history of seizures, epilepsy, personal or family neurodegenerative diseases.

Isolation of leukocyte mass

Venous blood (5 ml) was collected into "K⁺-EDTA" tubes (Sarstedt, Germany) and was incubated at 37 °C for 1 hour. Plasma with a layer of leukocyte mass was transferred to 2 ml tubes and centrifuged at 100 g for 10 min. The supernatant (serum) was removed; the leukocyte pellet was resuspended in 200 μ l of 1^xPBS. The leukocyte concentration was evaluated in the Goryaev's chamber. About 3×10^6 cells were taken for the subsequent isolation of total RNA from the leukocyte mass, centrifuge at 100 g for 5 min. Supernatant (1^xPBS) was removed, the leukocyte pellet was resuspended in 500 μ l of TRIzol reagent (Invitrogen, USA). The suspension of leukocytes in TRIzol reagent was stored at -20 °C until RNA isolation, but not more than 1 month.

Isolation of total RNA

Leukocyte mass (3×10^6 cells) in 500 μ l TRIzol reagent was thawed, another 500 μ l of Trisol was added, mixed and incubated at room temperature for 15 minutes. Then total RNA was extracted from these cells according to manufacturer's instructions (Invitrogen, USA):

The samples were centrifuged at 12.000 g for 10 minutes at 4°C. Supernatant (TRIzol fraction) was transferred to a new 1.5 ml centrifuge tube, and 200 μ l of cooled chloroform: isoamyl alcohol mix (24:1) was added, carefully mixed and incubated at room temperature for 15 minutes. The samples were centrifuged at 12.000 g for 15 minutes at 4°C. The upper phase (containing RNA) was transferred to a new 1.5 ml tube, and 500 μ l of cooled isopropanol was added, carefully mixed and incubated for 10-15 minutes at room temperature. The samples were centrifuged at 12.000 g for 15 minutes at 4°C. Supernatant was removed. 800 μ l of 70% ethanol was added to the RNA precipitate. 70% ethanol was prepared on distilled ethanol and

DEPC-treated H₂O. Incubate 5 min at room temperature. The samples were centrifuged at 12.000 g for 15 minutes at 4°C. The step with 70% ethanol was repeated once more. The samples were centrifuged at 12.000 g for 15 minutes at 4°C. Supernatant was removed; the RNA precipitate was dried in air from alcohol residues. RNA precipitate was dissolved in 30-50 µl of deionized diethyl-pyrocabonate-treated water (0,1% DEPC) (Median Filter, Russia). RNA concentration was determined using the Nanodrop 2000c spectrophotometer (Thermo Scientific, USA). Extracted RNA quality was assessed with electrophoresis in a 1,2% agarose gel.

DNase treatment

DNase treatment of RNA solution was carried out for 30 min at 37°C using 2 units of DNase I (Qiagen, Germany), 2 units of RNase inhibitor (Synthol, Russia), total volume of 30 µl. DNase was inactivated by adding EDTA to a final concentration of 2 mM. The DNase-treated RNA was precipitated by the addition of NaCl (final concentration 0.2 M) and 2.5 volumes of distilled ethanol. Samples were incubated for night at -20°C, and then were centrifuged for 15 minutes at 12.000 g. Supernatant was removed, 500 µl of 70% ethanol was added to the precipitate, and at 12.000 g for 15 minutes at 4°C. Supernatant was removed, and the precipitate was dried in air from alcohol residues. RNA was dissolved in 20 µl of deionized diethyl-pyrocabonate-treated water (Median Filter, Russia). RNA concentration was determined using the Nanodrop 2000c spectrophotometer (Thermo Scientific, USA). Extracted RNA quality was assessed with electrophoresis in a 1,2% agarose gel. The presence of DNA impurities in the RNA solution was checked by real-time PCR with primers to exons 17 and 18 of *ACAP3* gene. In the case of a positive PCR response, the DNase treatment was repeated.

Quantative Reverse Transcription-PCR (QRT-PCR)

DNA-free RNA samples were reverse transcribed using the iScript™ cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, USA) according to manufacturer's instructions.

Reverse transcription was carried out in 25 µl mix (1x reaction buffer, 0.8 µg total RNA, 1 µl M-MLV reverse transcriptase, oligo (dT) primers): 25°C - 5 min, 42°C - 30 min, 85°C - 5 min. The resulting cDNA was stored at -20°C for no more than 1 month. 2 µl of the obtained cDNA was used for real-time PCR. QRT-PCR was performed with the CFX96 Thermal cycler (Bio-Rad, USA) using the iQ™ SYBR® Green Supermix Kit (Bio-Rad, USA), by adding 0.88 pmol of each primer (Table 1) and 2 µl of cDNA, the final volume of 25 µl. Each sample was amplified in triplicate at following conditions: denaturation at 95°C for 5 min, followed by 40 cycles consisting of denaturation 95°C for 20 sec, annealing 57°C - 61°C (depending on the target cDNA) for 20 sec, elongation 72°C for 30 sec. PCR specificity was evaluated by amplification product melt curves generated by heating at 0.5°C increments at a rate of 2 sec/step over a temperature range of 74°C - 93°C. Negative controls included DNA-free RNA for each sample, reaction mixture without matrix. Amplification efficiencies for primers were calculated and ranged from 95 % to 105 % mRNA level for *ACAP3* and *CSTB* genes were normalized to the two house-keeping genes *ACTB* and *B2M*, one of the most stable expressed genes in white blood cells.

Table 1 – QRT-PCR oligonucleotide primers

Gene Name	Primer sequence	T _{annealing} , °C
<i>ACTB</i>	Forward: tcctggagaagagctacg	61
	Reverse: gtagtttcgtggatgccaca	
<i>B2M</i>	Forward: gatgagtatgcctgccgtgt	57
	Reverse: caatccaaatgcggcatct	
<i>ACAP3</i>	Forward: tgcaggcagcaggaaacc	57
	Reverse: ccacgtattgtccttgatcca	
<i>CSTB</i>	Forward: atcgccgaccaggtgagg	59
	Reverse: ctgcaggtgtacgaagtcc	

Statistical analysis of data

The correspondence of the obtained quantitative data to the law of normal distribution was checked using Shapiro-Wilk's criterion (W) for small samples. Non-parametric Kruskal-Wallis test (H) was used to compare the three samples since in all the studied groups the obtained data did not correspond to the normal distribution. The differences were considered statistically significant at p < 0,05. Then, pairwise comparisons (for independent groups) were performed using a non-parametric Dunn test (Q) with the Bonferroni correction for the multiplicity of comparisons. In this case the differences were considered statistically significant at p < 0,017. Quantitative values are presented in the form of a median and interquartile range (the 25th and 75th percentiles).

Results and Discussion

The problem of identifying new molecular biomarkers of epilepsy and PD with the use of biological material that does not require serious invasive intervention has been widely discussed. Unlike brain biopsy, which allows analyzing the patient condition only in a strictly defined period of the disease development, tests based on the use of peripheral venous blood can enable the most successful selection of individual treatment, monitor the effectiveness of therapy and the risk of resumption of seizures. In addition, the use of such biomarkers in the search for and verification of new antiepileptic and antiparkinsonism drugs will reduce the cost of creating new medicines.

The aim of this study was to quantify the mRNA of the *ACAP3* and *CSTB* genes in the white blood cells (in the total leukocyte mass) at symptomatic epilepsy and early onset PD in order to identify new (potential) biomarkers of these neurological diseases for the development of rapid and informative molecular test-systems suitable for clinical diagnostics.

In this study we revealed the statistically significant changes of mRNA level of *ACAP3* and *CSTB* genes in leukocyte mass from peripheral venous blood of patients with both symptomatic epilepsy and PD using QRT-PCR, while there were gender differences in the level of expression of the studied genes (Fig. 1,2; Table 2).

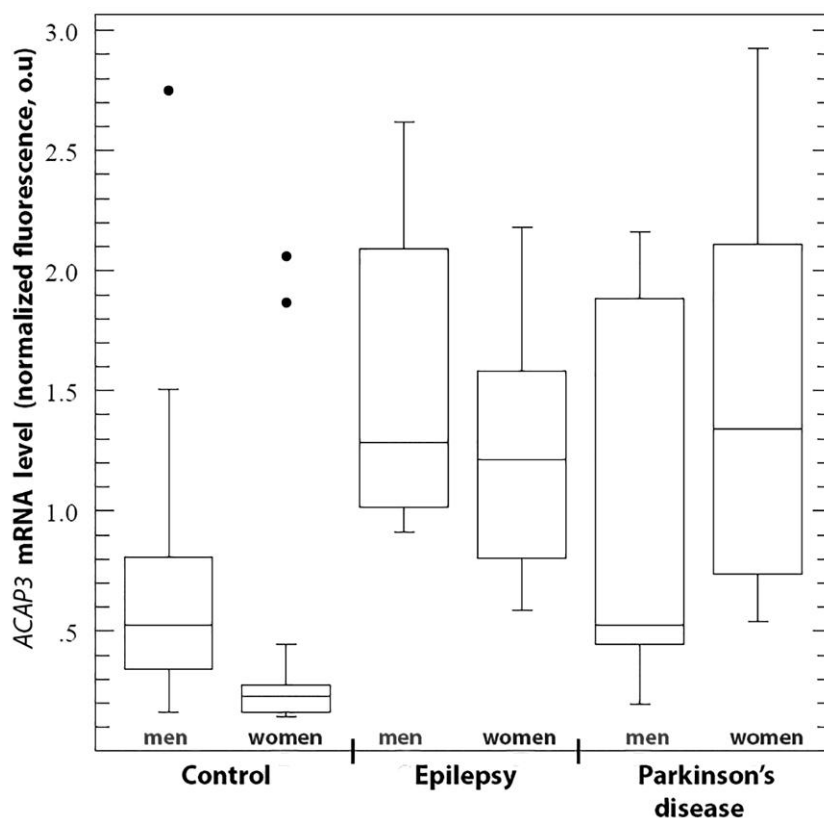


Fig.1 – ACAP3 mRNA level in leukocytes of periphery venous blood of patients with symptomatic epilepsy and early onset Parkinson's disease.

The data are presented as a median and interquartile range (the 25th and 75th percentiles). It is showed the minimum and maximum values. The points indicate the values of emissions from the sample

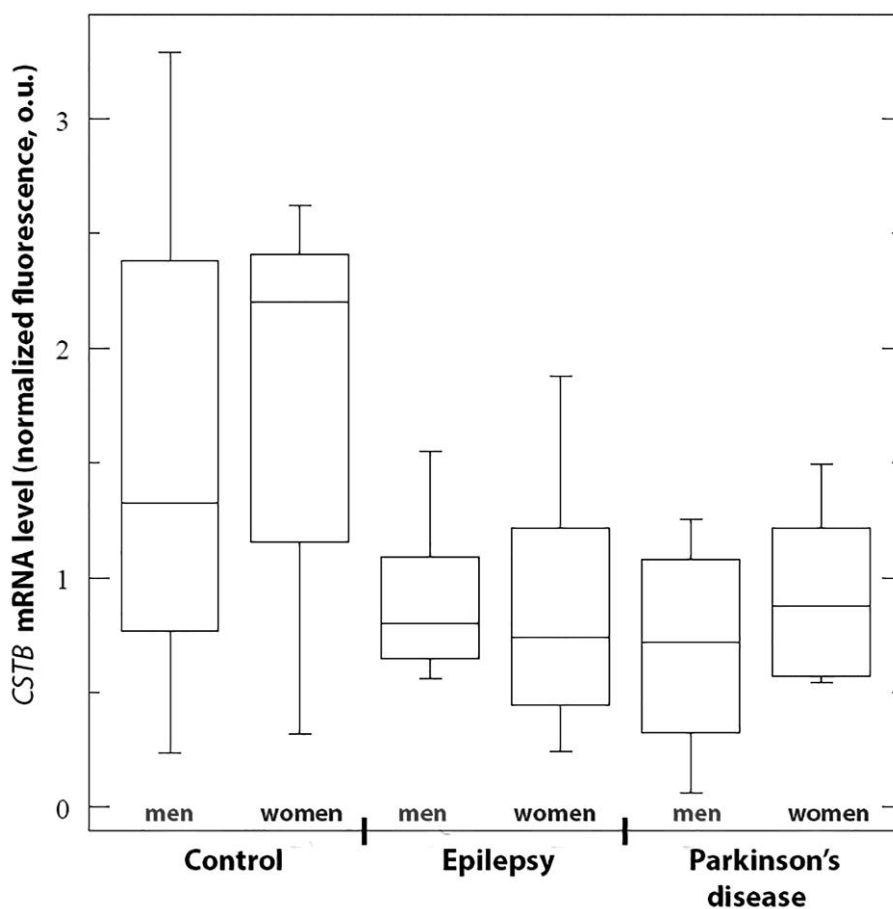


Fig. 2 – CSTB mRNA level in leukocytes of periphery venous blood of patients with symptomatic epilepsy and early onset Parkinson's disease.

The data are presented as a median and interquartile range (the 25th and 75th percentiles). It is showed the minimum and maximum values

Table 2 – The results of statistical analysis of data using non-parametric tests

Comparison groups:	Experimental values of non-parametric tests:			
	ACAP3 mRNA		CSTB mRNA	
	men	women	men	women
Control-Epilepsy-PD	H = 11.098, df = 2, p = 0.004	H = 8.074, df = 2, p = 0.018	H = 4.515, df = 2, p = 0.105	H = 6.727, df = 2, p = 0.035
Control-Epilepsy	Q = 3.024, k = 2, p = 0.001 *	Q = 2.915, k = 2, p = 0.007 *	Q = 1.486, k = 2, p = 0.137	Q = 2.884, k = 2, p = 0.013 *
Control-PD	Q = 0.416, k = 2, p = 0.199	Q = 3.287, k = 2, p = 0.001*	Q = 2.021, k = 2, p = 0.043	Q = 2.289, k = 2, p = 0.022*
Epilepsy-PD	Q = 1.663, k = 2, p = 0.039	Q = 0.605, k = 2, p = 0.579	Q = 0.789, k = 2, p = 0.425	Q = 0.756, k = 2, p = 0.568

Comments: H - Kruskal-Wallis chi-squared statistic, df- degrees of freedom, Q - Dunn statistica, k - comparison group number, p - p-value; * - statistically significant difference (considering the Bonferroni correction).

In the studied sample of patients with epilepsy, the level *ACAP3* mRNA was increased approximately 2.5-fold in men and 5-fold in women compared with the control group. At the same time in sample of PD patients, an increase (about 6-fold) in the level *ACAP3* expression was observed only in women. There were no statistically significant differences *ACAP3* mRNA level between groups of patients with epilepsy and PD. On the contrary, for *CSTB* gene statistically significant decrease of mRNA level was observed only in women with epilepsy (about 3-fold) and PD (about 2.5-fold), whereas in men *CSTB* mRNA level did not differ from control. It should be noted that in both epilepsy and PD there were no gender differences in *ACAP3* and *CSTB* expression within the group, but we observed statistically significant differences in the *ACAP3* mRNA level between men and women in the control sample between.

Observed by us a considerable decrease of *CSTB* mRNA level for symptomatic epilepsy is consistent with data of significant down regulation of this gene expression shown for EPM1 and in *CSTB*-deficient mice model [15, P. 1731], [47, P. 251], [48, P. 791], [49, P.298], [50, P. 185]. Moreover, we found the same changes of *CSTB* gene expression for PD. These data also suggest the possible involvement of cystatin B in neurodegenerative processes in Parkinson's disease. Cystatin B as cysteine proteinase inhibitors promotes a survival of neuronal cells and defends them against adverse proteolyses [19, P. 88]. Also, cystatin B is closely involved in abnormal protein metabolism related to amyloid formation [17, P. 85]. It has been suggested that the levels of some cystatins in tissue and body fluids can serve as relatively reliable markers for a variety of diseases [10, P.5406]. The similar downregulation of the *CSTB* gene expression shown in our study, evidence in favor of the common metabolic pathways leading to neurodegeneration in epilepsy and PD. Neuroplasticity may be another overlapping mechanism of PD and epilepsy [6, P.349]. Epilepsy and PD are often manifested the common symptoms including the cognitive impairment and depression [9, P. 61]. Also, an altered noradrenergic nervous system is known to be involved in neurologic conditions such as epilepsy (mainly, temporal lobe epilepsy) and PD [51, P. 213], [9, P. 61]. Proteomic analysis in a rat hippocampal model showed a link between modified proteins expression (including cystatin B) with the noradrenaline level changed by drugs action [52, P. 1243]. Such post-translational protein modification may be involved in modulation of neuronal excitability during these diseases [53, P. 4740] together with the deregulation of ArfGAPs-coupled exocytotic neurotransmitter release and membrane traffic [54, P. 7919], [55, P. 1143]. Furthermore, brain hyperexcitability in autosomal-recessive idiopathic epilepsy is connected with cytoarchitectural alterations mediated via ArfGAP6 [56, P. 365].

We found the significant upregulation of *ACAP3* gene expression in white blood cells of patients with epilepsy and PD, and at the same time gender differences in *ACAP3* mRNA level were observed. The gender differences are seen in some cases of PD, namely, severity of non-motor symptoms are more presented in women with PD [57, P. 33]. Likewise, in women of different populations the single nucleotide polymorphism in some genes is associated with PD [57, P. 33], [58, P. 312]. Previously, we also showed that short alleles of minisatellite UPS29 of *ACAP3* gene are associated with PD only for women [44, P. 128], [45, P. 33]. Perhaps, the gender dependence of *ACAP3* gene expression in PD revealed by us may also be connected with localization of *ACAP3* gene in imprinted chromosomal cluster 1p36 [59, P. 183]. Indeed, similar sex-dependent bias in expression of some imprinted gene in brain was earlier shown [60, P. 682], [61, P. e3839].

It should be noted that there are several works devoted to the search for genes, which had the expression change in white blood cells in PD and epilepsy. Thus, it was observed the overlap in the expression of some genes between the brain and leukocytes in PD [62, P. 19]. Moreover unique patterns of gene expression in white blood cells (total all leukocytes) are described in children with epilepsy, who received treatment with valproic acid and carbamazepine [63, P. 159] as well as in children with idiopathic epilepsy, who not treated, but had differences in expression at partial and generalized seizures [64, P.272].

For example, a decrease of *ACAP3* expression was found in peripheral blood leukocytes at symptomatic and presymptomatic patients with Huntington's disease [65, P. 11023] (NCBI GEO database, accession GDS1332).

In addition, GeneCards database (www.genecards.org) shows the same mRNA profile of the *ACAP3* (GCID: GC01M001292) and *CSTB* (GCID: GC21M043772) genes for the brain and leukocytes in normal human tissues (microarray and RNAseq results).

Taking into account that differential genomic expression patterns for each mechanism of injury are common to both brain and blood [58], we may assume that two new candidate of genes expressed in the blood define the abnormalities in protein pathways in brain tissue of patients with symptomatic epilepsy and early-onset PD.

Conclusions

Thus, we demonstrate specific mRNA expression patterns of two genes in leukocyte mass from periphery blood of patients with symptomatic epilepsy and PD which differ from the same of healthy controls. Our data concerned the simultaneous

changes of *ACAP3* and *CSTB* gene expression confirm an possible involvement of these genes in the epilepsy and PD neuropathology.

In general, demonstration of the *ACAP3* and *CSTB* gene expression in white cells blood of patients with symptomatic epilepsy and/or PD would be important both for investigation into pathophysiology of these diseases and for the development of potential biomarkers. Of course, in theory it cannot be excluded the secondary nature of the detected changes in mRNA levels of these genes in leukocytes as a result of the effects of pharmacological drugs. But in this case, it should be noted that in the treatment of epilepsy and PD there were used pharmacological preparations with different biochemical (physiological) effects but the observed here effect (change in *ACAP3* and *CSTB* mRNA levels) was almost identical for epilepsy and PD. This fact may suggest that the nature of the therapeutic treatment is not the main factor affecting the expression of *ACAP3* and *CSTB* genes in leukocytes in these diseases.

Список литературы / References

1. Ono T. Epilepsy and epileptic syndrome / T. Ono, A. S. Galanopoulou // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2012 - Vol. 724. – P. 99-113.
2. von Bohlen O. Genes, proteins, and neurotoxins involved in Parkinson's disease / O. von Bohlen, A. Schober, K. Kriegelstein // *Prog. Neurobiol.* – 2004. – Vol. 73. – P. 151-177.
3. Nakamura T. Redox regulation of protein misfolding, mitochondrial dysfunction, synaptic damage, and cell death in neurodegenerative diseases / T. Nakamura, D. H. Cho, S. A. Lipton // *Exp. Neurol.* – 2012. – Vol. 238(1). – P. 12-21.
4. Bodenmann P. Neurological comorbidity in Parkinsonism / P. Bodenmann, J. Ghika, G. Van Melle and others // *Rev. Neurol. (Paris)*. – 2001. - Vol.157(1). – P. 45-54.
5. Gitatzis A. The epidemiology of the comorbidity of epilepsy in the general population / A. Gitatzis, K. Carrol, A. Majeed and others // *Epilepsia*. – 2004. – Vol.45(2). – P. 1613- 1622.
6. Feddersen B. Parkinson's disease: Less epileptic seizures more status epilepticus / B. Feddersen, J. Rémi, M. Einhellig and others // *Epilepsy Res.* – 2014. – Vol. 108(2). – P. 349-354.
7. Puschmann A. Alpha-synuclein multiplications with parkinsonism, dementia or progressive myoclonus? / A. Puschmann, Z.K. Wszolek, M. Farrer and others // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2009. – Vol.15(5). – P. 390-392.
8. Polajnar M. Impaired autophagy: a link between neurodegenerative diseases and progressive myoclonus epilepsies / M. Polajnar, E. Zerovnik // *Trends Mol. Med.* – 2011 – Vol.17(6). – P. 293-300.
9. Szot S. Common factors among Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and epilepsy: Possible role of the noradrenergic nervous system / S. Szot // *Epilepsia*. – 2012. – Vol. 53. P. 61-66.
10. Turk V. Cystatins: biochemical and structural properties, and medical relevance / V. Turk, V. Stoka, D. Turk // *Front. Biosci.* – 2008. – Vol.13. – P. 5406-5420.
11. Di Giaimo R. New insights into the molecular basis of progressive myoclonus epilepsy: a multiprotein complex with cystatin B / R. Di Giaimo, M. Riccio, S. Santi and others // *Hum. Mol. Genet.* – 2002. – Vol.11. – P. 2941-2950.
12. Joensuu T. Molecular background of EPM1-Unverricht-Lundborg disease / T. Joensuu, A.E. Lehesjoki, O.Kopra // *Epilepsia*. – 2008. – Vol. 49(4). – P. 557-563.
13. Ulbrich L. Cystatin B and SOD1: Protein-protein interaction and possible relation to Neurodegeneration / L. Ulbrich, M. Cozzolino, E. S. Marini and others // *Cell Mol. Neurobiol.* – 2014. – Vol.34(2). – P.205-213.
14. Lalioti M.D. Dodecamer repeat expansion in cystatin B gene in progressive myoclonus epilepsy / M.D. Lalioti, H.S. Scott, C. Buresi and others // *Nature*. - 1997. - Vol.386. - P. 847-851.
15. Pennacchio L.A. Mutations in the gene encoding cystatin B in progressive myoclonus epilepsy (EPM1) / L.A. Pennacchio, A.E. Lehesjoki, N.E. Stone and others // *Science*. – 1996. -Vol.271(5256). - P. 1731-1734.
16. Lehtinen M.K. Cystatin B deficiency sensitizes neurons to oxidative stress in progressive myoclonus epilepsy, EPM1 / M.K. Lehtinen, S. Tegelberg, H. Schipper and others // *J. Neurosci.* - 2009. - Vol.29(18). - P. 5910-5915.
17. Anderluh G. Pore formation by human stefin B in its native and oligomeric states and the consequent amyloid induced toxicity / G. Anderluh, E. Zerovnik // *Front. Mol. Neurosci.* – 2012. - Vol.5. - P. 85.
18. Ceru S. Intracellular aggregation of human stefin B: confocal and electron microscopy study / S.Ceru, R. Layfield, T. Zavasnik-Bergant and others // *Biol. Cell.* – 2010. - Vol.102(6). - P. 319-334.
19. Polajnar M. Human stefin B normal and patho-physiological role: molecular and cellular aspects of amyloid-type aggregation of certain EPM1 mutants / M. Polajnar, S. Ceru, N. Kopitar-Jerala and others // *Front Mol. Neurosci.* – 2012. - Vol.5. - P. 88.
20. Ganesh S. Neuronal survival in epilepsy: to die or not to die? / S. Ganesh, S. Singh // *J. Biosci.* – 2005. - Vol.30(5). - P. 561-566.
21. Kaur G. Cystatin C rescues degenerating neurons in a cystatin B- knockout mouse model of progressive myoclonus epilepsy / G. Kaur, P. Mohan, M. Pawlik and others // *Am. J. Pathol.* – 2010. - Vol.177(5). - P. 2256-2267.
22. Tegelberg S. Early microglial activation precedes neuronal loss in the brain of the *Cstb*^{-/-} mouse model of progressive myoclonus epilepsy, EPM1 / S. Tegelberg, O. Kopra, T. Joensuu and others // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* – 2012. - Vol.71(1). - P. 40-53.
23. Manninen O. Progressive volume loss and white matter degeneration in *cstb*-deficient mice: a diffusion tensor and longitudinal volumetry MRI study / O. Manninen, T. Laitinen, K.K. Lehtimäki and // *PLoS One*. – 2014. - Vol.9(3). - P. e90709.
24. Knecht E. Impaired autophagy in Lafora disease / E. Knecht, C. Aguado, S. Sarkar and others // *Autophagy*. – 2010. - Vol.6(7). - P. 991-993.
25. McMahon J. Impaired autophagy in neurons after disinhibition of mammalian target of rapamycin and its contribution to epileptogene / J. McMahon, X. Huang, J. Yang and others // *J. Neurosci.* – 2012. - Vol.32(45). - P. 15704-15714.

26. Sanchez-Guajardo V. Neuroimmunological processes in Parkinson's disease and their relation to α -synuclein: microglia as the referee between neuronal processes and peripheral immunity / V. Sanchez-Guajardo, C.J. Barnum., M.G. Tansey and others // *ASN Neurol.* – 2013. – Vol.5(2) – P. 113-139.
27. Cheung Z.H. Autophagy deregulation in neurodegenerative diseases - recent advances and future perspectives / Z.H. Cheung, N.Y. Ip // *J. Neurochem.* – 2011. – Vol.118(3) – P. 317-325.
28. Mizushima N. Autophagy: renovation of cells and tissues / N. Mizushima., M. Komatsu // *Cell.* – 2011. – Vol. 147(4). – P. 728-741.
29. Xiong N. The role of autophagy in Parkinson's disease: rotenone-based modeling / N. Xiong, J. Xiong, M. Jia and others // *Behav. Brain Funct.* – 2013. – Vol.9. – P. 13.
30. D'Souza-Schorey C. ARF proteins: roles in membrane traffic and beyond / C. D'Souza-Schorey, P. Chavrier // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2006. – Vol.7(5). – P. 347-358.
31. Donaldson J.G. ARF family G proteins and their regulators: roles in membrane transport, development and disease / J.G. Donaldson, C.L. Jackson // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2011. – Vol.12(6). – P. 362-375.
32. Moore C.D. The neuronal Arf GAP centaurin alpha1 modulates dendritic differentiation / C.D. Moore, E.E. Thacker, J. Larimore and others // *J. Cell Sci.* – 2007. – Vol.120(Pt 15). – P. 2683-2693.
33. Venkateswarlu K. PI-3-kinase-dependent membrane recruitment of centaurin-alpha2 is essential for its effect on ARF6-mediated actin cytoskeleton reorganization / K. Venkateswarlu, K.G. Brandom, H.Yun // *J. Cell Sci.* – 2007. – Vol.120(Pt 5). – P. 792-801.
34. Thacker E. The arf6 GAP centaurin alpha-1 is a neuronal actin-binding protein which also functions via GAP-independent activity to regulate the actin cytoskeleton / E. Thacker, B. Kearns, C. Chapman and others // *Eur. J. Cell Biol.* – 2004. – Vol.83. – P. 541-554.
35. Campa F. Arf GTPase-activating proteins and their potential role in cell migration and invasion / F. Campa, P.A. Randazzo // *Cell Adh. Migr.* – 2008. – Vol.2(4). – P. 258-262.
36. Bui Q.T. Large Arf1 guanine nucleotide exchange factors: evolution, domain structure, and roles in membrane trafficking and human disease / Q.T. Bui, M.P. Golinelli-Cohen, C.L. Jackson // *Mol. Genet. Genomics.* – Vol.82(4). – P. 329-350.
37. Spang A. Arf GAPs: gatekeepers of vesicle generation / A. Spang, Y. Shiba, P.A. Randazzo // *FEBS Lett.* – 2010. – Vol.584(12). – P. 2646-2651.
38. Hongu T. Activation machinery of the small GTPase Arf6 / T. Hongu, Y. Kanaho // *Adv. Biol. Regul.* – 2014. – Vol.54. – P. 59-66.
39. Bento C.F. The role of membrane-trafficking small GTPases in the regulation of autophagy / C.F. Bento, C. Puri, K. Moreau and others // *J. Cell. Sci.* – 2013. – Vol.126(Pt 5). – P. 1059-1069.
40. Dani N. ADP-ribosylated proteins as old and new drug targets for anticancer therapy: the example of ARF6 / N. Dani, A.J. Barbosa, A. Del Rio and others // *Curr. Pharm. Des.* – 2013. – Vol.19(4). – P. 624-633.
41. Moore D.J. The biology and pathobiology of LRRK2: implications for Parkinson's disease / D.J. Moore // *Parkinsonism Relat. Disord.* – 2008. – Suppl Vol.2. – P. S92-98.
42. Xiong Y. LRRK2 GTPase dysfunction in the pathogenesis of Parkinson's disease / Y. Xiong, V.L. Dawson, T.M. Dawson // *Biochem. Soc. Trans.* – 2012. – Vol.40(5). – P. 1074-1079.
43. Stafa K. GTPase activity and neuronal toxicity of Parkinson's disease-associated LRRK2 is regulated by ArfGAP1 / K. Stafa, A. Trancikova, P.J. Webber and others // *PLoS Genet.* – 2012. – Vol.8(2). – P. e1002526.
44. Suchkova I.O. Analysis of the Association of Minisatellite UPS29 of CENTB5 Gene with Parkinson's Disease / I.O. Suchkova, D.M. Shubina, A.F. Yakimovskii and others // *Russian J. Genetics: Applied Res.* – 2011. – Vol. 1 (2). – P. 128-137.
45. Pitcik E.V. Association of minisatellite UPS29 with symptomatic and cryptogenic epilepsy in women / E.V. Pitcik, I.O. Suchkova, I.V. Milyukhina and others // *Eur. J. Med. Res.* – 2011. – Vol.A. – P. 33.
46. Sasina L.K. Human intra-intronic minisatellite UPS29 associated with neurological diseases regulates reporter gene EGFP expression depending on cell type / L.K. Sasina, N.A. Slominskaia, I.O. Suchkova and others // *Tsitologiya.* – 2010. – Vol.52(9) – P. 715-723.
47. Pennacchio L.A. Progressive ataxia, myoclonic epilepsy and cerebellar apoptosis in cystatin B-deficient mice / L.A. Pennacchio, D.M. Bouley, K.M. Higgins and others // *Nat. Genet.* – 1998. – Vol. 20. – P. 251-258.
48. Lalioti M.D. Altered spacing of promoter elements due to the dodecamer repeat expansion contributes to reduced expression of the cystatin B gene in EPM1 / M.D. Lalioti, H.S. Scott, S.E. Antonarakis // *Hum. Mol. Genet.* – 1999. – Vol.8.1. – P. 791-798.
49. Lafreniere R.G. Unstable insertion in the 5' flanking region of the cystatin B gene is the most common mutation in progressive myoclonus epilepsy type 1, EPM1 / R.G. Lafreniere, D.L. Rochefort, N. Chretien and others // *Nat. Genet.* – 1997. – Vol.15. – P. 298-302.
50. Joensuu T. Cystatin B: mutation detection, alternative splicing and expression in progressive myoclonus epilepsy of Unverricht-Lundborg type (EPM1) patients / T. Joensuu, M. Kuronen, K. Alakurtti and others // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2007. – Vol.15(2). – P. 185-193.
51. Weinshenker D. The role of catecholamines in seizure susceptibility: new results using genetically engineered mice / D. Weinshenker, P. Szot // *Pharmacol. Ther.* – 2002. – Vol.94. – P. 213-233.
52. McHugh P.C. Proteomic analysis of rat hippocampus exposed to the antidepressant paroxetine / P.C. McHugh, G.R. Rogers, D.M. Glubb and others // *J. Psychopharmacol.* – 2010. – Vol.24(8). – P. 1243-1251.
53. Walther D.J. Novel roles for biogenic monoamines: from monoamines in transglutaminase-mediated post-translational protein modification to monoaminylation deregulation diseases / D.J. Walther, S. Stahlberg, J. Vowinckel // *FEBS J.* – 2011. – Vol.278(24). – P. 4740-4755.

54. Meyer M.Z. Regulation of neuroendocrine exocytosis by the ARF6 GTPase-activating protein GIT1 / M.Z. Meyer, N. Déliot, S. Chasserot-Golaz and others // J. Biol. Chem. - 2006. - Vol. 281(12). - P. 7919-7926.
55. Shiba Y. ArfGAP1 function in COPI mediated membrane traffic: currently debated models and comparison to other coat-binding ArfGAPs / Y. Shiba, P.A. Randazzo // Histol. Histopathol. - 2012. - Vol. 27(9). - P. 1143-1153.
56. Falace A. TBC1D24, an ARF6-interacting protein, is mutated in familial infantile myoclonic epilepsy / A. Falace, F. Filippello, V. La Padula and others // Am. J. Hum. Genet. - 2010. - Vol. 87(3). - P. 365-370.
57. Solla P. Gender differences in motor and non-motor symptoms among Sardinian patients with Parkinson's disease / P. Solla, A. Cannas, F.C. Ibba and others // J. Neurol. Sci. - 2012. - Vol. 323(1-2). - P. 33-39.
58. San Luciano M. Gender differences in the IL6 -174G>C and ESR2 1730G>A polymorphisms and the risk of Parkinson's disease / M. San Luciano, L. Ozelius, R.B. Lipton and others // Neurosci. Lett. - 2012. - Vol. 506(2). - P. 312-316.
59. Li D. Interleukin-10 promoter polymorphisms in Chinese patients with Parkinson's disease / D. Li, Q. He, R. Li and others // Neurosci. Lett. - 2012. - Vol. 513(2). - P. 183-186.
60. Gregg C. Sex-Specific Parent-of-Origin Allelic expression in the mouse brain / C. Gregg, J. Zhang, J.E. Butler and others // Science. - 2010. - Vol. 329. - P. 682-685.
61. Wang X. Transcriptome-wide identification of novel imprinted genes in neonatal mouse brain / X. Wang, Q. Sun, S.D. McGrath and others // PLoS One. - 2008. - Vol. 3(12). - P. e3839.
62. Karlsson M.K. Found in transcription: Accurate Parkinson's disease classification in peripheral blood / M.K. Karlsson, P. Sharma, J. Aasly, M. and others // J. Parkinson's Dis. (Research Report). - 2013. - Vol. 3. - P. 19-29.
63. Tang Y. Valproic acid blood genomic expression patterns in children with epilepsy – a pilot study / Y. Tang, T.A. Glauser, D.L. Gilbert and others // Acta Neurol Scand. - 2004. - Vol. 109. - P. 159-168.
64. Greiner H.M. mRNA blood expression patterns in new-onset idiopathic pediatric epilepsy / H.M. Greiner, P.S. Horn, K. Holland and others // Epilepsia. - 2013. - Vol. 54 (2). - P. 272-279.
65. Borovecki F. Genome-wide expression profiling of human blood reveals biomarkers for Huntington's disease / F. Borovecki, L. Lovrecic, J. Zhou and others // Proc Natl Acad Sci USA. - 2005. - Vol. 102 (31). - P. 11023-11028.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.043>

Бойко В.И.¹, Ярыга В.В.², Доценко Ю.И.³, Бойко О.В.⁴, Мухамедзянова Р.И.⁵, Гудинская Н.И.⁶

^{1,2,3} Доктор медицинских наук, профессор; кандидат медицинских наук; кандидат медицинских наук, доцент
ФГБОУ ВО «Российская академия народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ, Астраханский филиал», Минобрнауки России

^{4,5,6} Доктор медицинских наук, доцент; кандидат медицинских наук, доцент; кандидат медицинских наук ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет», Минздрава России

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ РАБОЧИХ АСТРАХАНСКОГО ГАЗОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО ЗАВОДА

Аннотация

Целью исследования являлось установление некоторых гематологических и биохимических показателей крови у рабочих, занятых на предприятии по переработке газа и конденсата с высоким содержанием сероводорода. Выяснено, что комплекс профессионально-производственных вредностей, характерных для переработки природного газа и конденсата на Астраханском газоперерабатывающем заводе, оказывает определенное влияние на состояние эритроцитов и гемоглобина рабочих основных производств, которое проявляется в усилении эритроцита, в снижении среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, в уменьшении коэффициента анизотропии, снижении содержания сульф- и метгемоглобина у рабочих ряда производств.

Ключевые слова: гематологические показатели, биохимические показатели крови, поллютанты, факторы окружающей среды, эритроциты, сульфгемоглобин, метгемоглобин.

Bojko V.I.¹, Jaryga V.V.², Docenko J.I.³, Bojko O.V.⁴, Muhamedzjanova R.I.⁵, Gudinskaja N.I.⁶

^{1,2,3} MD, Professor; MD; MD, Associate professor of the FSBEI HE "Russian Academy of National Economy and Public Service under the President of the Russian Federation, Astrakhan Branch", Ministry of Education and Science of Russia

^{3,4,5} MD, Associate professor; MD, Associate professor; MD of the FSBEI HE "Astrakhan State Medical University", Ministry of Health of Russia

HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS OF BLOOD OF ASTRAKHAN GAS-PROCESSING PLANT WORKERS

Abstract

The goal of this study was to establish some hematologic and biochemical indicators of blood of workers employed in gas and condensate processing plant with a high hydrogen sulfide content. It is found out that the complex of occupational hazards, which are typical for the processing of natural gas and condensate at the Astrakhan gas processing plant exerted a certain influence on the state of red cells and hemoglobin in the main production facilities, which are manifested in the increase of red cells, in the reduction of the mean hemoglobin content in erythrocytes, anisotropy, a decrease in the content of sulf- and methemoglobin in workers in a number of industries.

Keywords: hematologic indicators, biochemical indicators of blood, pollutants, environmental factors, erythrocytes, sulfogemoglobin, methemoglobin.

Современные предприятия по переработке природного газа и конденсата с высоким содержанием сероводорода характеризуется комплексом неблагоприятных факторов производственной среды, среди

которых основными являются: загрязнение воздуха рабочей зоны поллютантами - двуокисью серы, оксидами азота, углерода, сероводородом, меркаптанами, предельными и непредельными углеводородами, пылью комовой серы, а также производственным шумом, неблагоприятными микроклиматическими условиями [1, С. 18], [2, С. 300], [3, С. 171]. Одной из наиболее чувствительных к изменениям гомеостаза организма, вследствие комбинированного и сочетанного действия производственных факторов, является система крови. Некоторые из химических веществ вызывают изменения гемопоэза, другие нарушают синтез порфирина и гема в гемоглобине, третьи вызывают изменение состава гемоглобина и вызывают гемолиз [4, С. 45], [5, С. 819].

Целью исследования была оценка как биохимических так и других показателей красной крови у рабочих Астраханского газоперерабатывающего завода (АГПЗ).

Гематологические исследования проводили на автоматическом гематологическом анализаторе «Sistem 9000 Plus» (Serono), рассчитанный на регистрацию 18 показателей клеточного состава крови. Определялись следующие параметры: общее содержание эритроцитов (RBC); общее содержание гемоглобина (HGB); средний корпускулярный объем эритроцитов (MCV); среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH); коэффициент анизотропии (RDW).

Изучение концентраций мет- и сульфогемоглобина проводилось спектрофотометрически на приборе КФК-3.

Определение пуриновых соединений в эритроцитах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе модели Waters LS System и колонок IC-PAK-C18 для обращенно-фазной хроматографии.

Функциональные свойства эритроцитов оценивали по осмотической и кислотной резистентности с последующим построением эритрограмм.

Материалом для гематологических и биохимических исследований была кровь 530 рабочих, полученных во время проведения профилактических осмотров, стаж работы которых на производствах завода был различным. Контрольным материалом служила кровь доноров Астраханской областной станции переливания крови, соответствующих по возрасту и полу и не работающих в газоперерабатывающей, нефтяной и химической промышленности.

Проведенные гематологические исследования показали, что содержание эритроцитов повышено практически во всех стажевых группах. При этом содержание гемоглобина не превышало контрольных величин ($143,6 \pm 1,4$). Было установлено заметное снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците, по отношению к контрольной группе ($38,64 \pm 0,36$), то есть меняется насыщенность эритроцитов рабочих гемоглобином. Наиболее ярко этот показатель выражен у рабочих со стажем работы 4-6 лет и, по-видимому, зависит от степени эритроцитоза - чем выше число эритроцитов, тем ниже концентрация гемоглобина в одной клетке.

Средний объем эритроцитов в исследуемых группах не изменялся по отношению к контролю и составил ($83,63 \pm 0,75$). Выявлено снижение коэффициента анизотропии у рабочих основных производств, что может отражать степень гетерогенности эритроцитов.

Установлено снижение содержания метгемоглобина у рабочих всех основных и вспомогательных производств. При анализе уровня содержания метгемоглобина в большинстве изучаемых стажевых групп рабочих АГПЗ выяснено, что он так же снижен по сравнению с контролем. Исходя из проведенных ранее исследований и полученных нами данных очевидно, что приспособительные реакции в организме рабочих начинают проявляться уже в первые три года работы и наиболее выражены в 4-6 лет стажа работы. В то время, как при стаже более 10 лет начинается, по-видимому, новая ступень адаптации организма [6, С. 20], [7, С. 877], [8, С. 821], [9, С. 54], [10, С. 94].

В период адаптации усиливается эритропоэз, что влечет за собой увеличение количества молодых форм эритроцитов, в которых содержание г-6-Ф-дегидрогеназы повышено, в связи с этим количество метгемоглобина в них снижается. По нашим данным, уровень содержания метгемоглобина в большинстве изучаемых групп рабочих АГПЗ снижен по сравнению с контролем, что можно объяснить влиянием вредных производственных факторов, вызывающих гипоксию смешанного генеза, и включением вышеназванного адаптационного механизма. С другой стороны, принимая во внимание, что метгемоглобин в организме играет защитную детоксицирующую роль, особенно по отношению к H_2S , можно предположить, что уменьшение концентрации метгемоглобина в крови рабочих связано с его повышенным использованием.

Понижение содержания сульфгемоглобина в зависимости стажа работы может отражать усиление процессов дегградации эритроцитов, увеличением числа гетерогенных клеток. Изучение зависимости содержания сульфгемоглобина у рабочих основных производств показало, что у рабочих содержание сульфгемоглобина достоверно снижено. Весьма заметен факт резкого снижения содержания сульфгемоглобина (до $0,12\% \pm 0,045$) у рабочих во второй стажевой группе.

Практически у всех рабочих период адаптации к техногенным воздействиям начинается при стаже работы до 3-х лет, а наибольшее падение сульфгемоглобина отмечается при 4-6 годах работы. В зависимости от силы воздействия и экспозиции этот период может как удлиняться по времени (первое производство), так и укорачиваться (вспомогательные объекты). Снижение концентрации сульфгемоглобина может, служить одним из показателей степени воздействия внешних факторов на эритроциты и гемоглобин рабочих. С одной стороны, снижение содержания глутатиона должно приводить к повышению сульфгемоглобина - с другой, относительный эритроцитоз и повышение количества молодых форм эритроцитов в период адаптации к внешним, воздействиям приводят к снижению содержания сульфгемоглобина.

При изучении резистентности эритроцитов, в зависимости от чувствительности к осмотическому и кислотному лизису были выделены три группы эритроцитов: высоко-, слабо- и средне резистентные. Было выявлено, что в группе рабочих Астраханского ГПЗ, имевших пониженное содержание сульфгемоглобина (или же при его отсутствии) в крови, отмечено достоверное увеличение популяции осмотически стойких клеток (соответственно $4,4 \pm 0,78$ и $7,3 \pm 1,17$). При отсутствии сульфгемоглобина в крови, кислотная резистентность эритроцитов была достоверно выше, в сравнении с группой рабочих, с содержанием сульфгемоглобина от 1,5% и выше. Возраст и стаж рабочих оказали влияние на наличие сульфгемоглобина: чем выше они были, тем более низким оказалось содержание

сульфгемоглобина. Если рассматривать содержание сульфгемоглобина как показатель возраста эритроцитов, то выявленная закономерность показывает, что в группе рабочих, у которых понижено содержание сульфгемоглобина, присутствует повышенное количество популяций молодых эритроцитов, которые, по литературным данным, обладают более выраженной резистентностью к различным раздражителям [11, С. 340], [12, С. 337].

Кроме того, сам эритроцит в ходе своего развития приобретает коническую форму с остроконечной, вершиной, преобразуясь в шиповидный нормоцит или эхиноцит, в дальнейшем переходящим в деструктивную форму, что естественно отражается на его основных функциях: переносе кислорода и детоксикационной.

Наряду с этим, так же было выявлено снижение уровня основных монофосфатов (AMP, IMP) и повышение содержания конечного продукта распада пуриновых соединений (мочевой кислоты); следовательно, имела место активизация процессов катаболизма в эритроцитах, которая может быть расценена как приспособительный механизм при действии неблагоприятных производственных факторов Астраханского ГПЗ.

Резюмируя полученные данные, можно сделать ряд выводов.

Комплекс профессионально-производственных вредностей, характерных для переработки природного газа и конденсата на Астраханском ГПЗ, оказывает определенное влияние на состояние эритроцитов и гемоглобина рабочих основных производств, которое проявляется в усилении эритроцита (в крови рабочих всех производственных групп увеличено количество эритроцитов), в снижении среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, в уменьшении коэффициента анизотропии, снижении содержания сульф- и метгемоглобина у рабочих ряда производств. Процессы, происходящие в эритроцитах и гемоглобине, непосредственно связаны с продолжительностью воздействия производственных факторов, то есть зависят от стажа работы в газовой промышленности. Существует взаимосвязь содержания эритроцитов и гемоглобина, среднего содержания гемоглобина и среднего объема эритроцитов в крови различных стажевых групп рабочих Астраханского ГПЗ.

Изучение взаимосвязи между биохимическими показателями и функциональными свойствами эритроцитов показало, что у рабочих, имеющих в крови пониженную концентрацию сульфгемоглобина, эритроциты проявляют повышенную кислотную резистентность и в их составе увеличена популяция осмотически стойких клеток. Это свидетельствует об увеличении в крови рабочих данной группы популяции «молодых» эритроцитов, что указывает на раздражение эритрона.

Выявлено снижение уровня основных монофосфатов (аденозин-инозинмонофосфатов) и повышение содержания конечного продукта распада пуриновых соединений – мочевой кислоты. Следовательно, прямое и опосредованное действие производственных факторов Астраханского ГПЗ вызывает тканевую и гемическую гипоксию и активизирует процессы катаболизма в эритроцитах рабочих, что может быть расценено как приспособительный механизм. Учитывая показательность и простоту данных лабораторных методов, можно рекомендовать их к применению для массовых профилактических осмотров рабочих газовой промышленности.

