

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

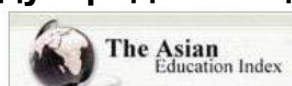
**Редакционный совет:**

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

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов материалов.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы публикуются в авторской редакции.

**Международные индексы:**



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

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

**Редакционный совет:**

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

**Художник:** Вернандский Д.К.

**Верстка:** Артемьев З.Л.

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

Научный фонд "Биолог"

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

**Адрес электронной почты:** [office@biologyfond.ru](mailto:office@biologyfond.ru)

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

**Учредитель и издатель:** Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

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

# СОДЕРЖАНИЕ

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

*Логинов Владимир Владимирович*  
ВЛИЯНИЕ УРОВЕННОГО РЕЖИМА  
НИЖЕГОРОДСКОГО ГИДРОУЗЛА НА  
ВОСПРОИЗВОДСТВО РЫБНОГО НАСЕЛЕНИЯ..... 4

## ГЕНЕТИКА

*Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Бондарь Е.И.*  
РЕВИЗИЯ РОДСТВЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ  
АРКТИЧЕСКОЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГРУППЫ  
ГОЛЬЦОВ РОДА *SALVELINUS*..... 8

## ИММУНОЛОГИЯ

*Водяницкий Е.В., Даровских С.Н.,  
Шишкова Ю.С., Вдовина Н.В.*  
О ПРОБЛЕМЕ ПРОФИЛАКТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ И НАПРАВЛЕНИИ ЕЁ  
РАЗРЕШЕНИЯ .....12

## КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

*Иванова В.В., Серебрякова О.Н., Бузенкова А.В.*  
ВЛИЯНИЕ МНОГОКРАТНОЙ АМПУТАЦИИ РЕЗЦОВ  
И ТОТАЛЬНОЙ СИАЛОАДЕНЭКТОМИИ НА  
СЕМЕННИКИ КРЫС.....16

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА

*Волков Владимир Петрович*  
НОВЫЙ АЛГОРИТМ КОМПЛЕКСНОЙ  
СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В  
МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЯХ.....21

## МИКОЛОГИЯ

*Массалимов И.А., Ахмед Исмаил Саит Ахмет  
Самсонов М.Р., Ишмухаметов А.А.*  
СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАДИЦИОННЫХ  
АНТИГРИБКОВЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С  
МИКРО- И НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЫ.....25

## МИКРОБИОЛОГИЯ

*Киселева Е.П., Михайлопуло К.И., Новик Г.И.*  
ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА КРОЛИКА,  
ИММУНИЗИРОВАННОГО КЛЕТКАМИ *BACILLUS*  
*CEREUS* БИМ В-491: ПОЛУЧЕНИЕ И ВОЗМОЖНЫЕ  
ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ..... 29

## ПАЗАРИТОЛОГИЯ

*Кадельник Л.А., Захарчук А.И.*  
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКИХ ДЕРМАТОЗОВ  
НА ФОНЕ ПАРАЗИТАРНОЙ ЛЯМБЛИОЗНОЙ  
ИНВАЗИИ..... 36

## СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

### СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

*Остапенко Н.В., Джамирзе Р.Р.,  
Лоточникова Т.Н., Чинченко Н.Н.*  
СОЗДАНИЕ НОВОГО СОРТА РИСА СТАНИЧНЫЙ..... 39

## ФИЗИОЛОГИЯ

*Кривчанская М.И., Пишак О.В., Хоменко В.Г.*  
ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА  
ПОЧКИ ПРИ БЛОКАДЕ БЕТА-  
АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ..... 44

## ХИМИЧЕСКАЯ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

*Беляев Е.Н. \* Смирнов С.В.<sup>2</sup>*  
ХИМИЧЕСКАЯ (БИОЛОГИЧЕСКАЯ) БЕЗОПАСНОСТЬ  
В ГИГИЕНЕ ТРУДА КАК ОСНОВА ПРОФИЛАКТИКИ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО  
ХАРАКТЕРА..... 47

# БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

Логинов Владимир Владимирович

## ВЛИЯНИЕ УРОВЕННОГО РЕЖИМА НИЖЕГОРОДСКОГО ГИДРОУЗЛА НА ВОСПРОИЗВОДСТВО РЫБНОГО НАСЕЛЕНИЯ

*кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
Нижегородской лаборатории Государственного научно-исследовательского института озерного и речного рыбного хозяйства,  
г. Нижний Новгород*