Список литературы/ References

1. Бойко В.И., Доценко Ю.И., Бойко О.В. Содержание вредных веществ в воздушной среде центральной заводской лаборатории Астраханского газоперерабатывающего завода./В.И. Бойко, Ю.И. Доценко, О.В. Бойко//Гигиена и санитария. – 2011. – № 3. – С. 33-38.
2. Masterson E.A., Themann C.L., Luckhaupt S.E., Li J., Calvert Hearing difficulty and tinnitus among U.S. workers and non-workers in 2007./E.A. Masterson, C.L. Themann, S.E. Luckhaupt, Li J., Calvert American Journal of Industrial Medicine. 2016;59(4):290-300.
3. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Бойко В.И., Гудинская Н.И. Влияние Астраханского газоперерабатывающего завода на загрязнение воздуха производственных помещений и территории./О.В. Бойко, А.Х. Ахминеева, В.И. Бойко, Н.И. Гудинская//Гигиена и санитария. – 2016. – Т. 95. – №2. – С.167-171.
4. Ахминеева А.Х., Воронина Л.П., Севостьянова И.В., Полунина О.С. Уровень С-реактивного протеина у пациентов с респираторно-кардиальной коморбидностью./А.Х. Ахминеева, Л.П. Воронина, И.В. Севостьянова, О.С. Полунина//Астраханский медицинский журнал. – 2014. – Т.9. – №1. – С.45-49.
5. Anoop K., Sasmal D., Amand B., Kunal M., Aman T., Neelima S. Deltamethrin-induced oxidative stress and mitochondrial caspase-dependent signaling pathways in murine splenocytes./K. Anoop, D. Sasmal, B. Amand, T. Aman and others //Environmental Toxicology. – 2016;31(7):808-19.
6. Бойко В.И., Доценко Ю.И., Бойко О.В. Острофазовые белки в слюне рабочих на предприятии по переработке природного газа и конденсата с высоким содержанием сероводорода./В.И. Бойко, Ю.И. Доценко, О.В. Бойко//Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №6. – С.18-20.
7. Pereira T.C.B., Campos M.M., Bogo M.R. Copper toxicology, oxidative stress and inflammation using zebrafish as experimental model./T.C.B. Pereira, M.M. Campos, M.R. Bogo//Journal of Applied Toxicology. 2016; 36(7):876-85
8. Gaoyi Yao, Yang Yun, Nan Sang. Differential effects between one week and four weeks exposure to same mass of SO₂ on synaptic plasticity in rat hippocampus./Yao Gaoyi, Yun Yang, Sang Nan//Environmental Toxicology. 2016;31(7):820-29.
9. Бойко О.В., Салько В.Н., Мартова О.В. Влияние токсических веществ на условно-патогенные микроорганизмы./О.В. Бойко, В.Н. Салько, О.В. Мартова// Гигиена и санитария. – 2002. – №1. – С.54-56.
10. Бойко О.В., Терентьев А.А., Николаев А.А., Чомаев А.М. Молекулярные механизмы персистирующей инфекции./О.В. Бойко, А.А. Терентьев, А.А. Николаев, А.М. Чомаев// Изд. дом «Астраханский университет», Астрахань, 2006. – 127 с.
11. Bianchi R., Schonfeld I.S. Job stress, inflammation, and atherosclerosis: A reflection./R. Bianchi, I.S. Schonfeld//American Journal of Industrial Medicine. 2016;59(4):340-41.
12. Kawada T. Long working hours and the risk of coronary heart disease. American /T. Kawada//Journal of Industrial Medicine. 2016; – 59 (4): 336-37.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Boiko V.I., Docenko Ju.I., Boiko O.V. Soderzhanie vrednyh veshhestv v vozdušnoy srede central'noj zavodskoj laboratorii Astrahanskogo gazopererabatyvayushhego zavoda. [The content of harmful substances in the air of the central factory laboratory of the Astrakhan gas processing plant]/V.I. Boiko, Ju.I. Docenko, O.V. Boiko//Gigiena i sanitariya. [Hygiene and sanitation] – 2011. – № 3. – P. 33-38. [in Russian].
2. Masterson E.A., Themann C.L., Luckhaupt S.E., Li J., Calvert Hearing difficulty and tinnitus among U.S. workers and non-workers in 2007. / E.A. Masterson, C.L. Themann, S.E. Luckhaupt, Li J., Calvert American Journal of Industrial Medicine. 2016; – 59(4):290-300.
3. Boiko O.V., Ahmineeva A.Kh., Boiko V.I., Gudinskaya N.I. Vliyanie Astrakhanskogo gazopererabatyvayushchego zavoda na zagryaznenie vozdukhа proizvodstvennykh pomeshcheniy i territorii. [Influence of the Astrakhan gas processing plant on air pollution of industrial premises and territories]/O.V. Boiko, A. Kh. Ahmineeva, V.I. Boiko//Gigiena i sanitariya. [Hygiene and sanitation] – 2016. – V. 95. – №2. – P.167-171. [in Russian].
4. Ahmineeva A.Kh., Voronina L.P., Sevostyanova N.V., Polunina O.S. Uroven S-reaktivnogo proteina u pacientov s respiratorno-kardialnoj komorbidnostju [C-reactive protein in patients with respiratory cardiac comorbidities.]/A.Kh. Ahmineeva, L.P. Voronina, N.V. Sevostyanova, O.S. Polunina// Astrahanskij medicinskij zhurnal [Astrakhan Medical Journal] - 2014. – T.9. – №1. – P. 45-49. [in Russian].
5. Anoop K., Sasmal D., Amand B., Kunal M., Aman T., Neelima S. Deltamethrin-induced oxidative stress and mitochondrial caspase-dependent signaling pathways in murine splenocytes./K. Anoop, D. Sasmal, B. Amand, T. Aman and others //Environmental Toxicology. 2016; – 31(7):808-19.
6. Boiko V.I., Dotsenko Yu.I., Boiko O.V. Ostrofazovye belki v sljune rabochih na predpriyatii po pererabotke prirodnogo gaza i kondensata s vysokim soderzhaniem serovodoroda [Acute phase proteins in the saliva of the workers at the plant for the processing of natural gas and condensate from the high content of hydrogen sulphide.]/V.I. Boiko, Yu.I. Dotsenko, O.V. Boiko// Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.[Clinical laboratory diagnostics]. – 2011. – №6. – P.18-20. [in Russian].
7. Pereira T.C.B., Campos M.M., Bogo M.R. Copper toxicology, oxidative stress and inflammation using zebrafish as experimental model./ T.C.B. Pereira, M.M. Campos, M.R. Bogo//Journal of Applied Toxicology.2016; –36(7):876-85
8. Gaoyi Yao, Yang Yun, Nan Sang. Differential effects between one week and four weeks exposure to same mass of SO2 on synaptic plasticity in rat hippocampus./Yao Gaoyi, Yun Yang, Sang Nan//Environmental Toxicology. 2016;31(7):820-29.
9. Boiko O.V., Salko V.N., Martova O.V. Vliyanie toksicheskikh veshchestv na uslovno-patogennye mikroorganizmy. [The effect of toxic substances on opportunistic microorganisms.]/O.V. Boiko, V.N. Salko, O.V. Martova// Gigiena i sanitariya. [Hygiene and sanitation]. – 2002. – №1. – P. 54-56.[in Russian].
10. Boiko O.V., Terentev A.A., Nikolaev A.A., Chomaev A.M. Molekuljarnye mehanizmy persistirujushhej infekcii.[Molecular mechanisms of persistent infection]/ O.V. Boiko, A.A. Terentev, A.A. Nikolaev, A.M. Chomaev// Izd. dom «Astrahanskij universitet»[Publishing house "Astrakhan University"].– Astrahan. – 2006. – 127 p. [in Russian].
11. Bianchi R., Schonfeld I.S. Job stress, inflammation, and atherosclerosis: A reflection./R. Bianchi, I.S. Schonfeld//American Journal of Industrial Medicine. 2016; – 59(4):340-41.
12. Kawada T. Long working hours and the risk of coronary heart disease. American /T. Kawada//Journal of Industrial Medicine. 2016; – 59 (4): 336-37.



<https://twitter.com/JournalResearch>

Ссылки на новые статьи
«Международного научно-исследовательского журнала» Вы
сможете найти в Твиттере.



Гуля А. П.¹, Тодераш И. К.², Гудумак В. С.³, Цапков В. И.⁴, Гарбуз О. С.⁵,
Рошков Е. В.⁶, Сардарь В. В.⁷, Тагадюк О. К.⁸

¹ORCID 0000-0003-2010-7959, доктор химических наук, профессор, академик АН, Кишиневский Государственный Университет, Кишинёв, Молдова

²ORCID 0000-0003-1599-838X, доктор биологических наук, профессор, академик АН, Институт зоологии академии наук Молдовы

³ORCID 0000-0001-9773-1878, доктор медицинских наук, профессор, Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Кишинёв, Молдова

⁴ORCID 0000-0003-1732-3116, доктор химических наук, доцент, Кишиневский Государственный Университет, Кишинёв, Молдова

⁵ORCID 0000-0001-8783-892X, аспирант; Молдавский Государственный Университет, Кишинёв, Молдова

⁶ORCID 0000-0001-7565-2845, кандидат биологических наук, Институт зоологии академии наук Молдовы

⁷ORCID 0000-0002-1047-9145, кандидат медицинских наук;

⁸ORCID 0000-0002-5503-8052, доктор медицинских наук,

^{7,8}Государственный университет медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Кишинёв, Молдова

ПРОТИВОРАКОВАЯ И ТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТИ НОВОГО СИНТЕЗИРОВАННОГО ВЕЩЕСТВА

Аннотация

В данной работе представлен ряд сравнительных биологических исследований нового синтезированного вещества CMT-122. Антипролиферативная активность этого вещества тестировалась на двух клеточных линиях. Установлено, что CMT-122 проявляет цитотоксичность в отношении RD (рабдомиосаркома) с $IC_{50} - 1,1 \pm 0,1 \mu\text{mol/L}$ и HeLa (аденокарцинома шейки матки) с $IC_{50} - 8,3 \pm 2,0 \mu\text{mol/L}$. Сравнительное изучение CMT-122 и доксорубина в отношении раковых клеточных линий показало, что CMT-122 сильнее ингибирует пролиферацию раковых клеток, чем DOX. Дополнительный эксперимент, направленный на оценку цитотоксического эффекта с использованием нормальной клеточной линии MDCK (Madin Darby Canine Kidney), показал, что CMT-122 практически не ингибирует пролиферацию и не вызывает гибель этой линии клеток. Токсичность вещества определяли спектрофотометрическим биоанализом на тест-объектах *Paramecium caudatum*. Установлено, что LC_{50} для CMT-122 в 5 раз меньше, чем у DOX.

Ключевые слова: противораковая активность, токсичность.

Gulea A. P.¹, Toderas I. K.², Gudumac V. S.³, Tapcov V. I.⁴,
Garbuz O. S.⁵, Roscov E. V.⁶, Sardari V. V.⁷, Tagadiuc O. C.⁸

¹ORCID 0000-0003-2010-7959, PhD in Chemistry, Professor, Academician ASM, Moldova; Moldova State University,

²ORCID 0000-0003-1599-838X, PhD in Biology, Professor, Academician ASM, Moldova; Academy of Sciences of Moldova Institute of Zoology

³ORCID 0000-0001-9773-1878, MD, Professor, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova

⁴ORCID 0000-0003-1732-3116, PhD in Chemistry, Associate professor, Moldova State University, Chisinau, Moldova

⁵ORCID 0000-0001-8783-892X, Postgraduate student, Moldova State University, Chisinau, Moldova

⁶ORCID 0000-0001-7565-2845, PhD in Biology, Academy of Sciences of Moldova Institute of Zoology

⁷ORCID 0000-0002-1047-9145, MD; ⁸ORCID 0000-0002-5503-8052, MD,

^{7,8} State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Moldova;

ANTICANCER AND TOXICITY ACTIVITIES OF NEW SYNTHESIZED COMPOUND

Abstract

This work represents a series of comparative biological studies of the new synthesized compound CMT-122, exhibiting selective cytotoxicity. The antiproliferative effect of this compound was tested on two cell lines. It was established that CMT-122 exhibited cytotoxic activity against cell lines RD (rhabdomyosarcoma), HeLa (cervix carcinoma) with IC_{50} values of $1,1 \pm 0,1$; $8,3 \pm 2,0 \mu\text{mol/L}$, respectively. Comparative study between test compound and doxorubicin in regard to cancer cell lines was showed that CMT-122 exhibits stronger inhibitory activity on cancer cells proliferation than DOX. An additional experiment aiming on the evaluation of the cytotoxic effect on MDCK (Madin Darby Canine Kidney) normal cells of line revealed that compound CMT-122 does not inhibit proliferation through induction of cell death. Toxicological testing method of compounds was performed by *Paramecium caudatum* colorimetric bioassay. It was founded, that the LC_{50} for compound CMT-122 is 5 times less than DOX.

Keywords: anticancer activity, toxicity.

Introduction

According to a recent report by the World Health Organization, there are now more than 10 million cases of cancer per year worldwide. Cancer refers to a diversity of diseases, characterized by the uncontrolled proliferation of cells into a different form, against the normal complement of the organism. The continuous proliferation of cancer cells develops into tumor tissues and may spread across to other organs. The principal need in the chemoprevention of cancer remains the discovery of new effective and safe agents, since the therapeutic application of antiproliferative drugs are restricted due to their toxic potentials, resistance and genotoxicity [1, P. 1659].

This work represents the research results of the new synthesized compound CMT-122 exhibiting selective cytotoxicity [2, P. 774], [3, P. 59]. The antiproliferative effect [4, P. 5189], [5, P. 78], [6, P. 650] of compound was determined using subsequent human cancer cells of lines: HeLa (cervix carcinoma) and RD (rhabdomyosarcoma).

Considering that drugs are primarily metabolized in the liver and excreted by the kidneys, renal impairment can ultimately affect the treatment outcome and toxicity. Based on this, we exploited MDCK (Madin Darby Canine Kidney) normal cells of line for selective cytotoxicity evaluation. The antiproliferative activity [7, P. 674] of compound CMT-122 was determined by alamar blue dye, which is one of the indicators of mitochondrial metabolic activity.

To estimate the results on the *in vitro* cytotoxicity of the cancer and normal cell lines, the tested compound CMT-122 was compared to doxorubicin (DOX) as a positive control, which is used in the clinical management of a wide range of cancers [8, P. 806].

The direct toxic evaluation of o the tested compound CMT-122 was studied, by the colorimetric neutral red bioassay, using as test-objects the protozoan *Paramecium caudatum*, which is one of the most commonly used test-objects in laboratory research aimed at directly determining the toxicity of chemical compounds, which are used in toxicological medicine.

Experimental

Cell Culture

HeLa, RD and MDCK cells of line in this study were used. **All cells of lines were grown cultured in T-75 cell culture flasks using Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12) supplemented with HEPES, L-Glutamine, 10% (FBS) fetal bovine serum and 100 U/ml of penicillin-streptomycin.** Cells were maintained at 37°C in a humidified 2% CO₂ atmosphere.

Alamar blue *in vitro* proliferation analysis

Cells viability was measured using the Alamar blue assay with each data point measured in triplicate. The absorbance was read by Hybrid reader H1 (Bio Tek) with 570 nm and 600 nm filters.

The percentage inhibition was calculated according to the formula:

$$\text{Inhibition (\%)} = 100 - ((\text{Abs}_{570\text{nm}_{\text{smpl}}} - \text{Abs}_{600\text{nm}_{\text{smpl}}}) / (\text{Abs}_{570\text{nm}_{\text{con}}} - \text{Abs}_{600\text{nm}_{\text{con}}}) \times 100).$$

Neutral red *in vivo* toxicity analysis

Direct toxic evaluation of compound CMT-122 was studied by colorimetric neutral red assay [9] of the quantification of the membrane permeability and lysosomal activity of *Paramecium caudatum* [10, P. 445]. The neutral red uptake assay provides a quantitative estimation of the number of viable cells in a culture.

Neutral red (3-Amino-7-dimethylamino-2-methylphenazine hydrochloride) was used for four hours, which is a weak cationic dye that easily penetrates the cell membrane and accumulates intracellularly in lysosomes, where it binds with anionic sites to the lysosomal matrix. The quantity of neutral red dye incorporated into cells was measured in 96-well plates by Hybrid reader H1 (Bio Tek), by spectrometry at 540 nm and 690 nm. All data about total toxicity activity are the averages of triplicate measurements.

Results and discussion

The antiproliferative activity of compound CMT-122 on two cell lines was tested using the Alamar blue method. Comparative study and concentration ranges identification of cytotoxic activity of CMT-122 and DOX in regard to RD, HeLa cancer cell lines and MDCK normal cell line are shown in Fig. 1.

It was found, that the tested compound CMT-122 exhibited *in vitro* cytotoxic activity against RD, HeLa lines, with IC₅₀ values of 1,1±0,1; 8,3±2,0; µmol/L, respectively. In addition, compound CMT-122 showed low citotoxic activity against MDCK line, with IC₅₀ values of ≥100 µmol/L. DOX, a positive control, exhibited cytotoxic activity against cell lines, RD, HeLa and MDCK, with IC₅₀ values of 2,3±0,9; 10,0±4,0; 7±2,3 µmol/L, respectively.

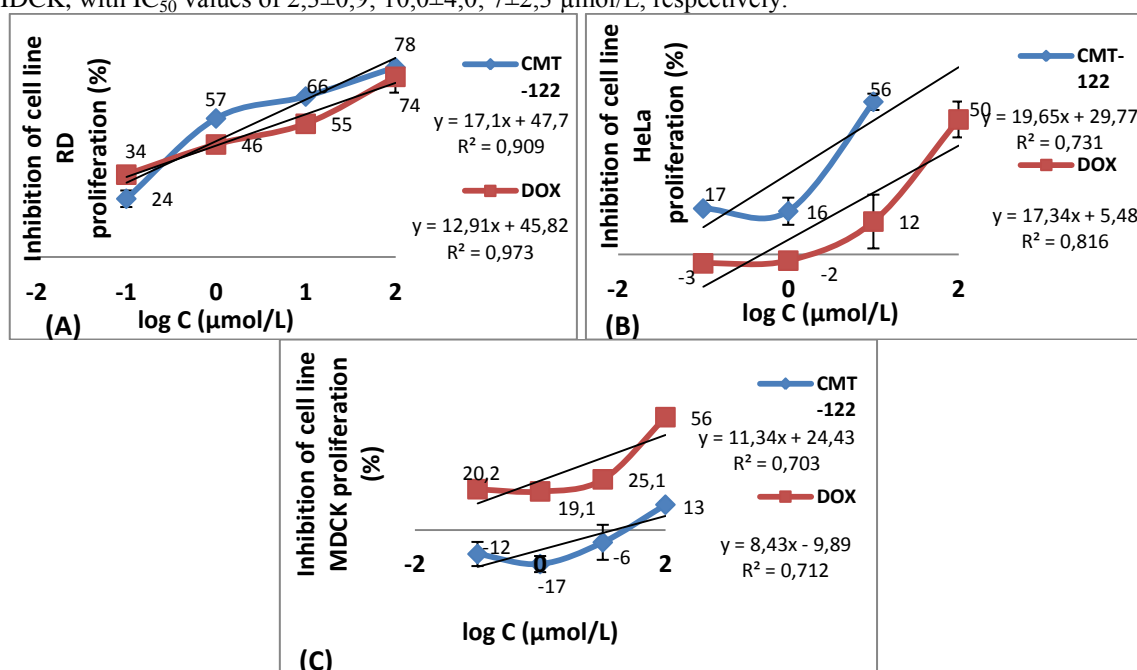


Fig. 1 – The effects of compound CMT-122 and DOX on the proliferation of several cells of lines after 24 hrs exposure: (A) inhibition of cell proliferation on RD line; (B) inhibition of cell proliferation on HeLa line; (C) inhibition of proliferation on MDCK line

Ultimately, our results have demonstrated that compound CMT-122 exhibits stronger inhibitory activity on RD, HeLa cancer lines proliferation than DOX. Concomitant was found, that the cytotoxic activity of compound CMT-122 on MDCK normal cells of line is significantly lower than that exerted on the cancer cells, and lower than that exerted by DOX.

The toxicity activity of the tested compound and DOX was performed by *Paramecium* bioassay. The effect of compound CMT-122 and DOX at a single concentration 100 $\mu\text{mol/L}$ on the locomotor behavior of *Paramecium caudatum* was investigated for 30 min by inverted microscope (LOMO) with camera, and compared with control where organisms *P. caudatum* without treatment (Fig. 1). In culture with compound CMT-122 and DOX the following changes were observed: ciliates actively moved, almost did not form a cluster, there were single fixed specimens, also cellular volume initially increased followed by disintegration of protoplasm and internal membranes (Fig. 2.). The DOX was found more potent for lysis of *Paramecium caudatum* among compound CMT-122.

After 24 hrs, *P. caudatum* were in the bottom of wells. The light microscope revealed that most of the protozoa *P.* slowly moved. Some organisms in this period were motionless, contractile vacuoles were ruptured and their contents were thoroughly mixed up with protoplasm, appears as coagulation of proteins.



Fig. 2 – Effects of (A) compound CMT-122 and (B) DOX on *Paramecium caudatum* exposed the high concentration 100 $\mu\text{mol/L}$ after 30 min; (C) organisms without treatment. Arrows indicating rupture of outer membrane

Percent of viability was determined after 24 hrs treatment for compound CMT-122 and DOX, it is graphically indicated in Fig. 3. It was founded, that the LC_{50} (lethal concentration) value is $4,9 \pm 1,5$ $\mu\text{mol/L}$ for CMT-122 and is $1 \pm 0,4$ $\mu\text{mol/L}$ for DOX.

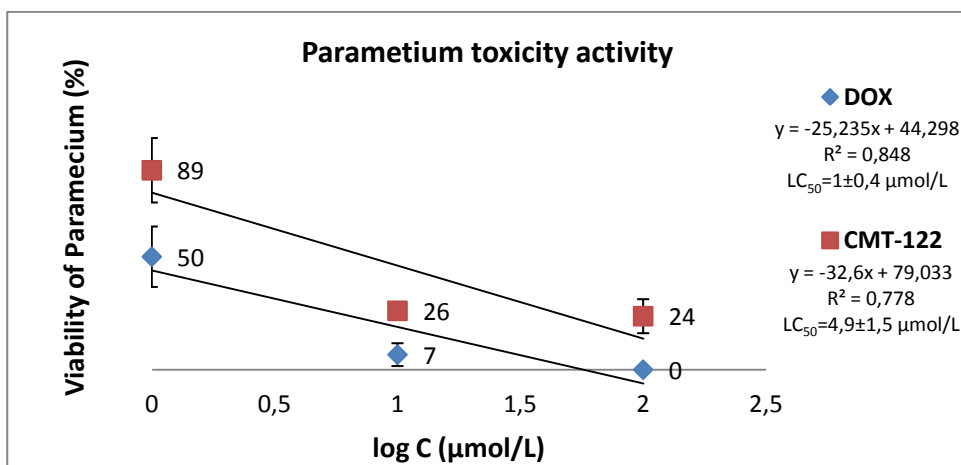


Fig. 3 – Effect of compound CMT-122 and DOX on population growth of *Paramecium caudatum*

Thus, our results have demonstrated that CMT-122 is lower toxicity than that exerted by doxorubicin.

Conclusion

In summary, these results suggest that the tested compound CMT-122 is of great interest due to their possibility for use as less toxic and more effective anticancer drug. The obtained data will serve as a basis to determine further investigations ways to elucidate pathogenic intimate and detailed mechanisms that can certainly be used to optimize and improve the effectiveness of the cancer treatment.

Список литературы / References

1. Mohamed A Ismail. Anticancer, antioxidant activities, and DNA affinity of novel monocationic bithiophenes and analogues / A Ismail Mohamed, K Arafa Reem, M Youssef Magdy, M El-Sayed Wael // Drug Design, Development and Therapy – 2014. – P. 1659–1672.
2. Rosu T. Metal-based biologically active agents: Synthesis, characterization, antibacterial and antileukemia activity evaluation of Cu(II), V(IV) and Ni(II) complexes with antipyrine-derived compounds / T. Rosu, M. Negoiu, S. Pasculescu, E. Pahontu, D. Poirier, A. Gulea // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2010 – № 45. – P. 774–781.
3. Gulea A. Synthesis and antileukaemia activity of N-(2,4-dimethylphenyl)hydrazine carbothioamide and its azomethine derivatives / A. Gulea, A. Sargun, A. Barbara, A. Jalba // Buletinul ASM. Seria Stiintele vietii. – 2012. – № 318 (3). – P. 59-66.
4. Dilovic I. Novel thiosemicarbazone derivatives as potential antitumor agents: Synthesis, physicochemical and structural properties, DNA interactions and antiproliferative activity / I. Dilovic, M. Rubcic, V. Vrdoljak // Bioorg. Med. Chem. – 2008. – №16. – P. 5189–5198.

5. Anoopkumar-Dukie S. Resazurin assay of radiation response in cultured cells / S. Anoopkumar-Dukie, JB Carey, T. Conere // British Journal of Radiology. – 2005. – P. 78-86.
6. Pahontu E. Synthesis, Characterization, Antimicrobial and antiproliferative Activity Evaluation of Cu(II), Co(II), Zn(II), Ni(II) and Pt(II) Complexes with Isoniazid-Derived Compound / E. Pahontu, D. Ilies, S. Shova, C. Oprean, V. Paunescu, O. Tudorel Olaru, F. Stefan Radulescu, A. Gulea // Molecules. – 2017. – № 22. – P. 650.
7. Pahontu E. Synthesis and Characterization of Novel Cu(II), Pd(II) and Pt(II) Complexes with 8-Ethyl-2-hydroxytricyclo(7.3.1.0^{2,7})tridecan-13-onethiosemicarbazone: Antimicrobial and in Vitro Antiproliferative Activity / E. Pahontu, C. Paraschivescu, D. Ilies, D. Poirier, C. Oprean, V. Paunescu, A. Gulea // Molecules. – 2016. – № 21. – P. 674.
8. Gulea A. In vitro antileukemia, antibacterial and antifungal activities of some 3d metal complexes: Chemical synthesis and structure - activity relationships / A. Gulea, D. Poirier, J. Roy, V. Stavila // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. – 2008. – № 23 (6). – P. 806-818.
9. Toderas I. Express method for testing toxic substances on the Paramecium caudatum culture using the Red Neutral Dye / I. Toderas, A. Gulea, V. Gudumac, E. Roscov, O. Garbuz // Patent application – 2017. – № S2017 0067.
10. Kryuchkova M. Evaluation of toxicity of nanoclays and graphene oxide in vivo: a Paramecium caudatum study / M. Kryuchkova, A. Danilushkina, Y. Lvovab // The Royal Society of Chemistry. Nano. – 2016 - № 3. – P. 442 -452.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.044>Дадабаев В.К.¹, Алексеев Р.К.²

¹к.м.н. доцент кафедры судебной медицины с курсом правоведения ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России
²врач-нейрохирург ГБУЗ МО Солнечногорская ЦРБ

МУЛЬТИСПИРАЛЬНЫЙ МЕТОД КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ ЭКСПЕРТИЗ ПРИ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Аннотация

Статья посвящена возможностям применения методов исследования РКТ и МСКТ в клинической практике с целью диагностики, лечения, а в судебной медицине при решении вопросов причин диагностических и лечебных ошибок на этапах оказания медицинской помощи. В статье представлен случай из практики, где обследование пациента при помощи МСКТ позволило точно установить клинический диагноз, четко локализовать повреждения головного мозга и инородные тела, наметить план оперативного вмешательства, помогло судебно-медицинскому эксперту ответить на многие вопросы следствия, не дожидаясь патологоанатомического исследования трупа.

Ключевые слова: томографические методы исследования (РКТ, МСКТ, МРТ), вещественные доказательства, огнестрельное ранение головы.

Dadabaev V.K.¹, Alekseev R.K.²

¹MD, Associate professor of the Department of Forensic Medicine with a course in jurisprudence of FSBEI of HE Tver State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
²neurosurgeon Budgetary Public Health Facility, Solnechnogorsk CDH

MULTISPIRAL METHOD OF COMPUTER TOMOGRAPHY IN THE PRODUCTION OF FORENSIC MEDICAL EXPERTISE IN NEUROSURGIC PATHOLOGY

Abstract

The paper is devoted to the possibilities of the use of RCT and MSCT diagnostics in clinical practice for diagnostics, treatment, and in forensic medicine in solving the causes of diagnostic and medical errors at the stages of medical care. The article also describes the case from practice where the examination of the patient with the help of MSCT allowed to establish the clinical diagnosis accurately, clearly localize brain damage and debrides, outline the plan of operative intervention, helped the forensic expert to answer numerous questions of the investigation without waiting for the pathologicoanatomic study of the corpse.

Keywords: tomographic research methods (RCT, MSCT, MRI), material evidence, gunshot head wound.

Введение

Использование в судебно-медицинских и медико-криминалистических экспертизах современных методов исследования, в частности компьютерные томографы (РКТ), мультиспиральный компьютерный томограф (МСКТ), позволяет экспертам объективно и научно обосновано отвечать на вынесенные вопросы экспертизы, а при необходимости, повторно проводить исследование по имеющимся данным [1, С. 22].

Актуальность

Применение современных инновационных технологий в судебно-медицинской экспертной практике становятся неотъемлемой частью технологического обеспечения их повседневной деятельности. В судебно-медицинской экспертной деятельности отдается предпочтение и приоритет методам, обладающим следующими критериями: простота использования, достоверность и объективность, возможность сопоставления и повторного проведения исследования без потери полученных данных, не изменяющий свойств исследования объекта и дополнительного времени. Такими критериями обладают хорошо зарекомендовавшие себя и уже используемые в практической медицине рентгенологические методы: компьютерная томография (РКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ).

Применение вышеперечисленных методов в судебно-медицинской экспертной деятельности позволяют улучшить процессы качественного изменения в области переоснащения высокоэффективной диагностической медицинской рентгенологической техникой в системе здравоохранения Российской Федерации (Национальный проект здоровья).

Применение метода МСКТ позволяет решить вопрос судебно-медицинского и патологоанатомического вскрытия тел усопших, не проводя секционного исследования трупа, а в некоторых случаях дополняя его, а полученные данные будут являться вещественным доказательством при проведении повторных судебно-медицинских экспертиз [10, С. 17-22].

В экспертной практике огнестрельных повреждений живых лиц и трупов в результате выстрела из оружия основными экспертными вопросами, которые подлежат разрешать, – локализация, механизм и давность образования.

Применение РКТ и МСКТ в клинической нейрохирургической практике позволяет выявить костно-травматическое повреждение и решить вопрос точной локализации, а также наметить план оперативного лечения.

Важным моментом, которым обладают рентгенологические методы РКТ и МСКТ, в отличие от других методов, применяющихся в медико-криминалистических лабораториях, является то, что они позволяют не нарушать структуру костной и мягкой ткани в объекте исследования, позволяя тем самым сохранить их первоначальный вид.

Случай из практики

Пациент доставлен бригадой СМП. Со слов сопровождающего сына - около получаса назад больной выстрелил себе в голову из травматического пистолета, после чего потерял сознание. Гр-н получил огнестрельную открытую травму костей черепа и головного мозга, доставлен в больницу в отделение реанимации и интенсивной терапии, в котором вскоре (на 3 сутки) скончался. При поступлении в стационар пациенту, было проведено комплексное исследование, в том числе с применением неинвазивного рентгенологического метода исследование МСКТ. МСКТ исследование приводили на томографе Brilliance 64, Philips с нагрузкой всего 1,4 mSv (мощностью 60 кВт., шаг 0,2 мм., 0,5 секунды - 64 срезов и покрытием шириной 40 мм) возможностью реконструкции и коррекции конического луча для получения изображений без искажений и артефактов, матрица реконструкции 768x768 см. На МСКТ было выявлено инородное тело, которое визуализируется на томограммах: 3D реконструкция боковая поверхность - дефект костной ткани, открытая ЧМТ: входная слепая огнестрельная рана, многооскольчатый перелом костей свода и основания черепа (рис. 1 а). Аксиальная проекция в режиме Brain - подкожная гематома мягких тканей с включениями воздуха; оскольчатый перелом лобной кости; множественные участки повышенной плотности до 64 ед.НУ в обоих гемисферах, больше справа; включения воздуха по ходу раневого канала и в прилежащих к нему областях; инородное тело около 14 мм в диаметре субкортикально в левой лобно-теменной области (рис. 1 б). Коронарная проекция в режиме Bone: Оскольчатый перелом лобной кости справа, глубинно залегающие костные отломки, включения воздуха по ходу раневого канала (рис. 1 в).

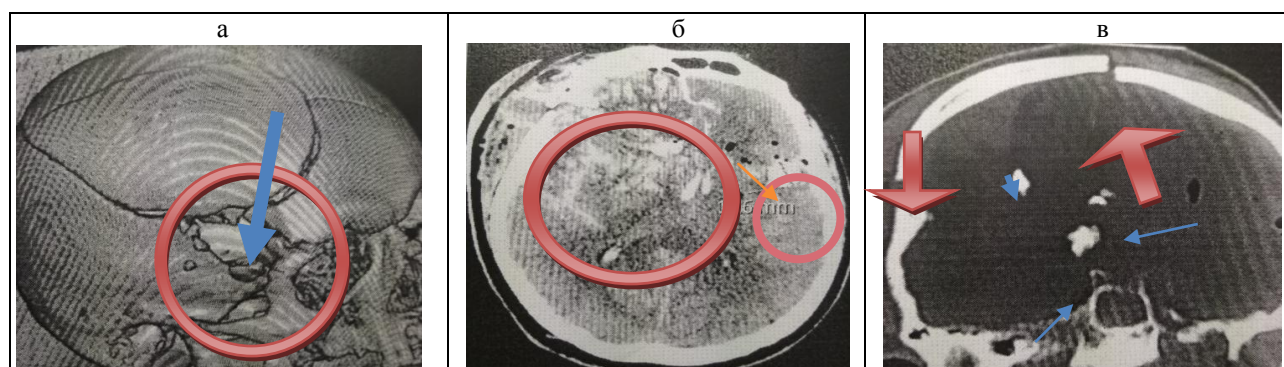


Рис. 1 – МСКТ костей черепа и вещества головного мозга

а – 3D реконструкция, обозначено входное отверстие огнестрельного ранения; б – аксиальная проекция в режиме «Brain», обозначено инородное тело и обширное повреждение вещества головного мозга по ходу раневого канала; в – аксиальная проекция в режиме «Bone», обозначены линии перелома теменной кости и костные фрагменты в полости черепа

При поступлении: общее состояние тяжелое. Ps=76 уд. в мин., АД=130/80 мм рт. ст., в легких дыхание везикулярное, ЧДД= 18 в мин. Выявленная патологическая неврологическая симптоматика: уровень сознания - кома (5 баллов по ШКГ), зрачки D>S, ригидность мышц затылка, сухожильные рефлексы с рук и с ног снижены, симметричные, патологический стопный рефлекс Бабинского с обеих сторон.

Status localis: Проникающее огнестрельное ранение височной области справа. Входное отверстие неправильной овальной формы с осадненными краями, размером 1,0 x 1,0 см, продолжающееся к лобной области в виде линейного разрыва кожи, с признаками выстрела в упор (в области входного ранения выявлены: штанц марка, пояска осаднения, алая кровь в мягких тканях). Из раны отделяется мозговой детрит (рис. 2).

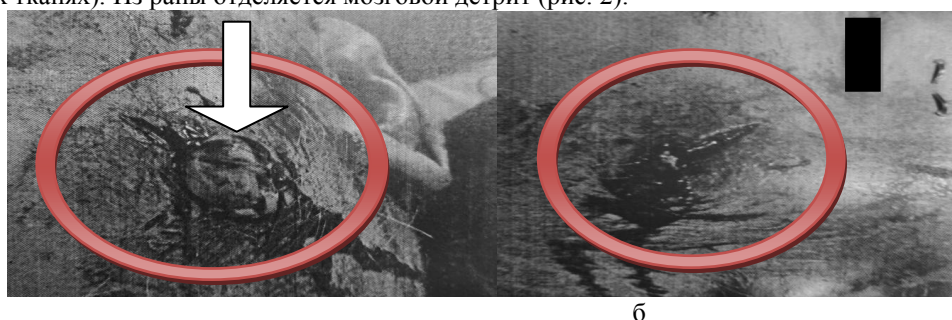


Рис.2 – Фотография входного огнестрельного ранения правой височной области с разных (а, б) ракурсов

Диагноз при поступлении: Основной: ОЧМТ. Огнестрельное пулевое проникающее слепое диаметральное ранение головы в правой височной области. Ушиб, разможение вещества головного мозга тяжелой степени. *Осложнение основного:* Отек и дислокация головного мозга.

Пациент госпитализирован в отделение реанимации и интенсивной терапии, после экстренной предоперационной подготовки пациенту проведено оперативное вмешательство.

Ход операции: После трехкратной обработки кожи раствором йода произведен подковообразный разрез мягких тканей в правой лобно-теменно-височной области. Определяется округлый дефект лобной кости с наличием мелких костных отломков, от которого идут линии перелома лобной и теменной костей. Из дефекта отделяется мозговой детрит. Удалены костные отломки, один из которых значительных размеров (большой костный фрагмент лобной и теменной костей), выявлены дефекты ТМО в области раневого канала и вдоль линейных переломов костей, из которых отделяется мозговой детрит и имеется умеренное кровотечение из корковых сосудов. Кровотечение из корковых сосудов остановлено электрокоагуляцией. Разможенные участки ТМО иссечены. Дефект ТМО в области раневого канала расширен, проведено удаление мозгового детрита, ревизия раневого канала с промыванием его растворами антисептиков, удалением костных фрагментов, волос. Проведен контроль гемостаза субдурального пространства с последующей пластикой дефекта ТМО искусственной ТМО и дренированием субдурально приточно-отточной промывной системой. Рана послойно ушита до дренажей. Под рентген-контролем ЭОП произведен линейный разрез мягких тканей в левой лобно-теменной области в проекции расположения инородного тела. Кость не изменена. Наложено фрезевое отверстие из которого кусачками сформирован костный дефект 5х5 см. ТМО рассечена, удален мозговой детрит и инородное тело около 14 мм в диаметре. Проведена ревизия раневого канала с промыванием растворами антисептиков и дренированием промывной системой. ТМО ушита до дренажа. Послойное ушивание операционной раны. Область операции обработана раствором йода, наложены асептические повязки

Извлеченное инородное тело в дальнейшем было передано следователю по описи.

В послеоперационном периоде пациент находился в отделении реанимации, где проводилась комплексная интенсивная терапия, ИВЛ. Несмотря на проводимое лечение, состояние больного ухудшалось. На 3-е сутки нахождения в отделении реанимации у пациента, на фоне прогрессирующего ухудшения состояния и угнетения сознания до атонической комы, произошла остановка сердечной деятельности. Реанимационные мероприятия - без эффекта, констатирована смерть больного.

Применение рентгенологического метода МСКТ позволило нейрохирургам изучить анатомическую локализацию инородного тела, ход раневого канала, наметить план оперативного вмешательства, что позволило щадяще, благополучно произвести оперативное вмешательство и изъять инородное тело.

При судебно-медицинском исследовании трупа был подтвержден ранее установленный при МСКТ исследовании диагноз: Слепое огнестрельное ранение головы: огнестрельная рана в правой височной области, многооскольчатый перелом костей свода и основания черепа, разможение височных долей. Кровоизлияние в желудочки головного мозга. Осложнение основного: Отек и набухание головного мозга. Указанная травма квалифицировалась по степени причиненного вреда здоровью как тяжкий вред здоровью.

Так как, любое даже незначительное оперативное вмешательство на органах и системах при огнестрельных ранениях зачастую изменяет ход раневого канала и анатомическое расположение инородного тела (пули). Использование метода МСКТ позволил, не только выявить точную анатомическую локализацию инородного тела (пули), но и зафиксировать его расположение, что позволило судебно-медицинским экспертам использовать эти данные при ответе на вопрос о направлении раневого канала.

Вывод:

В данном конкретном случае при огнестрельном ранении применение рентгенологического метода МСКТ позволило решить экспертные вопросы: выявить анатомическую локализацию и механизм образования травмы без традиционного судебно-медицинского вскрытия усопшего тела. Применение МСКТ позволило на предварительных этапах исследования получить данные, которые в последствии были исследованы при дополнительном судебно-медицинском исследовании [4, С. 18 - 22].

Метод компьютерной томографии МСКТ обладает высоким пространственным и временным разрешением, позволяет решать достаточно большой круг вопросов, начиная с точной локализации, времени и механизма образования перелома костной ткани, и заканчивая прогнозом восстановления и возможностью планирования тактики оперативного вмешательства. МСКТ уникален своей мобильностью, т.е. его можно распечатать в традиционном варианте или же сохранить на электронном носителе, он поддается длительному хранению, занимает минимальный объем, позволяет получать цифровое изображение 2х и 3х мерную реконструкцию изображения, с последующим воспроизведением на экране.

Применение РКТ и МСКТ в судебно-медицинской экспертной деятельности позволяет, визуально воспроизвести морфологию полученной травмы, что положительно скажется на объективности, сроках и качестве проводимых повторных судебно-медицинских экспертиз.

Применение метода МСТК позволит судебно-медицинскому эксперту и медицинскому криминалисту в режиме реального времени по Internet со своего рабочего места проводить с врачом рентгенологом не только анализ изображения, но и оперативно решать вопросы, вынесенные следственными органами на разрешение экспертам.

Метод позволяет минимизировать ошибки судебно-медицинских экспертов и патологоанатомов при первичном исследовании трупа, т.к., не нарушает структуру костной и мягкой ткани в объекте исследования, сохраняя их первоначальный вид. Это прежде всего, значительно сократит количество эксгумаций, для его повторного исследования учитывая, что мягкие ткани организма, в первую очередь, подвержены разложению.

Кроме того, впервые у судебно-медицинских экспертов и медико-криминалистов появится возможность при исследовании трупов умерших и при идентификации трупа избежать заражения особо опасными инфекциями, в том числе СПИДа и др.

Внедрение в экспертную практику методов МСКТ в решении проблемы исследования тел усопших, позволит решить большой круг интересов, учитывая, что в данном случае речь идет о защите и реализации конституционных прав граждан РФ, соблюдение религиозных канонов муфтията, этических и культурных традиций граждан РФ.

Список литературы / References

1. Дадабаев В.К. Метод рентгеновской компьютерной томографии в судебно-медицинской практике при исследовании черепно-мозговой травмы / В.К. Дадабаев // Верхневолжский медицинский журнал. - 2005. - Т. 4. - Вып. 5-6. - С. 83-85.
2. Дадабаев В.К. Экспертная оценка рентгеновской компьютерно-томографической картины сотрясения и ушиба головного мозга. / В.К. Дадабаев, А.В. Ковалев, В.В. Колкутин // Материалы научной конференции судебно-медицинских экспертов, посвященной 60-летию образования государственных судебно-экспертных учреждений Министерства обороны Российской Федерации на территории Приволжско-Уральского Военного округа. – Самара, 2005. - С. 85-87.
3. Дадабаев В.К. Метод рентгеновской компьютерной томографии как составная часть комплексного судебно-медицинского исследования при черепно-мозговой травме, причиненной тупыми предметами : / В.В. Колкутин, А.В. Ковалев, В.К. Дадабаев, // Материалы научной конференции судебно-медицинских экспертов, посвященной 60-летию образования государственных судебно-экспертных учреждений Министерства обороны Российской Федерации на территории Приволжско-Уральского Военного округа. – Самара, 2005. - С. 116-118.
4. Дадабаев В.К. Анализ судебно- медицинских экспертиз по качеству оказания медицинской помощи в Тверской области. : / В.К. Дадабаев // Верхневолжский медицинский журнал. – 2006. – Т. 4. – Вып. 1-2. - С. 69-71.
5. Дадабаев В.К. Возможности применения дополнительных методов в установлении черепно-мозговой травмы при проведении судебно-медицинских экспертиз. : / В.К. Дадабаев // Верхневолжский медицинский журнал. – 2007. – Т. 5. – Вып. 1/2. - С. 38-39.
6. Дадабаев В.К. Судебно-медицинские аспекты хронических субдуральных гематом. : / В.К. Дадабаев, В.В. Колкутин, А.В. Ковалев. // Военно-медицинский журнал. – М., 2007. - № 8 – С. 67 – 68.
7. Дадабаев В.К. Применение метода рентгеновской компьютерной томографии для прогнозирования и установления тяжести вреда здоровью при черепно-мозговой травме. : авторефер. Дис. ... кан. мед. наук: 14.00.24, 14.00.19 / Дадабаев Владимир Кадырович [РЦ СМЭ] – М., - 2008. - С. 12 -20.
8. Дадабаев, В.К. Применение рентгенологического метода в судебной медицине : / В.К. Дадабаев, А.В. Ковалев. // О проблемных вопросах в организации производства судебно-медицинских экспертиз: Материалы научно-практической конференции. Москва. (5 - 6 ноября 2009 г.). - М., 2008 г. С. 12 - 20.
9. Дадабаев, В.К. Применение компьютерной томографии в судебной медицине: / В.Н. Троян, В.К. Дадабаев, В.А. Путинцев, Э.А. Ковтун // Военно-медицинский журнал. - 2010. - № 12. С. 52 – 53.
10. Дадабаев В.К. К вопросу о возможности использования спиральной компьютерной томографии в судебно-медицинской практике. / В.К. Дадабаев // Судебная экспертиза. Саратов. юрид. ин-та МВД России. Саратов - 2011 г. - № 1 (25) С. 80-83.
11. Дадабаев. В.К. «Использование спиральной компьютерной томографии в судебной медицине» / В.К. Дадабаев, В.Н. Троян // Медицинская экспертиза и право № 2. - 2011 С. 36-39.
12. Дадабаев. В.К. «Использование 3D технологий в судебной медицине» / В.К. Дадабаев, Д.В. Сундуков // Медицинская экспертиза и право № 3. - 2011. С. 19-21.
13. Дадабаев. В.К. Судебно-медицинская оценка тяжести вреда здоровью хронических субдуральных гематом / В.К. Дадабаев, М.А. Невзоров, Е.Б. Ганина // Волгоградский вестник Выпуск 1 (45). - 2013. С. 64 - 67.
14. Дадабаев. В.К. Перспективы и возможности использования компьютерной томографии (СКТ) и 3D технологий в криминалистике и судебной медицине / В.К. Дадабаев. // Институт повышения квалификации СК России. Москва - 2013 г. Расследование преступлений: проблемы и пути их решения: сборник научно-практических трудов. Вып. 2. Москва - 2013, - С. 141-146.
15. Дадабаев. В.К. Внедрение научно-технических инноваций в судебно-медицинской и криминалистической деятельности / В.К. Дадабаев, В.Н. Стрельников // Международный научно-исследовательский журнал. Екатеринбург . 2013 / № 12 (19) Ч.3. С. 42 – 44.
16. Дадабаев В.К. «Возможности применения рентгенологических методов исследования в судебно-медицинской и криминалистической экспертной деятельности» / В.К. Дадабаев, А.А. Стрелков // Библиотека криминалиста. Научный журнал 2014 / №4. С. 278-281.
17. Дадабаев В.К. Законодательная основа производства судебно-медицинской экспертизы и возможности применения рентгеновского метода компьютерной томографии (СКТ) в исследовании трупа» / В.К. Дадабаев, А.А. Стрелков // Библиотека криминалиста. Научный журнал. - 2014. № 6 С. 275 – 280.
18. Дадабаев В.К. «Законодательная основа производства судебно-медицинской экспертизы и возможности применения рентгеновского метода компьютерной томографии (СКТ) в исследовании трупа» / Дадабаев В.К., Стрелков А.А. // Библиотека криминалиста. Научный журнал. 2014/ № 6. С. 275-280.
19. Дадабаев В.К. «Возможности криминалистического исследования трупа методом рентгеновской компьютерной томографии» / В.К. Дадабаев, А.А. Стрелков // Вестник Следственного комитета Российской Федерации. 2014/ № 2. С.39-42.
20. Дадабаев В.К. «Предварительное криминалистическое исследование трупа методом рентгеновской компьютерной томографии: возможности и перспективы» / В.К. Дадабаев, А.А. Стрелков // Гуманитарные и юридические исследования. Научно-теоретический журнал. ФГАОУ ВПО «Северо-кавказский федеральный университет» Ставрополь 2014 / №3 С. 122 - 126.

21. Дадабаев В.К. «Применение рентгенологического метода компьютерная томография в судебной медицине (с целью определения тяжести причинённого вреда здоровью черепно-мозговой травмой) : монография / В.К. Дадабаев, В.В. Колкутин – Тверь : Ред. – изд. Центр. Тверь. Гос. мед. акад.. 2014 . – 155 : ил.

22. Дадабаев В.К. «Виртуальная аутопсия: перспективы ее развития в Российской Федерации» / В.К. Дадабаев, А.А. Стрелков, В.В. Колкутин // Медицинская экспертиза и право 2015/ №1. С.6-9.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Dadabaev V.K. Metod rentgenovskoy komp'yuternoy tomografii v sudebno-meditsinskoj praktike pri issledovanii cherepno-mozgovoy travmy [Method of X-ray Computer Tomography in Forensic Medicine in Study of Cranium-Brain-Trauma] / V.K. Dadabaev // Upper Volga Medical Magazine. – 2005. – Vol. 4. – Is. 5-6. – P. 83-85. [in Russian]

2. Dadabaev V.K. Ekspertnaya otsenka rentgenovskoy komp'yuterno-tomograficheskoy kartiny sotryaseniya i ushiba golovnogo mozga [Expert Evaluation of X-ray Computer Tomography Picture of Concussion and Brain Contusion]. / V.K. Dadabaev, A.V. Kovalev, V.V. Kolkutin // Proceedings of the Scientific Conference of Forensic Experts, Dedicated to the 60th Anniversary of the Formation of State Forensic Experts of the Ministry of Defense of the Russian Federation on the Territory of the Volga-Urals Military District. - Samara, 2005. - P. 85-87. [in Russian]

3. Dadabaev V.K. Metod rentgenovskoy komp'yuternoy tomografii kak sostavnaya chast' kompleksnogo sudebno-meditsinskogo issledovaniya pri cherepno-mozgovoy travme, prichinennoy tupymi predmetami [X-ray Computer Tomography Method as Part of Comprehensive Forensic Medical Study in Case of Cranium-Brain-Trauma Caused by Blunt Objects]: / V.V. Kolkutin, A.V. Kovalev, V.K. Dadabaev, // Proceedings of the Scientific Conference of Forensic Experts, Dedicated to the 60th Anniversary of the Formation of State Forensic Experts of the Ministry of Defense of the Russian Federation on the Territory of the Volga-Urals Military District. - Samara, 2005. - P. 116-118. [in Russian]

4. Dadabaev V.K. Analiz sudebno- meditsinskih ekspertiz po kachestvu okazaniya meditsinskoj pomoshchi v Tverskoy oblasti [Analysis of Forensic Medical Examinations on Quality of Medical care in Tver Region]: / V.K. Dadabaev // Upper Volga Medical Magazine. - 2006. – Vol. 4. – Is. 1-2. – P. 69-71. [in Russian]

5. Dadabaev V.K. Vozmozhnosti primeneniya dopolnitel'nykh metodov v ustanovlenii cherepno-mozgovoy travmy pri provedenii sudebno-meditsinskih ekspertiz [Possibilities of Use of Additional Methods in Establishing Cranium-Brain-Trauma During Forensic Examinations]: / V.K. Dadabaev // The Upper Volga Medical Magazine. - 2007. - Vol. 5. - Issue. 1/2. - P. 38-39. [in Russian]

6. Dadabaev V.K. Sudebno-meditsinskiye aspekty khronicheskikh subdural'nykh gematom [Forensic Medical Aspects of Chronic Subdural Hematomas]: / V.K. Dadabaev, V.V. Kolkutin, A.V. Kovalev. // Military Medical Magazine. – M., 2007. – No. 8 – P. 67 - 68. [in Russian]

7. Dadabaev V.K. Primeneniye metoda rentgenovskoy komp'yuternoy tomografii dlya prognozirovaniya i ustanovleniya tyazhesti vreda zdorov'yu pri cherepno-mozgovoy travme [Use of X-ray Computer Tomography Method for Prediction and Establishing Severity of Health Damage in Cases of Head Injuries]: Abstract of PhD thesis in Med. Sci/: 14.00.24, 14.00.19 / Dadabaev Vladimir Kadyrovich [FE] – M., - 2008. – P. 12 -20. [in Russian]

8. Dadabaev, V.K. Primeneniye rentgenologicheskogo metoda v sudebnoy meditsine [Usage of X-ray method in forensic medicine]: / V.K. Dadabaev, A.V. Kovalev. // On problem issues in organization of forensic medical examinations: Materials of the scientific-practical conference. Moscow. (5 - 6 November 2009). – M., 2008. P. 12 - 20. [in Russian]

9. Dadabaev, V.K. Primeneniye komp'yuternoy tomografii v sudebnoy meditsine [Usage of X-ray Computer Tomography in Forensic Medicine]: / V.N. Troyan, V.K. Dadabaev, V.A. Putintsev, E.A. Kovtun // Military Medical Magazine. - 2010. - No. 12. P. 52 - 53. [in Russian]

10. Dadabaev V.K. K voprosu o vozmozhnosti ispol'zovaniya spiral'noy komp'yuternoy tomografii v sudebno-meditsinskoj praktike [On Possibility of Using Spiral Computed Tomography in Forensic Medicine] / V.K. Dadabaev // Forensic examination. Sarat. Law ins. of the Ministry of Internal Affairs of Russia. Saratov - 2011 – No. 1 (25) P. 80-83. [in Russian]

11. Dadabaev. V.K. Ispol'zovaniye spiral'noy komp'yuternoy tomografii v sudebnoy meditsine [Use of Spiral Computer Tomography in Forensic Medicine] / V.K. Dadabaev, V.N. Troyan // Medical examination and law No. 2. – 2011 – P. 36-39. [in Russian]

12. Dadabaev. V.K. Ispol'zovaniye 3D tekhnologiy v sudebnoy meditsine [Usage of 3D Technologies in Forensic Medicine] / V.K. Dadabaev, D.V. Sundukov // Medical examination and law No. 3. – 2011. – P. 19-21. [in Russian]

13. Dadabaev. V.K. Sudebno-meditsinskaya otsenka tyazhesti vreda zdorov'yu khronicheskikh subdural'nykh gematom [Forensic Medical Assessment of Severity of Damage to the Health of Chronic Subdural Hematomas] / V.K. Dadabaev, M.A. Nevzorov, E.B. Ganina // Volgograd Bulletin Issue 1 (45). – 2013. P. 64 - 67. [in Russian]

14. Dadabaev. V.K. Perspektivy i vozmozhnosti ispol'zovaniya komp'yuternoy tomografii (SKT) i 3D tekhnologiy v kriminalistike i sudebnoy meditsine [Outlooks and Possibilities of Using Computer Tomography (CT) and 3D Technologies in Forensic Science and Forensic Medicine] / V.K. Dadabaev. // Institute for Advanced Studies of the IC of Russia. Moscow - 2013 Investigation of crimes: problems and ways to solve them: a collection of scientific and practical works. Issue. 2. Moscow - 2013, - P. 141-146. [in Russian]

15. Dadabaev. V.K. Vnedreniye nauchno-tekhnicheskikh innovatsiy v sudebno-meditsinskoj i kriminalisticheskoy deyatel'nosti [Introduction of Scientific and Technical Innovations in Forensic Activity] / V.K. Dadabaev, V.N. Strelnikov // International Scientific and Research Magazine. Ekaterinburg. 2013 / No. 12 (19) P.3. P. 42 - 44. [in Russian]

16. Dadabaev V.K. Vozmozhnosti primeneniya rentgenologicheskikh metodov issledovaniya v sudebno-meditsinskoj i kriminalisticheskoy ekspertnoy deyatel'nosti [Possibilities of Usage of X-ray Research Methods in Forensic Expert Activities] / V.K. Dadabaev, A.A. Strelkov // Library of the criminalist. Scientific magazine 2014 / No.4. P. 278-281. [in Russian]

17. Dadabaev. V.K. Zakonodatel'naya osnova proizvodstva sudebno-meditsinskoj ekspertizy i vozmozhnosti primeneniya rentgenovskogo metoda komp'yuternoy tomografii (SKT) v issledovanii trupa [Legislative Basis for Production of Forensic

Medical Examination and Possibility of Usage of X-ray Method of Computer Tomography (CT) in Study of Corpse] / V.K. Dadabaev, A.A. Strelkov // Library of the criminalist. Science Magazine. 2014. No. 6 – P. 275 - 280. [in Russian]

18. Dadabaev V.K. Zakonodatel'naya osnova proizvodstva sudebno-meditsinskoj ekspertizy i vozmozhnosti primeneniya rentgenovskogo metoda komp'yuternoy tomografii (SKT) v issledovanii trupa [Legislative Basis for Forensic Medical Examination and Possibility of Usage of X-ray Method of Computer Tomography (CT) in Study of Corpse / Dadabaev V.K., Strelkov A.A. // Library of the criminalist. Science Magazine. 2014 / No. 6. P. 275-280. [in Russian]

19. Dadabaev V.K. Vozmozhnosti kriminalisticheskogo issledovaniya trupa metodom rentgenovskoy komp'yuternoy tomografii [Possibilities of Forensic Research of Corpse by X-ray Computer Tomography] / V.K. Dadabaev, A.A. Strelkov // Bulletin of the Investigative Committee of the Russian Federation. 2014 / No.2. P.39-42. [in Russian]

20. Dadabaev V.K. Predvaritel'noye kriminalisticheskoye issledovaniye trupa metodom rentgenovskoy komp'yuternoy tomografii: vozmozhnosti i perspektivy [Preliminary Forensic Examination of Corpse by X-ray Computer Tomography: Possibilities and Outlooks] / V.K. Dadabaev, A.A. Strelkov // Humanitarian and legal research. Scientific and theoretical Magazine. Federal State Institution of Higher Professional Education "North-Caucasian Federal University" Stavropol 2014 / No.3 P.122 - 126. [in Russian]

21. Dadabaev V.K. Primeneniye rentgenologicheskogo metoda komp'yuternaya tomografiya v sudebnoy meditsine (s tsel'yu opredeleniya tyazhesti prichinonnogo vreda zdorov'yu cherepno-mozgovoy travmy) [Usage of X-ray Method of Computer Tomography in Forensic Medicine (in Determining Severity of Health Damage of Head Injury): monograph / V.K. Dadabaev, V.V. Kolkutin - Tver: Ed. and Publ. Centre. Tver. Stat. Med. Acad. 2014. – P. 155. [in Russian]

22. Dadabaev V.K. Virtual'naya autopsiya: perspektivy yeye razvitiya v Rossiyskoy Federatsii [Virtual Autopsy: Poutlooks for Its Development in Russian Federation] / V.K. Dadabaev, A.A. Strelkov, V.V. Kolkutin // Medical examination and law 2015 / No.1. P.6-9. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.046>

Купша Е.И.¹, Алиев Л.Л.², Харченко С.В.³, Шаповалова Е.Ю.⁴

¹ORCID: 0000-0002-4572-6732, кандидат медицинских наук, доцент

²ORCID: 0000-0001-9401-4398, кандидат медицинских наук, доцент,

³ORCID: 0000-0002-9434-3789, кандидат медицинских наук, доцент,

⁴ORCID: 0000-0003-2544-7696, доктор медицинских наук, профессор,

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», г. Симферополь.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЯДЕР ГЕПАТОЦИТОВ МЫШЕЙ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ АЦЕТАТА СВИНЦА И АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА

Аннотация

Приведены количественные и качественные характеристики ядер гепатоцитов мышей при 30- суточном ежедневном пероральном введении альфа-токоферола и малых доз ацетата свинца. С использованием гисторадиоавтографии, электронной микроскопии и морфометрии определены параметры изменений в ядрах гепатоцитов. Установлено, в сравнении с контролем, достоверное снижение площади эухроматина с одновременным повышением его функциональной активности в 2,5 раза для светлых и, в 3,5 раза — для темных гепатоцитов. Все морфометрические показатели ядер снижены. Вектор защитных реакций фиксируется на гипертрофии и гиперплазии ядрышек. Результаты исследований показали, что применение альфа-токоферола при свинцовой интоксикации не в полной мере компенсирует дисфункцию ядерного аппарата.

Ключевые слова: свинец, тяжелые металлы, токоферол, витамин Е, антиоксиданты, печень, гепатоциты, ядро.

Kupsha E.I.¹, Aliev L.L.², Kharchenko S.V.³, Shapovalova E.Yu.⁴

¹ORCID: 0000-0002-4572-6732, MD, Associate professor

²ORCID: 0000-0001-9401-4398, MD, Associate professor,

³ORCID: 0000-0002-9434-3789, MD, Associate professor,

⁴ORCID: 0000-0003-2544-7696, MD, Professor,

FSAEI of HE Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol.

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF MICE HEPATOCYTES NUCLEI IN COMBINED APPLICATION OF LEAD ACETATE AND ALPHA-TOCOPHEROLE

Abstract

Quantitative and qualitative characteristics of hepatocytes nuclei of mice are presented at 30-day daily oral supplementation of alpha-tocopherol and small doses of lead acetate. With the use of histoautoradiography, electron microscopy and morphometry, the parameters of changes in the nuclei of hepatocytes are determined. It is established, in comparison with the control, a significant decrease in the euchromatin area with a simultaneous increase in its functional activity by 2.5 times for light and, by 3.5 times for dark hepatocytes. All the morphometric parameters of nuclei are reduced. The vector of protective reactions is fixed on hypertrophy and hyperplasia of the nucleoli. The results of the studies showed that the use of alpha-tocopherol in lead intoxication does not fully compensate the dysfunction of the nuclear apparatus.

Keywords: lead, heavy metals, tocopherol, vitamin E, antioxidants, liver, hepatocytes, nucleus.

Обзор экспериментальных исследований последних лет свидетельствует, что α-токоферол используется организмом селективно и обладает иммуномодулирующим действием, подавляет местное и хроническое воспаление, уменьшает свертываемость крови и тромбообразование, оказывает антиатеросклеротическое и антиканцерогенное действие, включающее модуляцию передачи клеточных сигналов, регулирование транскрипции и

индукцию апоптоза [1], [4], [5], [6]. Сообщается, что при определенных концентрациях α -токоферол вызывает увеличение микровязкости глуболежащих областей липидного бислоя и жесткости поверхностных, в частности, микросом гепатоцитов [2]. Между тем, физико-химическое состояние липидного бислоя является важнейшим параметром регуляторной системы перекисидного окисления липидов (ПОЛ), нарушения в которой оказывают значительное влияние на активность мембрано-связанных ферментов и приводят к изменению функционального состояния клетки при хронической свинцовой интоксикации [3], [7]. Установлено, что свинец-индуцированный окислительный стресс индуцирует клеточную неустойчивость окислительно-восстановительных реакций, что приводит к повреждению свободными радикалами митохондриальной и ядерной ДНК, мутациям, повреждениям липидов и протеинов, трансдукции и транскрипции генов, вовлеченных в регуляторные пути митоза [8], [9], [10]. Таким образом, сокращая возможности свинца взаимодействовать с критическими биомолекулами в индукции окислительного стресса, усиливая антиоксидантную систему с помощью экзогенного поступления антиоксидантов, в том числе витамина Е, можно ожидать положительный эффект, что обосновывает актуальность цели – установление морфофункциональных параметров ядер гепатоцитов при сочетанном поступлении в организм ацетата свинца и альфа-токоферола.

Свинцовую интоксикацию моделировали на 6 самцах белых мышей линии Balb/c, которые получали перорально ацетат свинца в дозе 1 мг/100 г массы тела и масляный раствор альфа-токоферола в дозе 0,2 мг/100 г, в течение 30 суток. 5 животных служили контролем. Образцы ткани печени исследовались с применением световой и электронной микроскопии, гисторадиоавтографии, морфометрии. Для получения сопоставимых результатов с применением метода гисторадиоавтографии эксперимент завершали в одно и то же время суток – 12 часов дня. За 1 час до взятия материала животным внутримышечно вводили меченный предшественник ДНК-3Н-тимидин в дозе 6,5 мКи/г. Метод применен с целью установления активности синтеза ДНК клетками паренхимы печени [Елифанова]. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм покрывали фотоэмульсией – М (разведение 1:3), экспозиция составляла 14 дней. После фиксации и проявки срезы окрашивали 1% спиртовым раствором толуидинового синего. Гисторадиоавтографическую метку (зерна серебра) подсчитывали под световым микроскопом (глицериновая иммерсия, увеличение 90x10x1,25). Морфометрия проведена с применением оптического анализатора изображения «OLIMPUS BH-2» с использованием лицензионного программного обеспечения «Видеотест – Морфология» и стандартного пакета статистических программ Excel с учетом числа срезов и количества животных (Г.Г.Автандилов, 1990). Использовали t-критерий Стьюдента. Статистически достоверными считали изменения при $P \leq 0,05$.

Морфометрический метод показал, что средняя площадь профильного поля ядер снижена до $21,26 \pm 0,65 \text{ мкм}^2$, что составляет 34% от контроля (см. табл. 1). Процент бинуклеарных светлых клеток паренхимы достигает $6,47 \pm 0,35\%$, что составляет 87,52% от контрольных значений.

Таблица 1 – Морфометрические показатели ядер гепатоцитов при сочетанном пероральном применении ацетата свинца и альфа-токоферола (Pb+E) в сравнении с контролем (К)

Параметры		К	Pb+E
Площадь профильного поля ядер, мкм^2	М	62,07	21,26***
	м	7,22	0,65
	%		34,25
Максимальный диаметр ядер, мкм	М	10,3	5,23***
	м	0,74	0,09
	%		50,77
Минимальный диаметр ядер, мкм	М	6,27	4,30***
	м	0,15	0,06
	%		68,58
Средний диаметр ядер, мкм	М	8,27	4,78***
	м	0,39	0,07
	%		57,79
Периметр ядер, мкм	М	30,2	15,43***
	м	2,73	0,25
	%		51,09

Примечание: звездочками указаны достоверно значимые отклонения, где вероятность ошибки в сравнении с контролем: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$.

Среди общей популяции гепатоцитов часто встречаются двуядерные клетки и клетки с ядрами небольших размеров. Процент двуядерности для светлых гепатоцитов составляет $6,73 \pm 0,35\%$, для темных гепатоцитов – $8,0 \pm 1,41\%$ (см. табл. 2).

Таблица 2 – Морфофункциональные показатели гепатоцитов при сочетанном пероральном применении ацетата свинца и альфа-токоферола (Pb+E) в сравнении с контролем (К)

ИМК (‰)		К	Pb+E
Светлые гепатоциты	М	43,31	114,34**
	м	9,1	11,94
	%		264
Темные гепатоциты	М	30,18	106,12*
	м	5,28	27,77
	%		351,62
% двоядерных светлых гепатоцитов	М	7,69	6,73
	м	0,91	0,35
	%		87,52
% двоядерных темных гепатоцитов	М	12,89	8,00
	м	3,44	1,41
	%		62,06
% гетерохроматина в ядре	М	40,10	87,35***
	м	0,87	2,93
	%		220,90
% площади ядрышка	М	7,44	11,57***
	м	0,16	1,52
	%		155,51
% гранулярного компонента	М	82,01	86,43*
	м	0,95	3,09
	%		105,39

В 3-й зоне ацинуса отмечается наличие двоядерных гепатоцитов и гепатоцитов небольших размеров с мелкими круглыми ядрами. Среди этих клеток отмечаются картины митоза и включение ^3H -тимидина. Для 3-ей зоны ацинуса характерно преобладание светлых гепатоцитов. Они имеют полигональную форму и ядра с преобладанием эухроматина. В кариоплазме обычно выявляются два, часто двойных, довольно крупных округлой формы ядрышка. Одно из ядрышек зачастую прилежит к кариолемме. Такие ядра чаще имеют овальную форму и большие размеры.

При электронномикроскопическом исследовании компонентов долек выявляется хорошая сохранность ультраструктур. Ядра гепатоцитов имеют овальную форму, четко контурированы, их кариолемма утолщена. Наружная мембрана содержит полирибосомы и часто контактирует с прилежащими цистернами ГрЭПС. Гетерохроматин хорошо выражен и образует значительные скопления по всей кариоплазме. Количество гетерохроматина является высоким и составляет $87,35 \pm 2,93\%$ от общей площади ядра. В ядре обычно находятся два, часто гипертрофированных ядрышка, с выраженным преобладанием гранулярного компонента, составляющего $79,74 \pm 1,60\%$. Выявляются признаки внутриклеточной регенерации. Отмечается компенсаторная гиперплазия ядрышек и умеренное увеличение их размеров (рис.1).

В некоторых ядрышках наблюдается перегруппировка гранулярного и фибриллярного компонентов на две отчетливые зоны, что характерно для избирательного действия патологического фактора.

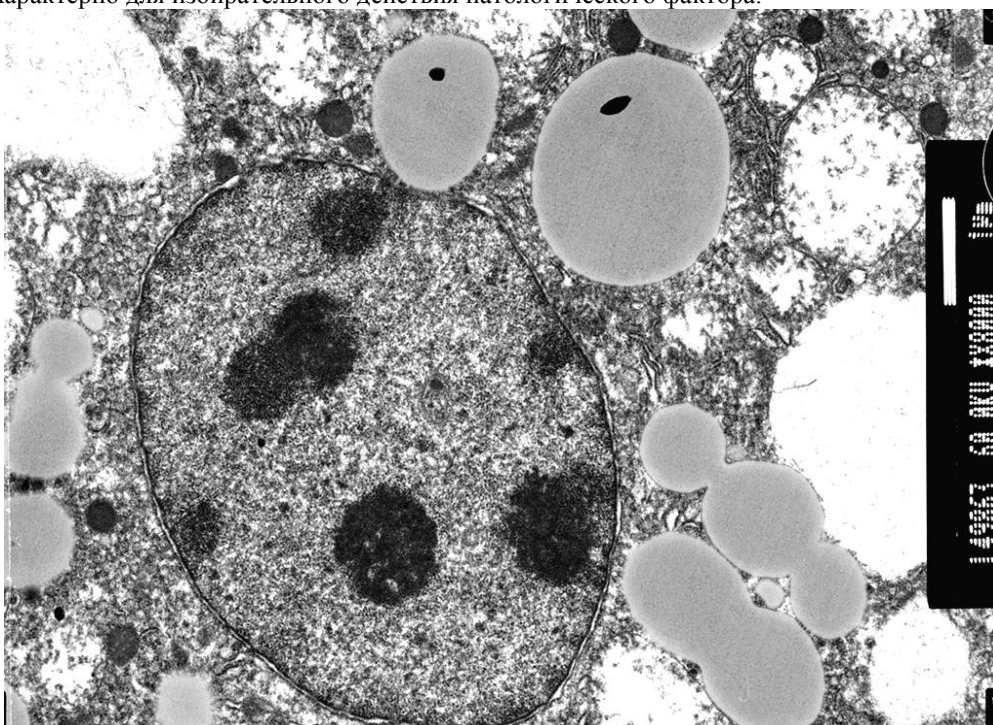


Рис. 1 – Фрагмент гепатоцита. Гиперплазия и гипертрофия ядрышек с эффектом удвоения. Электронная микрофотография. Ув. x 8000

Одно из ядрышек более крупное и зачастую прилежит к кариолемме. Площадь профильного сечения ядрышек достигает 155% к контролю и составляет $11,57 \pm 1,52\%$ от площади ядра (см. табл. 2). В кариоплазме одноядерных гепатоцитов отмечается одно ядрышко кольцевидной формы, а в двуядерных гепатоцитах по 3–4 мелких округлых ядрышка, что свидетельствует об их гиперплазии. В двуядерных гепатоцитах зафиксировано преобладание эухроматина над гетерохроматином. Гиперплазия ядрышковой составляющей ядерного генома и визуализируемое эуфункциональное состояние дезоксирибонуклеопротеидов свидетельствуют о повышенной биосинтетической активности бинуклеарной популяции клеток паренхимы печени.

Несмотря на то, что процент функционально неактивного гетерохроматина является высоким, процессы биосинтеза ДНК идут очень активно, о чем свидетельствует превышение индекса меченных светлых и темных гепатоцитов над контрольными значениями практически в 3 раза. Электронномикроскопический маркер активности транскрипционных внутриядерных процессов – размеры и количество ядрышек – также выявляет тенденцию к интенсификации биосинтеза рибонуклеопротеидов. Как закономерность, выявлялись признаки гипертрофии и гиперплазии ядрышек. Компенсация количества ядерного генома, призванного обеспечить структурную основу процессов цитоплазматической трансляции белков также является удовлетворительной по показателю двуядерности гепатоцитов. Однако, выявленный нами комплекс морфометрических изменений (снижения) показателей размеров ядер, уменьшения доли транскрибируемого эухроматина при практически равной контрольным показателям доли рибосомсинтезирующих локусов ядрышек (гранулярного компонента) позволяют говорить о дисфункции в системе ядерного пластического обмена и морфогенеза гепатоцитов, предотвратить которую, в полной мере, экзогенный антиоксидант не может.

Список литературы / References

1. Jan A.T. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants/ A.T. Jan, Azam M. and all. // *Int. J.Mol.Sci.* – 2015.–Vol.16(12).–P.29592–29630. doi:10.3390/ijms161226183
2. Leibfritz D., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease /D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. – Vol.39(1). – P. 44–84.
3. Tasleem A.J. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants / A.J. Tasleem, A. Mudsser and all// *Int. J.Mol.Sci.* – 2015. – Vol.16(12). – P.29592–29630. doi:10.3390/ijms161226183
4. Meng H. The Protective Effect of Gangliosides on Lead (Pb)-Induced Neurotoxicity Is Mediated by Autophagic Pathways/ H. Meng, L.Wang and all // *Int.J.Environ.Res.PublicHealth.*– 2016.– Vol.13(365). doi:10.3390/ijerph13040365
5. Das K.K. α -tocopherol supplementation prevents lead acetate and hypoxia-induced hepatic dysfunction / K.K. Das, J.G. Jargar, S. Saha and all//*Indian J Pharmacol.* – 2015. – Vol.47(3). – P. 285–291. doi: 10.4103/0253-7613.157126
6. Kasperczyk S. α -Tocopherol supplementation and the oxidative stress, homocysteine, and antioxidants in lead exposure/ S. Kasperczyk, M. Dobrakowski and all // *Archives of Environmental & Occupational Health.* – 2016. – Vol. 72(3) doi:10.1080/19338244.2016.1182112
7. Khalaf A.A. The protective effect of green tea extract on lead induced oxidative and DNA damage on rat brain/A.A. Khalaf, Walaa A.M. and all// *NeuroToxicology.*–2012.–Vol.33(3).–P.280-289. doi:10.1016/j.neuro.2012.02.003
8. Chervona Y. The control of histone methylation and gene expression by oxidative stress, hypoxia and metals / Y. Chervona, M. Costa // *Free radical biology & medicine.* – 2012. – Vol.53(5). – P.1041-1047. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2012.07.020
9. Dua T.K. Cytoprotective and Antioxidant Effects of an Edible Herb, *Enhydrafluctuans* Lour. (Asteraceae), against Experimentally Induced Lead Acetate Intoxication /T.K. Dua, S. Dewanjee, R. Khanra et al.// *PLoS ONE.* – 2016. – Vol.11(2). – P.0148757. doi:10.1371/journal.pone.0148757
10. Alya A. Oxidative stress, biochemical alterations, and hyperlipidemia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods / A. Alya, D.B. Ines and all// *Iranian Journal of Basic Medical Sciences.* – 2015. – Vol. 18(10). – P.1034-1043.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.045>Пупышева А.Д.¹, Ким Е.И.²¹ORCID: 0000-0003-0791-7754, студент, ²ORCID: 0000-0001-7879-8495, студент

Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова

(Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

ВИТАМИН D И ВОЗРАСТНАЯ МАКУЛЯРНАЯ ДЕГЕНЕРАЦИЯ**Аннотация**

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – это хроническое прогрессирующее заболевание, характеризующееся поражением центральной зоны сетчатки (области желтого пятна – макулы). В патогенезе основную роль играет окислительный стресс и воспаление: необходимо искать различные методы лечения, способные предотвратить или подавить патологический процесс. На данный момент не существует патогенетической терапии ВМД. Известно, что витамин D обладает антиангинальным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. Результаты обзора показали, что витамин D обладает свойствами, которые доказывают его воздействие на сетчатку и организм в целом. Использование его в лечении ВМД способно снизить риск прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, воспаление, витамин D, сетчатка, друзы.

Pupysheva A.D.¹, Kim E.I.²¹ORCID: 0000-0003-0791-7754, student, ²ORCID: 0000-0001-7879-8495, student

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

VITAMIN D AND AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION**Abstract**

Age-related macular degeneration (AMD) is a chronic progressive disease characterized by affection of the central zone of the retina (macula area). The main role in the pathogenesis is played by oxidative stress and inflammation: it is necessary to search for various methods of treatment that can prevent or suppress the pathological process. At the moment, there is no pathogenetic therapy for AMD. It is known that vitamin D has antianginal, anti-inflammatory and immunomodulating effect. The results of the review showed that vitamin D has properties that prove its effect on the retina and the body as a whole. It's using in the treatment of AMD can reduce the risk of disease progression.

Keywords: age-related macular degeneration, inflammation, vitamin D, retina, druses.

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – прогрессирующее состояние, которое на сегодняшний день является наиболее частой причиной необратимого снижения зрения и слепоты в развитых странах. Существует множество факторов внутренней и внешней среды, которые могли бы вызвать дегенеративные изменения сетчатки. Среди пораженных преобладают женщины, причем у представительниц слабого пола старше 75 лет ВМД встречается в два раза чаще [1, С. 1034]. Кроме того, на возникновение и прогрессирование инволюционных изменений макулярной области влияют курение, избыточное воздействие солнечного света (ультрафиолетовой части спектра), нарушения липидного обмена, неправильное питание, артериальная гипертензия. В патогенезе ВМД главную роль играет взаимодействие таких реакций, как повреждение, окислительный стресс, воспаление, нарушение в структуре хориоидальных сосудов и генетическая предрасположенность. Происходит повреждение пигментного эпителия сетчатки, мембраны Бруха и хориокапиллярного слоя [2, С. 1867]. Такие факторы, как курение, малоподвижный образ жизни, неправильная диета повышают риск возникновения каких-либо изменений в сетчатке.

Так как одной из главных причин развития заболевания является воспаление, необходимо искать различные методы лечения, способные предотвратить или подавить патологический процесс. Известно, что витамин D обладает антиангинальным, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием; он участвует в процессе минерализации костей, работе нервной системы и отвечает за сокращение мышц [3, С. 7]. По мнению ученых, больше 50% людей страдают дефицитом витамина D. Гиповитаминоз вызывает такие состояния, как остеопороз, сахарный диабет I типа, аутоиммунные заболевания, некоторые виды злокачественных новообразований и нарушение когнитивных функций. Предположительно, дефицит витамина D приводит к ВМД.

Существует несколько научных исследований, направленных на изучение свойств витамина D. Было выявлено, что он способен снижать пролиферацию Т-хелперов и цитотоксических клеток; витамин D уменьшает продукцию С-реактивного белка, маркера системного воспаления, и провоспалительных агентов, таких как ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 [4, С. 545]. Кроме противовоспалительной функции витамин D обладает антиангинальным свойством: было показано, что он снижает пролиферацию эндотелиальных клеток и гипоксию у мышей с диабетической ретинопатией. Известно, что ангиогенез – фундаментальная основа некоторых физиологических и патологических процессов, таких как атеросклероз, диабетическая ретинопатия и псориаз. Фактор роста эндотелия сосудов является главным медиатором ангиогенеза. Он стимулирует пролиферацию, миграцию и дифференцировку эндотелиальных клеток через активацию рецептора тирозинкиназы, способствует образованию новых сосудов. В эксперименте *in vivo* и *in vitro* в присутствии витамина D было выявлено, что он может регулировать продукцию фосфолипазы С, которая участвует в активации рецептора тирозинкиназы [5, С. 1783]. Было отмечено, что при лечении злокачественной опухоли витамином D не происходит образование сосудов большого диаметра. Так же, было обнаружено, что витамин D способен подавлять экспрессию антиапоптотических белков, которые индуцируются фактором роста эндотелия сосудов. Возможная роль витамина D в патогенезе ВМД подтверждается наличием рецепторов в наружном и внутреннем сегментах фоторецепторов, ганглиозных клетках и пигментном эпителии. В связи с антиоксидантной функцией, проявляющейся секрецией активной формы кислорода и азота, витамин D способен предотвращать и замедлять развитие поздней стадии ВМД.

Известно, что синтез и метаболизм витамина D начинается с воздействия лучей ультрафиолета на кожный покров, что способствует превращению 7-дигидрохолестерина в витамин D. В печени происходит активация витамина D и выход в кровь его проактивной формы 25-гидроксикальциферола. Определение его концентрации в крови помогает определить количество витамина D внутри организма. По мнению ученых, у пожилых людей с концентрацией витамина D в крови менее 25 нмоль/л будет происходить ухудшение состояния здоровья и проявление заболеваний, которые могут играть важную роль в развитии ВМД [6, С. 217]. Кроме ультрафиолетового излучения витамин D можно обнаружить в различных продуктах питания, например, молоко, рыба, печень, и специализированных биологически активных добавках. В эксперименте было выявлено, что витамин D, содержащийся в молоке, предотвращает развитие ранней ВМД, а в рыбе – поздней стадии.

По данным исследований, существуют специальные гены, участвующие в активации ферментов катаболизма витамина D. Было доказано влияние факторов риска ВМД (курение, пол, возраст) на CYP24IA – ген катаболизма, что демонстрирует генетическую связь между метаболизмом витамина D и риском возникновения ВМД [7, С. 1125]. Как известно, активность витамина D снижается при приеме фибратов – препаратов, направленных на регуляцию липидного обмена и снижение уровня холестерина. Так как происходит угнетение действия коэнзима Q10 и витамина E, можно предположить, что будет поглощение и жирорастворимого витамина D [8, С. 485].

Множество неоднозначных экспериментов было проведено, чтобы доказать, что витамин D способен снижать риск ранней или поздней стадии ВМД. Было доказано, что витамин D защищает сетчатку от образований друз, но не от пигментных структур или сильно развитой макулярной дегенерации [2, С. 1869]. Это говорит о том, что витамин D активен только в ранней форме ВМД, но не в более поздних стадиях. В другом исследовании было выявлено противоположные результаты: витамин D предотвращает развитие поздней ВМД, так как обладает антиангиальным действием. Развитие сосудов происходит во «влажную» стадию ВМД, когда проявляется рост патологических сосудов под сетчаткой в области макулы [9, С. 663]. Так же, следует отметить пониженную концентрацию 25-гидроксикальциферола в крови при эпиретинальном фиброзе, что говорит о возможной роли витамина D в патогенезе других фиброзных заболеваниях через частичное ингибирование модифицированного фактора роста [10, С.107].

Таким образом, витамин D способен влиять на развитие ВМД, так как существует множество механизмов, доказывающих его воздействие на сетчатку и организм в целом. К сожалению, витамин D рассматривают только как фактор, предотвращающий развитие минеральных нарушений в костях и тканях зуба. Необходимо пересмотреть значения, касающиеся витамина D, так как ранее они были расценены только со стороны разрушения структуры костей, а не противовоспалительной и антиангиальной. Следует отметить, что ВМД – мультифакторное проявление заболевания; гиповитаминоз витамина D способствует его развитию. В дальнейшем следует проводить эксперименты на тему взаимодействия витамина D и ВМД, так как необходимо выявить закономерность проявления симптомов в зависимости от концентрации витамина D в крови. Так же, следует обратить внимание на местную концентрацию витамина D, возможно, его циркуляция не постоянна и меняется в зависимости от процессов, происходящих внутри организма.

Список литературы / References

1. Cashman K.D. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? / Cashman K.D., Dowling K.G., Škrabáková Z., Gonzalez-Gross M. // *The American Journal of clinical nutrition*. – 2016. – Vol. 103(4). – P. 1033-44. doi: 10.3945/ajcn.115.120873
2. Cougnard-Gregoire A. Vitamin D deficiency in community-dwelling elderly is not associated with age-related macular degeneration / Cougnard-Gregoire A., Benedicte MJ Merle, Jean-Francois Korobelnik J.F. // *The Journal of Nutrition*. – 2015. – Vol. 145(8). – P. 1865-72. doi: 10.3945/jn.115.214387
3. Holick M.F. Sunlight, UV-radiation, vitamin D and skin cancer: how much sunlight do we need? / Holick M.F. // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2008. – Vol. 624. – P. 1-15. doi: 10.1007/978-0-387-77574-6_1
4. Morrison M.A. Systems biology-based analysis implicates a novel role for vitamin D metabolism in the pathogenesis of age-related macular degeneration / Morrison M.A., Silveira A.C., Huynh N., Jun G., Smith S.E. // *Human genomics*. – 2011. – Vol. 5(6). – P. 538-68
5. Itty S. Vitamin D deficiency in neovascular versus nonneovascular age-related macular degeneration / Itty S., Day S., Lyles K.W., Stinnett S.S., Vajzovic L.M., Mruthyunjaya P. // *Retina*. – 2014. – Vol. 34(9). – P. 1779-86. doi: 10.1097/IAE.0000000000000178
6. Mantell D.J. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo / Mantell D.J., Owens P.E., Bundred N.J., Mawer E.B., Canfield A.E. // *Circulation Research*. – 2000. – Vol. 87(3). – P. 214-20
7. Golan S. Reconsidering the connection between vitamin D levels and age-related macular degeneration / S. Golan, V. Shalev, G. Treister, G. Chodick, A. Loewenstein // *The Scientific Journal of the Royal College of Ophthalmologists*. – 2011. – Vol. 25(9). – P. 1122-1129. doi: 10.1038/eye.2011.174
8. Millen A.E. Vitamin D status and early age-related macular degeneration in postmenopausal women / Millen A.E., Volland R., Sondel S.A., Parekh N., Horst R.L. // *Achieves of Ophthalmology*. – 2011. – Vol. 129(4). – P. 481-9. doi: 10.1001/archophthalmol.2011.48
9. Parekh N. Association between vitamin D and age-related macular degeneration in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 through 1994 / Parekh N., Chappell R.J., Millen A.E., Albert D.M., Mares J.A. // *Achieves of Ophthalmology*. – 2007. – Vol. 125(5). – P. 661-9
10. Annweiler C. Circulating vitamin D concentration and age-related macular degeneration: Systematic review and meta-analysis / Annweiler C., Drouet M., Duval G.T., Paré P.Y. // *Maturitas*. – 2016. – Vol. 88. – P. 101-12. doi: 10.1016/j.maturitas.2016.04.002

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.041>Толмачев Д.А.¹, Дериглазов И.Н.²¹Кандидат медицинских наук, ²Ведущий инженер-программист,
ФГБОУ «Ижевская государственная медицинская» Минздрава России**НЕПРЕРЫВНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ВРАЧЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ С ПРИМЕНЕНИЕМ
ДИСТАНЦИОННЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ****Аннотация**

Проведен социологический опрос врачей функциональной диагностики государственных медицинских организаций Удмуртской Республики. Выявлено, что для большинства респондентов была характерна высокая загруженность в течение рабочего дня и потребность в обучении с использованием дистанционных технологий. Это обуславливает необходимость активного внедрения электронного обучения и дистанционных образовательных технологий в высших медицинских учебных учреждениях, методическую основу для проведения которых выполняют разработанные педагогические технологии и программное обеспечение.

Ключевые слова: врачи функциональной диагностики, электронное обучение, дистанционное образование.

Tolmachev D.A.¹, Deriglazov I.N.²¹MD, FSBEI of Higher Education ²Leading Software Engineer,

FSBEI of Higher Education "Izhevsk State Medical Institution" of the Ministry of Health of Russia

**CONTINUOUS EDUCATION OF DOCTORS OF FUNCTIONAL DIAGNOSTICS WITH THE USE OF ONLINE
EDUCATIONAL TECHNOLOGIES****Abstract**

The article contains a sociological survey of doctors of functional diagnostics of state medical organizations of the Udmurt Republic. The majority of respondents complained of a high workload during the working day and the necessity for training using remote technologies. This means that active introduction of e-learning and online education technologies in higher medical educational institutions are required. Their methodological basis should be comprised of the developed pedagogical technologies and software.

Keywords: physicians of functional diagnostics, e-learning, online education.

Введение. Главной целью реформирования системы здравоохранения России является повышение качества оказания медицинской помощи и удовлетворённость ею пациентов, особенно в условиях демографических изменений в обществе [2, С.10–13]. Наиболее значимой частью ресурсов здравоохранения, обеспечивающих результативность и эффективность в выполнении поставленной цели, являются медицинские кадры [9], [10, С. 559–563].

Важным фактором, влияющим на качество выполненной работы специалиста, является уровень его профессиональных знаний и подготовки [3, С. 58–69]. На данный момент в России происходит смена традиционной системы сертификации специалистов на аккредитацию, что было обусловлено нединамичностью прежней системы, функционирование которой привело к отсутствию заинтересованности врачей в собственном развитии при больших временных промежутках между обучениями с достаточно длительным отрывом от рабочего места при освоении учебной программы. Особенно это заметно в специальности «функциональная диагностика», где достаточно быстро появляются новые методики, а компьютеризация и интеграция высокотехнологичных методов исследования поспособствовала ее активному развитию [4, С. 1–17]. В условиях внедрения системы аккредитации, специалист у которого заканчивается срок действия сертификата, должен будет обучаться по индивидуальной образовательной траектории. По существующей на настоящий момент модели образования, специалист должен за пять лет до предстоящей аккредитации набрать 250 учебных часов, 35% из которых должно составлять дистанционное обучение, основная цель которого будет направлена на приобретение теоретических знаний. Это определяет необходимость изучения возможности и потребности дистанционного обучения у специалистов различного медицинского профиля и активного внедрения электронного обучения (ЭО) и дистанционных образовательных технологий (ДОТ).

Целью исследования было выявление потребности в ДОТ и ЭО в системе непрерывного профессионального обучения у врачей функциональной диагностики и выбор педагогических технологий (ПТ) и программного обеспечения для их реализации.

Материалы и методы. Нами проведен социологический опрос по специально разработанной анкете 104 врачей функциональной диагностики государственных медицинских организаций Удмуртской Республики, в возрасте от 27 до 64 лет. Средний возраст респондентов составил 46,0±3,4 лет.

Результаты и обсуждения.

Исследование показало, что всего лишь 25,2% врачей не имели квалификационной категории. Это говорит о высоком профессионализме, подкрепляемом постоянным совершенствованием своих знаний и умений, стремлением к овладению передовыми методиками в медицине. Длительность рабочего дня у половины опрошенных специалистов была более 8 часов. При этом 60,0% опрошенных не успевали выполнить имеющийся объем работы и вынуждены были завершить ее в свое личное время. У 2/3 специалистов помимо основной работы, была еще работа по совместительству.

Блок вопросов связанный с профессиональным образованием выявил потребность практически всех специалистов (93,2%) в постоянном получении новых знаний необходимых в профессиональной деятельности. При этом, учитывая выявленную высокую загруженность, большинство врачей функциональной диагностики (78,4%) выразили заинтересованность именно в дистанционном обучении.

Особенно это актуально для здравоохранения, которое имеет дело с бесценным ресурсом – здоровьем человека, необходимо наиболее качественное, на современном уровне мировых знаний обучение и постоянное повышение квалификации медицинских работников всех уровней и направлений деятельности, независимо от их мест работы» [1

С. 85–93]. Однако, при обучении медиков очень важно сохранять необходимый баланс между фундаментальными научными знаниями и знаниями, ориентированными на практику, для чего могут быть эффективно использованы технологии дистанционного обучения» [6, С. 10–15].

Для удовлетворения этих требований преподавателям курсов повышения квалификации врачей функциональной диагностики необходимо освоить ПТ, основанную на использовании средств информационно-коммуникационных технологий (ИКТ) [5, С. 47–50], [8, С. 33–35]. Для многих преподавателей использование информационных технологий ограничивается использованием в своих занятиях мультимедийных презентаций, показом видеороликов, использованием сети интернет для поиска информации, а также прикладного программного обеспечения для произведения расчетов [7, С. 65–67]. В действительности применяемая ПТ использует средства ИКТ намного шире. Основной целью технологии является сокращение затрат времени на обучение, повышение эффективности качества обучения благодаря индивидуализации и улучшению психологического комфорта. Тогда как основная идея заключается в создании автоматизированной обучающей среды, которая представляет собой совокупность наглядных учебных материалов, автоматизированного пошагового контроля, корректировки траектории обучения.

Для реализации этой технологии преподавателю необходимо выбрать программную среду. Мы считаем наиболее рационально использовать среду дистанционного обучения (СДО) MOODLE. По данной СДО существует множество методических пособий и готовых курсов и она является бесплатным программным продуктом с открытым исходным кодом. Далее необходимо разработать или подобрать наглядный обучающий материал по теме, после чего разделить его на логические блоки, после каждого из которых будут контрольные вопросы. На основании ответов на вопросы разрабатываются маршруты по корректировке недостаточных знаний и общая маршрутизация между блоками. Далее нужно разработать практическое занятие на освоение полученного материала. В случае с врачами функциональной диагностики их можно будет реализовать при помощи элемента теста с типом вопроса перетаскивание маркера. Например, для формирования навыка расшифровки показателей электроэнцефалографии считаем целесообразным представить иллюстрацию с несколькими видами ритмов, а передвигаемым маркерам присвоить их названия или определить отклонения. Обучающийся в ходе прохождения этого элемента курса, перетаскивая маркер с названиями видов ритмов или отклонений, сопоставляет их с иллюстрацией ритмов или конкретной точкой на иллюстрации.

В результате мы получим возможность интенсификации обучения за счет пересмотра содержания обучения и разграничения видов деятельности преподавателя и машины, повышение индивидуализации обучения за счет самостоятельной работы на своем месте, возможность выбора темпа и траектории обучения, перераспределение времени и формирование потребности в самостоятельной работе за счет доступности материала в любое время.

Выводы. Таким образом, в условиях компьютеризации и интеграции высокотехнологических методов исследования в профессиональной деятельности врачей функциональной диагностики, переходу к новым методикам последилового образования, выявленной высокой ежедневной трудовой загруженности и потребности в ДОО и ЭО, необходима разработка и внедрение в образовательную среду ПТ и программного обеспечения дистанционного образования. Это будет способствовать развитию профессиональных знаний специалиста и, как следствие, повышению качества оказания медицинской помощи населению.

Список литературы / References

1. Белозерова Е.А. Дистанционное обучение в электронном здравоохранении / Е.А. Белозерова, ... Б.В. Кристалный [и др.] // Информационное общество – 2007. – вып. 1 – 2. – С. 85–93.
2. Гасников В.К. Трансформация различий смертности мужского и женского населения на разных этапах развития современного российского демографического кризиса / В.К. Гасников, ... Н.С. Стрелков, ... Н.М. Попова, Д.А. Толмачев [и др.] // Медицинский альманах. – 2013. – № 5 (28). – С. 10–13.
3. Гендина Н.И. Информационная грамотность и информационная культура личности: международный и российский подходы к решению проблемы / Н.И. Гендина // Открытое образование. – 2007. – № 5 (64). – С. 58–69.
4. Мамросенко К.А. Информационные технологии в здравоохранении первой половины 21 века / К.А. Мамросенко, В.Н. Решетников // Программные продукты, системы и алгоритмы. – 2013. – №2. – С. 1–17.
5. Наумова Т.А. Формирование конфликтной компетенции у студентов медицинского вуза на основе общекультурных компетенций / Т.А. Наумова, А.Е. Шкляев, И.В. Реверчук // Alma mater (Вестник высшей школы). – 2017. – №7. – С. 47–50.
6. Пальцев М.А. Траектория непрерывного развития / М.А. Пальцев // Медицинская Академия. – 2007. – № 9/2353. С. 10–15.
7. Попова Н.М. Опыт внедрения информационной системы «Магеллан» в управление учебным процессом / Н.М. Попова, Н.Г. Сабитова, Д.А. Толмачев [и др.] // Информатика и образование. – 2016. – №2 (271). – С. 65–67.
8. Сидорова И.В. Развитие и формирование информационной культуры специалиста в системе непрерывного образования / И.В. Сидорова // Механизмы развития государственно-частного партнерства: проблемы и перспективы: тезисы докладов участников межрегион. науч.-практ. конф. под. ред. Н. Н. Юмашева. – 2007. – С. 33–35.
9. Сысоев П.Г. Оценка здоровья и качества жизни врачей терапевтического профиля амбулаторно-поликлинических учреждений / П.Г. Сысоев // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – М., 2012. – 24 с.
10. Сысоев П.Г. Характеристика образа жизни и условий труда врачей-терапевтов амбулаторно-поликлинической службы / П.Г. Сысоев, Г.М. Злобина // Врач-аспирант. – 2011. – Т. 45, № 2.4. – С. 559–563.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Belozerova E.A. Distancionnoe obuchenie v ehlektronnom zdравоохранenii [Distance education in e-health] / E.A. Belozerova, B.V. Kristal'nyj and others // Informacionnoe obshchestvo [Information society]. – 2007. – Vol. 1 – 2. – P. 85–93. [in Russian]
2. Gasnikov V.K. Transformaciya razlichij smertnosti muzhskogo i zhenskogo naseleniya na raznyh etapah razvitiya sovremennogo rossijskogo demograficheskogo krizisa [Transformation of differences in mortality of male and female

population at different stages of development of the modern Russian demographic crisis] / V.K. Gasnikov, N.S. Strelkov, N.M. Popova, D.A. Tolmachev and others // *Medicinskij al'manah* [Medical almanac]. – 2013. – No. 5. – P. 10–13. [in Russian]

3. Gendina N.I. Informacionnaya gramotnost' i informacionnaya kul'tura lichnosti: mezhdunarodnyj i rossijskij podhody k resheniyu problemy [Information literacy and information culture of personality: international and Russian approaches to solving the problem] / N.I. Gendina // *Otkrytoe obrazovanie* [Open education]. – 2007. – № 5 (64). – P. 58 – 69. [in Russian]

4. Mamrosenko K.A. Informacionnye tekhnologii v zdravooohranenii pervoj poloviny 21 veka [Information technology in health care the first half of the 21st century] / K.A. Mamrosenko, V.N. Reshetnikov // *Programmnye produkty, sistemy i algoritmy* [Software products, systems and algorithms]. – 2013. – No. 2. – P. 1-17. [in Russian]

5. Naumova T.A. Formirovanie konfliktnoj kompetencii u studentov medicinskogo vuza na osnove obshchekul'turnyh kompetencij [Formation of conflict competence among medical students on the basis of general cultural competences] / T.A. Naumova, A.E. Shklyayev, I.V. Reverchuk // *Alma mater (Vestnik vysshej shkoly)* [Alma mater (Herald of Higher School)]. – 2017. – №7. – P. 47–50. [in Russian]

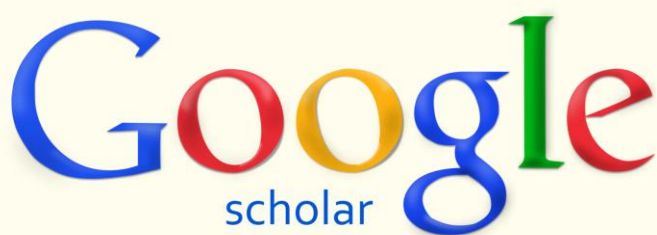
6. Pal'cev M.A. Traektoriya nepreryvnogo razvitiya [The trajectory of the continuous development] / M.A. Pal'cev // *Medicinskaya Akademiya* [Medical Academy]. – 2007. No 9/2353. P. 10-15. [in Russian]

7. Popova N.M. Opyt vnedreniya informacionnoj sistemy «Magellan» v upravlenie uchebnym processom [Experience of introduction of information system "Magellan" in the management of educational process] / N.M. Popova, N.G. Sabitova, D.A. Tolmachev and others // *Informatika i obrazovanie* [Informatics and education]. – 2016. – №2 (271). – P. 65 – 67. [in Russian]

8. Sidorova I.V. Razvitie i formirovanie informacionnoj kul'tury specialista v sisteme nepreryvnogo obrazovaniya [The development and formation of information culture of the specialist in continuing education] / I.V. Sidorova // *Mekhanizmy razvitiya gosudarstvenno-chastnogo partnerstva: problemy i perspektivy: tezisy dokladov uchastnikov mezhtregion. nauch.-prakt. konf. pod. red. N. N. Yumasheva* [Mechanisms development of public-private partnership: problems and prospects: abstracts of participants Mezhtregion. scientific.-pract. Conf. / under. N. N. Yumashev]. – 2007. – P. 33– 35. [in Russian]

9. Sysoev P.G. Ocenka zdorov'ja i kachestva zhizni vrachej terapevticheskogo profilja ambulatorno-poliklinicheskikh uchrezhdenij [Assessment of health and quality of life physicians of therapeutic profile of outpatient facilities] / P.G. Sysoev // *Avtoref. diss... kand. med. nauk* [Abstract. Diss... kand. med. Sciences]. – 2012. – 24 p. [in Russian]

10. Sysoev P.G. Harakteristika obraza zhizni i uslovij truda vrachej-terapevtov ambulatorno-poliklinicheskoy sluzhby [Characteristics of lifestyle and working conditions of physicians-outpatient services] / P.G. Sysoev, G.M. Zlobina // *Vrach-aspirant* [The doctor-post-graduate student]. – 2011. – T.45, № 2.4. – P. 559–563. [in Russian]



*Международный научно-исследовательский журнал включен в базу научного цитирования **Google Scholar**.*

***Google Scholar** – поисковая система по полным текстам научных публикаций всех форматов и дисциплин. Наличие статей в **Google Scholar** увеличивает возможность цитируемости, не только в России, но и за рубежом.*

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.040>Фомина И.В.¹, Полякова В.А.², Пыленко Н.В.³, Абукеримова А.К.⁴¹ORCID: 0000-0001-8053-1546, кандидат медицинских наук, доцент,²ORCID: 0000-0001-7008-1107, доктор медицинских наук, профессор,³ORCID: 0000-0002-5095-1666, кандидат медицинских наук, ассистент,⁴ORCID: 0000-0002-2245-6346, студент,

ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Тюмень

ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫЕ РОДЫ: КУДА ДВИГАТЬСЯ ДАЛЬШЕ?**Аннотация**

Преждевременные роды (ПР), несмотря на все усилия современной медицины, остаются проблемой во многих странах мира. Количество (ПР) во всем мире, независимо от экономического уровня страны остается на стабильном уровне. Изучены причины ПР произошедших в Тюменской области (ТО) в 2014-2016 гг. В ТО в 2016 г. зафиксирован низкий показатель ПР - 4,4%. Выявлены основные причины самопроизвольных и индуцированных ПР в зависимости от срока гестации и их динамика за указанные годы. Отмечено явное снижение числа истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН), тяжелой преэклампсии, как причины ПР во всех сроках гестации. Однако, увеличилась частота преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО), как причины ПР в сроке 22-27 недель, а в сроках 28-33 и 34-37 недель за счет самопроизвольно наступившей родовой деятельности. Отмечены особенности работы, непрерывно ведущейся в Тюменской области по проблеме ПР. Отмечены резервы снижения основных причин ПР.