### АНОТАЦИЯ

*Цель работы оценка влияния уровенного режима создаваемого попусками Нижегородского гидроузла на водные биоресурсы Горьковского и Чебоксарского водохранилищ. При исследовании были использованы стандартные ихтиологические методы. Были установлены уровни воды в водохранилищах необходимые для успешного воспроизводства рыбного населения в нерестовый период. Необходимо ограничить резкие суточные колебания уровня воды, зависящее от попусков в Нижегородском гидроузле в нерестовый период времени.*

### INFLUENCE LEVEL REGIME OF NIZHNY NOVGOROD HYDROELECTRIC COMPLEX ON THE REPRODUCTION OF THE FISH POPULATION

*Loginov Vladimir*

*PhD of Biological Sciences, senior researcher,*

*Nizhny Novgorod Lab State Research Institute of Lake and River Fisheries*

*Nizhny Novgorod*

### ABSTRACT

*Objective assessment of the impact of the level regime produced the Nizhny Novgorod hydroelectric water releases on aquatic biological resources Gorky and Cheboksary reservoirs. Standard ichthyological methods have been used in the study. Water levels were installed in the reservoirs necessary for successful reproduction of fish populations during the spawning period. It is necessary to limit the sharp daily fluctuations in water level, depending on the water releases in the Nizhny Novgorod hydroelectric installation in the spawning period.*

*Ключевые слова: водохранилища, Нижегородский гидроузел, водные биологические ресурсы, нерестовый период*

*Keywords: reservoir, Nizhny Novgorod hydroelectric power, aquatic biological resources, spawning period*

Экологически значимым элементом гидрологического режима водотока является – скорость воды в потоке, для водохранилища – уровенный режим и площади затопляемых участков поймы. Максимальный уровень воды, температура и минерализация определяют условия развития и обитания молоди и взрослых рыб. Уровень воды водохранилища в нерестовый период влияет на воспроизводство рыбных запасов непосредственным образом. От изменения уровня воды могут сокращаться площади нерестилищ и литоральных зон, где развивается икра и молодь рыб.

Нижегородской лабораторией ФГБНУ ГосНИОРХ в 2013-2014 годах были проведены исследования влияния Нижегородского гидроузла на водные биологические ресурсы Горьковского и Чебоксарского водохранилищ. Следует отметить, что режим эксплуатации Горьковского водохранилища за весь период его существования стабилен, и его гидрологическая структура определяется главным образом водностью года.

Нами была проверена гипотеза о наличии статистически значимой связи для Горьковского водохранилища между объемом годового и половодного (весеннего) стока и урожайностью поколений основных промысловых видов рыб и также выявлены зависимости между величиной промыслового возврата, численностью сеголетков рыб, максимальным уровнем воды и средней минерализацией в Горьковском водохранилище, характеризующей условия обитания рыб [1]. Некоторые результаты расчетов по зависимостям [1, с. 9-15] для лет различной обеспеченности приведены в таблице.

Таблица

**Относительная численность сеголетков леща, плотвы, окуня и судака для разной обеспеченности условно естественного периода**

Обеспеченность годового стока, %	Сток, млн.м <sup>3</sup>		Лещ, экз/га	Плотва, экз/га	Окунь, экз/га	Судак, экз/га
	годовой	весенний (III-V)				
5	69720	35042	1651	42555	16200	2,95
10	67644	34160	1349	36299	13505	2,40
25	61417	31514	737	22529	7823	1,29
50	51039	27104	269	10173	3149	0,46
60	46887	25340	180	7402	2188	0,30
75	40660	22694	98	4594	1267	0,16
80	38585	21812	80	3919	1057	0,13
85	36509	20930	66	3343	881	0,11
90	34433	20048	54	2851	734	0,09
93	33188	19519	48	2592	658	0,08
95	32358	19166	44	2432	612	0,07
97	31527	18814	40	2282	569	0,06
min исторический	24222	11938	43	298	446	0,026

Из анализа данных приведенных таблиц следует, что при годовом стоке обеспеченностью до 50% наиболее вероятно появление урожайных поколений леща, плотвы, окуня и судака, а при объеме стока соответствующего 75% обеспеченности отмечаются среднеурожайные поколения (маловодье).