Ключевые слова: преждевременные роды, преэклампсия, преждевременный разрыв плодных оболочек.

Fomina I.V.¹, Polyakova V.A.², Pylenko N.V.³, Abukerimova A.K.⁴¹ORCID: 0000-0001-8053-1546, MD, Associate professor,²ORCID: 0000-0001-7008-1107, MD, Professor,³ORCID: 0000-0002-5095-1666, MD, Assistant,⁴ORCID: 0000-0002-2245-6346, Student,

FSBEI of HE, Tyumen State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tyumen

PREMATURE BIRTH: WHERE TO GO NEXT?**Abstract**

A premature birth (PB), despite all the efforts of modern medicine, remains a significant problem in many countries of the world. The amount of PBs in the world, regardless of the economic level of the country remains at a stable level. The causes of PBs occurring in the Tyumen region (TR) in 2014-2016 are studied in the paper. A low indicator of PR (4.4%) was recorded in TR in 2016. The main reasons of spontaneous and induced PBs depending on the term of gestation and their dynamics for the indicated years are revealed. The authors revealed the decrease in the number of cervical incompetence (CI), severe preeclampsia, as the cause of PB in all gestation terms. However, the incidence of premature rupture of the membranes (PRM) has increased, as the causes of PB during the period of 22-27 weeks, and in terms of 28-33 and 34-37 weeks due to spontaneous birth activity. The features of the work, continuously conducted in the Tyumen region on the problem of Pbs are noted. The reserves of reducing the main causes of PR are noted.

Keywords: premature birth, preeclampsia, premature rupture of membranes.

Введение

Все страны столкнулись с проблемой преждевременных родов (ПР) и их последствий [1, С. 189], [2, С. 29], [9, С. 187], [11]. Несмотря на все усилия и успехи современной медицины ПР остаются проблемой во многих странах мира. Безусловно, показатель числа ПР очень отличается, как различны показатели ранней неонатальной и младенческой смертности в развитых европейских и, так называемых странах «третьего мира». Финансовые затраты государства на выхаживание одного недоношенного ребенка исчисляются сотнями тысяч, а иногда и миллионами рублей [9, С. 413], [11]. Расходы семьи и государства на последующую длительную реабилитацию неизвестны и не анализируются никем. Но, в итоге, для таких детей характерен высокий уровень заболеваемости, летальных исходов в возрасте до пяти лет, связанных с осложнениями недоношенности, вплоть до инвалидности [9, С. 189], [11]. Последствия преждевременных родов ложатся тяжким бременем и на государство, и на общество, и, прежде всего, на конкретную семью. С 2012 года РФ перешла на новый стандарт оказания помощи при ПР, что не могло не сказаться на основных показателях перинатальной и ранней неонатальной смертности. В последние годы в Тюменской области (ТО) достигнуты значительные успехи в снижении указанных показателей. Этому способствовало выполнение приказа МЗ РФ № 572Н от 01.11.2012г. «Об утверждении Порядка оказания акушерско-гинекологической помощи (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и приказа департамента здравоохранения ТО от 27.05.08г. № 259, 259н от 27.05.2014г. «О неотложных мерах по снижению материнской и младенческой смертности» по грамотной маршрутизации пациенток и их концентрация преимущественно в ЛПУ третьего уровня (на территории ТО этим учреждением является ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г.Тюмень), далее ПЦ). Интересно проследить, что изменилось за эти годы в структуре причин, сроков ПР, какие достигнуты успехи или неудачи.

Цель исследования

Изучить причины досрочного родоразрешения в динамике за 2014-16 г.г.

Материалы и методы

Сплошное ретроспективное исследование охватило 644 историй родов женщин, родоразрешенных в ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г. Тюмень) в 2016 г. и 488 в 2014 году (уч. форма № 096/у), индивидуальных карт беременных и родильниц (уч. форма № 111/у). Данное учреждение является клинической базой кафедры акушерства и

гинекологии ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава РФ, где и было проведено данное исследование, на которое получено заключение этического комитета №62 от 6.12.2014 г. Все пациентки при поступлении в ПЦ заполняют информированное согласие на обработку персональных данных и имеющейся у них медицинской документации, в том числе и их индивидуальных карт, сотрудниками ПЦ для проведения постоянного внутриучрежденческого аудита и контроля качества оказания медицинской помощи при различных клинических ситуациях, в том числе и при ПР. Материал обработан с помощью программы Microsoft Excel и Statistica 13.0.

Результаты исследования

В ПЦ зафиксировано 750 (70,9%) из 1058 случаев ПР, прошедших в ТО в 2016 году, лишь остальные 308 в других ЛПУ субъекта. Бесспорно, это является положительным моментом, так как известно, что концентрация помощи по ПР на третьем уровне обеспечивает улучшение перинатальных исходов. Так лишь 2,5% досрочных родоразрешений было в ЛПУ первого уровня, что безусловно говорит об реально выполняемой схеме маршрутизации пациенток. Случаи ПР на втором уровне в основном связаны с транспортировкой при невозможности ее выполнения (как например при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты (ПОНРП) или острой гипоксии плода) или сроком гестации (как правило это поздние ПР). Так, все случаи очень ранних ПР в ТО прошли в ПЦ. В 2016 г. продолжилась наметившаяся с 2014 г. тенденция по снижению числа ПР. Так, в 2016 г. отмечен достаточно низкий показатель ПР - 4,4% (1058), по сравнению с 2014 годом - 5,4% (1337). В ТО непрерывно проводится аудит всех случаев ПР, произошедших в области, для своевременного выявления причин ПР и анализа, выявления дефектов.

Все ПР, в зависимости от срока гестации, были разделены на три группы: в 22-27 недель (очень ранние ПР), 28-33 (ранние ПР) и 34-36,6 недель гестации (поздние ПР). По сравнению с 2014 г. произошло снижение числа очень ранних ПР с 7% до 5,7%, что стало близким к данному показателю в РФ -5% [1, С. 190]. В остальном же структура ПР сохранилась прежней, число ранних ПР составляет 40% в 2016 году (по РФ 25%) [1, С. 190]. Так и количество поздних ПР существенно не поменялось и составило 54,3% в 2016 г., а в 2014 53% (по РФ 70%) [1, С. 190].

Группы ПР подразделяют на самопроизвольные и индуцированные (имевшиеся медицинские показания для завершения беременности) [1, С. 190]. К самопроизвольным ПР относили роды, наступившие по причине ПРПО, ИЦН и спонтанно развившейся родовой деятельности. Индуцированные ПР имели следующие причины: преэклампсию, острую гипоксию плода, синдром задержки развития плода (СЗРП), ПОНРП, предлежание плаценты с кровотечением, антенатальную гибель плода, гемолитическую болезнь плода (ГБП), угрожающий разрыв матки по рубцу и другие.

Главным достижением последних двух лет в структуре причин ПР относительно данных 2014 года, как видно из таблицы 1 является снижение ИЦН, как причины ПР во всех сроках гестации.

Таблица 1 – Динамика структуры причин самопроизвольных ПР в 2014-2016 гг.

	ПРПО, %	Спонтанно наступившая родовая деятельность, %	ИЦН, %
ПР в 22-27,6 недель гестации	16 (35*)	22(16)	16(13,5)
ПР в 28-33,6 недель гестации	34 (31)	20 (27,6*)	8(2,5*)
ПР в 34-36,6 недель гестации	39 (30,5)	13 (31,5*)	8 (0,8*)

Примечание: *-отмечены показатели достоверноотличающиеся друг от друга при $p < 0,05$; без скобок приведены показатели 2014 года, а в скобках - 2016 года.

Безусловным “прорывом” с 2014 года стало значительное снижение числа ИЦН, что однозначно вызвано активным использованием акушерских пессариев, как амбулаторного, не требующего госпитализации метода коррекции выявленной ИЦН, что наглядно видно из таблицы 1. При этом выполненная коррекция ИЦН только акушерским пессарием была недостаточна и требовала серкляжа лишь в небольшом проценте случаев: в 4,2% очень ранних ПР, 2% ранних ПР и 1% поздних ПР.

Исследованиями [6, С.108] доказана связь инфекций урогенитального тракта, приводящим в конечном итоге к ПРПО и, как следствие к ПР. По сравнению с 2014 годом отмечен рост ПРПО как причины ПР в сроке 22-27 недель гестации. Так, выявлен кольпит или бактериальный вагиноз в 23,1%, 30% и 44% случаев соответственно групп ПР, где их причиной стал ПРПО. Согласно клиническим протоколам требуется его антибиотикотерапия. Согласно Приказа МЗ РФ от 01.11.2012г. №572 и по оказанию помощи при привычном невынашивании требуется бактериологическое исследование содержимого цервикального канала и выявление других возбудителей ИППП. При выявлении возбудителей ИППП требуется назначение антибактериальной терапии в сроке с 16 до 20 недель, что снижает риск инфицирования плодных оболочек и соответственно риск их преждевременного разрыва. Требуется назначения антибактериальной терапии и выявляемая бессимптомная лейкоцитурия или бактериурия, выявленная в 16,3% (28-33 недели) и 32,5% (34-37 недель) случаев.

В 2016 году по сравнению с 2014 годом выявлен рост числа спонтанно наступивших ранних и поздних ПР. Общеизвестным является факт, что назначение гестагенов в группе риска по невынашиванию, равно как и у пациенток с привычным невынашиванием беременности улучшает прогнозы [2, С. 29], [5, С. 93], однако требуется соответствующее инструкции соблюдение дозы, кратности и пути введения препарата. При наличии соответствующих жалоб и выявленном при объективном осмотре подтверждении диагноза “Ложные схватки до 37 недель беременности” на фоне имеющейся терапии гестагенами требуется назначение токолитиков и, возможно, госпитализации пациентки в отделение патологии беременности.

На рисунке 2 отражена динамика структуры причин индуцированных ПР в 2014 и 2016 гг.

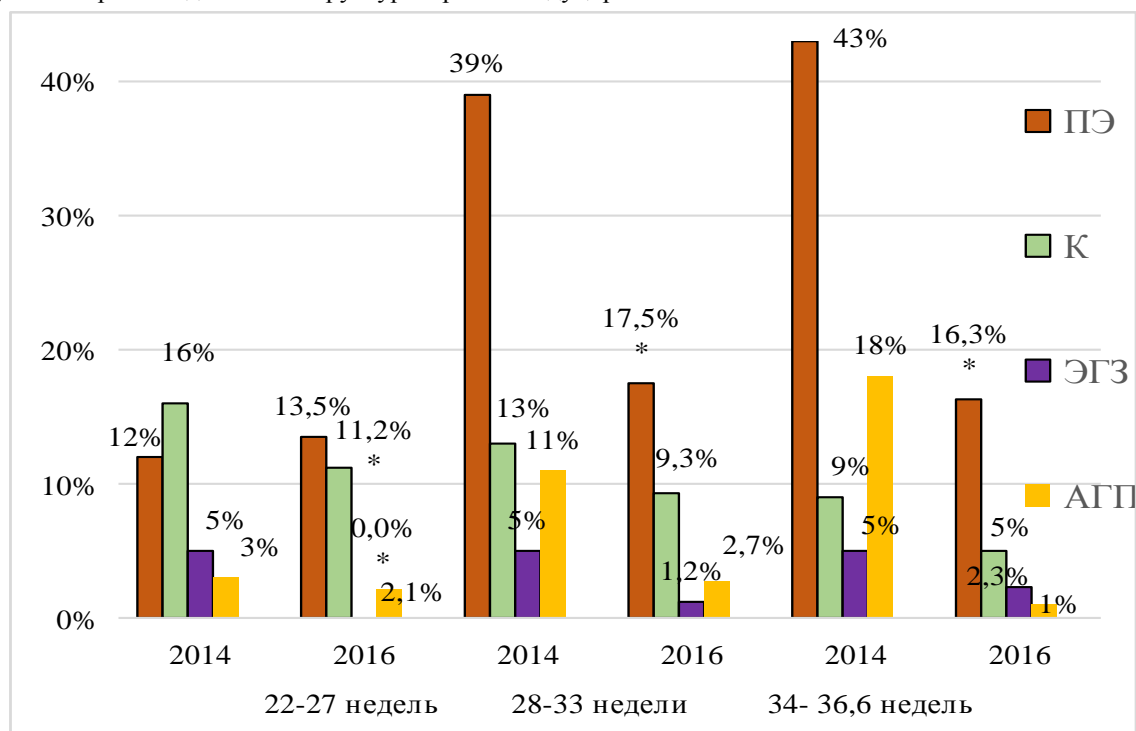


Рис. 1 – Динамика структуры причин индуцированных ПР в 2014- 2016 гг.

Примечание: ПЭ - преэклампсия; К - кровотечения; ЭГЗ - экстрагенитальные заболевания; АГП - антенатальная гибель плода.

Анализируя причины индуцированных по медицинским показаниям ПР, как видно из рисунка 2 выявлено некоторое увеличение числа преэклампсии в 22-27 недель с 12% до 13,5%. Во всех группах уменьшилось число кровотечений, как причин ПР. Бесспорно положительным является факт снижения числа антенатальной гибели плода в сроках 28-36,6 недель, при увеличении числа родоразрешений ввиду острой гипоксии или СЗРП. Так, в 22-27 недель 2,7% были родоразрешены ввиду СЗРП, в 28-33 недели 3%, а в 34-36,6 недель - 4%, при том что за острую гипоксию плода досрочно завершены беременности у 0%, 1,5% и 6% соответственно группам сроков. Правильно избранная акушерская тактика и своевременное родоразрешение тех, кто мог стать потенциально антенатально погибшим привело в существенному улучшению данного показателя. На количество родоразрешений, где причиной стала плацентарная недостаточность (декомпенсация ее при острой гипоксии плода или СЗРП) влиять прямо, к сожалению, невозможно. Лишь профилируя прогрессирование отеков до преэклампсии мы можем снизить данный показатель. Имеющиеся литературные данные [7, С. 102] позволяют рекомендовать при наличии чрезмерной прибавки веса и отеков выполнить определение ОЦК методом реовазографии аппаратом “Диамант” или определение КДО (конечного диастолического объема) при эхокардиографии (входит в приказ МЗ №572н помощи при отеках), для выявления возможной гиповолемии и назначения ее последующей коррекции препаратами гидроксипропилированного крахмала (препараты данной группы входят в перечень лекарственных препаратов согласно стандарту при оказании помощи при отеках беременных). Требуется также выполнение рекомендованное Национальным руководством от 2016 года и, подтвержденное как высокоспецифичное, некоторыми авторами [3, С. 233], [4, С. 28] для прогнозирования риска возникновения преэклампсии определение индекса резистентности в маточных артериях и пуповине в сроке до 20 недель. Также требуется Регламентированное протоколом «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» 2014 года применение в группе высокого риска развития преэклампсии (к таковым относятся в среднем 63,5% женщин у которых все таки произошли ПР по данной причине) низких доз ацетилсалициловой кислоты с 12 недель беременности.

Выводы

Сохраняется положительная динамика ПР в ТО. Так в 2016 году достигнут самый низкий уровень количества ПР за последние 5 лет - 4,4%, что ниже среднего показателя по РФ. Структура ПР по сроку гестации в динамике относительно 2014 года существенно не изменилась: при снизившемся числе очень ранних ПР до 5,7%, по-прежнему остается высоким и на том же уровне относительно 2014 года - 40% число ранних ПР. В 2016 году выросло число ПРПО как причины очень ранних ПР до 35% (в 2014 г. 18%), при внушительном уменьшении числа ИЦН, как причины ПР по всем срокам гестации. Предотвратимые причины ПР (ГБП и ВПР) занимают незначительное место в общей структуре. Основную массу причин ПР занимают условнопредотвратимые, тем не менее являющиеся резервом для изменения показателей причин и структуры ПР по всем срокам гестации.

Список литературы / References

1. Акушерство. Национальное руководство / ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2015. – 189,264 с.

2. Башмакова Н.В. Прогнозирование преждевременных родов у женщин с первичным и вторичным невынашиванием беременности в анамнезе / Н.В. Башмакова, Е.А. Винокурова, О.С. Краева // Акушерство и гинекология. – 2012. – №5. – С. 29-33.
3. Винокурова Е.А. Возможности применения доплерометрии маточных артерий для прогнозирования гестоза / Е.А. Винокурова // Пренатальная диагностика. – М.: Реальное время. – Т.1. – №3. – С. 233.
4. Винокурова Е.А. Прогностическое значение доплерометрии в развитии позднего гестоза / Е.А. Винокурова // Научн. Вестн. Тюмен. Медакадемии. – 2001. – №1 (9). – С. 28 -34.
5. Винокурова Е.А. Профилактика преждевременных родов прогестинами у женщин с преждевременными родами в анамнезе / Е.А. Винокурова, Н.В. Башмакова // Акушерство и гинекология. – 2016. – №3. – С. 92-97.
6. Насирова Ф.Ж. Взаимосвязь урогенитальной инфекции с преждевременными родами / Ф.Ж. Насирова, О.А. Якубова, М.Р. Мамаджанова // Российский электронный медицинский журнал. – 2015. – №2 (16). – С. 107-111.
7. Полякова В.А. Клинический опыт применения реовазографии у беременных с гестозом / В.А. Полякова // Медицинская наука и образование Урала. – Тюмень: «Академия», 2012. – №3 (71). Т. 13. – С. 102-104.
8. Преждевременные роды. Информационный бюллетень ВОЗ. Ноябрь 2016 г. [Электронный ресурс] // URL: <http://who.int/mediacentre/factsheets> (дата обращения 23.05.2017)
9. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / ред. В.Н. Серова, Г.Т. Сухих, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2016. – 187,413 с.
10. Стандарты медицинской помощи. Акушерство и гинекология. – М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2016. – 695,734 с.
11. Ртищева Е. Надо ли в России спасать детей, рождающихся на 22 неделе беременности [Электронный ресурс] / Е. Ртищева // Доктор Питер. 18.06.2012. URL: <http://doctorpiter.ru/articles/4129> (дата обращения 1.05.2017)
12. Фаткуллин И.Ф. Эффективные практики в диагностике и терапии преждевременных родов [Электронный ресурс] / И.Ф. Фаткуллин // URL: <http://www.arfpoint.ru/E-ffektivnie-praktiki-v-diagnostike-i-terapii-prejdevremenih-rodov> (дата обращения 13.06.2017).

Список литературы на английском языке / References in English

1. Akusherstvo. Nacional'noe rukovodstvo [Obstetrics. National leadership] / red. G.M. Savel'evoj, G.T. Suhij, V.N. Serova, V.E Radzinskogo. – 2-e izd., pererab. i dop. [revised and expanded edition]. – М.: «GEOTAR-Media», 2015. – 189, 264 p. [in Russian]
2. Bashmakova N.V. Prognozirovaniye prezhdvremennnyh rodov u zhenshhin s pervichnym i vtorichnym nevnashivaniem beremennosti v anamneze [Predicting premature births in women with a history of primary and secondary miscarriage in pregnancy] / N.V. Bashmakova, E.A. Vinokurova, O.S. Kraeva // Akusherstvo i ginekologiya [Obstetrics and gynecology]. – 2012. – №5. – P. 29-33. [in Russian]
3. Vinokurova E.A. Vozmozhnosti primeneniya dopplerometrii matochnyh arterij dlja prognozirovaniya gestoza [Possibilities of using uterine arteries dopplerometry to predict preeclampsia] / E.A. Vinokurova // Prenatal'naja diagnostika [Prenatal Diagnosis]. – М.: Real'noe vremja. – Т.1. – №3. – P. 233. [in Russian]
4. Vinokurova E.A. Prognosticheskoe znachenie dopplerometrii v razvitii pozdnego gestoza [Prognostic value of Dopplerometry in the development of preeclampsia] / E.A. Vinokurova // Nauchn. Vestn. Tjumen. Medakademii [Scientific bulletin of the Tyumen medical academy]. – Tjumen' [Tyumen]. – 2001. – №1 (9). – P. 28-34. [in Russian]
5. Vinokurova E.A. Profilaktika prezhdvremennnyh rodov progestinami u zhenshhin s prezhdvremennymi rodami v anamneze [Prophylaxis of preterm births with progestins in women with preterm birth in anamnesis] / E.A. Vinokurova, N.V. Bashmakova // Akusherstvo i ginekologiya [Obstetrics and gynecology]. – 2016. – №3. – P. 92-97. [in Russian]
6. Nasirova F.Zh. Vzaimosvjaz' urogenital'noj infekcii s prezhdvremennymi rodami [Interrelation of the urogenital infection with preterm labor] / F.Zh. Nasirova, O.A. Jakubova, M.R. Mamadzhanova // Rossijskij jelektronnyj medicinskij zhurnal [Russian electronic medical journal]. – 2015. – №2 (16). – P. 107-111. [in Russian]
7. Poljakova V.A. Klinicheskij opyt primeneniya reovazografii u beremennyh s gestoza [Clinical experience of using rheovasography in pregnant women with preeclampsia] / V.A. Poljakova // Medicinskaja nauka i obrazovanie Urala [Medical Science and Education of the Urals]. – Tyumen: «Akademija», 2012. – №3 (71). Т. 13. – P. 102-104. [in Russian]
8. Prezhdvremennye rody. Informacionnyj bjulleten' VOZ. Nojabr' 2016 g. [Electronic resource] [Preterm birth. WHO Newsletter. November 2016] // URL: <http://who.int/mediacentre/factsheets> (accessed 23.05.2017). [in Russian]
9. Rukovodstvo po ambulatorno-poliklinicheskoj pomoshhi v akusherstve i ginekologii [Manual on outpatient care in obstetrics and gynecology] / red. V.N. Serova, G.T. Suhij, V.N. Prilepskoj, V.E. Radzinskogo – 3-e izd., pererab. i dop. [revised and expanded edition]. – М.: «GEOTAR-Media», – 2016. – 187, 413 p. [in Russian]
10. Standarty medicinskoj pomoshhi. Akusherstvo i ginekologiya [Standards of medical care. Obstetrics and gynecology]. – М.: «GEOTAR-Media», – 2016. – 695, 734 p. [in Russian]
11. Rtishheva E. Nado li v Rossii spasat' detej, rozhdashhihsja na 22 nedele beremennosti [Is it necessary to save children born in the 22nd week of pregnancy in Russia] [Electronic resource] / E. Rtishheva // Doktor Piter. 18.06.2012. – URL: <http://doctorpiter.ru/articles/4129> (accessed: 1.05.2017). [in Russian]
12. Fatkullin I.F. Jefferktivnye praktiki v diagnostike i terapii prezhdvremennnyh rodov [Jelektronnyj resurs] [Effective practice in the diagnosis and therapy of preterm labor [Electronic resource] / I.F. Fatkullin // URL: <http://www.arfpoint.ru/E-ffektivnie-praktiki-v-diagnostike-i-terapii-prejdevremenih-rodov> (accessed: 13.06.2017). [in Russian]

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ / PHARMACEUTICSDOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.153>Кулик В.В.¹, Ковалева Т.Г.², Еманова А.М.³, Клейчук Е.В.⁴, Ивченко О.Г.⁵¹ORCID: 0000-0003-1829-4003, кандидат фармацевтических наук,²ORCID: 0000-0003-3507-8409, кандидат фармацевтических наук,,³ORCID: 0000-0001-5919-5453, Кандидат фармацевтических наук,⁴ORCID: 0000-0002-1618-4196,⁵ORCID: 0000-0002-2793-9697, кандидат фармацевтических наук,

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

МАРКЕТИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ АССОРТИМЕНТА АНТАЦИДНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ БЕЗРЕЦЕПТУРНОГО ОТПУСКА В АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЯХ**Аннотация**

Проведены сравнительные маркетинговые исследования группы антацидных лекарственных средств безрецептурного отпуска в двух аптечных организациях. Установлены основные маркетинговые параметры данного сектора рынка: перечень и структура сегмента антацидных лекарственных препаратов по лекарственным формам, странам-изготовителям, фармацевтическим дистрибьюторам, источникам происхождения, принадлежности перечню ЖНВЛП. Проведен анализ препаратов данной группы по стоимости, сумме и уровню дохода, получаемого аптеками.

Ключевые слова: кислотозависимые заболевания, антацидные лекарственные препараты, безрецептурный отпуск, аптечная организация, маркетинговые исследования.

Kulik V.V.¹, Kovaleva T.G.², Emanova A.M.³, Kleichyuk E.V.⁴, Ivchenko O.G.⁵¹ORCID: 0000-0003-1829-4003, PhD in Pharmaceutics, ²ORCID: 0000-0003-3507-8409, PhD in Pharmaceutics,³ORCID: 0000-0001-5919-5453, PhD in Pharmaceutics,⁴ORCID: 0000-0002-1618-4196, ⁵ORCID: 0000-0002-2793-9697, PhD in Pharmaceutics,

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a Branch of FSBEI VolgSMU of the Ministry of Health of Russia,

MARKETING RESEARCH OF ASSORTMENT OF ANTACID MEDICINES OF OVER-THE-COUNTER LEAVE IN PHARMACY ORGANIZATIONS**Abstract**

Comparative marketing researches of the group of antacid medicines of over-the-counter leave in two pharmacy organizations were conducted. The main marketing parameters of this sector of the market are established: List and structure of antacid medicinal products segment for medicinal forms, manufacturing countries, pharmaceutical distributors, sources of origin as well as the list of vital and essential drugs. The analysis of drugs of this group was carried out according to the cost, amount and level of income received by pharmacies.

Keywords: acid-dependent diseases, antacid medicines, over-the-counter leave, pharmacy organization, marketing research.

В Российской Федерации, как и во многих странах мира, патология системы пищеварительных органов занимает одну из ведущих позиций (3-е место) в структуре общей заболеваемости населения, уступая только сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям [1, С. 16] [2, С. 17] [4, С. 42].

Наиболее распространенными кислотозависимыми заболеваниями являются гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ), хронический гастрит (ХГ), язвенная болезнь желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК), а также хронический панкреатит (ХП). Кроме того, к кислотозависимым можно отнести патологии, во время которых кислотный фактор поддерживает течение заболевания (НПВП-гастропатии, язва при гипертиреозе, рефлюкс-гастрит, кишечные расстройства у пациентов с гиперпродукцией соляной кислоты (запоры, поносы, неустойчивый стул). Названные клинические проявления обусловили высокую обращаемость больных за квалифицированной помощью не только в медицинские, но и в аптечные организации [10, С. 6].

В лечении кислотозависимых заболеваний в настоящее время важную роль играет эффективное противодействие кислотному фактору. В комплексной терапии ЯБЖ и ХГ нашли широкое применение лекарственные препараты, обладающие антацидным действием, так как они способны нейтрализовать соляную кислоту, адсорбировать пепсин, тормозить ретроdiffузию водорастворимых ионов, купировать спазмы [3, С. 62], [8, С. 66], [10, С. 8].

Согласно данным ранее проведенных исследований, отечественный фармацевтический рынок насчитывает более 40 международных непатентованных наименований лекарственных препаратов (или около 230 торговых наименований), которые применяются для лечения ЯБЖ и ХП [5, С. 33].

Традиционно все антациды делят на всасывающиеся и невсасывающиеся. Наиболее предпочтительными сегодня являются невсасывающиеся антациды (маалокс, фосфалюгель, алмагель и т.д.).

Невсасывающиеся антациды обладают способностью проявлять определенные побочные эффекты. Так, препараты алюминия вызывают замедление моторики кишечника, а магния – ускорение. Поэтому в современных антацидных препаратах часто присутствует сбалансированная комбинация солей магния и алюминия. Для современных антацидных препаратов характерны не только их вышеперечисленные свойства, но также способность адсорбировать желчные кислоты, лизолецитин; высокие буферные свойства, быстрое начало и значительная продолжительность действия, хорошие органолептические свойства при минимальной возможности каких-либо побочных эффектов, отсутствие газообразования. Кроме того, практически все они обладают цитопротективным эффектом, а также стимулируют процессы клеточной регенерации [6, С. 18], [7, С. 17].

Очень часто препараты антацидного действия используются в комбинации с H₂-блокаторами, М-холинолитиками или блокаторами протонного насоса.

Благодаря своему цитопротективному действию посредством повышения синтеза простагландинов и стимуляции защитных свойств слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки эти препараты оказывают благотворное действие на заживление язв и эрозий [8, С. 67].

Таким образом, медицинская практика отмечает высокую эффективность антацидов в лечении кислотозависимых заболеваний. В современной клинической практике при наличии мощных антисекреторных препаратов, таких, как блокаторы протонного насоса, антацидные средства не потеряли своего значения. Это объясняется тем, что современные антациды обладают протективным эффектом. Поэтому антациды будут занимать все большее место в лечении и профилактике пептических повреждений слизистой верхних отделов желудочно-кишечного тракта [9, С. 44].

Таблица 1 – Данные о деятельности аптечных организаций

Показатели	Аптека №1	Аптека №2
Вид собственности	частная	частная
Регион	Москва	Карачаево-Черкесская Республика
Месторасположение	город	город
Площадь, м ²	93,0	46,0
Ассортимент	универсальный	универсальный
Число товарных позиций, ед.	8023	4176
Формат обслуживания	закрытый	закрытый
Способ учета движения товаров	Автоматизированный на основе штрих-кода	Автоматизированный на основе штрих-кода
Производственные функции	отсутствуют	отсутствуют
Объем работы: - среднесуточная выручка - среднее количество чеков в день -средняя стоимость покупки	115 тыс. руб. 250 ед. 460 руб.	50 тыс. руб. 200 ед. 250 руб.

Учитывая вышеизложенные факты и актуальность проблемы совершенствования лекарственного обеспечения больных кислотозависимыми заболеваниями, нами проведены маркетинговые исследования ассортимента антацидных лекарственных препаратов безрецептурного отпуска в двух аптечных организациях. В целях сохранения конфиденциальности в нашей работе аптекам условно присвоены названия «Аптека №1» и «Аптека №2». Краткая характеристика исследуемых аптечных организаций представлена в табл. 1.

Как следует из приведенных данных, аптеки, на базе которых проводились исследования, имеют много общего: вид собственности, выполняемые функции, формат обслуживания, способ учета товаров и т.д. В то же время, в деятельности аптек имеются существенные различия (по территориальному признаку, объему работы, числу товарных позиций, средней стоимости покупки).

Нами был проведен сравнительный анализ ассортимента антацидных лекарственных препаратов безрецептурного отпуска в описываемых аптечных организациях. Сбор данных осуществлялся на основе показателей автоматизированного учета товаров.

Установлено, что в ассортименте Аптеки №1 имеется 33 наименования антацидных лекарственных препаратов, разрешенных к отпуску без рецепта медицинского работника. Их полный перечень содержится в табл. 2.

Данный ряд лекарственных препаратов проанализирован на принадлежность перечню жизненно необходимых и важнейших препаратов для медицинского применения (ПЖНВЛП), утвержденного Правительством РФ. Выявлено, что ни один из присутствующих в аптеке препаратов не является жизненно необходимым или важнейшим.

Анализ представленного ассортимента показал, что подавляющее большинство препаратов в нем синтетического происхождения (препараты магния, алюминия, натрия гидрокарбоната и др., всего 31 наименование, или около 94,0% от их общего количества). Исключение составляют комплексные препараты викаир и релцер. В их составе имеются компоненты как растительного, так и синтетического происхождения.

Таблица 2 – Перечень антацидных лекарственных препаратов безрецептурного отпуска в Аптеке №1

№	Наименование	Лекарственная форма	Страна производитель
1	Алмагель 170мл	суспензия	Болгария
2	Алмагель А 170мл	суспензия	Болгария
3	Алмагель Нео 170мл	суспензия	Болгария
4	Викаир	таблетки	Россия
5	Гастал таб.№30	таблетки	Хорватия
6	Гастал таб.№60	таблетки	Хорватия
7	Гастал таб. для рассасывания вишнёвые №24	таблетки	Хорватия
8	Гастал таб. для рассасывания вишнёвые №48	таблетки	Хорватия
9	Гастал таб. для рассасывания мятные №24	таблетки	Хорватия
10	Гастал таб. для рассасывания мятные №48	таблетки	Хорватия
11	Гастрацид №12	таблетки	Нидерланды
12	Гевискон таб. жев. мята №16	таблетки	Великобрит.
13	Гевискон таб. жев. мята №32	таблетки	Великобрит.
14	Гевискон 150мл	суспензия	Великобрит.
15	Гевискон 300мл	суспензия	Великобрит.
16	Гевискон форте мята 10мл №20	суспензия	Великобрит.
17	Гевискон форте мята 150мл	суспензия	Великобрит.
18	Ренни таб. жев. с апельсином №12	таблетки	Франция
19	Ренни таб. жев. с апельсином №24	таблетки	Франция
20	Ренни таб. жев. без сахара мята №12	таблетки	Франция
21	Ренни таб. жев. без сахара мята №24	таблетки	Франция
22	Ренни таб. жев. без сахара мята №48	таблетки	Франция
23	Ренни таб. жев. ментол №12	таблетки	Франция
24	Ренни таб. жев. ментол №24	таблетки	Франция
25	Релцер 180мл	суспензия	Индия
26	Релцер №20	таблетки	Индия
27	Маалокс 15мл №30	суспензия	Италия
28	Маалокс 250мл	суспензия	Италия
29	Маалокс мини 4,3мл №6	суспензия	Италия
30	Маалокс таб. жев. №20	таблетки	Италия
31	Фосфалюгель 16г №20	суспензия	Нидерланды
32	Рутацид таб. жев. 500мг №20	таблетки	Словения
33	Рутацид таб. жев. 500мг №60	таблетки	Франция

В составе препарата викаир: аира корневища, крушины ольховидной кора, висмута субнитрат, магния карбонат, натрия гидрокарбонат, а препарат релцер содержит алюминия гидроксид гель, магния гидроксид, симетикон и порошок корней солодки голой.

Ассортимент анализируемых лекарственных препаратов Аптеки №2 (табл. 3) значительно уже в сравнении с ассортиментом Аптеки №1 (20 наименований против 33). Как и в Аптеке №1, основной удельный вес приходится на препараты, полученные синтетическим путем – 19 наименований, или 95%. В Перечень ЖНВЛП также не вошел ни один препарат.

Таблица 3 – Перечень антацидных лекарственных препаратов, имеющих в ассортименте Аптеки №2

№	Наименование	Лекарственная форма	Страна производитель
1	Алмагель 170 мл	суспензия	Болгария
2	Алмагель А 170 мл	суспензия	Болгария
3	Алмагель Нео 170 мл	суспензия	Болгария
4	Ренни жев. таб. с ментолом №12	таблетки	Франция
5	Ренни жев. таб. с ментолом №24	таблетки	Франция
6	Ренни жев. таб. без сахара с мятой №12	таблетки	Франция
7	Ренни жев. таб. без сахара с мятой №24	таблетки	Франция
8	Ренни жев. таб. с апельсином №12	таблетки	Франция
9	Ренни жев. таб. с апельсином №24	таблетки	Франция
10	Маалокс таб. жев. №20	таблетки	Италия
11	Маалокс 250 мл	суспензия	Италия
12	Гевискон таб. жев. мятные №16	таблетки	Великобритания
13	Гевискон таб. жев. мятные №32	таблетки	Великобритания
14	Гевискон 150 мл	суспензия	Великобритания
15	Гастал №30	таблетки	Хорватия
16	Гастал №60	таблетки	Хорватия
17	Гастал мятные №24	таблетки	Хорватия
18	Гастрацид №12	таблетки	Нидерланды
19	Фосфалюгель 16г №20	суспензия	Нидерланды
20	Викаир №10	таблетки	Россия

Далее была изучена структура исследуемого ассортимента антацидных препаратов по лекарственным формам (рис.1).

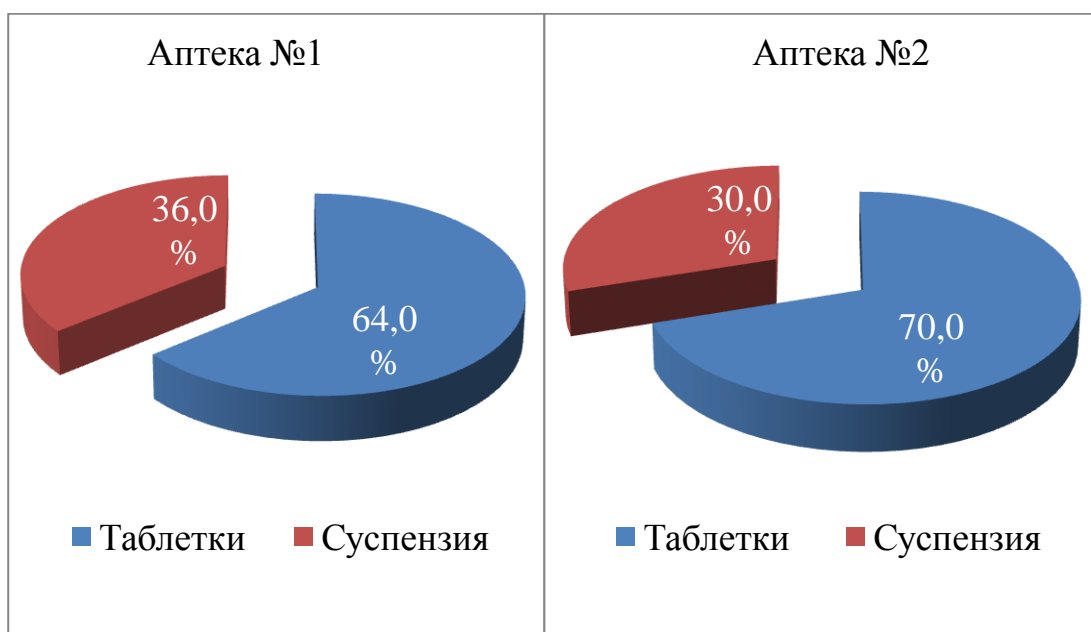


Рис. 1 – Анализ соотношения лекарственных форм антацидных препаратов в аптеках (доля, %)

В результате анализа выявлено, что в обеих аптеках преобладают антацидные лекарственные препараты в твердой лекарственной форме в виде таблеток (жевательных, для рассасывания). В Аптеке №1 удельный вес таблеток составил 64,0% от числа анализируемых наименований, в Аптеке №2 значение этого показателя составило 70%.

Проведенный анализ показал, что лекарственные препараты антацидного действия зарубежного производства поставляются в основном из стран Европы (рис. 2). География производителей более широко представлена в Аптеке №1 (9 стран-изготовителей), в Аптеке №2 имеются препараты, изготовленные предприятиями фармацевтической промышленности 7 государств.

Подавляющее большинство препаратов произведено во Франции, второе место разделили Великобритания и Хорватия.

В обеих аптечных организациях доля российского производителя незначительна, в перечне отечественный производитель занимает последнее место – не более 5% (рис. 2). Это свидетельствует о высокой импортозависимости

в исследуемом сегменте фармацевтического рынка.

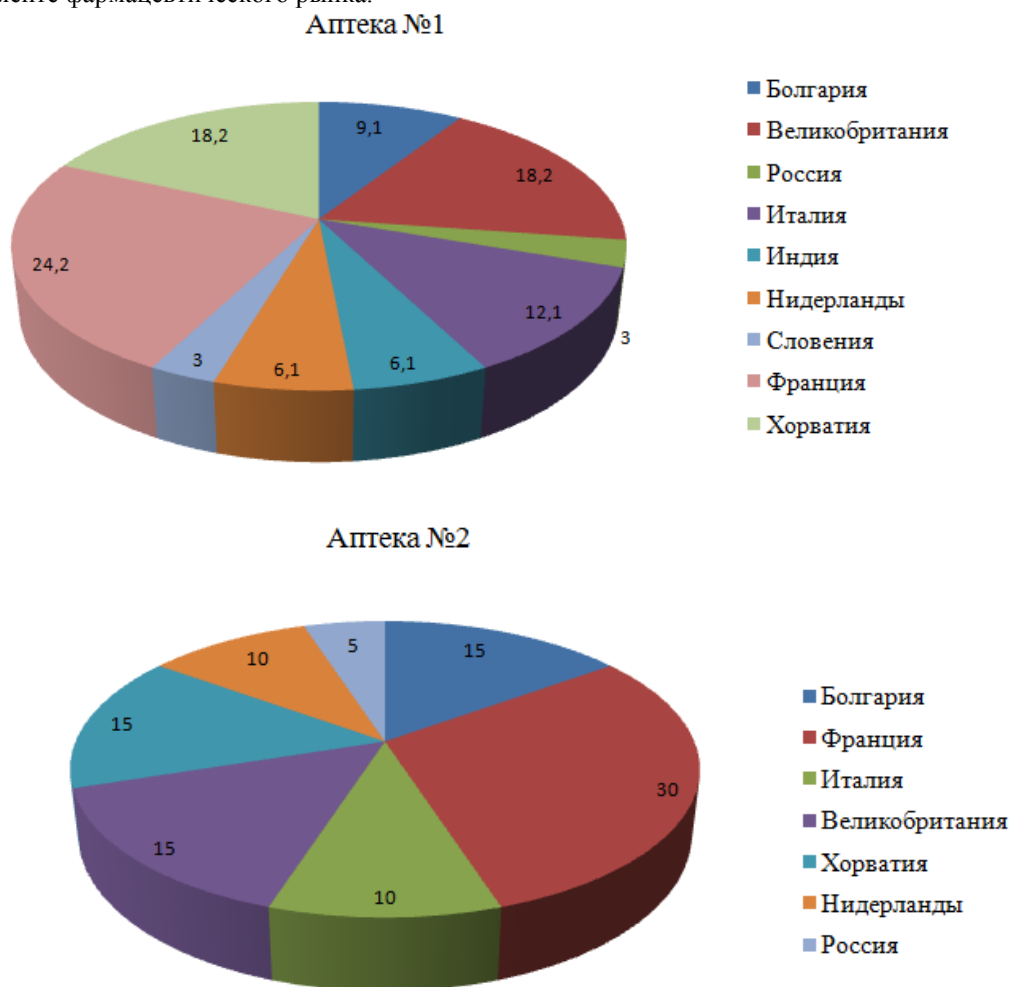


Рис. 2 – Анализ исследуемых антацидных лекарственных препаратов в аптеках по географическому признаку (доля, %)

На следующем этапе проанализированы структура поставок и основные поставщики антацидных препаратов в аптечные организации.

Товар в Аптеку №1 поступает ежедневно. Специальная компьютерная программа демонстрирует прайс-листы поставщиков и позволяет делать заказ, ориентируясь на лучшие цены. Антацидные препараты в аптеку поставляют семь фармацевтических дистрибьюторов: ЗАО СКС «Альянс»; ООО ФК «Пульс»; ЗАО «Роста»; ЦВ «Протек»; ООО «Ориола»; ЗАО «ПрофитМед»; ЗАО «Арал Плюс» (рис. 3).

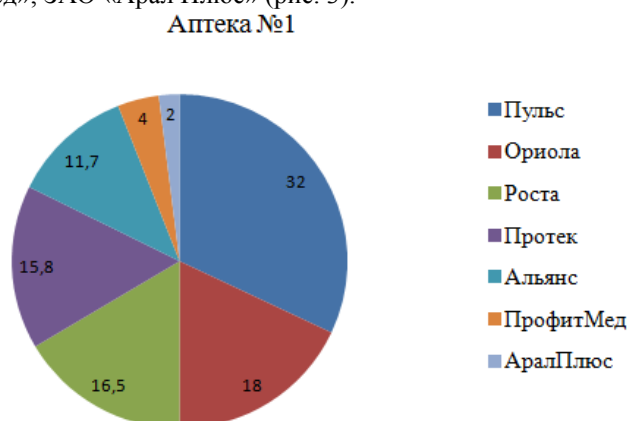


Рис. 3 – Анализ фармацевтических дистрибьюторов – поставщиков антацидных препаратов в Аптеку №1 (доля, %)

Данные, представленные на рис.3, говорят о том, что самую значительную долю в поставке антацидных препаратов в Аптеку №1 занимает поставщик ФК «Пульс» – 32,0% (11 наименований); доля поставщика ООО «Ориола» составила 18,0% (6 наименований), доля ЗАО «Роста» – 16,5% (5 наименований), доля ЦВ «Протек» – 15,8%.

Поставка антацидных лекарственных препаратов безрецептурного отпуска в Аптеку №2 производится четырьмя поставщиками: национальным дистрибьютором «Катрен» (доля поставки – 59,5%); региональными дистрибьюторами ООО «Юг-Фарм» (доля – 34,24%) и ООО «Медчеста-М» (доля – 3,8%); ООО «Донской госпиталь» (доля – 2,46%)

(рис.4). Товар в аптеку поставляется ежедневно, кроме воскресенья.

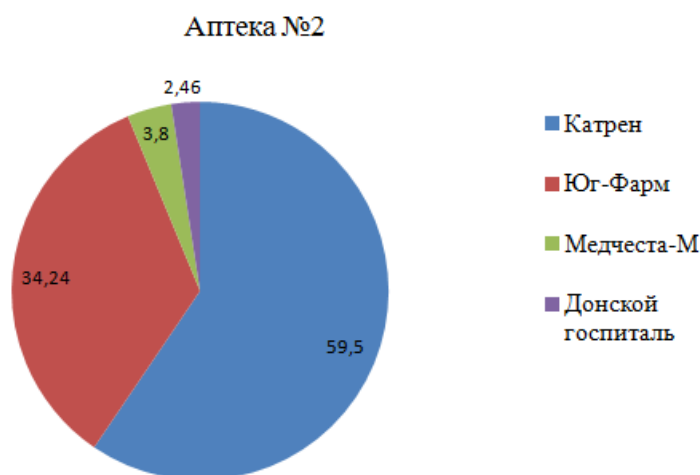


Рис. 4 – Анализ фармацевтических дистрибьюторов – поставщиков антацидных препаратов в Аптеку №2 (доля, %)

Аптечная организация, осуществляющая финансово-хозяйственную деятельность в условиях рынка, должна быть конкурентоспособной и рентабельной. Ассортимент товаров и их цена, наряду с качеством оказываемых услуг, являются основными методами ведения конкурентной борьбы на фармацевтическом рынке, что объясняется ограниченной платежеспособностью населения.

Экономическая эффективность аптечной организации зависит от объема товарооборота и размера торговой наценки, применяемой при формировании розничных цен на лекарственные препараты и другие фармацевтические товары.

Методом контент-анализа приходных накладных и показателей автоматизированного учета движения товаров осуществили сбор информации о стоимости препаратов антацидного действия (табл. 4).

Таблица 4 – Сравнительный анализ стоимости и доходов от реализации антацидных лекарственных препаратов в аптечных организациях

№	Наименование ЛП	Аптека №1	Аптека
		% ТН	% ТН
1. До 100 руб.			
1	Викаир таб.№10	21,90%	22,85%
2	Гастрацид таб. жев.№12	21,88%	23,00%
3	Гевисконтаб.жев. мята №16	20,00%	20,84%
4	Ренни таб.жев. ментол №12	18,70%	19,15%
5	Маалокс сусп. мини 4,3мл№6	18,70%	-
6	Рутацид таб.жев.№20	18,70%	-
7	Алмагель сусп.170мл	-	21,12%
2.Свыше 100 до 200 руб.			
1	Алмагель сусп.170мл	20,40%	-
2	Алмагель А сусп.170мл	20,70%	21,00%
3	Алмагель Нео сусп.170мл	18,70%	19,00%
4	Гастал таб.№30	21,60%	20,20%
5	Гастал таб. для рас.вишн. №24	18,70%	-
6	Гастал таб. для рас.мятн. №24	18,70%	19,70%
7	Гевискон сусп. 150мл	18,70%	19,50%
8	Гевискон таб.жев. мята №32	27,27%	26,21%
9	Ренни таб.жев. апельсин №12	18,70%	19,38%
10	Ренни таб.жев. апельсин №24	18,70%	19,34%
11	Ренни таб. жев. без сахара мята №12	18,70%	19,10%
12	Ренни таб. жев. без сахара мята №24	18,70%	19,00%
13	Ренни таб. жев. ментол №24	18,70%	19,00%
14	Релцер таб.№20	19,00%	-
15	Маалокс таб.жев. №20	26,00%	26,62%
16	Рутацид таб.жев.№60	19,00%	-

Продолжение Таблицы 4

предложение Гастал			
№	Наименование ЛП	Аптека №1	Аптека
		% ТН	% ТН
1. До 100 руб.			
3.Свыше 200 до 400руб.			
1	Гастал таб. №60	18,85%	19,10%
2	Гастал таб. для рас.вишн. №48	18,70%	-
3	Гастал таб. для рас.мятн. №48	18,70%	-
4	Гевисконсусп. 300мл	20,00%	-
5	Гевискон форте сусп. мята 10мл№20	18,70%	-
6	Гевискон форте сусп. мята 150мл	18,70%	-
7	Ренни таб. жев. без сахара мята №48	20,00%	-
8	Релцерсусп. 180мл	18,80%	-
9	Маалокс сусп. 250мл	20,00%	20,20%
10	Фосфалюгель сусп.16г№20	21,00%	22,20%
4. Свыше 400 рублей			
1	Маалокс сусп.15мл№30	18,70%	-

Препараты распределили на следующие группы: стоимостью до 100 руб.; стоимостью свыше 100 руб. до 200 руб.; стоимостью свыше 200 руб. до 400 руб.; стоимостью свыше 400 руб.

Проведенный анализ позволил установить, что цены на препараты изучаемого сектора рынка в Аптеке №2 ниже, чем в Аптеке №1, однако уровень торговых наложений выше.

В Аптеке №1 для большинства наименований антацидных препаратов при формировании розничных цен применены минимальные торговые надбавки. Об этом свидетельствует минимальное значение уровня торговых наложений – 18,7%. В Аптеке №2 минимальное значение этого показателя составило 19,0%. Наибольший доход Аптека №1 получает от продажи препарата гевискон, таблетки жевательные со вкусом мяты №32 (уровень торговых наложений максимален и составляет 27,27%). В Аптеке №2 наиболее высокий уровень торговых наложений выявлен у препарата маалокс, жевательные таблетки № 20.

При анализе ценовых категорий установлено, что наиболее многочисленной в обеих аптеках является группа лекарственных препаратов с ценами свыше 100 руб. до 200 руб. (16 и 12 наименований соответственно в Аптеке №1 и Аптеке №2). Кроме этого, ассортимент антацидных препаратов Аптеки №1 рассчитан на обслуживание покупателей с любой платежеспособностью, в то время как Аптека №2 в ассортиментной и ценовой политике ориентируется на обслуживание покупателей с низкой и средней платежеспособностью. Это различие в деятельности аптечных организаций можно объяснить как региональными экономическими особенностями, так и экономическим потенциалом самих аптечных организаций, прежде всего наличием оборотных средств.

В результате проведенных исследований установлено, что в нормативных документах отсутствуют жесткие требования к наличию препаратов антацидного действия в аптечных организациях. Поэтому ассортимент анализируемых средств формируется аптеками произвольно на основе сложившегося спроса и покупательной способности населения. В обеих аптеках основной ассортимента антацидных препаратов безрецептурного отпуска являются средства, которые известны конечному потребителю, пользуются хорошей репутацией и рекламной поддержкой (альмагель, ренни, гастал, фосфалюгель, маалокс). Несмотря на выявленные различия, обе аптеки способны удовлетворить спрос конечных потребителей в антацидных лекарственных препаратах безрецептурного отпуска.

Список литературы / References

1. Васильев Ю. В. Роль современных антацидов в повышении качества жизни у пациентов с кислотозависимыми заболеваниями / Ю. В. Васильев, Е. Б. Грищенко // Медицинский совет. – 2013. – №10. – С. 16-20.
2. Васильев Ю. В. Средства для лечения кислотозависимых заболеваний желудочно-кишечного тракта / Ю. В. Васильев, А. А. Машарова // Новая аптека. – 2005. – №4. – С. 17-20.
3. Бабанов С. А. Позиция антацидных препаратов в современной терапии кислотозависимых заболеваний / С. А. Бабанов, Е. Б. Грищенко // Медицинский совет. – 2014. – №4. – С. 34-37.
4. Базаркина О.В. Маркетинговый подход к изучению потребителей антацидных и противоязвенных препаратов / О. В. Базаркина, А. Н. Ибрагимова // Вестник РУДН, серия «Медицина». – 2008. – №4. – С. 41 – 45.
5. Базаркина О. В. Рынок современных лекарственных препаратов для лечения гастрита и язвенной болезни желудка / О. В. Базаркина, А. Н. Ибрагимова // Новая аптека. – 2010. – №9. – С. 33 – 38.
6. Калинин А. В. Кислотозависимые заболевания верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Медикаментозная коррекция секреторных расстройств / А. В. Калинин // Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии. – 2001. – №2. – С. 16-22.
7. Лабезник Л. Б. Кислотозависимые заболевания верхних отделов пищеварительного тракта. Что это такое? / Л. Б. Лабезник // Новая аптека. – 2005. – №4. – С.16 – 20.
8. Маев И. В. Роль и место антацидов в современных алгоритмах терапии кислотозависимых заболеваний / И. В.

Маев, А. А. Самсонов, Д. Н. Андреев // Фарматека. – 2013. – №2. – С. 65 – 72.

9. Плотникова Е. Ю. Актуальность антацидов и альгинатов в лечении заболеваний органов пищеварения / Е. Ю. Плотникова // Лечащий врач. – 2015. – №2. – С. 41-44.

10. Самсонов А. А. Современная терапия кислотозависимых заболеваний и роль антацидных препаратов в её составе / А. А. Самсонов, Ю. А. Лежнева, Е. Е. Павлова // Медицинский совет. – 2014. – №13. – С. 6-9.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Vasilyev Yu. V. Rol sovremennykh antacidov v povyshenii kachestva zhizni u pacientov s kislotozavisimymi zabolevaniyami [Role of modern antacids in improving quality of life in patients with acid-related diseases] / Yu. V. Vasilyev, E. B. Grishenko // Medicinskiy sovet [Medical advice]. – 2013. – №10. – P. 16-20. [in Russian]

2. Vasilyev Yu. V. Sredstva dlya lecheniya kislotozavisimyykh zabolevaniy zheludочно-kishechnogo trakta [Remedies for the treatment of acid-related diseases of the gastrointestinal tract] / Yu. V. Vasilyev, A. A. Masharova // Novaya apteka [New pharmacy]. – 2005. – №4. – P. 17-20. [in Russian]

3. Babanov S. A. Pozitsiya antacidnykh preparatov v sovremennoy terapii kislotozavisimyykh zabolevaniy [Position of antacids in modern treatment of acid-related diseases] / S. A. Babanov, E. B. Grishenko // Meditsinskiy sovet [Medical advice]. – 2014. – № 4. – P. 34-37. [in Russian]

4. Bazarkina O. V. Marketingoviy podhod k izucheniyu potrebiteley antacidnykh i protivoyazvennykh preparatov [Marketing approach to studying consumers of antacid and antiulcer drugs] / O. V. Bazarkina, A. N. Ibragimova // Vestnik RUDN, seriya «Medicina» [Bulletin of RUDN university, series "Medicine"]. – 2008. – № 4. – P. 41-45. [in Russian]

5. Bazarkina O. V. Rynok sovremennykh lekarstvennykh preparatov dlya lecheniya gastrita i yazvennoy bolezni zheludka [Market of modern medicines for the treatment of gastritis and gastric ulcer] / O. V. Bazarkina, A. N. Ibragimova // Novaya apteka [New pharmacy]. – 2010. – № 9. – P. 33-38. [in Russian]

6. Kalinin A. V. Kislotozavisimye zabolevaniya verhnih otdelov zheludочно-kishechnogo trakta. Medikamentoznaya korrektsiya sekretornykh rasstroystv [Acid-related diseases of the upper gastrointestinal tract. Pharmacological treatment of secretory disorders] / A. V. Kalinin // Klinicheskie perspektivy v gastroenterologii, gepatologii [Clinical prospects of gastroenterology, hepatology]. – 2001. – № 2. – P. 16-22. [in Russian]

7. Labeznik L. B. Kislotozavisimye zabolevaniya verhnih otdelov pischevaritelnogo trakta. Chto eto takoe? [Acid-related diseases of the upper digestive tract. What is it?] / L. B. Labeznik // Novaya apteka [New pharmacy]. – 2005. – № 4. – P. 16-20. [in Russian]

8. Mayev I. V. Rol i mesto antatsidov v sovremennykh algoritмах terapii kislotozavisimyykh zabolevaniy [Role and place of antacids in modern treatment algorithms for acid-related diseases] / I. V. Mayev, A. A. Samsonov, D. N. Andreev // Farmateka. – 2013. – № 2. – P. 65-72. [in Russian]

9. Plotnikova E. Yu. Aktualnost antacidov i alginatov v lechenii zabolevaniy organov pischevareniya [The relevance of antacids and alginates in treatment of diseases of the digestive system] / E. Yu. Plotnikova // Lechaschiy vrach [Treating physician]. – 2015. – № 2. – P. 41-44. [in Russian]

10. Samsonov A. A. Sovremennaya terapiya kislotozavisimyykh zabolevaniy i rol antatsidnykh preparatov v eyo sostave [Modern treatment of acid-related diseases and the role of antacids in its structure] / A. A. Samsonov, Yu. A. Lezhneva, E. E. Pavlova // Meditsinskiy sovet [Medical advice]. – 2014. – № 13. – P. 6-9. [in Russian]

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ / CHEMISTRY

DOI: <https://doi.org/> DOI: <https://doi.org/>Баранова Е.И.¹, Выскубова Е.Н.², Бажина Т.П.³¹Кандидат химических наук, доцент, ²кандидат химических наук, ³кандидат технических наук

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет», Краснодар, Россия

ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ «АКТИВНОГО ХЛОРА» В ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ ОБРАБОТАННЫХ ХЛОРИДСОДЕРЖАЩИХ ЭЛЕКТРОЛИТАХ

Аннотация

Основная часть анализов остаточного активного хлора выполняется традиционным химическим методом, в основе которого – методика объемного титрования рабочим раствором тиосульфата натрия с визуальной индикацией точки эквивалентности по крахмалу. Главными недостатками методики являются малая химическая устойчивость растворов тиосульфата натрия, необходимость периодической проверки его титра, высокий предел определяемых содержаний активного хлора и соответственно низкая чувствительность метода, относительно большая ошибка определения. С целью устранения указанных недостатков объемного классического анализа, автоматизации метода, сокращения его трудоемкости проводятся исследования по разработке инструментальных методов контроля активного хлора. Предложен вариант косвенного потенциометрического метода определения общего содержания «активного хлора» в электрохимически обработанных хлоридсодержащих электролитах без применения буферной системы.

Ключевые слова: электрохимическая обработка, хлорид натрия, окислительно-восстановительный потенциал.

Baranova E.I.¹, Vyskubova E.N.², Bazhina T.P.³¹PhD, Associate Professor, ²PhD, ³PhD

FGBOU VO "Kuban state technological university", Krasnodar, Krasnodar, Russia

POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF "AVAILABLE CHLORINE" IN ELECTROCHEMICALLY TREATED CHLORINATED ELECTROLYTES

Abstract

The most of analyses of residual available chlorine are carried out by traditional chemical technique based in the methods of volumetric titration by means of working solution of sodium thiosulphate with visual indication of equivalence point on starch. The main disadvantages of the methods are low chemical stability of sodium thiosulphate solutions, necessity of periodic control of titre, high limit of available chlorine content and therefore low sensitivity of the technique and relatively significant error of determination. That research work on developing instrumental methods of available chlorine control is carried out. Its purpose is to eliminate the disadvantages of classic volumetric analysis, to automatize it and reduce labour intensity. Variant of indirect potentiometric method for determination of total content of active chlorine in electrochemically treated electrolytes, containing chlorine, without the use of a buffer system proposed.

Keywords: Electrochemical processing, sodium chloride, redox potential.

Introduction

The water for different application is disinfected by chlorine to provide sanitary, hygienic indices of drinking, household, technical water, technological liquids and to solve environmental problems. During the last years and today in water purifying installations (both in Russia and other countries), liquefied chlorine for disinfection of water is being replaced by the other analogous methods that are more simplified and rather safe. According to our data and data obtained by the scientists of developed countries, the most promising way of disinfection of water is electrolytic sodium hypochlorite treatment. The basis of the technique is electrolysis of water solution of sodium chloride in flowing condition.

Control of residual available chlorine is obligatory after chlorination. The term of "available chlorine" means total content of strong chlorinated oxidants in water i.e. sodium hypochlorite, molecular dissolved chlorine and chloramines. The most of analyses of residual available chlorine are carried out by traditional chemical technique based in the methods of volumetric titration by means of working solution of sodium thiosulphate with visual indication of equivalence point on starch. The main disadvantages of the methods are low chemical stability of sodium thiosulphate solutions, necessity of periodic control of titre, high limit of available chlorine content and therefore low sensitivity of the technique and relatively significant error of determination [1, P. 224]. Systematic error of iodide-starch methods is about 8 relative % at $C_{\text{Ach}} = 0.3-0.7 \text{ mg/l}$ and it is reduced to 4 relative % at $C_{\text{Ach}} = 1.5 \text{ mg/l}$. It is known that research work on developing instrumental methods of available chlorine control is carried out. Its purpose is to eliminate the disadvantages of classic volumetric analysis, to automatize it and reduce labour intensity.

Electrochemical and especially anodic treatment (activation) is widely used for sample preparation in algorithm of various electrochemical and other physics-chemical methods of analysis [2, P. 11].

The purpose of the paper is to develop the technique of determination of available chlorine in electrochemically treated liquid by indirect potentiometric method.

Experimental

Electrochemical generation of available chlorine in sodium chloride solution (salt content is from 0.001 to 1.0 mole/dm³) was carried out in anodic chamber of two-chamber flowing electrolyzer with electrodes in the form of graphite disks. The experiment was made in condition of direct and pulse current (from 0.05 to 0.5 A; the interval of current density was from 8 to 70 A/m²). Formation of oxidation-reduction potential was controlled with potentiometric measurements (indicator-point-platinum electrode ЭПВ-1, chloride-silver reference electrode ЭВЛ 1 МЗ) in both anolyte flow and a sampler at mixing by means of magnetic mixer. A fragment of anolyte forms galvanic cell.

Results and Discussion

Analytical control of available chlorine content (m_{Ach} or C_{Ach} , mg/dm^3 or mole/dm^3) in electrochemically treated liquid (i.e. in anolyte) was carried out by iodometric titration technique with visual indication of the end point of titration according to ГОСТ 18190-72 [3, P. 3-6]. Unlike the standard methods we selected several times smaller volume of liquid sample to analyze.

Methods of determination of available chlorine by volume iodometric titration.

0.5-1.0 of dry potassium iodide is put into conic retort of 100 cm^3 , it is dissolved in 1-2 cm^3 of distilled water, then 1 cm^3 of buffer solution with $\text{pH} = 4.5$ and 25 cm^3 of anolyte or proper model solution is added. Isolated iodine is titrated by means of thiosulfate solution of $C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0.005 \text{ mole/dm}^3$ concentration up to light-yellow colour. Then 1 cm^3 of 0.5 % starch solution is added and titrated until blue colour disappears.

Mass fraction of available chlorine (m_{Ach} , mg/dm^3) is calculated according to the formula

$$m_{\text{AX}} = \frac{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot K \cdot 0.177 \cdot 1000}{V_x} \quad (1)$$

$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ - the quantity of 0.005 (normal) sodium thiosulfate solution used for titration, cm^3 ;

K - coefficient of correction of sodium thiosulfate solution normality;

0.177 - available chlorine content that is equivalent to 1 cm^3 of 0.005 N sodium thiosulfate solution;

V - the volume of water sample selected for the analysis, cm^3 ;

1000 - conversion coefficient to converse gramme of mass into milligramme.

Molar concentration of available chlorine in anolyte (C_{Ach} , mole/dm^3) is calculated according to the formula

$$C_{\text{AX}} = \frac{C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{V_x} \quad (2)$$

$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ - total volume of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ used for titration (up to the end point of titration), cm^3 ;

V_x - volume of anolyte for one analysis, cm^3 .

The other method of quantity determination of available chlorine in electrochemically treated solution (i.e. in anolyte) with various content of sodium chloride is indirect potentiometric method without titration (one-point oxidation-reduction titration), based on measurement of two values of oxidation-reduction potential $E(I_2/2I^-)$ in reversible (balance) electrochemical iodine-iodide system with Pt-indicator electrode: after mixing the sample and reagent (KI) - (E_1) and after adding the dose of standard (fiksanalny) solution of iodine (E_2). Primary isolation in the mix tested (E_1) is conditioned by the reaction of available chlorine (oxidizer) with iodide-ions [4, P. 24], [5, P. 1951].

Various techniques of similar determination for control of residual quantity of available chlorine in drinking, industrial water and sewage, have been published. Apparently, potentiometric determination of available chlorine in electrochemically treated chlorinated electrolytes on the base of potentials $E(I_2/2I^-)$ have never been carried out. As it was mentioned above, reversible potentials $E(I_2/2I^-)$ are an important characteristic of oxidation-reduction properties of electrochemically treated liquid [6, P. 1739], [7, P. 30].

According to the theoretical analysis in the previous works [8, P. 724-726] the following dominating volumetric equilibrium reaction proceed in $I_2 - \text{KI} - \text{NaCl}$ system:



Electrochemical reactions are localized on the surface of platinum electrode:



In the experimental conditions iodine is separated at considerable surplus of NaCl and KI, thus it is possible to describe concentration of iodine $C(I_2)$ in the tested solution

$$C(I_2) = [I_2] + [I_3^-] + [I_2Cl^-]. \quad (8)$$

In consideration of equilibrium of all reactions (3-7) we can describe oxidation-reduction potential of the studied system in the terms of Nernst equation for electrochemical reaction (6). Expressing the concentration $[I_3^-]$ from the equation (8) at

$$[I] \cong C(\text{KI}); \quad (9)$$

$$[Cl^-] \cong C(\text{NaCl}), \quad (10)$$

we can obtain

$$E(I_3^-/3I^-) = E^{o,f}(I_3^-/3I^-) + \frac{2,3RT}{2F} \lg \frac{K_{I_3} C(I_2)}{C(KI)^2 (K_{I_3} C(KI) + K_{I_2Cl^-} + C(NaCl) + 1)}; \quad (11)$$

$E^{o,f}(I_3^-/3I^-)$ - formal potential of the reaction (6);

$K_{I_3^-}$ - concentration constant of formation of I_3^- [9, P. 1459];

$K_{I_2Cl^-}$ - concentration constant of formation of I_2Cl^- particle [9, P. 1461].

Taking into consideration relatively high ionic strength of the tested solution from the equation (11)

We can obtain

$$E(I_3^-/3I^-) \approx \text{const} + S \lg C(I_2). \quad (12)$$

The correlation (12) agree with experimental data: experimental dependence of electromotive force of voltaic cell on $\lg C(I_2)$ is linear and it is within the range $C(I_2) = 2 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-2}$ mole/dm³. Therefore, the average experimental value of the slope of the electrode function is $S = 29.9$ mV. The results obtained confirm that it is possible to use indirect potentiometric method of determination of available chlorine without titration in electrochemically treated salt solution.

Methods of determination of available chlorine in electrochemically treated liquid by indirect potentiometric technique. 50 cm³ of anolyte solution is put into a beaker of 100 cm³, then 0.5 g of dry potassium iodide is added and dissolved; the first value of oxidation-reduction potential E_1 is measured. Then 1 cm³ additive of standard (fiksaly) solution of iodine of $C(I_2) = 0.1$ mole/dm³ concentration is put in and the second value of oxidation-reduction potential E_2 is measured. The difference of potentials

$$\Delta E = E_2 - E_1 \quad (13)$$

The content of available chlorine C_{Ach} , mole/dm³ is calculated by means of the formula

$$C_{\text{Ach}} = \frac{C(I_2)V_{I_2}}{V_x(10^{\Delta E/S} - 1)}, \quad (14)$$

$C(I_2)$ – concentration of fiksalny solution of iodine mole/dm³;

V_{I_2} - the volume of standard iodine additive, cm³

V_x – the volume of anolyte for one experiment, cm³;

S – the slope of the electrode function, mV.

C_{Ach} is multiplied by 0.0355 to evaluate the content of available chlorine according to mass fraction m_{Ach} , mg/dm³.

The results of available chlorine determination in anolyte of flowing two-chamber electrolyzer at various modes of electrolysis by iodometric titration and indirect potentiometric techniques are shown in tables 1 and 2.

The obtained results \bar{C}_{Ach} are considered to be quite reliable as there is satisfactory accordance between techniques of iodometric titration and indirect potentiometry: more than half results of anolyte samples by criterion F in tables 1 and 2; by t-criterion it has been established almost complete absence of significant systematic error [10. P. 47].

Table 1 – The results determination of available chlorine mass fraction in the anolyte samples of flowing two-chamber electrolyzer by iodometric titration method ($n=3$; $P=0.95$; $t_p=4.30$)

№	The conditions of electrolysis		$\bar{C}_{\text{Ach}} \pm \delta$, mg/dm ³	S, mg/dm ³	$10^2 \cdot \text{Sr}$
	I, A	The velocity of electrolyte current, w, cm ³ /min			
1	0.1	6.0	2.32 ± 0.33	0.13	5.60
2	0.1	25.0	4.35 ± 0.35	0.14	3.20
3	0.1	2.0	5.89 ± 0.94	0.38	6.50
4	0.1	2.0	7.25 ± 0.55	0.22	3.00
5	0.2	25.0	7.25 ± 0.55	0.22	3.00
6	0.2	25.0	9.29 ± 0.17	0.07	0.75
7	0.1	2.0	9.37 ± 0.45	0.18	1.90
8	0.1	4.0	9.59 ± 0.19	0.08	7.90
9	0.1	25.0	12.08 ± 0.07	0.03	0.25
10	0.4	4.0	13.03 ± 0.34	0.13	1.00
11	0.4	25.0	14.38 ± 0.94	0.38	2.60
12	0.2	2.0	18.99 ± 0.89	0.36	1.90
13	0.1	25.0	19.20 ± 1.51	0.61	3.20
14	0.4	2.0	22.28 ± 0.69	0.28	1.30

Table 2 – The results of determination of available chlorine mass fraction in anolyte samples of flowing two-chamber electrolyzer by the method of indirect potentiometry (without titration). The conditions of electrolysis – see table 1 (n=3; P=0.95; F(P,f₁,f₂)=19.00; t_p=4.30

№	$\bar{C}_{\text{ACh}} \pm \delta, \text{mg/dm}^3$	S, md/dm ³	10 ² · Sr	F	t
1	2.54 ± 0.38	0.15	5.90	1.15	1.83
2	4.31 ± 1.22	0.49	1.14	12.00	0.14
3	5.11 ± 0.50	0.35	7.00	1.23	2.62
4	7.52 ± 1.74	0.70	9.30	9.80	0.64
5	8.86 ± 2.31	0.93	10.50	17.20	2.90
6	8.86 ± 2.31	0.93	10.50	172.00	0.80
7	9.40 ± 2.32	0.93	10.00	17.20	0.06
8	9.40 ± 2.32	0.93	10.50	143.00	0.35
9	11.36 ± 2.78	1.12	9.80	140.00	1.08
10	13.08 ± 4.38	1.76	13.50	163.00	0.05
11	14.11 ± 4.35	1.75	12.40	2.06	0.22
12	18.18 ± 6.63	2.67	14.70	16.50	0.53
13	18.18 ± 6.63	2.67	14.70	19.20	0.65
14	22.32 ± 9.13	3.67	16.40	168.00	0.02

At $F < F(\bar{P}, f_1, f_2) = 19.00$ the value of t-criterion is using the formula

$$t = \frac{|\bar{C}_1 - \bar{C}_2|}{\sqrt{n_2 S_1^2 + n_1 S_2^2}} \sqrt{n_1 n_2}, \quad (15)$$

$n_1 = n_2 = 3$, \bar{C}_1 and \bar{C}_2 are average values of \bar{C}_{ACh} according to the results of chemical and electrochemical analysis.

At $F > F(\bar{P}, f_1, f_2) = 19.00$ the value of t-criterion is using the formula

$$t = \frac{|\bar{C}_1 - \mu|}{S_1} \sqrt{n_1}, \quad (16)$$

taking into account that the results of chemical analysis \bar{C}_2 are the nearest to the true value of $\mu(\text{ACh})$ concentration [10. P. 60]. According to tables 1 and 2 the conditions of electrolysis (amperage, velocity of electrolyte current) do not influence sensitively the results of determination of C_{ACh} .

Conclusions

Suggested in the paper variant of indirect potentiometric method of total content determination of available chlorine without using buffer system leads to quite reliable data about C_{ACh} in electrochemically (by anode) treated chlorinated water solutions with pH about 1.5 – 3.5 (HCl formation).

The method can be used by control-analytical services that makes it possible to reduce labour intensity of the analysis of residual available chlorine determination and to enhance its sensibility.

Список литературы / Reference

1. Determination of chlorine oxides by amperometric titrator using current-integration method / Watanabe T., Tanaka M., Shu-ming Chen, et al // Bunseki Kagaku. – 1991. – Vol.40, № 12. – P.221-226.
2. Svintsova L.D., Chernyshova N.N. Sample preparation by electrochemical pretreatment in the membranous electrolyzer // Int. Congress on Analyt. Chem.: Abstracts / Moscow. St. Univ. – M., 1997. – Vol.1. – P.10-12.
3. ГОСТ 18190-72. Вода питьевая. Методы определения содержания остаточного активного хлора. – Введ. 1974-01-01. – М.: Изд-во стандартов, 2010. – 12 с.
4. Сериков Ю.А. Потенциометрическое определение активного хлора в промышленных и сточных водах титаномагниевого производства / Ю.А. Сериков, Т.В. Носкова // Заводская лаборатория. – 1988. – № 7. – С.23-26.
5. Власов М.Ю. Потенциометрическое определение остаточного активного хлора / М.Ю. Власов, Ю.И. Николаев, А.М. Писаревский и др. // Журнал прикладной химии, 1984. – Т.57, № 9. – С.1949-1954.
6. Писаревский А.М. Потенциометрическое определение активного хлора с использованием кулонометрического введения стандартной добавки иода / А.М. Писаревский, Ю.А. Сериков, Т.Д. Шигаева и др. // Журнал прикладной химии, 1986. – Т.59, № 8. – С.1737-1743.
7. Писаревский А.М. Возможности потенциометрической методики определения остаточного активного хлора в питьевой воде / А.М. Писаревский, И.П. Полозова, Ю.И. Николаев и др. // Вестник СПбГУ. Сер.4. – 1992. – Т.1, № 4. – С.29-35.
8. Турьян Я.И. Окислительно-восстановительные процессы в системе $\text{I}_2 + \text{KI} + \text{NaCl}$ и потенциометрическое определение иодида калия в поваренной соли / Я.И. Турьян, Л.М. Малука, Т.Р. Маркова // Журнал аналитической химии. – 1992. – Т.47, № 4. – С.723-730.
9. Турьян Я.И. Косвенное редокс-потенциометрическое определение меди / Я.И. Турьян, Л.М. Малука, Т.Р. Маркова // Журнал аналитической химии. – 1992. – Т.47, № 8. – С.1456-1463.
10. Дерффель К. Статистика в аналитической химии / Пер. с нем. – М.: Мир, 1994. 268с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Determination of chlorine oxides by amperometric titrator using current-integration method / Watanabe T., Tanaka M., Shu-ming Chen, et al // Bunseki Kagaku. – 1991. – Vol.40, № 12. – P.221-226.
2. Svintsova L.D., Chernyshova N.N. Sample preparation by electrochemical pretreatment in the membranous electrolyzer // Int. Congress on Analyt. Chem.: Abstracts / Moscow. St. Univ. – M., 1997. – Vol.1. – P.10-12.
3. GOST 18190-72. Voda pit'evaja. Metody opredelenija soderzhanija ostatocznego aktivnogo hlora. [Drinking water. Methods for determining the content of residual active chlorine]. Vved.1974-01-01. – M.: Izd-vo standartov, 2010. – 12 p.[in Russian]
4. Serikov U.A. Potenciometricheskoe opredelenie aktivnogo hlora v promyshlennyh i stochnyh vodah titanomagnievogo proizvodstva [Potentiometric determination of available chlorine in industrial water and sewage of titanium-magnesium production] / U.A.Serikov, T.V. Noskova // Zavodskaja laboratorija [Laboratory Manager]. – 1988. – № 7. – P.23 - 26. [in Russian]
5. Vlasov M.Ju. Potenciometricheskoe opredelenie ostatocznego aktivnogo hlora [Potentiometric determination of residual active chlorine] / M.Yu.Vlasov, Yu.I.Nikolayev, A.M. Pisarevsky and others // Zhurnal prikladnoj himii [Journal of Applied Chemistry]. – 1984. – Vol. 57, №. 9. – P.1949-1954. [in Russian]
6. Pisarevskij A.M. Potenciometricheskoe opredelenie aktivnogo hlora s ispol'zovaniem kulonometricheskogo vvedeniya standartnoj dobavki ioda [Potentiometric determination of active chlorine using coulometric injection of a standard iodine supplement] / A.M.Pisarevskij, Yu.A.Serikov, T.D. Shigaeva and others // Zhurnal prikladnoj himii [Journal of Applied Chemistry]. – 1986. – Vol. 59, №. 8. – P.1737-1743. [in Russian]
7. Pisarevskij A.M. Vozmozhnosti potenciometricheskoy metodiki opredelenija ostatocznego aktivnogo hlora v pit'evoy vode [Possibilities of potentiometric technique for determination of residual active chlorine in drinking water] / A.M.Pisarevskij, I.P. Polozova, Yu.I. Nikolaev and others // Vestnik SPbGU. Serija 4 [Bulletin of St. Petersburg State University. Series 4]. – 1992. – Vol. 1, №. 4. – P.29-35. [in Russian]
8. Turyan A.I. Okislitel'no-vosstanovitel'nye processy v sisteme $I_2+KI+NaCl$ i potenciometricheskoe opredelenie iodida kalija v povarennoj soli [Oxidation-reduction processes in the system $I_2+KI+NaCl$ and potentiometric determination of potassium iodide in sodium chloride] / A.I.Turyan, L.M. Maluka, T.R. Markova // Zhurnal analiticheskoy himii [Analytical chemistry journal]. – 1992. – Vol.47, №4. – P. 723-730. [in Russian]
9. Turyan A.I. Kosvennoe redoks-potenciometricheskoe opredelenie medi [Indirect redox-potentiometric determination of copper] / A.I.Turyan, L.M. Maluka, T.R. Markova // Zhurnal analiticheskoy himii [Analytical chemistry journal]. – 1992. – Vol.47, №8. – P. 1456-1463. [in Russian]
10. Doerfel K. Statistics in analytical chemistry / Transl. from German. – M.:Mir, 1969. – 248 p.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.188>

Кузнецова Е.А.

Магистрант кафедры приборостроения, бакалавр химических наук,
Тульский Государственный Университет, г. Тула,**ВЫДЕЛЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОЙ ФРАКЦИИ БАКТЕРИЙ
GLUCONOBACTER OXYDANS****Аннотация**

Разработана методика получения мембранных фракций бактерий *Gluconobacter oxydans* для использования их в биосенсорах и биотопливных элементах. Спектрофотометрическим методом определена активность ферментного препарата с использованием хинониминового красителя 2,6-дихлорфенолиндофенола (2,6-ДХФИФ). Установлено, что повышение центробежного ускорения до 101000g позволяет более полно осадить мембранные фракции бактерий *Gluconobacter oxydans*, при этом полученный ферментный препарат обладает наибольшей активностью в отношении потребления кислорода, что делает его более эффективным биокатализатором.

Ключевые слова: мембранная фракция бактерий *Gluconobacter oxydans*, 2,6-дихлорфенолиндофенол, дегидрогеназная активность, биосенсор.

Kuznetsova E.A.¹¹Master's degree student, Department of Instrument Engineering, Bachelor of Chemistry,
Tula State University, Tula,**FRACTIONATION, CHARACTERISTICS AND USE OF MEMBRANE FRACTION OF GLUCONOBACTER
OXYDANS BACTERIA****Abstract**

The paper presents the method for obtaining membrane fractions of *Gluconobacter oxydans* bacteria for the use in biosensors and biofuel elements. The activity of the enzyme preparation with the use of the quinoneimine dye of 2,6-dichlorophenolindophenol (2,6-DXFIH) is determined by a spectrophotometric method. It is established that the increase in the centrifugal acceleration up to 101000g enables a more complete deposition of membrane fractions of the *Gluconobacter oxydans* bacteria, and the obtained enzyme preparation has the greatest activity in relation to the oxygen consumption, which makes it a more effective biocatalyst.

Keywords: membrane fraction of *Gluconobacter oxydans* bacteria, 2,6-dichlorophenolindophenol, dehydrogenase activity, biosensor.

Введение

Биосенсоры – это аналитические устройства нового поколения, которые совмещают в себе идеи как

физических, так и химических методов анализа, электронных инноваций, а также достижения современной биотехнологии [1, С. 5]. Биосенсоры находят широкое применение в медицине, различных областях биотехнологии, промышленности и экологическом мониторинге. Поэтому перед учеными стоит ряд задач, связанных с разработкой экономически выгодных, простых в эксплуатации, высокочувствительных приборов для обнаружения требуемых компонентов в образце [2, С. 3].

В настоящее время в качестве биокатализаторов для использования в биосенсорах применяют индивидуальные ферменты и целые клетки микроорганизмов [3, С. 5]. Известно, что ферменты обладают значительно более высокой каталитической активностью в сравнении с целыми клетками. Однако процесс получения индивидуальных ферментов может заметно увеличить конечную стоимость используемого биокатализатора. Дешевой альтернативой ферментам служат мембранные фракции (МФ) бактерий *Gluconobacter oxydans*, т.к. процесс получения мембранной фракции оказывается менее затратным, по сравнению с выделением ферментов, а также ферменты остаются связанными с дыхательной цепью. В мембранной фракции ферменты оказываются более доступными для медиаторов и для субстратов, в отличие от целых клеток [4, С. 159].

Выделение мембранной фракции бактериальных клеток *Gluconobacter oxydans* сопряжено с разрушением клеток ультразвуком и дифференциальным центрифугированием полученного биоматериала. Представлялось возможным разработать методику получения мембранных фракций бактерий, охарактеризовать полученный биоматериал и сравнить его активность в отношении потребления кислорода с использованием электрохимического кислородного электрода.

Целью данной работы является выделение и характеристика мембранных фракций бактерий *G. oxydans* и оценка их активности в отношении потребления кислорода.

Материалы и методы

Культивирование клеток бактерий *Gluconobacter oxydans*. В работе были использованы бактерии *Gluconobacter oxydans* subsp. *industrius* (ВКМ В-1280) из Всероссийской коллекции микроорганизмов РАН. Клетки бактерий выращивали при pH 5,2–5,5 на среде, содержащей: D-сорбит – 200 г/л; дрожжевой экстракт – 20 г/л, дистиллированная вода – 100 мл. Культивирование проводили в колбах объемом 500 мл при температуре 28°C в течение 18 ч. Клетки подвергали центрифугированию при 2800g в течение 15 мин, промывали дважды 20 мМ натрий-фосфатным буферным раствором (pH 6,0) и центрифугировали 15 мин при 2800g [5, С. 255]. Полученные бактериальные клетки подсушивали при температуре 20–23°C и замораживали для длительного хранения при температуре –15°C.

Получение МФ бактерий *Gluconobacter oxydans*. Клетки бактерий разрушали ультразвуковым диспергатором УЗД11-0,1/22 в натрий-фосфатном буфере (pH 6,0). Время воздействия ультразвуком насчитывало 2 минуты при входной мощности 100 Вт и рабочей частоте 22 кГц. Далее проводили дифференциальное центрифугирование полученного клеточного лизата при трех различных центробежных ускорениях. На первом этапе лизат центрифугировали при 3000g. После первого центрифугирования оседает, в основном, крупный клеточный дебрис, содержание дегидрогеназ в нем минимально. Мембранные дегидрогеназы содержались в надосадочной жидкости. На втором этапе по первой методике проводилось центрифугирование при 12300g, по второй методике при 48400g, а по третьей при 101000g, что приводило к осаждению мембранных фракций бактерий. Центробежное ускорение, развиваемое центрифугой, для третьей методики было выбрано на основании работы [6, С. 104]. В данном эксперименте при ускорении 100000g полностью осадил МФ бактерий *G. oxydans*.

Полученные осадки, являющиеся мембранными фракциями, в микропробирках подсушивали при температуре 20–23°C. В качестве биокатализатора в биосенсорном измерении использовали новую дозу ферментного препарата для каждого последующего эксперимента.

Измерение содержания белка. Для количественного определения белка в ферментном препарате использовали метод Лоури. Измерения проводили на спектрофотометре СФ 104 («Аквион», Россия) при длине волны 700 нм.

Измерение дегидрогеназной активности. Для измерения дегидрогеназной активности ферментного препарата применяли хинониминный краситель 2,6-дихлорфенолиндифенол (2,6-ДХФИФ) с концентрацией в кювете 0,6мМ [7, С. 1505]. Измерения осуществляли в кинетическом режиме на спектрофотометре СФ 104 при длине волны 600 нм.

Исследование кинетики потребления кислорода МФ бактерий с использованием кислородного электрода. В основе работы ферментных электродов лежит ферментативная реакция окисления глюкозы, катализируемая ферментом глюкозидегидрогеназой, входящим в состав мембранной фракции. В околоэлектродном пространстве уменьшается содержание кислорода, что регистрируется кислородным электродом [8, С. 83].

Преобразователем служил прибор pH-метр-иономер-БПК-термооксиметр Эксперт-001-4.0.1 («Эконикс-эксперт», Москва) в режиме «термооксиметр», что давало возможность регистрировать непрерывный сигнал.

Результаты и обсуждение

Измерение содержания белка. В таблице 1 представлены результаты количественного определения белка по методу Лоури на втором этапе получения МФ бактерий *G. oxydans*.

Таблица 1 – Содержание белка в мембранных фракциях бактерий

		II центрифугирование
		Осадок (мембранная фракция)
Методика 1	Масса белка в 1 г фракции, мг	99±8
Методика 2		118±9
Методика 3		130±10

Полученная по третьей методике, мембранная фракция содержит на 31 ± 2 мг белка больше, чем мембранная фракция, полученная по первой методике. Таким образом, увеличение центробежного ускорения, развиваемого центрифугой, с 12300g до 101000g привело к наиболее полному осаждению белка из надосадочной жидкости, полученному при первом центрифугировании.

Определение дегидрогеназной активности. Для оценки дегидрогеназной активности мембранной фракции был использован краситель 2,6-дихлорфенолиндофенол, который эффективно взаимодействует с PQQ-зависимыми дегидрогеназами *G. oxydans*, а его способность изменять цвет при окислении и восстановлении используется для фотометрического определения дегидрогеназной активности.

Определение основано на следующих реакциях (рис.1):

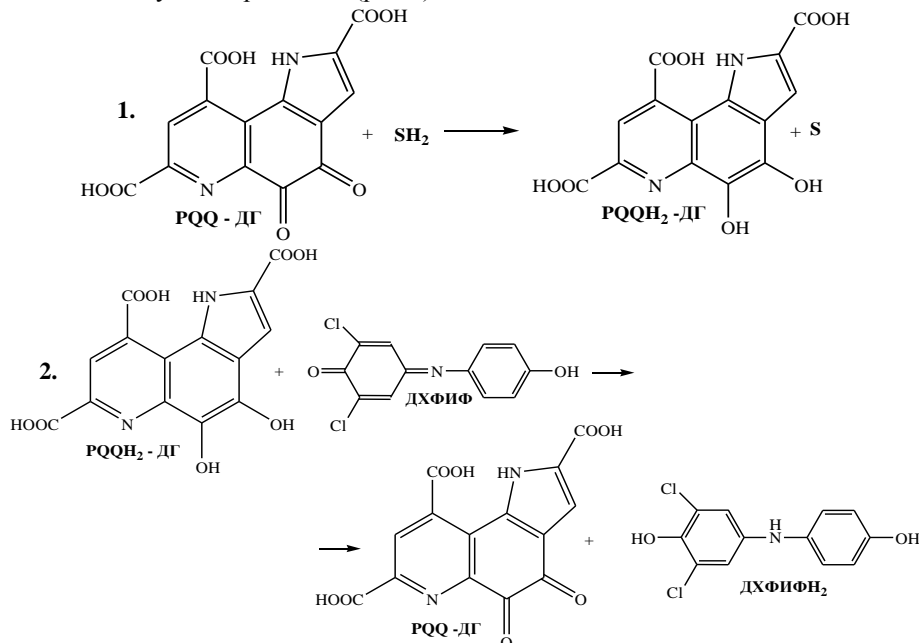


Рис.1 – Этапы взаимодействия 2,6-ДХФИФ с PQQ-зависимыми дегидрогеназами *G. oxydans*

1. Перенос заряда с субстрата на активный центр фермента. 2. Перенос заряда с фермента на медиатор.

Примечание: SH_2 – восстановленная форма субстрата (глюкоза), S – окисленная форма субстрата (глюконо-1,5-лактон).

На данном этапе исследования были измерены тангенсы угла наклона линейного участка зависимости оптической плотности от времени, которые являются константами скорости восстановления редокс-красителя (2,6-ДХФИФ) для МФ, полученных по трем методикам. Полученные данные использовались для расчета удельной дегидрогеназной активности ферментного препарата (табл.2).

Удельной активностью фермента называют число единиц ферментативной активности в расчете на 1 мг белка.

$$A_{\text{уд}} = \frac{tga \cdot V}{\varepsilon \cdot l \cdot m_{\text{белка}}}, \text{ где}$$

$A_{\text{уд}}$ – удельная активность (мкмоль/мг*мин)

tga – константа скорости восстановления редокс-красителя (с^{-1});

V – объем раствора в кювете (л);

$\varepsilon = 21300$ – коэффициент молярного поглощения 2,6-ДХФИФ (л/(моль*см));

$l = 1$ – толщина поглощающего слоя (см);

$m_{\text{белка}}$ – количество белка (г).

Таблица 2 – Дегидрогеназная активность мембранных фракций

	Методика 1 (12300g)	Методика 2 (48400g)	Методика 3 (101000g)
	Мембранная фракция		
Удельная активность, мкмоль/мг*мин	0,32±0,05	0,48±0,05	0,54±0,06

Удельная дегидрогеназная активность мембранной фракции, полученной по третьей методике, оказалась более чем в 1,6 раза выше, чем удельная активность мембранной фракции, полученной по первой методике. Следовательно, увеличение центробежного ускорения приводит к увеличению дегидрогеназной активности осадка из-за наиболее полного осаждения МФ из надосадочной жидкости, полученной при первом центрифугировании.

По литературным данным активность фермента глюкозодегидрогеназы, полученного из бактериальных клеток *G. oxydans* на 2 порядка превышает активность полученной мембранной фракции [9]. На это может влиять высокая степень очистки фермента и оптимальные условия проведения реакции.

Исследование кинетики потребления кислорода МФ бактерий *G. oxydans* при помощи кислородного электрода. В биосенсорных измерениях использовали МФ бактерий *G. oxydans*, полученную по третьей методике, которую разбавили 30 мМ натрий-фосфатным буфером с pH 6,0 в соотношении 1:3 (мг сырого веса/мкл). В кювету добавляли 50 мкл суспензии и 100 мкл 1М раствора глюкозы. Содержание мембранной фракции в кювете 0,0017 г/мл.

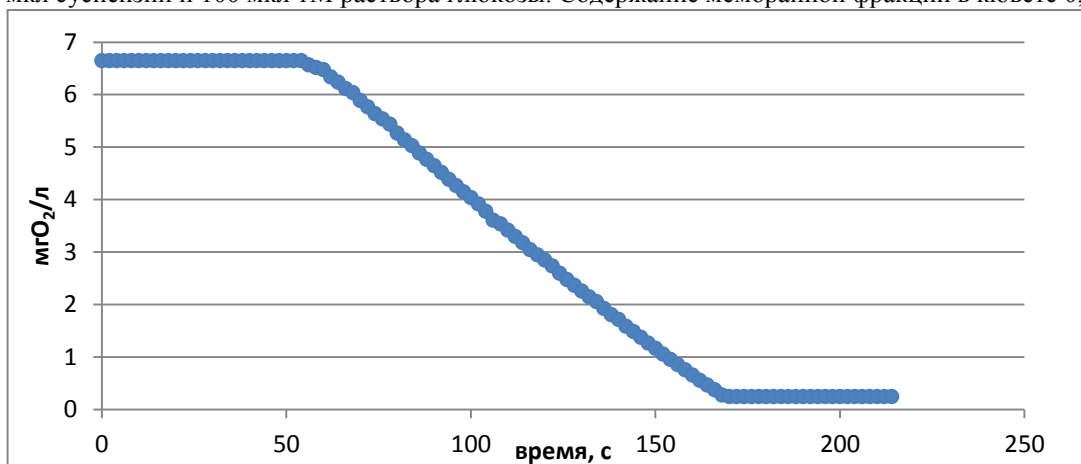


Рис.2 – Скорость потребления кислорода мембранной фракцией бактерий (представлен 1 из 3 графиков).

Аппроксимация экспериментальных зависимостей падения уровня кислорода уравнением линейной регрессии позволяет определить скорость реакции (рис.3).

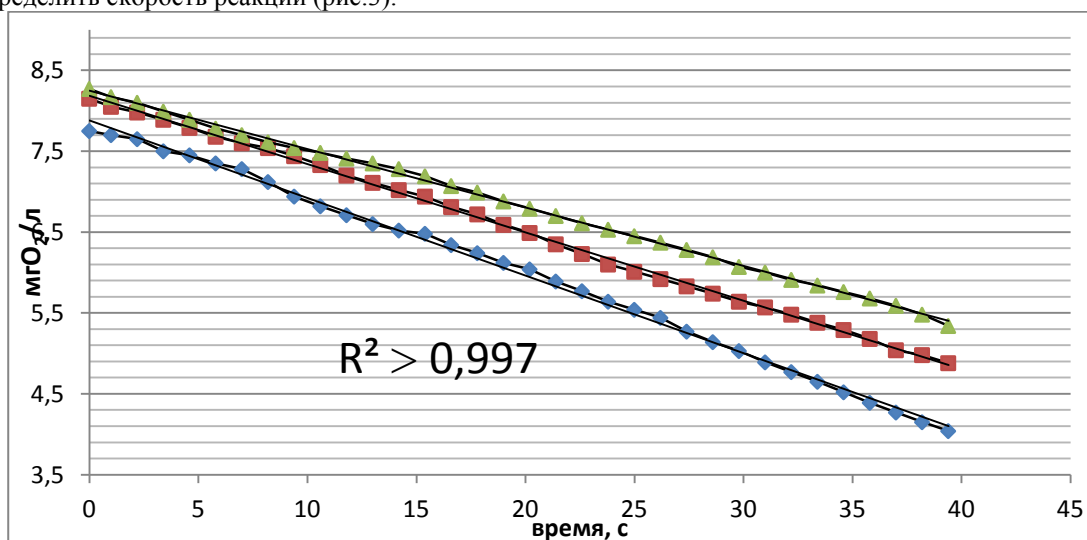


Рис.3 – Линейный участок зависимости падения уровня кислорода от времени.

Скорость потребления кислорода мембранной фракцией, полученной по третьей методике составила $0,08 \pm 0,01$ мг O₂/л·с.

Значение скорости восстановления кислорода, нормированное на единицу массы мембранной фракции, полученной по третьей методике, в объеме раствора составило 0,73 мкмоль/с·г. Ранее при помощи кислородного сенсора была измерена скорость реакции потребления кислорода клетками бактерий *G. oxydans*, которая составила 0,38 мкмоль/с·г [10, С. 249].

Заключение

В ходе работы для получения МФ бактерий *Gluconobacter oxydans* были реализованы три методики. Различия, в которых заключались в скорости центрифугирования клеточного лизата. Было установлено, что повышение центробежного ускорения, развиваемого центрифугой, до 101000g позволяет более полно осадить МФ бактерий *G. oxydans*. При этом полученный препарат имеет наибольшую активность в отношении потребления кислорода, что позволяет использовать его в биосенсорах и биотопливных элементах, как эффективный биокатализатор.

Список литературы / References

1. Бабкина Е. Е. Кинетические закономерности функционирования медиаторных биосенсоров на основе бактерий *Gluconobacter oxydans* : дис. ... канд. хим. наук : 02.00.04, 03.00.23 / Бабкина Елена Евгеньевна. – Тула, 2006. – 129 с.
2. Решетилов А. Н. Электрохимические биосенсоры на основе микробных клеток, ферментов и антител : автореф. дис. ... д-ра хим. наук : 03.00.23. / Решетилов Анатолий Николаевич. – Москва, 1998. – 43 с.
3. Инджгия Е. Ю. Электрокаталитическое окисление этанола ферментными системами бактерий *Gluconobacter oxydans* в присутствии медиаторов ферроценового ряда : дис. ... канд. хим. наук : 03.01.06 / Инджгия Екатерина Юрьевна. – Москва, 2010. – 131 с.