Горьковское водохранилище относится к водоемам с сезонным регулированием стока. В годовом цикле уровня выделяются периоды весеннего наполнения, незначительных летних колебаний около нормального подпорного уровня и осенне-зимней сработки. По проекту колебания уровня воды должны составлять 2 м. Сработка начинается в ноябре-декабре и заканчивается в апреле. В дальнейшем происходит наполнение водоема в течение 10-15 дней. С начала мая уровень воды практически стабилен. Наблюдающиеся изменения в нем кратковременны и обычно не превышают 30-40 см. Межгодовые различия по уровню режиму весьма значительные – до 2 м за один и тот же период.

В соответствии с величиной попуска воды через плотину Нижегородского гидроузла (Нижегородская ГЭС) происходят изменения уровня воды. Попуск воды через плотину Нижегородской ГЭС по-разному сказывается на уровне воды в верхнем и нижнем бьефах ГЭС, так как они значительно разнятся по гидрологическим условиям. Усиленный сброс приводит к незначительному снижению уровня воды в верхнем бьефе (Чебоксарское водохранилище) в связи с большой пло-

щадью и объемом приплотинного участка и значительному повышению в нижнем бьефе (Чебоксарское водохранилище).

Сравнение фактического ежемесячного сброса воды через плотину Нижегородского гидроузла и расчетного сброса воды для средних по водности условий нам показало, что данные величины примерно соблюдаются в период с июля по февраль. В остальное время года в периоды предпаводковых и паводковых попусков фактический сброс значительно превышает расчетный. Среднегодовалые изменения уровня Горьковского водохранилища в нерестовый период стабильны на первый взгляд. Но если рассмотреть этот процесс детальнее, заметно, что ежесуточные колебания значительны. Перепады ежесуточных колебаний уровня на верхнем и нижнем бьефах Нижегородской ГЭС показаны на рис. 1-2.

По нашему мнению именно резкие суточные колебания уровня воды, зависящее от попусков воды в Нижегородском гидроузле в нерестовый период наносят наибольший урон водным биологическим ресурсам Горьковского и Чебоксарского водохранилищ. Фактор падения уровня воды в водохранилище в период нереста (15 апреля – 15 июня) оказывает существенное влияние в узких пределах 0,5-1 м, дальнейшее его снижение не играет уже ни какой роли. Поэтому так важно поддерживать стабильный уровень воды в водохранилище в этот период времени. Например, нами подсчитано, что на Чебоксарском водохранилище снижение уровня воды на от 0,5-0,75 м приводит к недополучению в последующие

годы 2 тыс. т рыбы. Хотя в последние годы на водохранилищах ситуация усугубляется еще и маловодьем. Под маловодными годами понимаются годы с обеспеченностью в промежутке 66,7%-

83,3% и очень маловодные годы при более 83,3% обеспеченности [3].