4. Sievers M. The genus *Acetobacteraceae* / M. Sievers, J. Swings // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. – 2005. – 2nd Edition. – New York. – P. 147–171.
5. Нгуен Т. Кинетика восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенола в присутствии этанола в биотопливном элементе на основе клеток *Gluconobacter oxydans* и их мембранной фракции / Нгуен Винь Тиен, В. А. Алферов, С. В. Алферов, и др. // *Известия ТулГУ. Естественные науки*. – 2012. – №1-1. – С. 254-264.
6. Sainz F. Determination of dehydrogenase activities involved in D-Glucose oxidation in *Gluconobacter* and *Acetobacter* Strains / F. Sainz, M. J. Torija, M. Matsutani and others // *Front. Microbiol.* – 2016. – P. 102–108. doi: 10.3389/fmicb.2016.01358
7. Понаморева О. Н. Эффективность биоэлектрокаталитического окисления этанола целыми клетками и мембранной фракцией бактерий *Gluconobacter oxydans* в присутствии медиаторов ферроценового ряда / О. Н. Понаморева, Е. Ю. Инджия, В. А. Алферов и др. // *Электрохимия*. – 2010. – Т. 46. – № 12. – С. 1503-1508.
8. Арляпов В. А. Применение низкоселективных биосенсоров для определения биохимического потребления кислорода и анализа многокомпонентных смесей : дис. ... канд. хим. наук : 03.00.23 / Арляпов Вячеслав Алексеевич. – Москва, 2009. – 189 с.
9. Information on EC 1.1.5.2 - glucose 1-dehydrogenase (PQQ, quinone) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=1.1.5.2> (дата обращения: 05.11.2017).
10. Алферов С. В. Особенности конкуренции между кислородом и 2,6-дихлорфенолиндофенолом в условиях работы микробного топливного элемента / С. В. Алферов, С. В. Возчикова, В. А. Арляпов и др. // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2017. – № 2. – С. 244–250.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Babkina E. E. Kineticheskie zakonomernosti funkcionirovaniya mediatornyh biosensorov na osnove bakterij *Gluconobacter oxydans* [Kinetic regularities of the functioning of the mediator of the biosensor based on the bacteria *Gluconobacter oxydans*] : dis. ... of PhD in Chemistry : 02.00.04, 03.00.23 / Babkina Elena Evgen'evna. – Tula, 2006. – 129 p. [in Russian]
2. Reshetilov A. N. Jelektrohimicheskie biosensory na osnove mikrobnih kletok, fermentov i antitel [Electrochemical biosensors based on microbial cells, enzymes and antibodies] : Abstract of thesis of PhD in Chemistry : 03.00.23. / Reshetilov Anatolij Nikolaevich. – Moskva, 1998. – 43 p. [in Russian]
3. Indzhigija E. Ju. Jelektrokataliticheskoe okislenie jetanola fermentnymi sistemami bakterij *Gluconobacter oxydans* v prisutstvii mediatorov ferrocenovogo rjada [Electrocatalytic oxidation of ethanol by enzyme systems of bacteria *Gluconobacter oxydans* in the presence of mediators of ferrocene series] : dis. ... of PhD in Chemistry : 03.01.06 / Indzhigija Ekaterina Jur'evna. – Moskva, 2010. – 131 p. [in Russian]
4. Sievers M. The genus *Acetobacteraceae* / M. Sievers, J. Swings // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. – 2005. – 2nd Edition. – New York. – P. 147–171.
5. Nguen T. Kinetika vosstanovlenija 2,6-dihlorfenolindofenola v prisutstvii jetanola v biotoplivnom jelemente na osnove kletok *Gluconobacter oxydans* i ih membranoj frakcii [Kinetics of recovery of 2,6-dichlorophenolindophenol in the presence of ethanol in biofuel cells based on cells of *Gluconobacter oxydans* and their membrane fraction] / Nguen Vin' Tien, V. A. Alferov, S. V. Alferov and others // *Izvestija TulGU. Estestvennye nauki* [Proceedings of Tula State University. Natural Sciences]. – 2012. – № 1–1. – P.254–264. [in Russian]
6. Sainz F. Determination of dehydrogenase activities involved in D-Glucose oxidation in *Gluconobacter* and *Acetobacter* Strains / F. Sainz, M. J. Torija, M. Matsutani and others // *Front. Microbiol.* – 2016. – P. 102–108. doi: 10.3389/fmicb.2016.01358
7. Ponomareva O. N. Jefferktivnost' biojelektrokataliticheskogo okislenija jetanola celymi kletkami i membranoj frakciej bakterij *Gluconobacter oxydans* v prisutstvii mediatorov ferrocenovogo rjada [Efficiency of bioelectrocatalytic oxidation of ethanol by whole cells and membrane fractions of *Gluconobacter oxydans* bacteria in the presence of mediators of ferrocene series] / O. N. Ponomareva, E. Ju. Indzhigija, V. A. Alferov and others // *Jelektrohimija* [Russian Journal of Electrochemistry]. – 2010. – V. 46. – № 12. – P. 1503–1508. [in Russian]
8. Arljapov V. A. Primenenie nizkoselektivnyh biosensorov dlja opredelenija biohimicheskogo potreblenija kisloroda i analiza mnogokomponentnyh smesej [The use of low-selective biosensors for the determination of biochemical oxygen consumption and analysis of multicomponent mixtures] : dis. ... of PhD in Chemistry : 03.00.23 / Arljapov Vjacheslav Alekseevich. – Moskva, 2009. – 189 p. [in Russian]
9. Information on EC 1.1.5.2 - glucose 1-dehydrogenase (PQQ, quinone) [Electronic resource]. – URL: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=1.1.5.2> (accessed: 05.11.2017).
10. Alferov S. V. Osobennosti konkurencii mezhdru kislorodom i 2,6-dihlorfenolindofenolom v uslovijah raboty mikrobnogo toplivnogo jelementa [Peculiarities of competition between oxygen and 2,6-dichlorophenolindophenol in conditions of work of microbial fuel element] / S. V. Alferov, S. V. Vozchikova, V. A. Arljapov and others // *Prikladnaja biohimija i mikrobiologija* [Applied Biochemistry and Microbiology]. – 2017. – № 2. – P. 244–250. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.187>

Никитин Ю.Н.

Доктор техн. наук,

Сибирский казачий институт технологий и управления (филиал) ФГБОУ ВО «МГУТУ имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)», г. Омск

О ПРИОРИТЕТАХ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ И ПЕРЕРАБОТКИ ЭЛАСТОМЕРОВ**Аннотация**

Дана краткая история технологии и переработки натурального каучука от зарождения до вклада Франции, России и США в её развитие. Проанализированы особенности развития технологии и переработки эластомеров периода мировых войн XX века. Установлена связь ослабления послевоенных санкций США на период внедрения печного техуглерода в СССР с запретами на публикацию результатов исследований свойств его высокоструктурных пористых марок для антистатических резин. Дан анализ особенностям послевоенного развития технологии и переработки эластомеров в США и современной России.

Ключевые слова: эластомеры, техуглерод, шины, технология.

Nikitin Yu.N.

PhD in Engineering, Siberian Cossack Institute of Technology and Management (branch) FSBEI of HE "Moscow State University of Technology and Management (First Cossack University), Omsk

ABOUT DEVELOPMENT PRIORITIES OF TECHNOLOGY AND PROCESSING OF ELASTOMERS**Abstract**

The paper presents a brief history of technology and processing of natural rubber from origin to the contribution of France, Russia and the USA in its development. The features of the development of technology and processing of elastomers during the world wars of the 20th century are analyzed as well. The relationship between the weakening of postwar US sanctions for the period of introduction of furnace black carbon in the USSR with prohibitions on the publication of research results on the properties of its highly structured porous grades for antistatic rubbers is established. The features of the postwar development of technology and the processing of elastomers in the US and modern Russia are analyzed.

Keywords: elastomers, black carbon, tires, technology.

Первые технологии природного эластомера из гевеи (НК), мячей для ритуальных игр, непромокаемой одежды и обуви создали индейцы Южной и Центральной Америки не позднее XI века, а европейцы узнали о них от Христофора Колумба в XV веке и забыли в ходе колониальных войн морских держав [1, С. 7]. В XVIII веке учёный Кондамин, позднее - почётный член РАН, доложил во Французской академии наук о коммерческой пользе НК, бывшая английская колония - США получила независимость, а Французская революция ускорила развитие капитализма и «родила» создателя великой империи - Наполеона. В XIX веке после разгрома его армии и распада империи предприниматели пришли в Россию - с 20-х годов начали завозить НК, и Генрих Кирштейн (1832г) открыл в Петербурге первую резиновую фабрику [1, С. 293]. Проблемы каучука и резины решали И.Л. Кондаков, А.М. Бутлеров, Б.В. Бызов, А.Е. Чичибабин, С.В. Лебедев, В.Н. Ипатьев, А.Е. Фаворский, И.И. Остромысленский, Н.Д. Зелинский, Ф.Ф. Кошелев и другие русские химики. Приоритет в открытии явления вулканизации и получении прочной резины из смеси НК с серой и скипидаром принадлежит голландцу фон Гейнсу (1832г), а в создании современной технологии резины патентами на вулканизацию теплом и серой - американцу Гудьiru (1839г) и англичанину Хенкоку (1843г) [1, С. 26]. Плантационную технологию НК развивали в английских, голландских и французских колониях экваториального пояса Юго-Восточной Азии [1, С. 41], вулканизацию усиливали и ускоряли оксидами металлов, а с запуском в США завода канального техуглерода (1892г) заменяли им дорогой оксид цинка [1, С. 64]. Структуру НК долго считали низкомолекулярной, состоящей из смеси димеров и циклов до 8 звеньев 1,4-цис-изопрена, а высокую вязкость растворов объясняли способностью молекул объединяться в «ассоциаты» [1, С. 78]. Пневматическую шину для велосипедов англичанин Томпсон (1845г) создал намного раньше американца Данлопа (1888г), но производство автомобилей достигло наибольших темпов роста в США, и технология шин стала основной областью потребления НК [1, С. 92]. В начале XX века Англия своим НК повлияла на исход первой мировой войны, а её союзник - Россия пережила две революции и упустила победу заключением сепаратного мира с Германией.

Германия первой начала синтезировать каучуки (СК) натриевой полимеризацией изопрена и диметилбутадиена и наработала промышленную партию метилкаучука, но Англия помешала его внедрению и выиграла войну, перекрыв поставки НК и канального техуглерода [1, С.166]. В 20-х годах с переходом на эмульсионную полимеризацию немцы разработали бутадиен-стирольный сополимер Буна S (1929г) и запустили его массовое производство, а резины усилили канальным техуглеродом и с 39-го года уже внедряли большими партиями на шинных заводах США. В 30-х годах Штаудингер опроверг «теорию ассоциатов» и научно обосновал полимерную природу НК, что подтвердилось результатами реологических исследований и кинетической теорией эластичности резины [1, С. 78]. Физики-теоретики для объяснения механических свойств на базе концепции свободно сочленённых макромолекулярных цепей разрабатывали многочисленные модели эластомерных сеток, но они не прогнозировали свойства и не всегда согласовывались с результатами экспериментальных исследований. Количество автомобилей в США увеличилось к 28-му году в 56 раз и шин в 32 раза от уровня 10-го года, что снизило загрузку заводов и занятость рабочих до 26% и 44% с последующим медленным подъёмом до уровня 29-го года, которого достигли только после второй мировой войны [1, С. 92]. В годы великой депрессии заменяли НК каучуком такого же качества из кустов мексиканской гваюлы и диким из каучуконосов Африки [1, С. 149], создавали свои плантации гевеи в Бразилии и синтезировали каучуки с участием русских и немецких учёных [1, С. 193]. Плантадоры после объединения в исследовательскую Ассоциацию малайзийских производителей НК повысили качество на базе достижений науки и начали его поставки, а

Англия включила страны Европы и Америки в список потребителей и отказала в его поставках быстро развивающейся Японии [1, С. 230]. США увеличили стратегический запас НК и продолжили импорт, а в 40-м году при участии немецких фирм разработали планы строительства заводов СК и снижения дефицита каучуков заменой на регенерат и каучук такого же качества из кустов гваяулы и экспортом дикого из Африки [1, С.193]. Таким образом, отсутствие своего плантационного НК вынудило Германию при поддержке и участии США разработать и внедрить до начала второй мировой войны массовую технологию и переработку эмульсионного БСК - каучука Буна S.

В России в 1917 году большевики помешали победить Германию революционным свержением власти самодержавия и буржуазии, но потом выиграли гражданскую войну и зачистили от японских оккупантов Восточную Сибирь, восстановили экономику и в 1922 году создали более справедливое социалистическое государство - СССР [1, С. 332]. Ожидая нового нападения Японии, за три пятилетки запустили крупнейший в Европе Ярославский шинный завод (ЯШЗ), производство НК из своих каучуконосов и на заводе в Ереване - его кристаллизующегося заменителя полихлоропрена. На трёх заводах внедрили СКБ натриевой полимеризацией бутадиена из этилового спирта по Лебедеву (1932г), отклонив метод Бызова из-за дефицита нефти [1, С. 180]. В июне 1941 года Германия без объявления войны остановила Ленинградский шинный завод и разбомбила ЯШЗ, который быстро восстановили, а через год запустили новые заводы в Омске, Кирове, Свердловске и Ереване. В декабре 1943 года Япония объявила войну и оккупировала плантации гевеи, а СССР уже освобождал оккупированные территории, США только начали строительство заводов полихлоропрена для замены НК и бутылкаучука для ездовых камер с синтезом мономеров из нефти [1, С. 203]. При этом один завод бутадиена из этилового спирта построили в зерновом районе на 30 тыс.т. немецкого каучука Буна S (GRS), а запуском к концу 44-го года 51 завода СК мощностью 730 тыс.т. продемонстрировали возросшую экономическую мощь. Очевидно, США ожидали победы Германии и как её союзник по внедрению БСК оттягивали строительство заводов СК, а СССР уже в ходе неожиданного нападения организовывал для достижения своей победы частичную эвакуацию заводов от западных границ. Таким образом, успехами в первые два с половиной года Отечественной войны СССР спровоцировал Японию на войну с США за НК, но был наказан за победу в мае 1945 года как наиболее сильный её соперник на пути к мировому лидерству.

После войны США сократили мощности заводов СК до 200 тыс.т. и внедрили низкотемпературную полимеризацию мономеров, а в 1950 году создали военный блок НАТО и ввели экономические санкции, объявив СССР холодную войну для воздействия на его политику [1, С. 211]. Локальные войны в Корее и Вьетнаме повышали спрос на шины и требования к их качеству, поэтому увеличили до 850 тыс.т. мощности и до 75% - долю GRS «холодной» полимеризации и организовали производство маслonaполненных каучуков. В 1954 году правительство продало мономеры нефтехимическому синтезу, а заводы СК – фирмам по производству шин, которые уже с 1960 года успешно внедряли полимеризацию диеновых каучуков и тройных сополимеров этилена с пропиленом в растворе на катализаторах Циглера-Натта. При этом производство стереорегулярного полиизопрена увеличивали до достижения пика (тыс.т.): в США - к 1972 году (139), в Западной Европе - к 1975 году (150), в Японии - к 1978 году (86) и в Латинской Америке - к 1976 году (20). Очевидно, преимуществами аналога НК по сравнению с эмульсионными БСК можно объяснить новое направление развития технологии - плановое расширение его производства в регионах влияния США. С запуском в 1943 году первого завода печного техуглера из жидкого сырья увеличивали объёмы его внедрения, а затем медленно - и ассортимент до 42 гладких марок [2], замалчивая исследования американских же учёных о его полимерной природе [3], и организовали производство саженаполненных каучуков [4]. Колонии получили независимость и быстро восстановили плантации гевеи, а в 1970 году объединились в ассоциацию стран - производителей НК и возобновили поставки в объёме 25% от выпуска всех каучуков [1, С. 239]. Таким образом, к 70-м годам на Западе приоритетными направлениями развития технологии каучуков становится внедрение полимеризации мономеров в растворе с расширением производства стереорегулярного аналога НК, а в их переработке – широкого ассортимента гладких марок печного техуглера и жидкофазного способа совмещения их с эмульсионными каучуками GRS.

В СССР после войны восстановили и модернизировали разрушенные и построили новые заводы – Воронежский шинный, Курский РТИ и Чеховский регенератный, а в ходе хрущёвских реформ управления через совнархозы запустили 36 новых заводов резиновой промышленности, включая шинные в Баку, Красноярске и Днепропетровске [1, С. 382]. В ответ на санкции США замещали импортное и пищевое сырьё и внедряли бессерную вулканизацию каучуков. При замене хлопкового вискозным кордом улучшали рецепты пропиточных составов и разрабатывали шины с расчленённым рисунком протектора для снижения температуры и напряжений в его элементах. Паростойкость манжет для варочных камер и прочность ненаполненных резин на основе НК повышали заменой серы на алкилфенолформальдегидные смолы (АФФС) [5], [7], [8]. С запуском в Красноярске и Омске нефтехимических комплексов для синтеза и эмульсионной полимеризации мономеров начали замену СКБ из картофеля на БСК, одновременно повышая его качество, расширяя ассортимент и модифицируя мономерами с функциональными группами для бессерной вулканизации [9]. Термостойкие резины получили сшиванием каучука сульфидными и гипосульфитными щелочных и щелочноземельных металлов по нитрильным группам [10] или АФФС и эпоксидными смолами по амидным группам [11], а термоэластопласты - реакцией пиридиновых групп при вальцевании каучука с флороглюцином и формалином [12]. Представляли интерес и БСК с синтезированным в ЛОЛПИ (г. Львов) пероксидным мономером для совулканизации серных и смоляных резиновых смесей и бессерной вулканизации диеновых каучуков [13-17]. Пищевое льняное масло в пропитке асбестовой тормозной ленты к якорным лебёдкам морских судов на Николаевском заводе заменили жидким бутадиен-метилвинилпиридиновым каучуком с АФФС [18], а в фактиках для изделий неформовой техники на заводах РТИ - жидкими сополимерами бутадиена со стиролом или акрилонитрилом [19], [20], [21]. Позднее и фактисы заменили на БСК, сшитые дивинилбензолом [22]. Таким образом, заменой пищевого сырья на продукты переработки нефти в СССР уменьшали послевоенный дефицит продуктов питания, но одновременно усиливали нефтяную зависимость технологий СК и шин, что повышало цены на них и ослабляло контроль соответствия качества шин требованиям автомобилестроителей.

В 70-е годы с брежневским возвратом к министерствам и внедрением гладких (базовых) марок США средней структурности (N330, N220, N234, N550) начались исследования печной технологии техуглерода и разработка высокоструктурных марок [3]. Удлинение зоны реакции в базовой технологии после завершения разложения сырья повышало показатели абсорбции ДБФ (структурности) и удельной внешней поверхности (дисперсности) образцов, что указывало на появление в углеродных частицах макропор и увеличение их количества [23], [24], [25]. При участии отраслевых НИИ по базовым технологиям N220 и N330 выпустили опытные партии пористых марок П267Э и П366Э для испытаний в рецептуре антистатических резин [26-29] и эластичного экрана кабеля [30,31]. Исследования термической гидратации всех полученных образцов парами воды выявили повышение только их микропористости, что снижало скорость вулканизации резиновых смесей [32] и прочность вулканизатов [33]. Термообработка же базовых марок в среде гелия с добавкой водорода при малом росте микропористости повышала паростойкость [34], прочность и электропроводность резин [35]. Полученные результаты обосновывали возможность производства дешёвых марок техуглерода для антистатических резин термической модификацией базовых, и только часть их успели опубликовать [36], [37], [38]. Очевидно, США отменой санкций в обмен на запреты публикаций помогали СССР наращивать мощности печного техуглерода из продуктов нефтепереработки для усиления нефтяной зависимости экономики, которая к 1985 году по мощности заводов СК уже занимала первое место в Европе и имела 17 шинных заводов на 80 млн. в год [1, С. 294]. Эскалация уступок привела в 90-х годах к мирному распаду страны и экономическому кризису, сопоставимому по ущербу с войной или революцией. Снижение спроса на внутреннем рынке вынудило российские заводы техуглерода перейти на выпуск печных марок США с анализом их по ISO 9002-1996 в стандартном рецепте на основе БСК и поставлять до 70% лучших партий из своей нефти на шинные заводы Запада [39].

Перед войной количество научных публикаций сократилось во всех странах, но к началу 70-х годов учёные США выпуском монографий по вулканизации и усилению эластомеров и методам испытаний резин с переводом на русский язык доказали мировое лидерство в этой области [40]. Американский исследователь Мак Гавак по публикациям с 1932 до 1970 года составил список ста выдающихся учёных мира в области каучука и резины, в который попали 46 учёных США, 21 – Англии, 17 – СССР, 7 – Германии, по 3 – Японии и Голландии и по одному – Франции, Италии и Австрии [1, С. 86]. Первым был Д.Р. Скотт (США), а 2-4 места заняли Г.М. Бартенев, Б.А. Догадкин и В.А. Каргин (СССР). В список вошли А.С. Кузьминский, А.А. Берлин, Б.А. Долгопосок, В.В. Коршак, С.С. Воюцкий, В.Е. Гуль, Г.Л. Слонимский, Г.А. Блох, В.Г. Эпштейн, А.П. Писаренко, А.С. Новиков, Ю.С. Зуев, М.М. Резниковский и М.С. Акутин. Советские учёные внесли достойный вклад в мировое развитие технологии и переработки эластомеров, а ярославские учёные и специалисты – и в развитие их на Украине. Выпускник техникума Г.А. Блох аспирантом ушёл на войну, в 1946 году основал кафедру технологии резины в Киеве, переведённую позднее в Днепропетровск, а после защиты в 1960 году диссертации приобрёл мировую известность, и его столетний юбилей в 2012 году увековечен в ДХТИ мемориальной доской [41]. В список вошёл также В.Г. Эпштейн – основатель кафедры технологии резины Ярославского технологического института, в 1964 году защитивший докторскую диссертацию, но рано ушёл из жизни, и вуз о нём забыл. Резинщик Фарберов в условиях жесточайших репрессий руководил внедрением каучука СКБ на ЯШЗ, но кафедру основал и диссертацию защитил в 1948 году по основному органическому синтезу, а Мусабеков защитил диссертацию в 1956 году по истории органической химии и роли русских химиков в её развитии. Память об этих учёных также увековечена в ЯГТУ мемориальными досками. В Днепропетровский филиал НИИШП приглашались также специалисты ЯШЗ во главе с Д.Б. Богуславским, который возглавил созданный на его основе НИИ крупногабаритных шин, успешно работал и стал доктором наук. К 80-м годам публикации, угрожавшие, по мнению США, их национальным интересам, контролировали и запрещали не только в СССР, но и в любой другой стране мира.

В 2000 году сняли запреты, и журнал «Каучук и резина» за пять лет опубликовал 17 статей о пористых марках с результатами исследований их полимерной природы методами термообработки [3], автор которых защитил докторскую диссертацию [42], а фирма Гудьир – патенты на такую же термообработку их электрополимеризацией [3]. Качество эмульсионных каучуков GRS улучшали в США введением третьего мономера со свойствами стабилизатора, синергиста или ускорителя вулканизации [43], а шинных резин – применением модифицированных растворных каучуков, коллоидной кремнекислоты, нанонаполнителей и модификаторов [44]. В легковых шинах применяли растворные БСК с концевыми функциональными группами, содержанием до 80% виниловых звеньев, сшитые дивинилбензолом и тройные сополимеры бутадиена с изопреном и стиролом с содержанием до 60% транс-звеньев. Разрабатывали также нанотехнологии силанизации техуглерода и наполнения латекса НК кремнекислотой или техуглеродом, нанокompозиты НК с углеродными нанотрубками и различными слоистыми силикатами. К 2011 году доля НК выросла до 42% от выпуска всех каучуков при превышении спроса над объёмами производства, а в 2012 году ОАО «Омсктехуглерод» перешёл на стандарт D3192 с резиновой смесью на основе НК при испытании техуглерода для экспортных поставок [45]. Увеличением импорта НК из Юго-Восточной Азии Запад снижал расход сырой нефти в 7 раз по сравнению с БСК [1, С. 239]. Таким образом, наряду с повышением качества СК, приоритетом на Западе стало наращивание импорта нефтесберегающих НК и его латекса, а при переработке в технологии легковых «зелёных» шин – массовое внедрение кремнекислоты вместо техуглерода, наноматериалов и нанотехнологий.

В России Воронежский филиал НИИСК также разработал серию эмульсионных марок БСК сополимеризацией с третьим мономером – акрилонитрилом (резиласт М), метилметакрилатом (резиласт 2М), гидроксиметилметакрилатом (СКС30АРК-МЭГ), гидроксизетилметакриламидом (СКС30АРК-амид) и другими [43]. Нитрильные и эфирные группы повышали скорость вулканизации БСК, износостойкость и усталостную выносливость шинных резин, а гидроксильные и амидные – их озоностойкость, твёрдость и сцепление с мокрым дорожным покрытием. Для протектора грузовых шин получены тройные эмульсионные сополимеры стирола, бутадиена и изопрена (триэласты), которые превзошли по свойствам резин аналогичные сополимеры растворной полимеризации фирмы Гудьир. Организовано производство растворных БСК (ДССК) с содержанием стирола от 10 до 25% и 1,2-звеньев – от 10-20% до 50-70% со статистическим или блочным их распределением и одновременно наращивался импорт НК из Вьетнама. С 2012 года в условиях усиливающейся политизации отношений и новых санкций Запада ввели новую систему оценки

активности российских учёных в международной электронной библиотеке «elibrari», которая выборочно занижает количество публикаций и цитирований в разы и даже в десятки раз. Очевидно, США изобрели новую форму запретов по договорам библиотеки с редакциями журналов «ВМС», «Каучук и резина», ЦНИИТЭНефтехим и ряда других издательств - на доступ к результатам, «угрожающим» их национальным интересам, с целью переделывать всю историю науки о каучуке и резине.

Выводы:

1. Древнейшие технологии НК с более чем тысячелетней историей после 700 лет забвения востребованы при капитализме в технологии шин для повышения комфорта и скоростей движения карет и велосипедов, а в XX веке с развитием автомобилестроения повлияли на исход первой мировой войны, закончившейся для России революциями.
2. Отсутствие своего НК вынудило Германию, США и СССР менять приоритеты развития технологии и переработки каучуков с целью создания равноценных шинных резин на основе СК путём усиления печным техуглеродом из жидкого углеводородного сырья.
3. Послевоенный Запад мешал через каучук и резину развитию экономики СССР и добился его распада, но современная Россия снова набирает силу, отставая пока от Запада во внедрении коллоидной кремнекислоты, наноматериалов и нанотехнологий переработки каучуков и в наращивании объёмов производства бутылкаучуков для ездовых камер.

Список литературы / References

1. Агаянц И.М. Пять столетий каучука и резины. / И.М. Агаянц. – М.: «Модерн-А», 2002. – 432с.
2. Орлов В.Ю. Классификация технического углерода. / В.Ю. Орлов, А.М. Комаров, Л.А. Ляпина // Производство и использование технического углерода для резин. – Ярославль: Изд. Александр Рутман, 2002. – С. 51-58.
3. Никитин Ю.Н. Сто лет усиления шинных резин техуглеродом. / Ю.Н. Никитин. В сборнике: Образование и наука без границ. // Матер. IX Междунар. науч.-прак. конф., Przemysl, Изд. Наука и образование, 2013. V.41. – С 7-17.
4. Гусева В.И. Наполненные каучуки. / В.И. Гусева, Ф.С. Кантор, Н.И. Троицкая и др. // Энциклопедия полимеров. – М.: Изд. Советская энциклопедия. 1974, Т.2. – С. 332-340.
5. Никитин Ю.Н. О вулканизационных структурах и статической прочности ненаполненных резин из НК, полученных с помощью алкилфенолформальдегидных смол. / Ю.Н. Никитин, В.Г. Эпштейн, М.А. Поляк. В сборнике: Прочность и усиление резин – М.: ЦНИИТЭНефтехим, Матер. совещания по произв. шин, РТИ и АТИ. 1967. – С. 4-8.
6. Никитин Ю.Н. Изучение инфракрасных спектров продуктов взаимодействия натурального каучука с алкилфенолформальдегидной смолой. / Ю.Н. Никитин, В.Г. Эпштейн, М.А. Поляк // Высокомолек. соед. – А. 1967. Т.9. № 5. – С. 1163-1167.
7. Никитин Ю.Н. Влияние условий вулканизации натурального каучука алкилфенолформальдегидными смолами на структуру и прочность резин. / Ю.Н. Никитин, В.Г. Эпштейн, М.А. Поляк. // Высокомолек. соед. – Б. 1970. Т.12. №12. – С. 882-887.
8. Никитин Ю.Н. Применение вулканизующей алкилфенолформальдегидной смолы при изготовлении варочных камер из НК / Ю.Н. Никитин, Т.Н. Рыжова, В.Г. Эпштейн и др. // Производство шин, РТИ и АТИ. - М.: ЦНИИТЭНефтехим. – 1969. №12. – С. 1-3.
9. Корнев А.Е. Бутадиен-стирольные каучуки. / А.Е. Корнев, А.М. Буканов, О.Н. Шевердяев. // Технология эластомерных материалов. Учебник для вузов. – Изд. 3-е. – М.: НППА «Истек», 2009г. – С. 56-62.
10. Никитин Ю.Н. Вулканизация бутадиен-нитрильного каучука сульфидами и тиосульфатами щелочных и щелочноземельных металлов. / Ю.Н. Никитин, М.А. Поляк, А.И. Бродова. // Каучук и резина. 1974. №10. - С. 23-24.
11. Никитин Ю.Н. Бессерное структурирование фениламиноэфирного каучука СКС-25ФАЭ-5АРК. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов // Каучук и резина. 1976. №2. – С. 16-17.
12. Никитин Ю.Н. Модификация метилвинилпиридинового каучука СКМВП-15АРК флороглюцином и альдегидом. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов. // РЖХим, 1976. – реф. 13Т472.
13. А.с. 270993 СССР, МПК С 09 J 3/12. Способ крепления резины с серной вулканизующей системой. / Никитин Ю.Н., Копылов Е.П., Космодемьянский Л.В. и др. // Б.И. – 1970. – №17.
14. Никитин Ю.Н. Применение пероксидатного каучука для совулканизации резиновых смесей. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов, Э.Г. Лазарянц. // Производство шин, РТИ и АТИ. – М.: ЦНИИТЭНефтехим. – 1972. № 1. – С. 31-34.
15. Никитин Ю.Н. Особенности структурирования пероксидатного каучука в присутствии компонентов серной вулканизующей группы. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов, Э.Г. Лазарянц // Каучук и резина. – 1973. №8. – С. 11-14.
16. Никитин Ю.Н. Свойства резин из комбинации пероксидатного каучука с хлоропеновым и карбоксильным каучуками / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов, Э.Г. Лазарянц. // Каучук и резина. – 1973. – №11. – С. 6-8.
17. Никитин Ю.Н. Применение пероксидатных бутадиен-стирольных каучуков в качестве структурирующих агентов. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов // Каучук и резина. – 1976. – №4. – С. 18-19.
18. А.с. 384832 СССР, МПК С 08 D 9/02. Композиция. / Попова Е.С., Шанина Д.И., Никитин Ю.Н. и др. // Б.И. – 1973. – №25.
19. А.с. 426506 СССР, МПК С08Н 3/00. Состав для получения фактисоподобных продуктов. / Копылов Е.П., Лазарянц Э.Г., Никитин Ю.Н. и др. // Б.И. – 1970. – №17.
20. Никитин Ю.Н. Получение и свойства серных фактисов на основе жидких каучуков. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов, Л.В. Космодемьянский и др. // Производство шин, РТИ и АТИ.- М.: ЦНИИТЭНефтехим, 1972. – № 9. – С. 8-10.
21. Курицына А.И. Производственное опробование жидких сополимеров СКН-30Ж и СКН-26Ж в качестве сырья для фактисов. / А.И. Курицына, Е.Б. Колдунович, Ю.Н. Никитин и др. // Каучук и резина. – 1975. – №1. – С. 55-56.
22. Никитин Ю.Н. Особенности поведения структурированного каучука СКМС-30РПСН и серного фактиса в ненаполненных резиновых смесях различных каучуков. / Ю.Н. Никитин, Е.П. Копылов. // Производство шин, РТИ и АТИ.- М.: ЦНИИТЭНефтехим, – 1973. – № 12. – С. 23-26.

23. А.с. 799376 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая антистатическая полимерная композиция. / Никитин Ю.Н., Карелина В.Н., Орехов С.В. и др. — 1979. — д.с.п.
24. А.с. 806702 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь на основе карбоцепного каучука. / Никитин Ю.Н., Карелина В.Н., Медников М.М. и др. // Б.И. — 1981. — №7.
25. Никитин Ю.Н. Исследование электропроводящих и деформационно-прочностных свойств резин, наполненных печным техуглеродом. / Ю.Н. Никитин, В.Н. Карелина, А.Е. Корнев. // Механика эластомеров. 1980. — Т.3. — Вып. 101. — С. 76-80.
26. А.с. 812798 СССР, МПК С 08 L 7/00. Вулканизуемая резиновая смесь. / Никитин Ю.Н., Большакова С.С., Карелина В.Н. и др. // Б.И. — 1981. — №10.
27. А.с. 857173 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь на основе диенового каучука. / Никитин Ю.Н., Расторгуева Н.Н., Орехов С.В. и др. // Б.И. — 1981. — №81.
28. А.с. 896022 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь на основе карбоцепного каучука. / Никитин Ю.Н., Карелина В.Н., Корнев А.Е. и др. // Б.И. — 1982. — №1.
29. Никитин Ю.Н. К пятидесятилетию технологии активного печного техуглерода СССР. / Ю.Н. Никитин. // Research Journal Interna. Studies, 2016, — №4 (46), — Ч.6. — С. 153-156.
30. А.с. 938591 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая антистатическая полимерная композиция. / Никитин Ю.Н., Корнев А.Е., Гончаров В.М. и др. — 1980. — д.с.п.
31. А.с. 940494 СССР, МПК С 08 L 9/02. Вулканизуемая полимерная композиция. / Никитин Ю.Н., Корнев А.Е., Молодых Н.Е. и др. — 1980. — д.с.п.
32. А.с. 1002313 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая полимерная композиция на основе стереорегулярного каучука. / Никитин Ю.Н., Орехов С.В., Расторгуева Н.Н. и др. // Б.И. — 1983. — №9.
33. А.с. 1043153 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь на основе карбоцепного каучука. / Никитин Ю.Н., Устинов В.В., Корнев А.Е. и др. // Б.И. — 1983. — №35.
34. А.с. 1016324 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь на основе бутилкаучука. / Никитин Ю.Н., Устинов В.В., Корнев А.Е. и др. // Б.И. — 1983. — №17.
35. А.с. 1014848 СССР, МПК С 08 L 9/00. Вулканизуемая резиновая смесь. / Никитин Ю.Н., Устинов В.В., Корнев А.Е. и др. // Б.И. — 1983. — №16.
36. Никитин Ю.Н. О роли пористости печного технического углерода в повышении электропроводности вулканизаторов. / Ю.Н. Никитин, Н.Н. Расторгуева, А.Е. Корнев // Каучук и резина. — 1983. — №1. — С. 20-23.
37. Никитин Ю.Н. О факторах, определяющих электропроводящие свойства технического углерода. / Ю.Н. Никитин, А.Е. Корнев, В.В. Устинов // Каучук и резина. — 1983. — №3. — С. 20-22.
38. Никитин Ю.Н. Применение адсорбционных методов анализа для экспресс-контроля качества электропроводящего технического углерода. / Ю.Н. Никитин, Н.Н. Расторгуева, А.Е. Корнев и др. // Производство шин, РТИ и АТИ. — М.: ЦНИИТЭНефтехим, 1983. — №11. — С. 24-27.
39. Никитин Ю.Н. Пятьдесят лет развития печного техуглерода России. / Ю.Н. Никитин, М.Г. Игизбаев, К.А. Вайц, Д.Ю. Бодагов // Research Journal International Studies, 2016, — №5 (47), — Ч. 5. — С. 108-112.
40. Никитин Ю.Н. О влиянии истории XX века на приоритеты развития технологии и переработки эластомеров. / Ю.Н. Никитин // Резиновая промышленность. Сырье, материалы, технология: Матер. XXII Междунар. науч.-практ. конф. — М., 2017. — С. 44-50.
41. Никитин Ю.Н. К семидесятилетию послевоенного развития отечественной технологии шин. / Ю.Н. Никитин, А.А. Скрипник, Л.А. Прощая // Research Journal International Studies, 2015 — № 3 (34), Ч.1. — С. 94-97.
42. Никитин Ю.Н. Взаимосвязь свойств резин со структурными параметрами новых типов печного техуглерода: дис ... доктор техн. наук: 05.17.06: защищена 31.10.05: утв. 10.03.06 / Никитин Юрий Николаевич. — М.: МИТХТ им. М.В. Ломоносова, 2005г. — 376с.
43. Пичугин А.М. Каучуки эмульсионной полимеризации. / А.М. Пичугин. // Материаловедческие аспекты создания шинных резин. Научное издание. — М.: ООО «НТЦ «НИИШП», 2008г. — С. 123-133.
44. Никитин Ю.Н. Современные подходы к решению проблемы усиления эластомеров. / Ю.Н. Никитин, С.Я. Ходакова, М.М. Гиренко, А.Е. Корнев // Каучук и резина. — 2008. №1. — С. 33-39.
45. Никитин Ю.Н. Об аномалиях равновесного модуля при растяжении сеток натурального каучука. / Ю.Н. Никитин // Проблемы шин, РТИ и эластомерных композитов: Материалы XXVI симпозиума. — М., 2015. — Agayanc I.M. Pyat' stoletij kauchuka i reziny. [Five centuries of rubber and rubber] / I.M. Agayanc. — М.: «Modern-A», 2002. — 432p [in Russian]

Список литературы на английском языке / References in English

1. Orlov V.Ju. Klassifikaciya tehničeskogo ugleroda. [Classification of carbon black] / V.Ju. Orlov, A.M. Komarov, L.A. Ljapina. // Proizvodstvo i ispol'zovanie tehničeskogo ugleroda dlja rezin. - Jaroslavl': Izd. Aleksandr Rutman, 2002. Список литературы на английском языке / References in English P. 51-58. [in Russian]
2. Nikitin Yu.N. Sto let usileniya shinnyh rezin tekhnuglerodom. [A hundred years of strengthening tire rubber carbon black] / Yu.N. Nikitin. V sbornike: Obrazovanie i nauka bez granic. // Mater. IX Mezhdunar. nauch.-prak. konf., Rzemysl, Izd. Nauka i obrazovanie, 2013. — V.41. — P. 7-17. [in Russian]
3. Guseva V.I. Napolnennye kauchuki. [Filled rubbers] / V.I. Guseva, F.S. Kantor, N.I. Troickaja and others. // Jenciklopedija polimerov. - Izd. Sovetskaja jenciklopedija. 1974, — T.2. — P. 332-340. [in Russian]
4. Nikitin Yu.N. O vulkanizacionnyh strukturah i statičeskoj prochnosti nenapolnennyh rezin iz NK, poluchennyh s pomoshch'yu alkilfenolformal'degidnyh smol. [About to break up structures and static strength of the unfilled rubbers of NK obtained using alkylphenolformaldehyde resins] / Yu.N. Nikitin, V.G. Ehpshetjn, M.A. Polyak. V sbornike: Prochnost' i usilenie rezin - M.: CNIITEHNeftexhim, Mater. soveshchaniya po proizv. shin, RТИ i ATI. 1967. — P. 4-8. [in Russian]

5. Nikitin Yu.N. Izuchenie infrakrasnykh spektrov produktov vzaimodejstviya natural'nogo kauchuka s alkilfenolformal'degidnoj smoloy. [The study of infrared spectra of products of interaction of natural rubber with alkylphenolformaldehyde resin] / Yu.N. Nikitin, V.G. Ehpshitejn, M.A. Polyak. // Vysokomolek. soed. – A. 1967. – T.9. № 5. – P. 1163-1167. [in Russian]
6. Nikitin Yu.N. Vliyanie uslovij vulkanizatsii natural'nogo kauchuka alkilfenolformal'degidnymi smolami na strukturu i prochnost' rezin. [The influence of the conditions of vulcanization of natural rubber alkylphenolformaldehyde pitches on the structure and strength of rubber] / Yu.N. Nikitin, V.G. Ehpshitejn, M.A. Polyak. // Vysokomolek. soed. – B. 1970. – V. 12. – № 12. – P. 882-887. [in Russian]
7. Nikitin Yu.N. Primenenie vulkanizuyushchej alkilfenolformal'degidnoj smoly pri izgotovlenii varochnykh kamer iz NK. [Application alkylphenolformaldehyde curing resin in the manufacture of the cooking chambers from NC] / Yu.N. Nikitin, T.N. Ryzhova, V.G. Ehpshitejn and others. // Proizvodstvo shin, RTI i ATI. – M.: CNIITEHNeftekhim, – 1969. № 12. – P. 1-3. [in Russian]
8. Kornev A.E Butadien-stirol'nye kauchuki. [Styrene-butadiene rubbers] / A.E. Kornev, A.M. Bukanov, O.N. Sheverdyayev. // Tekhnologiya ehlastomernykh materialov. Uchebnik dlya vuzov. 3-nd edition – M.: NPPA «Istek», 2009. – P. 56-62. [in Russian]
9. Nikitin Yu.N. Vulkanizatsiya butadien-nitril'nogo kauchuka sul'fidami i tiosul'fatami shchelochnykh i shchelochnozemel'nykh metallov. [Vulcanization of the nitrile rubber thiosulfate sulphides and alkali and alkaline earth metals] / Yu.N. Nikitin, M.A. Polyak, A.I. Brodova. // Kauchuk i rezina. – 1974. – №10. – P. 23-24. [in Russian]
10. Nikitin Yu.N. Bessernoe strukturirovanie fenilaminoehfirnogo kauchuka SKS-25FAEH-5ARK. [Structuring veniaminovichu rubber SKS-25FAEH-5ARK without sulfur] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov. // Kauchuk i rezina. – 1976. – №2. – P. 16-17. [in Russian]
11. Nikitin Yu.N. Modifikatsiya metilvinilpiridinovogo kauchuka SKMVP-15ARK floriglyucinom i al'degidom. [Modification methylvinylpyridine rubber SCHMIT-15APK phloroglucinol and aldehyde] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov. NII monomerov dlya sintetich. kauchuka. - Yaroslavl': 1975. – 5p. –dep. v CNIITEHNeftekhim 12.03.76, № 11d-354; RZHKHim, 1976. – ref. 13T472. [in Russian]
12. A.s. 270993 SSSR, MPK C 09 J 3/12. Sposob krepleniya reziny s sernoj vulkanizuyushchej sistemoy. [Mounting method rubber with sulphur vulcanizing agents system] / Nikitin Yu.N., Kopylov E.P., Kosmodem'janskij and others. // B.I. – 1970 – №17. [in Russian]
13. Nikitin Yu.N. Primenenie peroksidatnogo kauchuka dlya sovulkanizatsii rezinovykh smesey. [Application peroksidnogo rubber for devulcanization rubber compounds] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov, EH.G. Lazaryanc. // Proizvodstvo shin, RTI i ATI. – M.: CNIITEHNeftekhim, 1972. – № 1. – P. 31-34. [in Russian]
14. Nikitin Yu.N. Osobennosti strukturirovaniya peroksidatnogo kauchuka v prisutstvii komponentov sernoi bulkanizuyushchei gruppy. [The structuring peroksidnogo rubber in the presence of sulfuric vulcanizing agents group] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov, EH.G. Lazaryanc. // Kauchuk i rezina. – 1973. – №8. – P. 11-14. [in Russian]
15. Nikitin Yu.N. Svoystva rezin iz kombinatsii peroksidatnogo kauchuka s hlroprenovym i karboksil'nymi kauchukami. [Properties of rubber compounds made up of a combination peroksidnogo rubber with chloroprene and a carboxyl rubbers] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov, EH.G. Lazaryanc. // Kauchuk i rezina. – 1973. – №11. – P. 6-8. [in Russian]
16. Nikitin Yu.N. Primenenie peroksidatnykh butadiene-stirol'nykh kauchukov v kachestve strukturiruyushih agentov. [Application peroxidatic butadiene-styrene rubbers as structuring agents] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov // Kauchuk i rezina. – 1976. – №4. – P. 18-19. [in Russian]
17. A.s. 384832 SSSR, MPK C 08 D 9/02. Kompozitsiya. [Composition] / Popova E.S., Shanina D.I., Nikitin Yu.N. and others. // B.I. – 1973. – №25. [in Russian].
18. A.s. 426504 SSSR, MPK C 08 H 3/00. Sostav dlja poluchenija faktisopodobnykh produktov. [The composition to obtain similar to faction products] / Kopylov E.P., Lazaryanc EH.G., Nikitin Yu.N. and others. // B.I. – 1970. – №17. [in Russian]
19. Nikitin Yu.N. Poluchenie i svoystva sernykh faktisov na osnove zhidkiy kauchukov. [Preparation and properties of sulphur faction based on liquid rubbers] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov, L.V. Kosmodem'yanskij and others. // Proizvodstvo shin, RTI i ATI. – M.: CNIITEHNeftekhim, 1972. – № 9. – P. 8-10. [in Russian]
20. Kuricyna A.I. Proizvodstvennoe oprobovanie zhidkiy sopolimerov SKN-30ZH i SKN-26ZH v kachestve syr'ya dlya faktisov. [Production testing of liquid copolymers SKN-30ZH and SKN-26ZH as raw material for faction] / A.I. Kuricyna, E.B. Koldunovich, Yu.N. Nikitin and others. // Kauchuk i rezina. – 1975. – №1. – P. 55-56. [in Russian]
21. Nikitin Yu.N. Osobennosti povedeniya strukturirovannogo kauchuka SKMS-30RPSN i sernogo faktisa v nenapolnennykh rezinovykh smesyah razlichnykh kauchukov. [Behaviors structured rubber SKMS-30PICH and sulphur factice in unfilled rubber compounds of different rubbers] / Yu.N. Nikitin, E.P. Kopylov. // Proizvodstvo shin, RTI i ATI. – M.: CNIITEHNeftekhim, – 1973, № 12. – P. 23-26. [in Russian]
22. A.s. 799376 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya antistaticheskaya polimernaya kompozitsiya. [Vulkanizma antistatic polymeric composition] / Nikitin Yu.N., Karelina V.N., Orehov S.V. and others. – 1979. – d.s.p. [in Russian]
23. A.s. 806702 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes' na osnove karbocepnogo kauchuka. [Vulcanicola rubber mixture based on carbon-chain rubber] / Nikitin Yu.N., Karelina V.N., Mednikov M.M. and others. //B.I. – 1981. – №7. [in Russian]
24. Nikitin Yu.N. Issledovanie ehlektroprovodyashchih i deformatsionno-prochnostnykh svoystv rezin, napolnennykh pechnym tekhnologerodom. [A study of conductive and strain-strength properties of rubbers filled with carbon black furnace] / Yu.N. Nikitin, V.N. Karelina, A.E. Kornev. // Mekhanika ehlastomerov. – 1980. – V. 3. – №. 101. – P. 76-80. [in Russian]
25. A.s. 812798 SSSR, MPK C 08 L 7/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes'. [Vulcanicola rubber compound] / Nikitin Yu.N., Bol'shakova S.S., Karelina V.N. and others. // B.I. – 1981. – №10. [in Russian]

26. A.s. 857173 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes' na osnove dienovogo kauchuka. [Vulcanic rubber compound based on diene rubber] / Nikitin Yu.N., Rastorgueva N.N., Orekhov S.V. and others. // B.I. – 1981. – № 81. [in Russian]
27. A.s. 896022 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes' na osnove karbocepnogo kauchuka. [Vulcanic rubber mixture based on carbon-chain rubber] / Nikitin Yu.N., Karelina V.N., Kornev A. E. and others. // B.I. – 1982. – № 1. [in Russian]
28. Nikitin Yu.N. K pyatidesyatiletuyu tekhnologii aktivnogo pechnogo tekhnologeroda SSSR. [The fiftieth anniversary of the technology of active furnace carbon black of the USSR] / Yu.N. Nikitin. // Research Journal Intern. Studies – 2016 – №4 (46), CH.6. – P. 153-156. [in Russian]
29. A.s. 938591 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya antistaticheskaya polimernaya kompoziciya. / Nikitin Yu.N., Kornev A.E., Goncharov V.M. and others. – 1980. – d.s.p. [in Russian]
30. A.s. 940494 SSSR, MPK C 08 L 9/02. Vulkanizuemaya polimernaya kompoziciya. [Vulcanizma polymer composition] / Nikitin Yu.N., Kornev A.E., Moloduh N.E. and others. – 1980. – d.s.p. [in Russian]
31. A.s. 1002313 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya polimernaya kompoziciya na osnove stereoregulyarnogo kauchuka. [Vulcanizma polymer composition based on stereoregular rubber] / Nikitin Yu.N., Orekhov S.V., Rastorgueva N.N. and others. // B.I. – 1983. – №9. [in Russian]
32. A.s. 1043153 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes' na osnove karbocepnogo kauchuka. [Vulcanic rubber mixture based on carbon-chain rubber] / Nikitin Yu.N., Ustinov V.V., Kornev A.E. and others. // B.I. – 1983. – №35. [in Russian]
33. A.s. 1016324 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes' na osnove butilkauchuka. [Vulcanic rubber mixture based on butyl rubber] / Nikitin Yu.N., Ustinov V.V., Kornev A.E. and others. // B.I. – 1983. – №17. [in Russian]
34. A.s. 1014848 SSSR, MPK C 08 L 9/00. Vulkanizuemaya rezinovaya smes'. [Vulcanic rubber mixture] / Nikitin Yu.N., Ustinov V.V., Kornev A.E. and others // B.I. – 1983. – №16. [in Russian]
35. Nikitin Yu.N. O roli poristosti pechnogo tekhnicheskogo ugleroda v povyshenii ehlektroprovodnosti vulkanizatorov. [On the role of porosity of the furnace carbon black to improve conductivity of vulcanizates] / Yu.N. Nikitin, N.N. Rastorgueva, A.E. Kornev and others. // Kauchuk i rezina. – 1983. – №1. – P. 20-23. [in Russian]
36. Nikitin Yu.N. O faktorah, opredelyayushchih ehlektroprovodnyashchie svoystva tekhnicheskogo ugleroda. [The factors that determine the conductive properties of carbon black] / Yu.N. Nikitin, A.E. Kornev, V.V. Ustinov // Kauchuk i rezina. – 1983. – №3. – P. 20-22. [in Russian]
37. Nikitin Yu.N. Primenenie adsorbtsionnykh metodov analiza dlya ehkspress-kontrolya kachestva ehlektroprovodnyashchego tekhnicheskogo ugleroda. [The use of the adsorption methods of analysis for rapid quality control, conductive carbon black] / Yu.N. Nikitin, N.N. Rastorgueva, A.E. Kornev // Proizvodstvo shin, RTI i ATI. - M.: CNITEHNEftekhim, – 1983. – №11. – P. 24-27. [in Russian]
38. Nikitin Yu.N. Pyat'desyat let razvitiya pechnogo tekhnologeroda Rossii. [Fifty years of development of furnace carbon black Russia] / Yu.N. Nikitin, M.G. Igizbaev, K.A. Vajc, D.Yu. Bodagov // Research Journal Inter. Studies – 2016 – №5 (47), CH. 5. – P. 108-112. [in Russian]
39. Nikitin Yu.N. O vliyani istorii XX veka na priority razvitiya tekhnologii i pererabotki ehlastomerov. [On the influence of history of the XX century on the priorities of the technology development and processing of elastomers] / Yu.N. Nikitin // Rezinovaya promyshlennost'. Syr'yo, materialy, tekhnologiya: Mater. XXII Mezhdunarodnoj nauch.-prakt. konf. – M., 2017. – P. 44-50. [in Russian]
40. Nikitin Yu.N. K semidesyatiletuyu poslevoennogo razvitiya otechestvennoj tekhnologii shin. [To the seventieth anniversary of the post-war development of the domestic technology of the tires] / Yu.N. Nikitin, A.A. Skripnik, L.A. Prockaja // Research Journal International Studies – 2015 – № 3 (34) – CH.1 – P. 94-97. [in Russian]
41. Nikitin Yu.N. Vzaimosvyaz' svoystv rezin so strukturnymi parametrami novykh tipov pechnogo tekhnologeroda. [The correlation properties of rubbers with the structural parameters of new types of furnace carbon black]: dis ... doktor tekhn. nauk: 05.17.06: zashchishchena 31.10.05: utv. 10.03.06 / Nikitin Yuriy Nikolaevich. – M.: MITHT im. M.V. Lomonosova, 2005. – 376p. [in Russian]
42. Pichugin A.M. Kauchuki ehmul'sionnoj polimerisacii. [Rubbers of emulsion polymerization] / A.M. Pichugin // Materialovedcheskie aspekty sozdaniya shinnykh rezin. – M.: OOO «NTC «NIIShP», 2008. – P. 123-133. [in Russian].
43. Nikitin Yu.N. Sovremennye podhody k resheniyu problemy usileniya ehlastomerov. [Modern approaches to the problem of strengthening elastomers] / Yu.N. Nikitin, S.Ya. Hodakova, A.E. Kornev and others. // Kauchuk i rezina. – 2008, №1. – P. 33-39. [in Russian]
44. Nikitin Yu.N. Ob anomalijah ravnovesnogo modulja pri rastjazhenii setok natural'nogo kauchuka. [About the anomalies of the equilibrium modulus tensile mesh natural rubber] / Yu.N. Nikitin, A.A. Skripnik, L.A. Prockaja // Problemy shin i rezinokordnykh kompozitov: Materialy XXVI simpoziuma. – M.: 2015. – P. 313-325 [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.185>Протопопов А.В.¹, Ворошилова А.В.², Бобровская С.А.³¹ ORCID: 0000-0003-2752-6726, кандидат химических наук, ²магистр, ³магистр,

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА**Аннотация**

В работе исследована возможность химической модификации подсолнечного масла в различных системах. Получены масла с отбеленных земель после рафинации. Методами ИК-спектроскопии и хроматографии изучен состав растительных масел. Выявлены наиболее оптимальные условия для химической модификации подсолнечного масла. При изучении процесса окисления растительного масла показана кинетика изменения функциональных групп, склонных к полимеризации. Протекание процессов окисления и полимеризации подтверждено методом ИК-спектроскопии.

Ключевые слова: масло, окисление масла, полимеризация масла.

Protopopov A.V.¹, Voroshilova A.V.², Bobrovskaya S.A.³¹ORCID: 0000-0003-2752-6726, PhD in Chemistry, ²Master's Degree Student, ³Master's Degree Student

Altai State Technical University named after I.I. Polzunov

CHEMICAL MODIFICATION OF SUNFLOWER OIL**Abstract**

The paper considers the possibility of chemical modification of sunflower oil in various systems. Oil is obtained from bleaching earth after refining. The composition of vegetable oils is studied by means of IR spectroscopy and chromatography. The most efficient conditions for the chemical modification of sunflower oil are identified. While studying the oxidation process of vegetable oil, the kinetics of change in functional groups which is prone to polymerization is shown. The oxidation and polymerization processes are confirmed by IR spectroscopy.

Keywords: oil, oil oxidation, oil polymerization.

Растительные масла представляют собой возобновляемый ресурс, который может использоваться в качестве надежного исходного материала для получения новых продуктов с широким спектром структурных и функциональных вариаций. Широкая доступность и относительно низкая стоимость делает растительные масла привлекательным сырьем для пластмассовой промышленности [1], [2], [3]. Уже в течение длительного времени растительные масла и их производные использовались химиками из-за их новизны, доступности по всему миру по относительно низкой цене и их широкое распространение. В последнее время, в качестве альтернативного ресурса для производства для различных продуктов, таких как полимеры, лакокрасочные покрытия, адгезивы и композитные материалы [4], [5], [6]. Необходимость освобождения полимерной промышленности от ее зависимости от истощающих ресурсов представляет собой серьезную проблему, и поэтому актуален поиск промышленно применимых возобновляемых альтернатив. В этом случае растительные масла обладают многими преимуществами в связи с их возобновляемостью. Их широкая доступность и относительно низкие цены делают их промышленно привлекательными, как это ежедневно демонстрирует промышленная химия. Крупнейшими источниками растительных масел являются многие сельскохозяйственные культуры, такие как соя, кукуруза, льняное семя, хлопковое семя или арахис. Растительные масла и жирные кислоты, полученные главным образом из масличных культур, считаются наиболее важными в химической промышленности и в процессе подготовки биодобавок для функциональных полимеров и полимерных материалов [6], [7], [8], [9].

Для изучения химической модификации и определения оптимальных условий переработки отходов маслоэкстракционного производства было получено масло с бентонитовых глин, взятых после экстракции. Выделенное масло анализировали методами ИК-спектроскопии и газожидкостной хроматографии.

Состав полученного с бентонитовых глин экстракта (см. таблица 1) в процентном соотношении сход по составу с подсолнечным маслом по ГОСТ 1129-2013. Исходя из полученных результатов для исследования было взято нерафинированное подсолнечное масло как модельный объект.

Таблица 1 – Компонентный состав экстракта с отбеленных земель

№	Время, мин.	Высота, мВ	Площадь, мВ мин	Концентрация	Компонент
52	15,582	0,649	0,040	0,373	C ₁₄ миристиновая
56	16,417	1,018	0,096	0,895	C _{14:1} миристолеиновая
68	19,460	27,443	2,285	21,306	C ₁₆ пальмитиновая
70	19,960	0,534	0,046	0,432	C _{16:1} пальмитолеиновая
80	22,891	19,001	1,759	16,400	C ₁₈ стеариновая
82	23,289	40,165	3,634	33,879	C _{18:1c} олеиновая
83	23,578	0,760	0,061	0,566	C _{18:1t} элаидиновая
85	23,952	1,773	0,125	1,169	C _{18:2t} линоэлаидиновая
86	24,115	19,916	1,589	14,818	C _{18:2c} линолевая
88	24,758	1,504	0,135	1,261	C _{18:3c} гамма-линоленовая
89	25,086	0,354	0,039	0,359	C _{18:3} линоленовая
92	26,101	1,112	0,139	1,296	C ₂₀ арахидиновая
93	26,602	1,463	0,196	1,825	C _{20:1} эйкозеновая
101	29,828	1,767	0,132	1,234	C ₂₂ бегеновая

Продолжение Таблицы 1

102	29,854	1,629	0,140	1,306	C20:4 арахидоновая
103	30,290	1,027	0,129	1,199	C22:1 эруковая
105	31,265	0,165	0,028	0,263	C22:2 докозадиеновая
112	34,200	0,382	0,052	0,481	C24 лигноцериновая
113	35,064	0,378	0,101	0,938	C24:1 селажолева

Как показали результаты хроматографии, основными компонентами являются олеиновая и пальмитиновая кислоты. Низкое содержание линолевой кислоты предполагает необходимость проведения предварительного окислирования для улучшения прохождения процесса полимеризации.

На модельном объекте первоначально была отработана и выбрана система для окислирования и эпоксидирования подсолнечного масла. Исследования проводились с использованием различных систем (см. таблица 2).

Таблица 2 – Системы окислирования и эпоксидирования масла

Компоненты и условия системы	Йодное число	Эпоксидное число
Масло + пероксид водорода + аммоний щавелево-кислый + хлорид аммония + мочеина + соль Мора, 3 ч, 80 °C	156	5,6
Масло + пероксид водорода, 90 мин, 80 °C	74	15,0
Масло + пероксид водорода + аммоний щавелево-кислый, 1 ч, 80 °C	153	0,0
Масло + пероксид водорода + КОН + NH ₄ Cl, 2 ч, 80 °C	141	0,0
Масло + пероксид водорода + КОН, 30 мин, 70 °C	209	1,0
Масло + тионилхлорид, 3 ч, 50 °C	140	0,0
Масло + тионилхлорид + КОН, 3 ч, 50 °C	243	0,0

Исследование методом ИК спектроскопии показало появление полос поглощения с низкой интенсивностью в областях 3600 см⁻¹, характерных для гидроксильных групп, 2720 и 2670 см⁻¹, характерных для валентных колебаний карбоксильной группы и в области 1560 см⁻¹, характерных для деформационных колебаний солей карбонильной группы [10].

Оптимальные результаты окислирования получены для системы с пероксидом водорода и гидроксидом калия. Для выбранной системы «масло - гидроксид калия - пероксид водорода» были проведены исследования кинетики окислирования. Процесс окислирования контролировали по взятию пробы на йодкрахмальную бумагу. По окончании процесса продукт анализировали на йодное и эпоксидное число [11, С. 88].

Таблица 3 – Характеристики продуктов эпоксидирования подсолнечного масла

Температура, °C	Продолжительность процесса, мин.	Йодное число	Эпоксидное число
50	25	37	0,19
60	20	190	0,42
70	16	209	0,79
80	7	220	1,26
90	5	200	1,23

Как показывают полученные данные (см. таблица 3), повышение температуры приводит к возрастанию йодного и эпоксидного чисел. При температурах выше 80 °C наблюдается снижение йодного и эпоксидного числа, при этом наблюдается увеличение вязкости, что свидетельствует об одновременном протекании процесса полимеризации. Анализ полученных продуктов методом ИК-спектроскопии показал наличие полос поглощения в области 3600 и 1560 см⁻¹, отсутствующей в исходном масле, полоса поглощения в области 3100 см⁻¹, характерная для колебаний метиленовых групп, увеличивает свою интенсивность. Таким образом, процесс протекает по реакциям окислирования при взаимодействии с активным кислородом, выделившимся при разложении перекиси водорода, которое может перетекать в окисление, при отщеплении гидроксидов, или переходить в перекисное состояние при присоединении еще одного активного кислорода. Также, при взаимодействии с пероксидом водорода параллельно проходит реакция эпоксидирования.

На основании полученных данных определены оптимальные условия окислирования подсолнечного масла, которые составляют 80 °C - 90 °C с продолжительностью 30 минут, для более глубокого прохождения окислирования. После чего в модифицированное масло вносили PbO₂ (глет) и проводили полимеризацию в течение 0,5 - 6 часов в диапазоне температур 120 °C, 140 °C и 160 °C. Полученные продукты анализировали на йодное число. Результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Значение йодного числа при полимеризации подсолнечного масла

Время синтеза, ч	Температура, °C		
	120	140	160
0,5	142	278	90
1	264	248	95
2	279	187	182
3	275	153	227
4	314	355	266
5	200	247	395
6	134	245	336

При 140 °C после 3 часов синтеза и при 160 °C после 1 часа синтеза начинает наблюдаться повышение вязкости, а продукт приобретает темно-коричневый цвет. Приведенные данные показывают увеличение йодного числа по сравнению с предыдущими исследованиями, данный факт связан с увеличением вязкости системы и, как следствие, замедлением подвода реакционных частиц. В результате реакция полимеризации переходит в диффузионную область, и процесс окислирования начинает преобладать. Анализ ИК-спектров полученных продуктов показал образование олигомеров высших жирных кислот в солевой форме. Таким образом, процесс протекает по реакциям полимеризации при взаимодействии органических пероксидов с другими молекулами масла, либо при взаимодействии органических оксидов с другими молекулами масла. Также, процесс полимеризации может протекать с расщеплением двойной связи и взаимодействием с другими молекулами масла.

Список литературы / References

1. Sonntag N. O. V. Structure and composition of fats and oils / N. O. V. Sonntag // Bailey's Industrial oil and Fat Products, New York: Wiley-Interscience. – 1979. – Vol. 1. – 4th ed. – P. 292–317.
2. White P. J. Flavor quality of fats and oils / P. J. White, R. D. O'Brien, W. A. Farr and other // Introduction to Fats and Oils Technology. Champaign, IL: AOCS Press. – 2000. – P. 354–357.
3. О'Брайен Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение // Р. О'Брайен; пер. с англ. 2-го изд. В. Д. Широкова, Д. А. Бабейкиной, Н. С. Селивановой, Н. В. Магды – СПб.: Профессия, 2007. – 752 с.
4. Korus R.A. Polymerization of Safflower and Rapeseed Oils / R.A. Korus, T.L. Mousetis // JAOCS, University of Idaho. – 1984. – vol. 61. – № 3. – P. 303–308.
5. Erhan S.Z. Polymerization of Vegetable Oils and Their Uses in Printing Inks / S.Z. Erhan, M.O. Bagby // JAOCS, Peoria, – 1994. – Vol. 71. – №11. – P. 506–512.
6. Rhoades W.F. Heat Polymerization of Safflower Oil / W.F. Rhoades, A.J. Da Valle // The journal of the american oil chemists' society, Pacific Paint and Varnish Co., Berkeley, California. – 1951. – № 11. – P. 185–196
7. Gamage P.K. Epoxidation of some vegetable oils and their hydrolysed products with peroxyformic acid – optimized to industrial scale / P.K. Gamage, M. O'Brien, L. Karunanayake // J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka. – 2009. – Vol. 37. – № 4. – P. 229–240.
8. Милославский А.Г. Эпоксидирование растительных масел пероксидом водорода в присутствии вольфрамата натрия и четвертичных аммониевых солей: дис. канд. тех. наук: 05.17.04: защищена 17.12.2008: утв. 22.05.2009 / Милославский Алексей Геннадьевич. – Казань, 2008. – 139 с.
9. Сердюк А. А. Эпоксидирование подсолнечного масла в системах на основе пероксида водорода и органических кислот / А. А. Сердюк, М. Г. Касянчук, И. А. Опейда и др. // Наукові праці ДонНТУ. Серія: Хімія і хімічна технологія. – 2014. – №1. – С.205–210.
10. Бобровская С.А. Исследование эпоксидирования растительного масла / С.А. Бобровская, А.В. Ворошилова, А.Н. Шлеина, А.В. Протопопов // News of science and education. Sheffield, S Yorkshire, England. – 2017. – № 8. – том 2. – С. 55-59
11. Акаева Т.К. Химия и технология пленкообразующих веществ: Лабораторный практикум / Т.К. Акаева Т.К., В.А. Козлов. – ГОУ ВПО Иван. гос. хим.-технол. ун-т; Иваново. – 2008. – 100 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Sonntag N. O. V. Structure and composition of fats and oils / N. O. V. Sonntag // Bailey's Industrial oil and Fat Products, New York: Wiley-Interscience. – 1979. – Vol. 1. – 4th ed. – P. 292–317.
2. White P. J. Flavor quality of fats and oils / P. J. White, R. D. O'Brien, W. A. Farr and other // Introduction to Fats and Oils Technology. Champaign, IL: AOCS Press. – 2000. – P. 354–357.
3. О'Брайен Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение [Fats and oils. Production, composition and properties, application] / R. O'Brien; 2th ed.. V. D. Широкова, D. A. Babeykinoj, N. S. Selivanovoj, N. V. Magdy – SPb.: Professia [Profession], 2007. – P.752. [in Russian]
4. Korus R.A. Polymerization of Safflower and Rapeseed Oils / R.A. Korus, T.L. Mousetis // JAOCS, University of Idaho. – 1984. – vol. 61. – № 3. – P. 303–308.
5. Erhan S.Z. Polymerization of Vegetable Oils and Their Uses in Printing Inks / S.Z. Erhan, M.O. Bagby // JAOCS, Peoria, – 1994. – Vol. 71. – №11. – P. 506–512.
6. Rhoades W.F. Heat Polymerization of Safflower Oil / W.F. Rhoades, A.J. Da Valle // The journal of the american oil chemists' society, Pacific Paint and Varnish Co., Berkeley, California. – 1951. – № 11. – P. 185–196
7. Gamage P.K. Epoxidation of some vegetable oils and their hydrolysed products with peroxyformic acid – optimized to industrial scale / P.K. Gamage, M. O'Brien, L. Karunanayake // J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka. – 2009. – Vol. 37. – № 4. – P. 229–240.

8. Miloslavsky A.G. Jepoksidirovanie rastitel'nyh masel peroksidom vodoroda v prisutstvii vol'framata natrija i chetvertichnyh ammonievnyh solej [Epoxidation of vegetable oils with hydrogen peroxide in the presence of sodium tungstate and quaternary ammonium salts]: dis. PhD in Engineering: 05.17.04: it is protected 17.12.2008: it is approved. 22.05.2009 / Miloslavsky Alexei Gennadievich. – Kazan, 2008. – P.139. [in Russian]

9. Jepoksidirovanie podsolnechnogo masla v sistemah na osnove peroksida vodoroda i organicheskikh kislot [Epoxidation of sunflower oil in systems based on hydrogen peroxide and organic acids] / A. A. Serdjuk, M. G. Kasjanchuk, I. A. Opejda i dr. // Naukovi praci DonNTU. Seriya: Himiya i himichna tekhnologiya [Scientific works of DonNTU. Series: Chemistry and Chemical Technology]. – 2014. – №1. – P.205–210. [in Russian]

10. Bobrovskaya S.A. Izuchenie epoksidirovaniya rastitelnogo masla [Study of vegetable oil epoxidation] / S.A. Bobrovskaya, A.V. Voroshilov, A.N. Shleina, A.V. Protopopov // News of science and education. Sheffield, S Yorkshire, England. - 2017. - No. 8. - Volume 2. - P. 55-59 [in Russian]

11. Akaeva T.K. Himiya i tekhnologiya plenkoobrazujushchih veshchestv: Laboratornyj praktikum [Chemistry and Technology of Film-Forming Substances: Laboratory Practice] / T.K. Akaeva, V.A. Kozlov – GOU VPO Ivan. gos. him.–tehnol. un–t; Ivanovo, 2008. – P.100. [in Russian]

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.184>

Родикова Ю.А.¹, Жижина Е.Г.², Пай З.П.³

¹ ORCID: 0000-0002-8912-8507, кандидат химических наук,

² ORCID: 0000-0001-6419-7568, доктор химических наук, ³ ORCID: 0000-0002-4622-5323, доктор технических наук, Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН ИК СО РАН (проект № 0303-2016-0008).

ТРАНСФОРМАЦИЯ ДИМЕТИЛФЕНОЛОВ В ПРИСУТСТВИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ Р-Мо-V ГЕТЕРОПОЛИКИСЛОТ: 2. МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ

Аннотация

Окисление диметилфенолов в соответствующие пара-хиноны важно с точки зрения их дальнейшего применения в различных важных областях науки. В статье описаны основные этапы трансформации 2,3- и 2,6-диметилфенолов в соответствующие пара-бензохиноны в двухфазных системах в присутствии водных растворов Р-Мо-V гетерополикислот, установленные в ходе детального анализа экспериментальных данных. Найденные закономерности могут быть использованы для расширения круга потенциальных субстратов и упрощения оптимизации реакционных условий.

Ключевые слова: катализ, кислоты, окисление, кислород, бензохиноны, механизм реакции.

Rodikova Yu.A.¹, Zhizhina E.G.², Pai Z.P.³

¹ORCID: 0000-0002-8912-8507, PhD in Chemistry,

²ORCID: 0000-0001-6419-7568, PhD in Chemistry, ³ORCID: 0000-0002-4622-5323, PhD in Engineering, Borekov Institute of Catalysis of SB RAS

The work was carried out within the framework of the state task of the FGBUN of the SB RAS (project No. 0303-2016-0008)

TRANSFORMATION OF DIMETHYLPHENOLS IN THE PRESENCE OF AQUATIC SOLUTIONS OF P-MO-V HETEROPOLYACIDS: 2. REACTION MECHANISM

Abstract

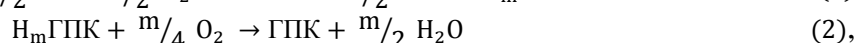
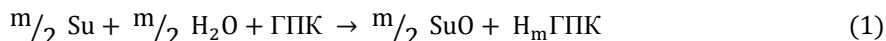
Oxidation of dimethylphenols in the corresponding paraquinones is important from the point of view of their further application in various important fields of science. The article describes the main stages of transformation of 2,3- and 2,6-dimethylphenols to the corresponding para-benzoquinones in two-phase systems in the presence of aqueous solutions of P-Mo-V heteropolyacids established during detailed analysis of the experimental data. Found regularities can be used to expand the range of potential substrates and simplify the optimization of reaction conditions.

Keywords: catalysis, acids, oxidation, oxygen, benzoquinones, reaction mechanism.

В настоящее время химия гетерополикислот (ГПК) со структурой Кеггина интенсивно развивается благодаря наличию у данных соединений уникальной стабильной структуры, а также возможности управлять их физико-химическими свойствами путем изменения состава. Представители данного класса соединений – смешанные Р-Мо-V ГПК – находят широкое применение в качестве катализаторов окисления благодаря присутствию в их составе легко восстанавливаемых атомов ванадия(V) [1].

Катализаторы на основе Р-Мо-V ГПК были исследованы в реакциях окисления двух диалкилфенолов – 2,3-диметилфенола (2,3-Ме₂Ф) и 2,6-диметилфенола (2,6-Ме₂Ф) – с целью получения соответствующих диалкил-1,4-бензохинонов (2,3-Ме₂БХ и 2,6-Ме₂БХ). Такие бензохиноны применяются для синтеза важных медицинских и биологически активных соединений, в том числе кемпанов [2], противопаразитарных [3], противоопухолевых [4], антиоксидантных [5] и других востребованных веществ.

В общем виде процесс окисления Ме₂Ф в соответствующие пара-хиноны включал два этапа, описывающихся уравнениями (1) и (2):



где Su – субстрат (фенол), SuO – продукт (целевой хинон), ГПК – водный раствор гетерополикислоты общего брутто-состава H_aP_zMo_yV_xO_b (z = 1÷3, y = 8÷18, x = 1÷12, a = 2b-6y-5(x'+z), b = 40÷89) [6], H_mГПК – восстановленная на m электронов форма катализатора.

На первом этапе такого процесса растворы ГПК выступали в качестве *обратимо действующих* окислителей. Данный этап проводили при различных параметрах реакции. Изменяли органический растворитель (ОР), температуру, атмосферу (кислородсодержащая (воздух) или инертная), состав катализатора (число атомов ванадия x в молекуле ГПК), соотношение ванадия (V) и субстрата в растворе: $[n_V]/[\text{субстрат}]$. Регенерация катализатора на второй стадии процесса проводилась после отделения раствора катализатора от реакционных продуктов, ее вели при повышенной температуре 140–170 °C и давлении кислорода 4 ± 0.05 атм.

Поэтапное исследование зависимости скорости (W) и селективности (S) реакции (1) от указанных параметров позволило выявить оптимальные условия протекания данных реакций, обеспечивающие S образования целевых *пара*-хинонов выше 95% при полной конверсии Su [7]. Наилучшее соотношение между временем полной конверсии Su и S образования *пара*-хинона при окислении 2,3- $\text{Me}_2\text{Ф}$ наблюдалось в присутствии высокованадиевых растворов $\text{H}_{11}\text{P}_3\text{Mo}_{18}\text{V}_8\text{O}_{87}$ (ГПК-8) и $\text{H}_{17}\text{P}_3\text{Mo}_{16}\text{V}_{10}\text{O}_{89}$ (ГПК-10) при 50 °C в атмосфере N_2 , при мольном отношении $[n_V]/[2,3\text{-Me}_2\text{Ф}] \leq 17$ в бензоле. При окислении 2,6- $\text{Me}_2\text{Ф}$ оптимальное соотношение между временем реакции и S достигалось в присутствии системы ГПК-10/трихлорэтилен при 70 °C в атмосфере N_2 , при мольном отношении $[n_V]/[2,6\text{-Me}_2\text{Ф}] \leq 18$.

Исследование синтезированных растворов с использованием ^{31}P и ^{51}V ЯМР спектроскопии показало, что высокованадиевые растворы представляют собой равновесные смеси, содержащие частично или полностью диссоциированные кеггиновские ГП-лианионы $\text{H}_{x-1}\text{PMo}_{12-x}\text{V}_x\text{O}_{40}^{4-}$ с различным числом атомов ванадия x , а также ионы VO_2^+ и $\text{H}_2\text{PO}_4^{(3-z)-}$ [8].

Определение механизма каталитического действия различных соединений и закономерностей протекания наблюдаемых в ходе реакций трансформаций является важной задачей для понимания каждого отдельного процесса на молекулярном уровне. Кроме того, понимание особенностей реакций важно для целенаправленной оптимизации реакционных параметров и достижения высокой эффективности процессов.

Окисление фенолов относится к числу сложных многостадийных процессов, механизм которых сильно изменяется в зависимости от природы окислителя или используемой каталитической системы. В настоящее время в литературе выделяют три возможных типа механизмов окисления фенолов в бензо- и гидрохиноны: 1) электрофильное гидроксирование, 2) радикальное гидроксирование и 3) механизм, основанный на образовании феноксильных радикалов [9].

Механизм электрофильного гидроксирования характерен для реакций, протекающих с участием H_2O_2 , и основан на гетеролитической диссоциации гидропероксильной группы $-\text{O}-\text{OH}$ в присутствии катализатора с образованием электрофила OH^+ , дальнейшее взаимодействие которого с ароматическим субстратом приводит к получению гидроксированных производных. Такой механизм приписывают, например, процессу гидроксирования фенола в смесь *орто*- и *пара*-дигидроксibenзолов в присутствии в качестве кислотных катализаторов микропористых титаносиликатов TS-1 и TS-2 [10].

Примером окисления фенолов через радикальное гидроксирование являются реакции, протекающие в присутствии системы Фентона. Активной частицей в такой системе является OH -радикал, образующийся по цепному радикальному механизму при взаимодействии H_2O_2 с Fe^{2+} и присоединяющийся к ароматическому ядру с образованием интермедиата, превращающегося в смесь *орто*- и *пара*-гидроксированных производных [11].

Третий механизм (через образование феноксильных радикалов) наиболее характерен для окисления пространственно затрудненных фенолов различными одноэлектронными окислителями и окислительными системами, такими как $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Ti}-\text{SiO}_2$ [12], $\text{H}_2\text{O}_2/\text{V}_2\text{O}_5-\text{TiO}_2$ [13] и др. Образование таких радикалов было зарегистрировано в растворе методом ЭПР при окислении 2,4,6-три-*трет*-бутилфенола и 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола [14].

Анализ результатов исследования кинетических закономерностей окисления 2,3- $\text{Me}_2\text{Ф}$ и 2,6- $\text{Me}_2\text{Ф}$ в двухфазных системах в присутствии растворов Р-Мо-V ГПК различного состава, как и анализ состава и строения конечных и побочных продуктов реакций методами хромато-масс-спектрометрии и ИК-спектроскопии, позволили предположить механизм реакции (1), представленный на рис. 1.

Аргументами в пользу данного одноэлектронного ион-радикального механизма выступали такие закономерности, как:

1) рост селективности образования *пара*-хинонов при равном общем содержании атомов ванадия в присутствии высокованадиевых растворов ГПК, содержащих повышенную концентрацию оксокаатионов VO_2^+ . Это свидетельствует в пользу участия данных катионов, являющихся одноэлектронными окислителями, в качестве каталитически активных частиц. При этом значения E_0 растворов ГПК с высокой концентрацией ванадия близки к значению стандартного окислительного потенциала одноэлектронной редокс-системы $\text{VO}_2^+/\text{VO}^{2+}$, для которой $E^0 = 1.00$ В, а текущее значение редокс-потенциала описывается уравнением Нернста:

$$E_V = E_V^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{VO}_2^+] \cdot [\text{H}^+]^2}{[\text{VO}^{2+}]}$$

2) специфическое влияние неполярных и малополярных органических растворителей, способных к образованию π -комплексов с промежуточными интермедиатами, на S реакции, которая убывала в следующем ряду:

ароматические углеводороды \approx галогеналкены $>$ карбоновые кислоты $>$ сложные эфиры $>$ простые эфиры \sim кетоны $>$ спирты $>$ алканы;

3) необходимость высокой концентрации окисляющих частиц в растворе катализатора (т.е. высокого значения окислительного потенциала E) в ходе всего процесса для быстрой передачи электронов с молекул субстрата на ГПК и достижения высоких значений S ;

4) экспериментальное обнаружение продуктов С-С и С-О сочетания, получение которых возможно только в реакциях окисления фенолов, протекающих через образование феноксильных радикалов.

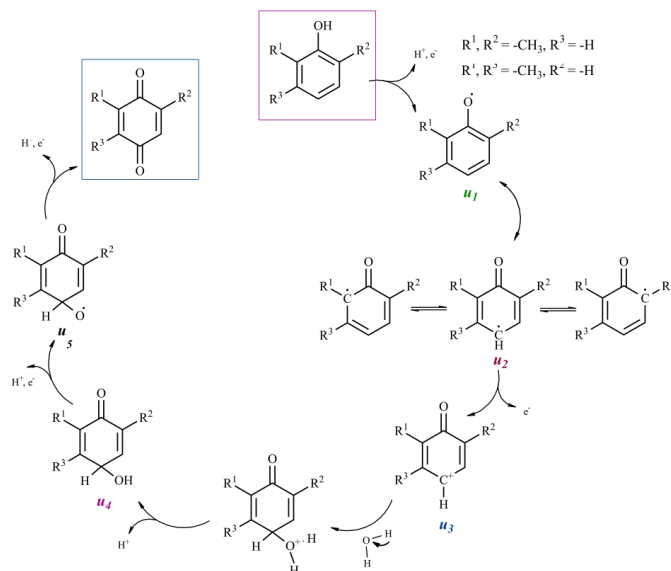
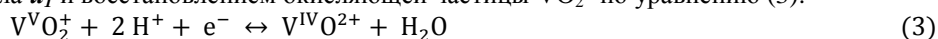


Рис. 1 – Механизм реакции (1) окисления $Me_2Ф$ в соответствующие $Me_2БХ$ в присутствии растворов Р-Мо-V ГПК

Согласно литературным данным, особенностью фенольных соединений, проявляющейся у замещенных фенолов, является их чрезвычайно легкая способность отщеплять при ионных и радикальных процессах атом водорода гидроксильной группы в виде протона или радикала, что объясняется снижением энергии связи О-Н в таких соединениях в результате сопряжения неподеленных p -электронов атома кислорода гидроксильной группы с π -электронами ароматического кольца [14].

В связи с этим первая стадия предполагаемого механизма реакции в общем виде сводится к первоначальному отрыву атома водорода от гидроксильной группы фенола с образованием фенокисильного радикала, дальнейшая судьба которого зависит от ряда факторов, таких как реакционная способность, присутствие кислорода в системе, используемого растворителя, температуры и концентраций реагирующих веществ. При этом, скорее всего, происходит согласованный перенос одного протона и одного электрона на молекулу окислителя, сопровождающийся образованием фенокисильного радикала u_1 и восстановлением окисляющей частицы VO_2^+ по уравнению (3):



Предполагаемый последующий переход ароматической структуры в циклогексадиеноновую – фенол-диеноновая перегруппировка связей с образованием хинолидного соединения u_2 – облегчается тем, что потеря энергии ароматического сопряжения в значительной мере компенсируется двумя факторами: 1) выигрышем энергии за счет образования кетонной формы из енольной и 2) сопряжением образующейся карбонильной группы с двумя двойными связями. На основе параметров экспериментальных ЭПР-спектров фенокисильных радикалов авторы [15] установили, что максимальная величина спиновой плотности неспаренного электрона (ρ) в таких частицах приходится на *para*-положение и уменьшается в ряду:

$$\rho_{C_4} > \rho_{C_{2,6}} > \rho_{CO} > \rho_{C_1} > \rho_{C_{3,5}}$$

На следующей стадии процесса (см. рис. 1) происходит отрыв второго электрона от молекулы циклогексадиенона u_2 с образованием карбокатиона u_3 .

Метод проведения реакции в отсутствие кислорода в среде несмешивающихся растворителей позволяет предположить, что данная реакция протекает на границе раздела фаз:

водный раствор ГПК // органический растворитель.

В такой системе единственными источниками кислорода являются молекулы H_2O . Последующее протекание процесса основано на нуклеофильном присоединении молекулы H_2O в *para*-положение интермедиата u_3 . Как предполагается, образующийся при этом σ -комплекс отщепляет протон, превращаясь в нейтральное промежуточное соединение с циклогексадиеноновой структурой – диметилзамещенный 4-гидрокси-2,5-циклогексадиен-1-он u_4 . Дальнейший последовательный отрыв двух протонов и перенос двух электронов приводит к образованию целевого хинона.

Определение механизма каталитического действия различных катализаторов является важной задачей, необходимой для их эффективного применения в реакциях трансформации различных органических соединений.

На основе исследований наших процессов предположено, что на начальных стадиях *целевой* реакции (в данной работе не рассматривается детально стадия регенерации катализатора), когда концентрация VO_2^+ высока, процесс образования хинонов лимитируется переносом электронов с молекул субстрата и образующихся радикалов на оксо-катионы VO_2^+ с образованием катионов VO^{2+} . В ходе реакции рост степени восстановления ГПК (т. е. число полученных электронов в расчете на 1 молекулу) ведет к снижению концентрации VO_2^+ , а это, в свою очередь, приводит к снижению скорости целевой реакции и смене лимитирующей стадии. При низких степенях восстановления ГПК (при сниженном значении E) начинают лимитировать процессы диспропорционирования ГПК с более медленным отщеплением оксо-катионов VO_2^+ от частично восстановленного ГП-аниона [16].

Данное исследование позволило сделать вывод о том, что для достижения высокой селективности по целевым хинонам при окислении 2,3- $Me_2Ф$ и 2,6- $Me_2Ф$ необходимо использовать высокованадиевые модифицированные растворы Р-Мо-V ГПК, позволяющие обеспечить высокое значение окислительного потенциала в ходе всей реакции, препятствующее образованию побочных конденсированных продуктов.

Список литературы / References

1. Rodikova Yu. A. Trimethyl-1,4-benzoquinone synthesis via 2,3,6-trimethylphenol catalytic oxidation by oxygen in the presence of non-Keggin-type Mo-V-phosphoric heteropoly acid solutions / Yu. A. Rodikova, E. G. Zhizhina // J. Chem. Chem. Eng. – 2013. – Vol. 7(9). – P. 808–820.
2. Liu C. Synthetic studies toward the kempene diterpenes. Diels–Alder additions to bicyclic dienes / C. Liu, G. Bao, D. J. Burnell // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. – 2001. – P. 2644–2656. doi: 10.1039/B104924K
3. Salas C. O. Natural and synthetic naphthoquinones active against *Trypanosoma cruzi*: an initial step towards new drugs for Chagas disease / C. O. Salas, M. Faúndez, A. Morello and others // Current Medicinal Chemistry. – 2011. – Vol. 18(1). – P. 144–161. doi: 10.2174/092986711793979779
4. Agapova L. S. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 3. Inhibitory effect of SkQ1 on tumor development from p53-deficient cells / L. S. Agapova, B. V. Chernyak, L. V. Domnina // Biochemistry (Moscow). – 2008. – Vol. 73(12). – P. 1300–1316. doi: 10.1134/S0006297908120031
5. Skulachev V. P. A biochemical approach to the problem of aging: “Megaproject” on membrane-penetrating ions. The first results and prospects / V. P. Skulachev // Biochemistry (Moscow). – 2007. – Vol. 72(12). – P. 1385–1396. doi: 10.1134/S0006297907120139
6. Пат. 2275960 Российская Федерация, МПК B01J23/44, B01J27/199, B01J27/26, C07C49/10. Катализатор и способ получения метилэтилкетона / Матвеев К. И., Жижина Е. Г., Одыков В. Ф., Федотов А. В., Балашов А. Л.; заявитель и патентообладатель Институт катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской Академии наук, Общество с ограниченной ответственностью “СИНТЕЗ-Инжиниринг”. – № 2004125499/04; заявл. 19.08.04; опубл. 10.05.06, Бюл. № 13. – 13 с.
7. Rodikova Yu.A. Catalytic way of transforming 2,3-dimethylphenol to *para*-quinone with the use of vanadium-containing heteropoly acids / Yu. A. Rodikova, E. G. Zhizhina, Z. P. Pai // Appl. Catal. A. – 2018. – Vol. 549. – P. 216–224. doi: 10.1016/j.apcata.2017.09.022
8. Odyakov V. F. Synthesis of molybdovanadophosphoric heteropoly acid solutions having modified composition / V. F. Odyakov, E. G. Zhizhina, R. I. Maksimovskaya // Appl. Catal. A. – 2008. – Vol. 342(1-2). – P. 126–130. doi: 10.1016/j.apcata.2008.03.008
9. Заломаева О. В. Исследование окисления функционализированных фенолов и нафтолов в хиноны пероксидами в присутствии гетерогенных титан- и железосодержащих катализаторов : дис. ... канд. хим. наук : 02.00.15 : защищена 04.04.07 / Заломаева Ольга Вадимовна. – Новосибирск: ИК СО РАН, 2007. – 122 с.
10. Wilkenhoner U. Influence of pore and crystal size of crystalline titanosilicates on phenol hydroxylation in different solvents / U. Wilkenhoner, G. Langhendries, F. V. Laar and others // J. Catal. – 2001. – Vol. 203. – P. 201–212. doi: 10.1006/jcat.2001.3308
11. Walling C. Fenton’s reagent. V. Hydroxylation and side-chain cleavage of aromatics / C. Walling, R. A. Johnson // J. Am. Chem. Soc. – 1975. – Vol. 97. – P. 363–367. doi: 10.1021/ja00835a024
12. Kholdeeva O. Highly selective oxidation of alkylphenols to benzoquinones with hydrogen peroxide over silica-supported titanium catalysts: titanium cluster site versus titanium single site / O. Kholdeeva, I. Ivanchikova, M. Guidotti // Adv. Synth. Catal. – 2009. – Vol. 351(11-12). – P. 1877–1889. doi: 10.1002/adsc.200900109
13. Palacio M. Preparation, characterization and use of V₂O₅-TiO₂ mixed xerogels as catalyst for sustainable oxidation with hydrogen peroxide of 2,3,6-trimethylphenol / M. Palacio, P. Villabril, G. Romanelli and others // Appl. Catal. A. – 2012. – Vol. 417-418. – P. 273–280. doi: 10.1016/j.apcata.2011.12.049
14. Ершов В. В. Пространственно-затрудненные фенолы / В. В. Ершов, Г. А. Никифоров, А. А. Володькин. – Москва: Химия, 1972. – 353 с.
15. Хидекель М. Л. Взаимодействие 2,4,6-трифенилфеноксила-1 с растворителем / М. Л. Хидекель, Г. А. Разуваев, Е. И. Новикова и др. // Изв. АН СССР, Сер. хим. – 1964. – № 8. – С. 1530–1532.
16. Odyakov V. F. Redox potentials of molybdovanadophosphoric heteropoly acids in aqueous solutions / V. F. Odyakov, E. G. Zhizhina, K. I. Matveev // Russ. J. Inorg. Chem. – 2000. – Vol. 45(8). – P. 1258–1266.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Rodikova Yu. A. Trimethyl-1,4-benzoquinone synthesis via 2,3,6-trimethylphenol catalytic oxidation by oxygen in the presence of non-Keggin-type Mo-V-phosphoric heteropoly acid solutions / Yu. A. Rodikova, E. G. Zhizhina // J. Chem. Chem. Eng. – 2013. – Vol. 7(9). – P. 808–820.
2. Liu C. Synthetic studies toward the kempene diterpenes. Diels–Alder additions to bicyclic dienes / C. Liu, G. Bao, D. J. Burnell // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. – 2001. – P. 2644–2656. doi: 10.1039/B104924K
3. Salas C. O. Natural and synthetic naphthoquinones active against *Trypanosoma cruzi*: an initial step towards new drugs for Chagas disease / C. O. Salas, M. Faúndez, A. Morello and others // Current Medicinal Chemistry. – 2011. – Vol. 18(1). – P. 144–161. doi: 10.2174/092986711793979779
4. Agapova L. S. Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 3. Inhibitory effect of SkQ1 on tumor development from p53-deficient cells / L. S. Agapova, B. V. Chernyak, L. V. Domnina // Biochemistry (Moscow). – 2008. – Vol. 73(12). – P. 1300–1316. doi: 10.1134/S0006297908120031
5. Skulachev V. P. A biochemical approach to the problem of aging: “Megaproject” on membrane-penetrating ions. The first results and prospects / V. P. Skulachev // Biochemistry (Moscow). – 2007. – Vol. 72(12). – P. 1385–1396. doi: 10.1134/S0006297907120139
6. Pat. 2275960 Russian Federation, MPK B01J23/44, B01J27/199, B01J27/26, C07C49/10. Katalizator i sposob poluchenija metiljetilketona [Transceiver] / Matveev K. I., Zhizhina E. G., Odyakov V. F., Fedotov F. V., Balashov A. L.; the applicant and the patentee Boreskov Institute of Catalysis SB RAS, Limited Liability Company “Synthesis Engineering”. – № 2004125499/04; appl. 19/08/04; publ. 10.05.06, Bull. Number 13. – 13 p.
7. Rodikova Yu.A. Catalytic way of transforming 2,3-dimethylphenol to *para*-quinone with the use of vanadium-containing

- heteropoly acids / Yu. A. Rodikova, E. G. Zhizhina, Z. P. Pai // Appl. Catal. A. – 2018. – Vol. 549. – P. 216–224. doi: 10.1016/j.apcata.2017.09.022
8. Odyakov V. F. Synthesis of molybdovanadophosphoric heteropoly acid solutions having modified composition / V. F. Odyakov, E. G. Zhizhina, R. I. Maksimovskaya // Appl. Catal. A. – 2008. – Vol. 342(1-2). – P. 126–130. doi: 10.1016/j.apcata.2008.03.008
9. Zalomaeva O. V. Issledovanie okisleniya funktsionalizirovannykh fenolov i naftolov v hinony peroksidami v prisutstvii geterogennykh titan- i zhelezosoderzhashchikh katalizatorov [The oxidation of functionalized phenols and naphthols to quinones by peroxides in the presence of heterogeneous titanium- and iron-containing catalysts] : dis. ... of PhD in Chemistry : 02.00.15 : defense of the thesis 04.04.07 / Zalomaeva Olga Vadimovna. – Novosibirsk: BIC, 2007. – 122 p. [in Russian]
10. Wilkenhoner U. Influence of pore and crystal size of crystalline titanosilicates on phenol hydroxylation in different solvents / U. Wilkenhoner, G. Langhendries, F. V. Laar and others // J. Catal. – 2001. – Vol. 203. – P. 201–212. doi: 10.1006/jcat.2001.3308
11. Walling C. Fenton's reagent. V. Hydroxylation and side-chain cleavage of aromatics / C. Walling, R. A. Johnson // J. Am. Chem. Soc. – 1975. – Vol. 97. – P. 363–367. doi: 10.1021/ja00835a024
12. Kholdeeva O. Highly selective oxidation of alkylphenols to benzoquinones with hydrogen peroxide over silica-supported titanium catalysts: titanium cluster site versus titanium single site / O. Kholdeeva, I. Ivanchikova, M. Guidotti // Adv. Synth. Catal. – 2009. – Vol. 351(11-12). – P. 1877–1889. doi: 10.1002/adsc.200900109
13. Palacio M. Preparation, characterization and use of V_2O_5 - TiO_2 mixed xerogels as catalyst for sustainable oxidation with hydrogen peroxide of 2,3,6-trimethylphenol / M. Palacio, P. Villabril, G. Romanelli and others // Appl. Catal. A. – 2012. – Vol. 417-418. – P. 273–280. doi: 10.1016/j.apcata.2011.12.049
14. Ershov V. V. Prostranstvenno-zatrudnennye fenoly [Spatially hindered phenols] / V. V. Ershov, G. A. Nikiforov, A. A. Volod'kin. – Moscow: Chemistry, 1972. – 353 p. [in Russian]
15. Hidekel M. L. Vzaimodejstvie 2,4,6-trifenilfenoksila-1 s rastvoritelem [Interaction of 2,4,6-trifenilfenoksila-1 with a solvent] / M. L. Hidekel, G. A. Razuvaev, E. I. Novikova and others // Izvestiya AN SSSR, Seriya himicheskaja [Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.], – 1964. – № 8. – p. 1530–1532. [in Russian]
16. Odyakov V. F. Redox potentials of molybdovanadophosphoric heteropoly acids in aqueous solutions / V. F. Odyakov, E. G. Zhizhina, K. I. Matveev // Russ. J. Inorg. Chem. – 2000. – Vol. 45(8). – P. 1258–1266.

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.186>

Ученюва Ю.В.¹, Бердникова П.В.², Хлебникова Т.Б.³, Пай З.П.⁴

¹ ORCID: 0000-0002-9126-8410, ² ORCID: 0000-0001-9275-4659,

³ ORCID: 0000-0002-3366-9128, Кандидат химических наук, ⁴ ORCID: 0000-0002-4622-5323, Доктор технических наук, Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН

Работа выполнена при поддержке Российской Академии наук и Федерального Агентства Научных организаций (проект №0303-2016-0008)

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В УСЛОВИЯХ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИЗА

Аннотация

Проблема комплексной переработки возобновляемого сырья с использованием экологически безопасных и малоотходных технологий приобретает всю большую актуальность. Природные соединения являются удобными объектами для окислительной трансформации с получением ряда практически важных веществ. Использование бифункциональных катализаторов на основе пероксополоксометаллатов в сочетании с четвертичными аммонийными катионами – перспективное направление для осуществления реакции окисления пероксидом водорода непредельных соединений природного происхождения, таких как ненасыщенные жирные кислоты, терпены и кумарины.

Ключевые слова: катализ, ненасыщенные жирные кислоты, терпены, кумарины, окисление, пероксид водорода.

Uchenova Yu.V.¹, Berdnikova P.V.², Khlebnikova T.B.³, Pai Z.P.⁴

¹ ORCID: 0000-0002-9126-8410, ² ORCID: 0000-0001-9275-4659,

³ ORCID: 0000-0002-3366-9128, PhD in Chemistry, ⁴ ORCID: 0000-0002-4622-5323, PhD in Chemistry, Boreskov Institute of Catalysis of SB RAS

This work was supported by the Russian Academy of Sciences and the Federal Agency of Scientific Organizations (Project No. 0303-2016-0008)

OXIDATIVE TRANSFORMATION OF NATURAL COMPOUNDS UNDER CONDITIONS OF INTER-PHASE CATALYSIS

Abstract

The problem of complex processing of renewable raw materials using environmentally safe and low-waste technologies is now becoming increasingly important. Natural compounds are convenient objects for oxidative transformation with the production of a number of practically important substances. The use of bi-functional catalysts based on peroxypoloxometallates in combination with quaternary ammonium cations is a promising direction for carrying out the reaction of hydrogen peroxide oxidation of desaturated compounds of natural origin such as desaturated fatty acids, terpenes and benzopyrones.

Keywords: catalysis, desaturated fatty acids, terpenes, benzopyrone, oxidation, hydrogen peroxide.

Лесопромышленный комплекс России насчитывает около 3 тыс. крупных и средних предприятий и базируется на лесосырьевой базе, составляющей около 1/4 мировых запасов лесных ресурсов. Древесина служит

исходным сырьем для выработки более двадцати тысяч наименований продуктов и изделий.

В настоящее время переработка отходов целлюлозно-бумажных комбинатов (ЦБК) эффективна с точки зрения экологии, но убыточна по экономическим показателям. С другой стороны, побочные продукты ЦБК являются ценным сырьем для синтеза многих практически важных соединений. Природные соединения и их производные, сочетающие высокую биологическую активность и ценные свойства, находят широкое применение во многих отраслях промышленности и сельского хозяйства. Поэтому использование этих веществ из природных источников является привлекательной альтернативой традиционному нефтехимическому подходу.

В связи с этим разработка способов утилизации крупнотоннажных отходов лесоперерабатывающих предприятий является перспективным направлением в органическом синтезе. Это касается, в первую очередь, ненасыщенных жирных кислот, в достаточном количестве выделяемых из хвойных, ландшафтных и культивируемых растений, а также природных терпенов и кумаринов.

Ненасыщенные жирные кислоты ряда C_{18} в больших количествах содержатся в маслах и жирах как растительного, так и животного происхождения. Выделяют их из натурального сырья различными методами химической переработки: прямым расщеплением масел и жиров, либо расщеплением предварительно гидрогенизированных масел. Талловое масло, являющееся побочным продуктом целлюлозно-бумажной промышленности, содержит около 60% смоляных и 35-40% жирных кислот, в последних на долю олеиновой кислоты приходится около 80 % (рис. 1) [1, С. 25]. Окисление ненасыщенных жирных кислот и их эфиров протекает с образованием эпоксидов или практически ценных алифатических карбоновых кислот, представляющих интерес в качестве индивидуальных продуктов, а также в качестве интермедиатов в синтезе биологически активных веществ. Область использования эпоксидов жирных кислот достаточно широка. Они являются стабилизаторами и пластификаторами поливинилхлорида и его сополимеров [2, Р. 285], мономерами для получения эпоксидных смол, а также востребованы как предшественники синтеза медицинских препаратов.

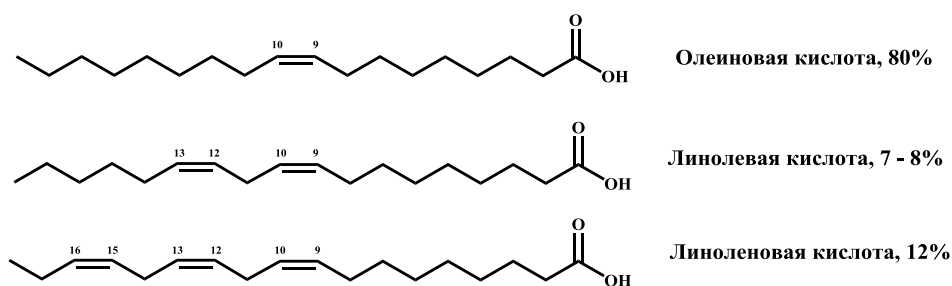


Рис. 1 – Основные ненасыщенные жирные кислоты таллового масла

При комплексной переработке внешней части березовой коры можно извлечь еще одно представляющее интерес соединение – пентациклический терпеноид – бетулин, содержание которого достигает 30% в зависимости от вида березы. Бетулин имеет широкий спектр биологической активности, играющей огромную роль в фармацевтической, парфюмерно-косметической и медицинской химии, в то же время является доступным природным соединением, достаточно легко выделяемым из исходного сырья [3, С. 93]. Бетулин и его производные обладают противораковой, антисептической, противовоспалительной, антиоксидантной, гепатозащитной, иммуномоделирующей, антивирусной и антиканцерогенной активностью [4, С. 274], [5, С. 2232].