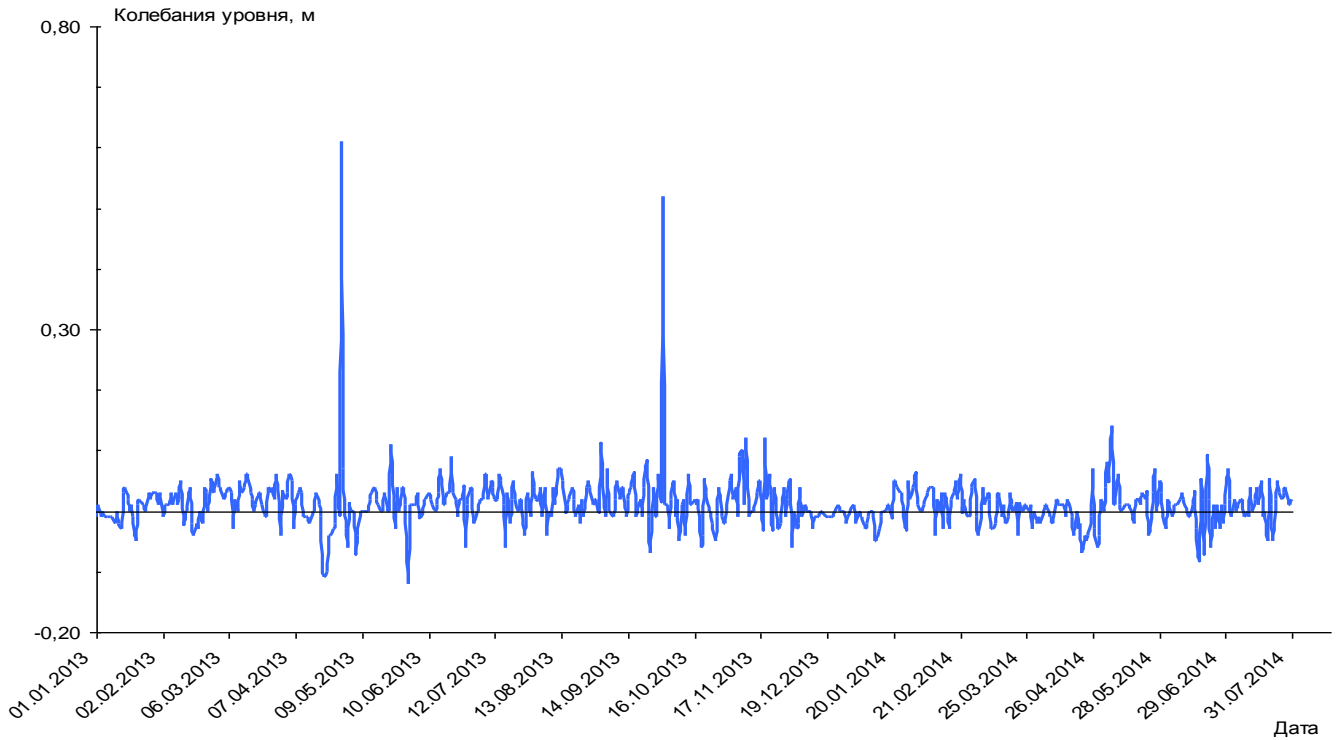


Рис. 1. Суточные колебания уровня воды в верхнем бьефе Нижегородской ГЭС (Горьковское водохранилище) в период проведения исследований

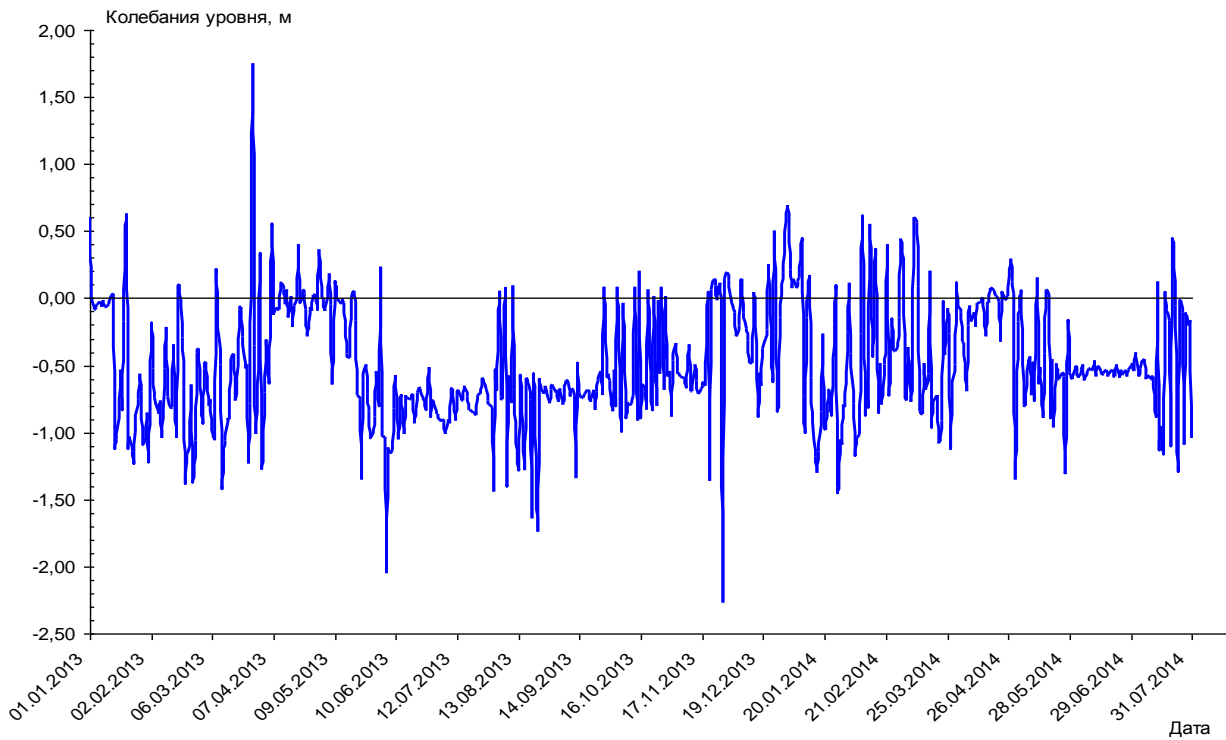


Рис. 2. Суточные колебания уровня воды в нижнем бьефе Нижегородской ГЭС (Чебоксарское водохранилище) в период проведения исследований