Другим востребованным соединением, выделяемым из возобновляемого сырья, является пеucedанин – представитель класса природных кумаринов, содержание которого в корнях горчичника (*Peucedanum L.*) достигает 4%. Производные пеucedанина обладают антибактериальным, фотосенсибилизирующим, антикоагулянтным, фунгицидным, противовирусным и противораковым действием [6, С. 362].

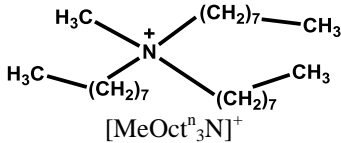
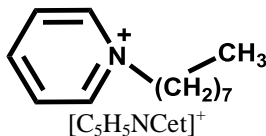
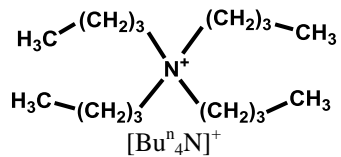
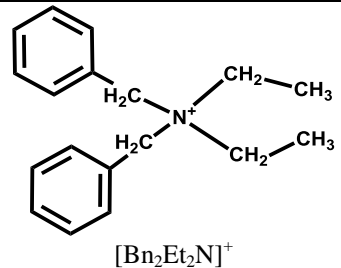
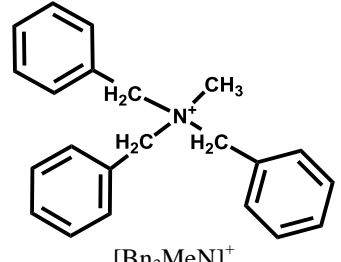
В связи с востребованностью продуктов окислительных преобразований ненасыщенных жирных кислот, их производных, а также бетулина и пеucedанина существует необходимость в изучении реакций их окисления.

Учитывая стремительное развитие межфазного катализа в последние десятилетия, идея прямого каталитического окисления непредельных углеводородов заслуживает особого внимания. Традиционные методы окисления с использованием органических гидропероксидов [7, С. 261], [8, С. 1094] имеют ряд серьезных недостатков, среди которых – многостадийность и сложность технологических схем, значительные расходы сырья; опасность в экологическом аспекте.

Одностадийное окисление органических субстратов раствором пероксида водорода с использованием каталитических систем на основе пероксополиоксометаллатов в комбинации с четвертичными аммониевыми катионами в двухфазных жидких системах является перспективным подходом получения эпокси-, гидрокси-, карбоксисоединений. Перспективность применения таких катализаторов для селективного окисления пероксидом водорода была показана в работах Ishii [9, С. 3587], Venturello [10, С. 5924], Noyori и Sato [11, С. 1977]. Проведение окислительных реакций в мягких условиях (при температурах не превышающих 100°C и атмосферном давлении), использование экологически благоприятного окислителя – пероксида водорода, доступность сырья являются определяющими факторами выбора данного подхода. Ряд окислительных реакций с использованием раствора H_2O_2 в качестве окислителя можно отнести к процессам «зеленой химии».

Настоящая работа посвящена окислительным преобразованиям природных соединений, содержащих ненасыщенные связи, таких как жирные кислоты, терпены и кумарины, 35%-ным раствором пероксидом водорода с применением катализаторов на основе пероксокомплексов вольфрама состава $Q_3\{PO_4[WO(O_2)_2]_4\}$, где Q – четвертичный аммониевый катион (табл. 1). Синтез катализаторов осуществлялся по методике, описанной в [12, Р. 341], структуру полученных комплексов подтверждали методами КР- и ИК-спектроскопии.

Таблица 1 – Синтезированные каталитические комплексы $Q_3\{PO_4[WO(O_2)_2]_4\}$ с использованием в качестве предшественника гетерополикислоты состава $H_3PW_{12}O_{40} \cdot 15.4H_2O$

п/п	Каталитическая система	Катион	Четвертичная аммониевая соль (предшественник)
1	Тетра(дипероксвольфрамо)фосфат-метилтри- <i>n</i> -октиламмоний [MeOct ⁿ ₃ N] ₃ {PO ₄ [WO(O ₂) ₂] ₄ }	 [MeOct ⁿ ₃ N] ⁺	[MeOct ⁿ ₃ N]Cl
2	Тетра(дипероксвольфрамо)фосфат- <i>N</i> -гексадецилпиридиний [C ₅ H ₅ NCet] ₃ {PO ₄ [WO(O ₂) ₂] ₄ }	 [C ₅ H ₅ NCet] ⁺	[C ₅ H ₅ NCet]Cl·H ₂ O
3	Тетра(дипероксвольфрамо)фосфат-тетра- <i>n</i> -бутиламмоний [Bu ⁿ ₄ N] ₃ {PO ₄ [WO(O ₂) ₂] ₄ }	 [Bu ⁿ ₄ N] ⁺	[Bu ⁿ ₄ N]Cl
4	Тетра(дипероксвольфрамо)фосфат-дибензилдиэтиламмоний [Bn ₂ Et ₂ N] ₃ {PO ₄ [WO(O ₂) ₂] ₄ }	 [Bn ₂ Et ₂ N] ⁺	[Bn ₂ Et ₂ N]Cl
5	Тетра(дипероксвольфрамо)фосфат-трибензилметиламмоний [Bn ₃ MeN] ₃ {PO ₄ [WO(O ₂) ₂] ₄ }	 [Bn ₃ MeN] ⁺	[Bn ₃ MeN]Br

Эксперименты по окислению проводили в стеклянном термостатируемом реакторе объемом 15 мл, снабженном обратным холодильником, при атмосферном давлении.

Эпоксидирование ненасыщенных жирных кислот и их производных протекает по схеме, изображенной на рис. 2.

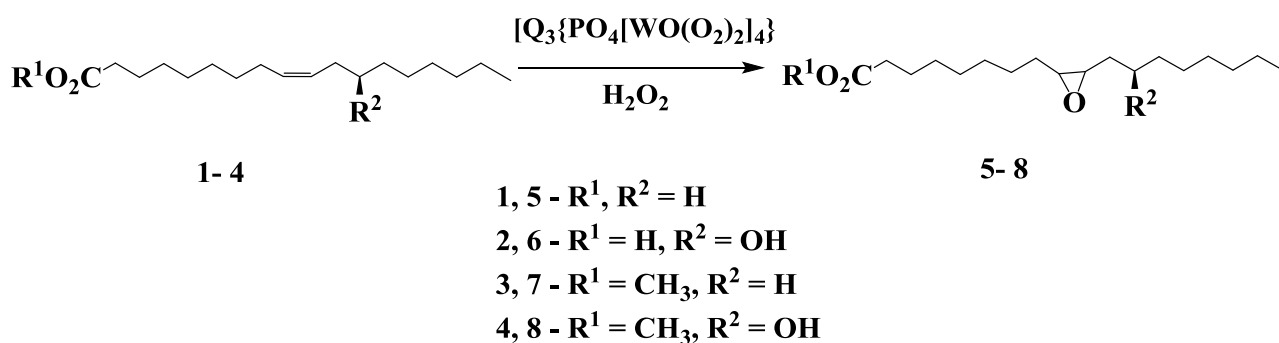


Рис. 2 – Схема эпексидирования ненасыщенных жирных кислот и их метиловых эфиров

Тестирование каталитических систем (табл. 1) проводили на примере реакции окисления метилового эфира олеиновой кислоты при концентрации катализатора в реакционном растворе не превышающей 0.1% масс. Реакцию проводили без применения органических растворителей. Роль органической фазы выполнял субстрат. Этот факт делает процесс более экологичным - «зеленым» методом синтеза эпокси соединений.

Из пяти испытанных катализаторов наибольшую каталитическую активность в реакциях эпексидирования ненасыщенных жирных кислот и их метиловых эфиров 35%-ным водным раствором пероксида водорода проявляют каталитические системы **1** и **2** (табл. 1, рис. 3). Реакцию проводили в двухфазной жидкой системе в интервале температур от 20 до 90 °С без использования растворителя.

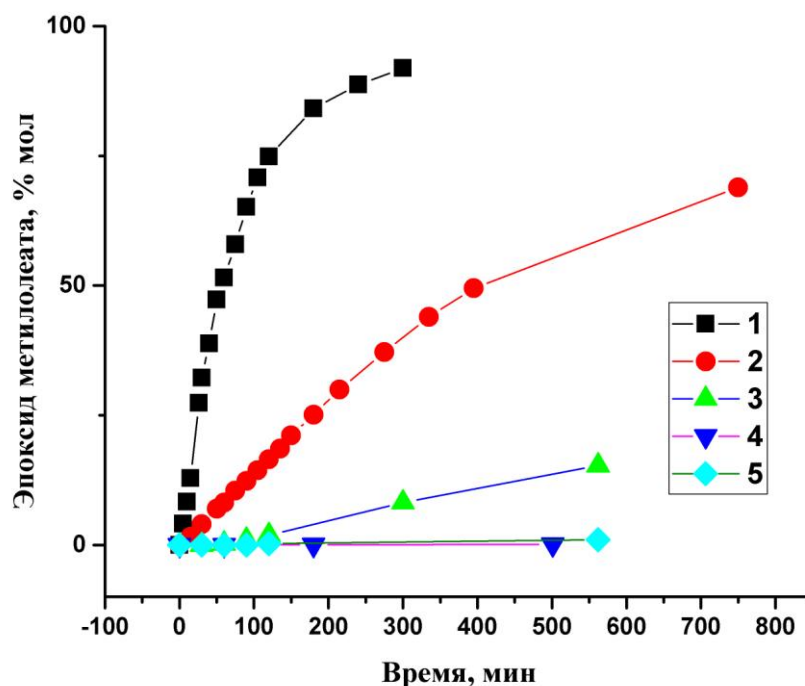


Рис. 3 – Зависимость концентрации эпоксида метилолеата (% мол) в реакционной смеси от времени при окислении метилового эфира олеиновой кислоты пероксидом водорода в присутствии различных каталитических комплексов

Примечание: условия реакции: температура – 60 °С, концентрация катализатора – 0.1% масс.

Согласно полученным данным, высокая селективность по эпоксиду (до 90%) при конверсии субстрата 95% достигается при температуре 60 °С в присутствии катализатора **1** (табл. 1) за 4 ч.

Окисление бетулина и пеуцеданина

В качестве катализаторов окисления бетулина и пеуцеданина использовали каталитические комплексы **1**, **2**, **3** (табл. 1). Было установлено, что высокая конверсия бетулина (близкая к 100%) в реакции эпексидирования раствором пероксида водорода достигается за 6 часов при температуре 70 °С в присутствии катализатора **1** в двухфазной системе, где роль органической фазы выполняет трихлорэтилен. Надо отметить, что во всех случаях окисление бетулина протекает неселективно с образованием смеси неидентифицируемых продуктов окисления. Данная проблема, вероятно, связана со строением молекулы бетулина, имеющей на ряду с ненасыщенными С=С связями, ОН-группы, которые также подвержены окислению. Для решения возникшей проблемы решили поставить ацетатную защиту на гидроксильные группы и тем самым повысить селективность. Дальнейшие исследования реакции окисления проводили уже с диацетатом бетулина.

Установлено, что окисление диацетата бетулина (рис. 4), протекает с 90% селективностью по эпоксиду при 98% конверсии субстрата в присутствии катализатора **1**, показавшего высокую активность в реакции окисления бетулина. Высокая конверсия по диацетату и селективность по эпоксиду диацетата бетулина достигается за 4 ч при температуре 60 °С при использовании хлороформа в качестве органической фазы.

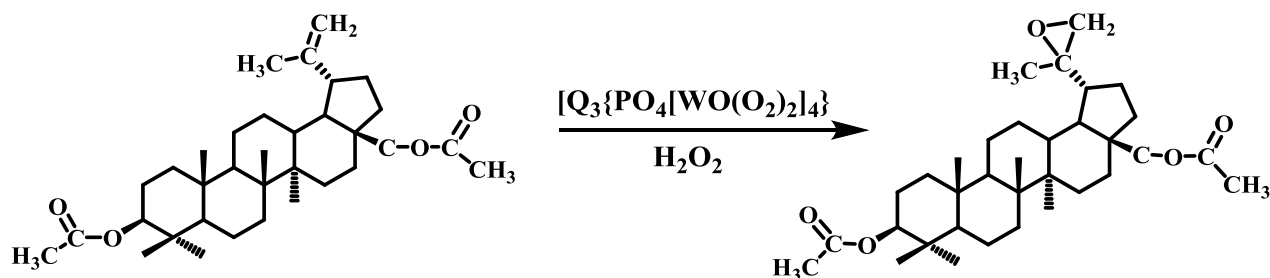


Рис. 4 – Схема окисления диацетата бетулина

Для тестирования каталитических систем на разных субстратах использовали еще одно соединение – природный кумарин – пеуцеданин, производные которого также обладают биологической активностью. Окисление пеуцеданина (рис. 5) в условиях межфазного катализа с использованием катализатора **2** при температуре 80 °С

протекает в течение 1 часа при 5-кратном избытке окислителя. Обнаружено, что образующийся эпексид претерпевает перегруппировку в 2-гидроксиореозелон. Установлено, что при 100% конверсии субстрата достигается 95% селективности по кетоспирту.

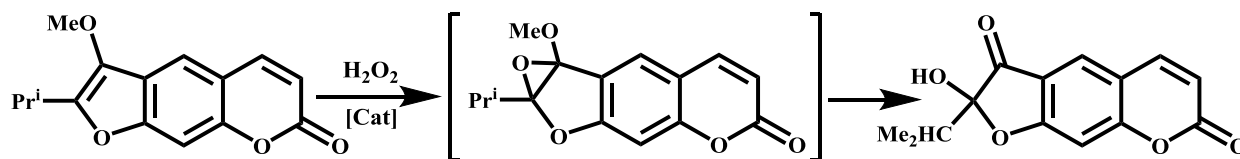


Рис. 5 – Схема окисления пецеданина

Заключение.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в указанных условиях:

- наибольшую каталитическую активность для реакций окисления пероксидом водорода проявил каталитический комплекс состава $[\text{MeOst}^n\text{N}]_3\{\text{PO}_4[\text{WO}(\text{O}_2)_2]_4\}$;
- при эпоксирировании метилового эфира олеиновой кислоты раствором пероксида водорода можно достигать высокой селективности по эпоксиду при 95% конверсии субстрата;
- эпоксирирование диацетата бетулина протекает с 90% селективностью по эпоксиду при 98% конверсии;
- при окислении пецеданина в условиях межфазного катализа образующийся эпексид претерпевает перегруппировку с образованием 2-гидроксиореозелона.

В целом полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения бифункциональных катализаторов на основе пероксокомплексов вольфрама в реакциях окисления природных соединений, содержащих связи C=C с получением биологически активных соединений.

Список литературы / References

1. Чернова И.К. Талловое масло – перспективный источник для получения индивидуальных жирных кислот / И.К. Чернова, Л.М. Соболева, Е.И. Филимонова, В.В. Соловьев, Б.Н. Бычков // *Химическая промышленность*. – 2001. - № 7. – С. 25-29.
2. Rouane A. Effect of sunflower oil on the mechanical permanence and the thermal properties of poly (vinyl chloride) / A. Rouane, D. Zerroukid, M.T. Benaniba // *Energy Procedia*. – 2014. – Vol. 50. – P. 285–289. doi:10.1016/j.egypro.2014.06.035
3. Кузнецова С.А. Выделение бетулина из бересты березы и изучение его физико-химических и фармакологических свойств / С.А. Кузнецова, Г.П. Скворцова, Ю.Н. Маляр, Е.С. Скурыдина, О.Ф. Веселова // *Химия растительного сырья*. – 2013. – №2. – С. 93-100. doi:10.14258/jcprm.201302093
4. Laavola M. Betulin derivatives effectively suppress inflammation in Vitro and in Vivo / M. Laavola, R. Haavikko, M. Hämäläinen, T. Leppänen, R. Nieminen, S. Alakurtti, V.M. Moreira, J. Yli-Kauhaluoma, E. Moilanen // *Journal of Natural Products*. – 2016. – Vol. 79(2). – P. 274-280. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b00709
5. Tsepaveva O.V. Design, synthesis, and cancer cell growth inhibitory activity of triphenylphosphonium derivatives of the triterpenoid botulin / O.V. Tsepaveva, A.V. Nemtarev, T.I. Abdullin, L.R. Grigor'eva, E.V. Kuznetsova, R.A. Akhmadishina, L.E. Ziganshina, H.H. Cong, V.F. Mironov // *Journal of Natural Products*. – 2017. – Vol. 80(8). – P. 2232-2239. doi:10.1021/acs.jnatprod.7b00105
6. Осадчий С.А. Исследования растительных кумаринов. Сообщение 1. Некоторые превращения пецеданина. / С.А. Осадчий, Э.Э. Шульц, М.М. Шакиров, Г.А. Толстиков // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2006. – № 2. – С. 362-366.
7. Sobczak J.M. Molybdenum complex-catalysed epoxidation of unsaturated fatty acids by organic hydroperoxides / J.M. Sobczak, J.J. Ziolkowski // *Applied Catalysis A. General*. – 2003. – Vol. 248(1-2). – P. 261-268. doi:10.1016/S0926-860X(03)00165-0
8. Milchert E. Optimization of the epoxidation of rapeseed oil with peracetic acid / E. Milchert, A. Smagowicz, G. Lewandowski // *Organic Process Research and Development*. – 2010. Vol. 14(5). – P. 1094-1101. doi:10.1021/op900240p
9. Ishii Y. Hydrogen peroxide oxidation catalyzed by heteropoly acids combined with cetylpyridinium chloride: epoxidation of olefins and allylic alcohols, ketonization of alcohols and diols, and oxidative cleavage of 1,2-diols and olefins / Y. Ishii, K. Yamawaki, T. Ura, H. Yamada, T. Yoshida, M. Ogawa // *Journal of Organic Chemistry*. – 1988. – Vol. 53(15). – P. 3587-3593. doi:10.1021/jo00250a032
10. Venturello C. Selective oxidation of alcohols and aldehydes with hydrogen peroxide catalyzed by methyltriocetylammmonium tetrakis(oxodiperoxotungsto)phosphate(3-) under two-phase conditions / C. Venturello, M. Gambaro // *Journal of Organic Chemistry*. – 1991. – Vol. 56(20). – P. 5924-5931. doi:10.1021/jo00020a040
11. Noyori R. Green oxidation with aqueous hydrogen peroxide / R. Noyori, M. Aoki, K. Sato // *Chemical Communications*. – 2003. – Vol. 16. – P. 1977-1986. doi:10.1039/B303160H
12. Kochubey D.I. Structure and properties of tungsten peroxopolyoxo complexes-promising catalysts for organics oxidation. II. Cation type influence on the tungsten peroxocomplex structure / Dmitry I. Kochubey, Polina V. Berdnikova, Zinaida P. Pai, Yuriy A. Chesalov, Vladislav V. Kanazhevskiy, Tatiana B. Khlebnikova // *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*. – 2013. – Vol. 366. – P. 341-346. doi:10.1016/j.molcata.2012.10.013

Список литературы на английском языке / References in English

1. Chernova I.K. Tallovoe maslo – perspektivnyj istochnik dlja poluchenija individual'nyh zhirnyh kislot [Tall oil is a promising source for the production of individual fatty acids] / I.K. Chernova, L.M. Soboлева, E.I. Filimonova, V.V. Solov'ev, B.N. Bychkov // *Himicheskaja promyshlennost'* [Chemical industry]. – 2001. - № 7. – P. 25-29. [in Russian]
2. Rouane A. Effect of sunflower oil on the mechanical permanence and the thermal properties of poly (vinyl chloride) / A. Rouane, D. Zerroukid, M.T. Benaniba // *Energy Procedia*. – 2014. – Vol. 50. – P. 285–289. doi:10.1016/j.egypro.2014.06.035

3. Kuznecova S.A. Vyделение betulina iz beresty berezy i izuchenie ego fiziko-himicheskikh i farmakologicheskikh svoystv [Isolation of betulin from birch bark and study of its physicochemical and pharmacological properties] / S.A. Kuznecova, G.P. Skvorcova, Ju.N. Maljar, E.S. Skurydina, O.F. Veselova // Himija rastitel'nogo syr'ja [Chemistry of plant raw materials]. – 2013. – №2. – P. 93-100. [in Russian]
4. Laavola M. Betulin derivatives effectively suppress inflammation in Vitro and in Vivo / M. Laavola, R. Haavikko, M. Hämäläinen, T. Leppänen, R. Nieminen, S. Alakurtti, V.M. Moreira, J. Yli-Kauhaluoma, E. Moilanen // Journal of Natural Products. – 2016. – Vol. 79(2). – P. 274-280. doi:10.1021/acs.jnatprod.5b00709
5. Tsepaeva O.V. Design, synthesis, and cancer cell growth inhibitory activity of triphenylphosphonium derivatives of the triterpenoid botulin / O.V. Tsepaeva, A.V. Nemtarev, T.I. Abdullin, L.R. Grigor'eva, E.V. Kuznetsova, R.A. Akhmadishina, L.E. Ziganshina, H.H. Cong, V.F. Mironov // Journal of Natural Products. – 2017. – Vol. 80(8). – P. 2232-2239. doi:10.1021/acs.jnatprod.7b00105
6. Osadchij S.A. Issledovaniya rastitel'nykh kumarinov. Soobshchenie 1. Nekotorye prevrashheniya peucedanina [Research of plant coumarins. Communication 1. Some transformations of pulecdanin]. / C.A. Osadchij, Je.Je. Shul'c, M.M. Shakirov, G.A. Tolstikov // Izvestiya Akademii nauk. Seriya himicheskaya [Russian Chemical Bulletin. Chemical series] – 2006. – № 2. –P. 362-366. [in Russian]
7. Sobczak J.M. Molybdenum complex-catalysed epoxidation of unsaturated fatty acids by organic hydroperoxides / J.M. Sobczak, J.J. Ziolkowski // Applied Catalysis A. General. – 2003. – Vol. 248(1-2). – P. 261-268. doi:10.1016/S0926-860X(03)00165-0
8. Milchert E. Optimization of the epoxidation of rapeseed oil with peracetic acid / E. Milchert, A. Smagowicz, G. Lewandowski // Organic Process Research and Development. – 2010. Vol. 14(5). – P. 1094-1101. doi:10.1021/op900240p
9. Ishii Y. Hydrogen peroxide oxidation catalyzed by heteropoly acids combined with cetylpyridinium chloride: epoxidation of olefins and allylic alcohols, ketonization of alcohols and diols, and oxidative cleavage of 1,2-diols and olefins / Y. Ishii, K. Yamawaki, T. Ura, H. Yamada, T. Yoshida, M. Ogawa // Journal of Organic Chemistry. – 1988. – Vol. 53(15). –P. 3587-3593. doi:10.1021/jo00250a032
10. Venturello C. Selective oxidation of alcohols and aldehydes with hydrogen peroxide catalyzed by methyltriethylammonium tetrakis(oxodiperoxotungsto)phosphate(3-) under two-phase conditions / C. Venturello, M. Gambaro // Journal of Organic Chemistry. – 1991. –Vol. 56(20). –P. 5924-5931. doi:10.1021/jo00020a040
11. Noyori R. Green oxidation with aqueous hydrogen peroxide / R. Noyori, M. Aoki, K. Sato // Chemical Communications. – 2003. –Vol. 16. – P. 1977-1986. doi:10.1039/B303160H
12. Kochubey D.I. Structure and properties of tungsten peroxopolyoxo complexes-promising catalysts for organics oxidation. II. Cation type influence on the tungsten peroxocomplex structure / Dmitry I. Kochubey, Polina V. Berdnikova, Zinaida P. Pai, Yuriy A. Chesalov, Vladislav V. Kanazhevskiy, Tatiana B. Khlebnikova // Journal of Molecular Catalysis A: Chemical. – 2013. – Vol. 366. – P. 341-346. doi:10.1016/j.molcata.2012.10.013



AGRIS

Международный научно-исследовательский журнал теперь индексируется в Agris.

Статьи, размещаемые в Agris, имеют статус публикаций ВАК.

AGRIS (International System for Agricultural Science and Technology) – это международная библиографическая база данных с более чем 7.5 млн структурированных библиографических данных по сельскому хозяйству и смежным дисциплинам.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ / BIOLOGYDOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.66.217>Чевердин Ю.И.¹, Беспалов В.А.², Титова Т.В.³¹ORCID: 0000-0002-9905-0547, доктор биологических наук,²ORCID: 0000-0001-6787-929X, кандидат биологических наук,³ORCID: 0000-0002-6435-5455, кандидат биологических наук,

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Центрально-Черноземной полосы имени В.В. Докучаева

**ВЛИЯНИЕ АГРОЛЕСОМЕЛИОРАТИВНОГО КОМПЛЕКСА КАМЕННОЙ СТЕПИ НА
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЧЕРНОЗЕМОВ****Аннотация**

Исследования проведены в НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева. Целью наших исследований являлась оценка варьирования статистических показателей основных морфометрических свойств черноземов Каменной Степи. Для оценки длительного антропогенного влияния на почвенный профиль на плоском водоразделе в 2016-2017 гг. была осуществлена закладка опытного участка площадью 2 га с наложением регулярной сетки скважин ручного бурения. Исследованию подверглись объекты (залежь, пашня, лесополоса), смежно расположенные на данном участке. Почва опытного участка представлена четырьмя подтипами черноземов: обыкновенным, типичным, выщелоченным и перерывным.

Представлены материалы, характеризующие распределение основных морфометрических характеристик черноземов Каменной Степи. Показана детальная пестрота мощности темно-гумусового горизонта А, гумусового горизонта в целом, которая совпадает с нижней границей горизонта АВ на ровном ключевом участке, типичном для центральной части черноземной зоны России. Рассчитаны статистические характеристики мощности гумусового горизонта, глубины вскипания, как для объектов исследования, так и для различных подтипов черноземов. Наиболее заметно черноземы различаются по глубине появления сплошной пропитки карбонатами кальция (глубина вскипания изменяется от 1 до 95 см). Максимальные значения глубины вскипания отмечены в почвах залежи и под лесной полосой – 68 и 63 см соответственно. Варьирование глубины вскипания обусловлено формой рельефа, роющей деятельностью животных, эрозионными процессами и сезонным изменением уровня грунтовых вод.

Ключевые слова: чернозем, подтипы черноземов, гумусовый горизонт, пространственное варьирование, глубина вскипания, агролесомелиоративный комплекс, Каменная Степь.

Cheverdin Yu.I.¹, Besspalov V.A.², Titova T.V.³¹ORCID: 0000-0002-9905-0547, PhD in Biology,²ORCID: 0000-0001-6787-929X, PhD in Biology,³ORCID: 0000-0002-6435-5455, PhD in Biology,

Scientific and Research Institute of Agriculture of the Central Black Earth Region named after V.V. Dokuchaev,

**INFLUENCE OF AGROFORESTRY STONE STEPPE COMPLEX ON MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS
OF CHERNOZEM****Abstract**

The research was carried out in Scientific and Research Institute of Agriculture of the Central Black Earth Region named after V.V. Dokuchaev. The purpose of this study was to estimate the variation in the statistical characteristics of the main morphometric properties of chernozems in the Stone Steppe. In order to estimate the long-term anthropogenic impact on the soil profile on the flat watershed in 2016-2017, a pilot plot of 2 hectares with a regular grid of hand drilling wells was laid. The objects (reservoir, arable land, forest belt) adjacent to this site were examined and the soil of the experimental site was represented by four subtypes of chernozems: ordinary, typical, leached and dug up.

Materials describing the distribution of the main morphometric characteristics of the chernozems of the Stone Steppe are presented in the paper. A detailed variegation of the thickness of the dark humus horizon A, and the humus horizon as a whole are presented, they coincide with the lower boundary of the horizon AB, on an flat key section typical of the central part of the chernozem zone of Russia. The statistical characteristics of the thickness of the humus horizon, the depth of effervescence, both for the objects of investigation and for various subtypes of chernozems are calculated. Chernozems most noticeably, differ in the depth of emerging of continuous impregnation with calcium carbonates (the depth of effervescence varies from 1 to 95 cm). The maximum values of the depth of effervescence were recorded in the soils of deposits and in the forest belt - 68 and 63 cm, respectively. Varying the depth of effervescence is due to the shape of the relief, the digging activity of animals, erosion processes and seasonal changes in the water table.

Keywords: chernozem, chernozem subtypes, humus horizon, spatial variation, depth of effervescence, agroforestry complex, Stone Steppe.

Введение. Уникальным научным объектом, где давно ведутся разнообразные исследования, является Каменная Степь. Давайте вспомним интереснейшие слова наших классиков почвоведения, их труды - кладезь мудрости, бесценный дар для последующих поколений ученых. В.В. Докучаев, Н.М. Сибирцев в «Трудах Экспедиции В.В. Докучаева» [3, С. 25] о задачах этой интереснейшей экспедиции писали следующее: «...если желают поставить русское сельское хозяйство на твердые ноги ..., необходимо, чтобы ...все естественноисторические факторы (почва, климат с водой и организмы) - были бы исследованы и испытаны ...всесторонне и непременно во взаимной их связи». В.И. Турусов, Ю.И. Чевердин в статье «Каменная Степь: краткие итоги и направления почвенных исследований» [10, С. 6-7] подчеркивают: «Сеть гидротехнических сооружений и система лесополос, которая создавалась по плану В.В. Докучаева, а также, коренным образом, преобразованный степной ландшафт, служат основой наблюдений за трансформацией почвенного покрова для многих поколений ученых. Очень ценные научные данные являются тем

фундаментом, на основе которого возможна разработка долгосрочных прогнозов эволюционного развития и трансформации почв Центрального Черноземья». П.Н. Балабко и др., в статье «Получение информации о пространственном варьировании факторов почвенного плодородия в пределах поля с использованием наземных и дистанционных методов исследования» [4, С. 30-38] констатируют, что «в последнее время отмечается значительное сокращение количества мониторинговых исследований, снижение их качества и, за счет этого, уменьшение количества получаемой информации». В связи с этим, возросла актуальность детальных наблюдений за изменением свойств черноземных почв, необходимость проведения картографирования почвенного покрова на основе закладки отдельных ключевых участков. Полученные детальные данные будут являться основой для составления электронных карт с использованием морфометрических характеристик почвенного профиля, являясь теоретической основой для разработок систем точного земледелия [4, С. 89-92], [5, С. 15-27].

Целью наших исследований являлась оценка изменения морфометрических показателей черноземов Каменной Степи под влиянием агролесомелиоративного комплекса.

Объекты и методы исследований. В 2016-2017 гг. в НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева нами был заложен опытный участок площадью 2 га, на территории которого проводилось бурение скважин, чтобы оценить длительное влияние агролесомелиоративного комплекса на почвенный профиль черноземных почв, находящихся в Каменной Степи. Для отбора почвенных образцов использовали сетку вышеприведенных скважин с квадратной ячейкой 25×25 м. Таким образом, было исследовано 88 точек опробования (скважин). Для удобства работы была создана база данных, включающая номер точки, ее координаты, определенные с помощью GPS, название почвы, количественные значения морфометрических показателей.

Запланированные исследования были рассчитаны нами на длительный период, но отборы решено было проводить через 5; 10; 15; 25; 50 лет. С помощью бурения устанавливали мощность генетических горизонтов, которые различались окраской и формой выделения CaCO_3 (определение вскипания проводили с помощью 10 %-ной HCl), чтобы диагностировать подтипы черноземов. Почвенные пробы отбирали сплошной колонкой. Глубина отбора примерно равнялась глубине залегания генетических горизонтов, а именно, 0-20, 20-30, 30-50, 50-70, 70-100, 100-120, 120-150, 150-170 и 170-200 см. В качестве объектов исследования были выбраны участки водораздела, включающие 135-летнюю косимую залежь заповедника № 1; 65-летнюю пашню; 25-летнюю пашню; лесополосу № 40.

Заповедник № 1 расположен между лесной полосой № 40 (с запада) и южным селекционным севооборотом (с востока). Залежь косимая 135-летняя представлена разнотравьем, которое ежегодно скашивается.

Для проведения длительных, детальных исследований был специально создан уникальный участок молодой пашни, который начали эксплуатировать 25 лет назад, находящийся на краю косимой залежи (юг заповедника № 1). Участок пашни 65-летнего возраста является смежным с косимой залежью и пашней 25-летнего возраста.

Лесная полоса № 40 полевосащного назначения посажена Н.Я. Михайловым в 1903 г., ее возраст в начале исследований составлял 113 лет. Она расположена на плакорном водораздельном участке с севера на юг поперек господствующим юго-восточным ветрам. По данным В.С. Вавина и др., приведенных в книге «Создание долговечных защитных насаждений в условиях юго-востока ЦЧЗ» [6, С. 124-138], «общая площадь древостоя лесополосы № 40 составляет 8,80 га, протяженность лесной полосы - 746 м, ширина - 118 м. В настоящее время схема древостоя включает, в основном, дуб (Д), ясень остролистный (Яо), в подлеске единично встречается клен остролистный (Ко) – 4Д 4Яо 2Кяс, ед. Ко. Полнота древостоя составляет 0,9, высота – 17,2-27,3 м».

Почвенный покров заложенных для длительного изучения участков состоит из 4-х компонентной пятнистости черноземов обыкновенных (Чо) (агрочерноземов сегрегационных), черноземов типичных (Чт) (агрочерноземов миграционно-мицелярных), черноземов зоотурбированных (перерых) (Чзтр) (агрочерноземов зоотурбированных) и черноземов выщелоченных (Чв) (агрочерноземов глинисто-иллювиальных). В скобках указана почвенная классификация 2004 г.

Результаты и обсуждение. Учитывая особенности структуры почвенного покрова, нами были получены статистические характеристики изменения морфометрических показателей черноземов Каменной Степи, отражающие мощность и глубину залегания границ почвенных горизонтов в зависимости от того, как использовались угодья (табл. 1). Данные об изменчивости свойств почв в пространстве необходимы для решения многих задач, связанных с изучением изменения свойств почв во времени. Ю.И. Чевердин в монографии «Изменения свойств почв юго-востока Центрального Черноземья под влиянием антропогенного воздействия» [7, С. 127-142] подчеркивает: «Главными причинами, вызывающими изменение мощности гумусового горизонта почвы, являются следующие: усиленная минерализация ее органических компонентов вследствие интенсивной обработки и применения минеральных удобрений; недостаточное поступление корневых и пожнивных остатков, а также, органических удобрений. В пахотных черноземах в современных условиях невозможно восстановить мощность гумусового горизонта до целинного уровня».

Следующие морфометрические показатели подвергались нами статистической обработке: мощность темно-гумусового горизонта А (для пашни - Апах+А; для залежи - Адер+А; для лесной полосы - Ао+А); глубина нижней границы переходного горизонта АВ (численно этот показатель совпадает с общей мощностью гумусового слоя Апах (Адер, Ао)+А+АВ, см); глубина верхней границы сплошного вскипания почвы от 10%-ной HCl , см, характеризующая появление заметного количества карбонатов кальция в профиле почвы.

В таблице 1 представлены статистические данные распределения мощности горизонта Апах (Адер, Ао)+А черноземов исследуемых объектов Каменной Степи.

Таблица 1 – Статистика распределения показателя мощности темно-гумусового горизонта А

Показатели статистики	Залежь 135 лет	ЛП-40	Пашня 65 лет	Пашня 25 лет
Среднее, см	41	44	27	30
Стандартная ошибка	1,1	1,1	1,2	1,6
Медиана	42	46	27	30
Мода	40	50	30	38
Стандартное отклонение	5,0	7,0	4,7	5,4
Интервал, см	18	23	17	16
Минимум, см	30	30	20	22
Максимум, см	48	53	37	38
Уровень надежности (95,0%)	2,3	2,3	2,6	3,4
Коэффициент вариации, %	12	16	17	18

В результате ежегодной обработки происходит равномерное перемешивание гумусового слоя. Это, существенным образом, отражалось на значении мощности темно-гумусового горизонта А. В почве пашни средние значения величины Апах+А были существенно ниже, чем на залежи. Пахотный участок 25-летнего возраста имел среднее значение мощности, равное $30,0 \pm 1,6$ см, что ниже показателей залежи на 11 см. Интервал между максимальным и минимальным значениями составлял 16 см. На пахотном участке с наиболее длительным сроком использования (65-летняя пашня) средняя мощность темно-гумусового горизонта А составила всего $27,0 \pm 1,2$ см. Минимальными значениями отмечены также максимум и минимум – 37 и 20 см соответственно. Максимальным значением мощности горизонта А₀+А отмечена старовозрастная лесополоса. Среднее значение здесь оказалось даже выше, чем на залежи и составило $44,0 \pm 1,1$ см. Максимум в лесной полосе тоже оказался самым высоким – 53 см. Данная мощность накапливалась, по нашему мнению, за счет ежегодного листового опада.

Статистика обработанных данных указывает на то, что значения коэффициента вариации мощности темно-гумусового горизонта А среди объектов исследования не превышают 18 %, что позволяет судить о равномерном распределении этого показателя по поверхности.

В таблице 2 представлены данные статистически распределения мощности горизонта Апах (Адер, А₀)+А в различных подтипах черноземов Каменной Степи. Большинство почв Каменной Степи имеют сходный диапазон изменения и средние значения мощности суммы пахотного и гумусового горизонтов (Апах+А). Минимальные значения этого показателя варьируют от 20 до 28 см для разных групп почв; медиана – от 30 до 45 см; среднее арифметическое – от 33 до 43 см; максимальные значения – от 48 до 53 см. Наиболее низкие значения медианы и среднего арифметического мощности (Апах+А) характерны для зоотурбированных черноземов и агрочерноземов.

Таблица 2 – Статистика распределения показателя мощности темно-гумусового горизонта А в различных подтипах черноземов

Показатели статистики	Ч ₀	Ч _т	Ч _в	Ч _{зтр}
Среднее, см	43	42	40	33
Стандартная ошибка	1,9	2,0	1,8	1,4
Медиана	45	45	42	30
Мода	48	45	50	30
Стандартное отклонение	7,1	9,2	8,7	7,4
Интервал, см	25	30	30	28
Минимум, см	28	22	22	20
Максимум, см	53	52	52	48
Уровень надежности (95,0%)	4,1	4,2	3,7	2,8
Коэффициент вариации, %	16,3	21,8	21,7	22,6

В агрочерноземах, обычно, наблюдается только пахотный горизонт Апах, глубже которого залегает сильно перерывный животными горизонт АВ_{са}. В большинстве случаев, пахотный горизонт содержит карбонаты кальция, которые равномерно распределены по всей его толще. По мнению Н.Б.Хитрова и др., в статье «Варьирование морфометрических характеристик почв Каменной Степи» [8, С. 72-91] «это свидетельствует о примеси материала расположенных ниже карбонатных горизонтов с последующей его гомогенизацией с материалом гумусового горизонта сначала роющими животными, а в дальнейшем - в результате ежегодной вспашки».

Для обыкновенных, типичных и выщелоченных черноземов, расположенных на водоразделе, средние арифметические темно-гумусового горизонта А для данных подтипов черноземов равны, соответственно, $43,0 \pm 1,9$, $42,0 \pm 2,0$ и $40,0 \pm 1,8$ см. Это обусловлено равномерным перемешиванием гумусового слоя в результате ежегодного механического перемешивания верхнего обрабатываемого горизонта почвы.

Детальными исследованиями почвенного покрова Каменной Степи была отмечена сходность диапазона

изменения и средних мощностей гумусового горизонта. Преобладающими являются среднемощные виды (до 80 см), что отмечено многими исследователями, работавшими в Каменной Степи [9, С. 18-20], [1, С. 54-62].

Черноземы Каменной Степи наиболее контрастно отличаются по глубине верхней границы появления CaCO_3 (линии вскипания, определенной с помощью 10 %-ной HCl) (табл. 3). Из изучаемых объектов Чзтр характеризовались наименьшей глубиной вскипания, что, по-видимому, связано с механическим переносом и перемешиванием материала аккумулятивно-карбонатного горизонта вверх и гумусового слоя вниз в результате интенсивной деятельности животных (слепышей, сурков, сусликов), которые перекапывают почву.

Таблица 3 – Статистические показатели распределения глубины вскипания у различных подтипов черноземов

Показатели статистики	Чо	Чт	Чв	Чзтр
Среднее, см	68	68	81	37
Стандартная ошибка	1,7	1,6	1,8	2,4
Медиана	69,5	68	82,5	38
Мода	75	60	85	30
Стандартное отклонение	6,4	7,6	8,6	12,8
Интервал, см	21	22	35	59
Минимум, см	55	58	60	1
Максимум, см	76	80	95	60
Уровень надежности (95,0%)	3,7	3,4	3,6	4,9
Коэффициент вариации, %	9,4	11,0	10,6	34,7

В результате этого, глубина вскипания изменяется от 1 до 60 см, причем, медиальные значения располагаются на глубине 38 см.

Черноземы обыкновенные и типичные характеризовались проявлением карбонатов на глубине от 55 до 80 см, а средние значения для них совпадали и составляли $68,0 \pm 1,6$ см.

В черноземах выщелоченных была выявлена наибольшая глубина вскипания, в среднем, с глубины $81,0 \pm 1,8$ см. Непосредственно под гумусовым слоем (Апах+А+АВ) образовался выщелоченный от карбонатов горизонт. Его мощность равнялась разнице глубины вскипания и глубины нижней границе горизонта АВ и варьировала в Чв объектов исследования в диапазоне от 1 до 25 см. Наблюдаемые диапазоны изменения мощности выщелоченного от карбонатов горизонта отлично согласуются с условиями дополнительного поступления стока с поверхности и предполагаемого промывания почвенного профиля. Обработка почвы с оборотом пласта, существенным образом, уменьшила глубину вскипания. Это связано, скорее всего, с изменением водного режима агрочерноземов.

В численных выражениях глубина вскипания изменялась от 1 до 95 см. Варьирование этого показателя обусловлено, по нашему мнению, различной формой рельефа, деятельностью животных, перекапывающих почву, процессами, вызванными эрозией, а также изменением уровня грунтовых вод по сезонам года.

Выводы. Основные морфометрические показатели почвенного плодородия черноземов Каменной Степи, такие как мощность темно-гумусового горизонта А или Апах+А, мощность гумусового слоя в целом (Апах+А+АВ), глубина вскипания, характеризуются значительным варьированием в пространстве.

Зоотурбированные черноземы характеризовались более низкими значениями медианы и среднего арифметического мощности (Апах+А). Обыкновенные, типичные и выщелоченные черноземы, расположенные на водоразделе, имели максимально приближенные значения медиан и средних величин (Апах+А). При сравнении средних величин нижней границы горизонта АВ (по t-критерию Стьюдента), получены достоверные отличия этого показателя на пашне ($t_{\text{расч.}} = 2,83 > t_{\text{таб.}} = 2,04$) и ЛП-40 ($t_{\text{расч.}} = 5,53 > t_{\text{таб.}} = 2,04$), по сравнению с залежью, находящейся в режиме косимой степи.

Наиболее заметно черноземы различаются по глубине появления сплошной пропитки карбонатами кальция (глубина вскипания изменяется от 1 до 95 см). Максимальные значения глубины вскипания отмечались в почвах залежи и под лесополосой. Варьирование глубины вскипания обусловлено различной формой рельефа, деятельностью животных, перекапывающих почву, процессами, вызванными эрозией, а также изменением уровня грунтовых вод по сезонам года.

Рассматривая отдельные подтипы черноземов, можно определенно констатировать, что наименьшую глубину вскипания имеют Чзтр, в связи с механическим переносом и перемешиванием материала аккумулятивно-карбонатного горизонта вверх и гумусового слоя вниз, в результате роющей деятельности животных. Наибольшая глубина вскипания отмечена в черноземах выщелоченных, в среднем, с глубины $81,0 \pm 1,8$ см.

Список литературы / References

1. Адерихин П.Г. Почвы опытных полей Института им. Докучаева Таловского района Воронежской области и рекомендации по их использованию / П.Г. Адерихин, И.И. Ковалев, Л.И. Кульчицкая. – Воронеж: ВГУ, 1984. – С. 54-62.
2. Беспалов В.А. Пространственно-временное варьирование основных показателей плодородия черноземов Каменной Степи: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.13: защищена 15.05.2012 / Беспалов Владимир Алексеевич. – Каменная Степь, 2012. – 209 с.
3. Докучаев В.В. Труды Экспедиции В.В. Докучаева / В.В. Докучаев, Н.М. Сибирцев. – Т. 1-2. Вып. 1. – СПб, 1894. – С. 24-27.

4. Балабко П.Н. Получение информации о пространственном варьировании факторов почвенного плодородия в пределах поля с использованием наземных и дистанционных методов исследования / П.Н. Балабко, Т.Б. Кулагина, Ю.Л. Мешалкина // Агроэкологическая оптимизация земледелия: Сб. докл. Межд. Научно-практ. конф. – Курск, 2004. С. 89-92.

5. Белик А.В. Внутрипольное варьирование плодородия лесостепных черноземов ЦЧО и урожайность сельскохозяйственных культур: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.27: защищена 27.05.2008 / Белик Антон Викторович. – Воронеж, 2008. – С. 15-27.

6. Вавин В.С. Создание долговечных защитных насаждений в условиях юго - востока ЦЧЗ / В.С. Вавин и др. – Воронеж, 2007. – С. 124-138.

7. Чевердин Ю.И. Изменения свойств почв юго-востока Центрального Черноземья под влиянием антропогенного воздействия: Монография / Ю.И. Чевердин. – Воронеж: Изд-во «Истоки». – 2013. – С. 127-142.

8. Хитров Н.Б. Варьирование морфометрических характеристик почв Каменной Степи / Н.Б. Хитров и др. // Разнообразие почв Каменной Степи: научн. тр. Почвенного института им. В.В. Докучаева, 2009. – С. 72-91.

9. Тумин Г.М. Влияние лесных полос на почву в Каменной Степи / Г.М. Тумин. – Воронеж: Коммуна, 1930. – С. 18-20.

10. Турусов В.И. Каменная Степь: краткие итоги и направления почвенных исследований/ В.И. Турусов, Ю.И. Чевердин // Плодородие. – 2016. - № 1. – С. 6-10.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Aderihin P.G. Pochvy opytnykh polej Instituta im. Dokuchaeva Talovskogo rajona Voronezhskoj oblasti i rekomendacii po ih ispol'zovaniju [Soils of skilled fields of Institute of Dokuchayev of Talovsky area of the Voronezh region and the recommendation about their use] / P.G. Aderihin, I.I. Kovalev, L.I. Kul'chickaja. – Voronezh: VGU, 1984. – P. 54-62. [in Russian]

2. Bepalov V.A. Prostranstvenno-vremennoe var'irovanie osnovnykh pokazatelej plodorodija chernozemov Kamennoj Stepi: dis. ... kand. biol. nauk: 03.02.13 [The Existential variation of the basic indicators of fertility of chernozems of Kamennaya Steppe]: diss. ... Cand.Biol.Sci.: 03.02.13: defense of the thesis 15.05.2012 / Bepalov Vladimir Alekseevich. – Kamennaya Step', 2012. – 209 p. [in Russian]

3. Dokuchaev V.V. Trudy Jekspedicii V.V. Dokuchaeva. [The Proceedings Of The Expedition Of V. V. Dokuchaev] / V.V. Dokuchaev, N.M. Sibircev. - T. 1-2. Vyp. 1. - SPb, 1894. - P. 24-27. [in Russian]

4. Balabko P.N. Poluchenie informacii o prostranstvennom var'irovanii faktorov pochvennogo plodorodija v predelakh polja s ispol'zovaniem nazemnykh i distancionnykh metodov issledovaniya [Reception of the information on a spatial variation of factors of soil fertility within a field with use of land and remote methods of research] / P.N. Balabko, T.B. Kulagina, Ju.L. Meshalkina // Agroekolo-gicheskaja optimizacija zemledelija: Sb. dokl. Mezhd. Nauchno-prakt. konf. [Agroecological optimisation of agriculture: Sat. Dokl. Int. Nauchno-prakt. Conf.] – Kursk, 2004. P. 89-92. [in Russian]

5. Belik A.V. Vnutripol'noe var'irovanie plodorodija lesostepnykh chernozemov CChO i urozhajnost' sel'skohozjajstvennykh kul'tur [Vnutripol'noe a variation of fertility of forest-steppe chernozemsCCZ and productivity of agricultural crops]: diss. ... Cand.Biol.Sci.: 03.00.27: defense of the thesis 27.05.2008 / Belik Anton Viktorovich. – Voronezh, 2008. – P. 15-27. [in Russian]

6. Vavin V.S. Sozdanie dolgovechnykh zashhitnykh nasazhdenij v uslovijah jugo - vostoka CChZ [Creation of durable protective plantings in conditions of southeast CCZ] / V.S Vavin and others / Voronezh, 2007. - P. 124-138. [in Russian]

7. Cheverdin Ju.I. Izmenenija svojstv pochv jugo-vostoka Central'nogo Chernozem'ja pod vlijaniem antropogennogo vozdejstviya: Monografija [Change of properties of soils of the southeast of the Central Chernozem region under the influence of anthropogenous influence: the Monography] / Ju.I. Cheverdin.– Voronezh: Izd-vo «Istoki». – 2013. – P. 127-142. [in Russian]

8. Hitrov N.B. Var'irovanie morfometricheskikh harakteristik pochv Kamennoj Stepi [The variation morfometrichesky characteristics of soils of Kamennaya Steppe] / N.B. Hitrov and others // Raznoobrazie pochv Kamennoj Stepi: Nauchn. tr. Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva [Thevariety of soils of Kamennaya Steppe: Proceedings Soil institute of V.V.Dokuchayev], 2009. – P. 72-91. [in Russian]

9. Tumin G.M. Vlijanie lesnyh polos na pochvu v Kamennoj Stepi [Influence of wood strips on soil in Kamennaya Steppe] / G.M. Tumin. – Voronezh: Kommuna, 1930. – P. 18-20. [in Russian]

10. Turusov V.I. Kamennaya Step': kratkie itogi i napravleniya pochvennykh issledovaniy [Stone Steppe: a brief summary and directions of soil research] / V.I. Turusov, Ju.I. Cheverdin // Plodorodie [Fertility]. – 2016. – № 1. – P. 6-10. [in Russian]