По расчетным данным, мы находимся в начале маловодной фазы на Волге, которая, по мнению члена-корреспондента РАН Виктора Ивановича Данилова-Даниляна, может продлиться еще 20-30 лет [2]. Маловодье в сочетании со следующими факторами воздействия гидроузла Нижегородской ГЭС - 1) изменение структуры ихтиоценозов, имеющее, как правило, деструктивный характер; 2) прямая гибель рыб и их кормовых ресурсов при скате через гидроагрегаты; 3) потеря нерестовых площадей и гибель икры весенне-нерестующих видов рыб от резких перепадов уровня воды в угоду гидроэнергетики; 4) гибель кормовых ресурсов рыб в процессе зимней сработки уровня и осушения ложа водохранилищ - приведет к существенной потере рыбопродукции водохранилищ и снижению уровня воспроизводства популяции рыб. Можно только

надеется, что для решения проблем водопользования в период маловодья будет найден комплекс решений – компромисс между интересами гидроэнергетики и другими отраслями экономики и обеспечением экологической безопасности водных биоресурсов водохранилищ.

#### Список литературы

1. Клевакин А.А., Логинов В.В., Минин А.Е., Постнов Д.И. 2012. Определение допустимого безвозвратного речного стока и установление экологического попуска в Горьковском водохранилище. Вода: химия и экология. 8: 8-15.
2. Маловодье на Волге оценивается как катастрофа. 2015. Иновации+Паблицити. 2(23): 10-11.
3. СП 33-101-2003. 2005. Определение основных расчетных гидрологических характеристик. М.: Наука. 318 с.

**ГЕНЕТИКА**Олейник А.Г.<sup>1</sup>, Скурихина Л.А.<sup>2</sup>, Бондарь Е.И.<sup>3</sup>**РЕВИЗИЯ РОДСТВЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ АРКТИЧЕСКОЙ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГРУППЫ ГОЛЬЦОВ РОДА SALVELINUS**

<sup>1</sup>Доктор биологических наук,  
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток

<sup>2</sup>Кандидат биологических наук,  
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток

<sup>3</sup>кандидат биологических наук,  
Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
г. Владивосток

**THE RELATIONSHIPS OF ARCTIC PHYLOGENETIC GROUP OF CHARRS OF GENUS SALVELINUS REVISED**

Oleinik Alla

Doctor of Biological Sciences,

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology  
FEB RAS, Vladivostok

Skurikhina Lubov

Candidate of Biological Science,

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology  
FEB RAS, Vladivostok

Bondar Evgenia

Candidate of Biological Science,

A.V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology  
FEB RAS, Vladivostok**АННОТАЦИЯ**

На основании анализа мтДНК пересмотрен состав филогенетических групп гольцов рода *Salvelinus*, родственные отношения которых сложно разрешить с позиций представлений о *S. alpinus* complex. Акцентируя внимание на биоразнообразии внутри арктической филогруппы, было показано: (1) арктический гольц объединяет таксоны, *S. alpinus* и *S. taranetzi*, дивергировавшие в разное время от разных предковых линий; (2) арктическая филогруппа включает несколько таксонов: *S. taranetzi*, *Salvelinus* sp. 4, *S. krogiusae*, *S. andriashevi*, *S. boganiidae*, *S. elgyticus*; (3) *S. taranetzi* и *S. malma* существуют как самостоятельные виды в симпатрии.

**ABSTRACT**

Based on the analysis of the mtDNA, we have carried out a revision of the phylogenetic groups of charrs whose relationships have proved difficult to resolve within *S. alpinus* complex. Our research focussing on biodiversity within arctic phylogenetic group indicates (1) what was once considered a single taxon consists of two taxa *S. alpinus* (Arctic char)

and *S. taranetzi* (*Taranetz charr*) that diverged at different time and from different ancestral lineages, (2) arctic phylogroup comprises the several taxa, *S. taranetzi*, *Salvelinus* sp. 4, *S. krogiusae*, *S. andriashevi*, *S. boganiidae*, *S. elgyticus*, (3) *S. taranetzi* and *S. malma* exist as distinct species in sympatry.

Ключевые слова: мтДНК, филогенетические отношения, поли- и парафилия

Keywords: mtDNA, phylogenetic relationships, poly- and paraphyly

Таксономический состав рода *Salvelinus* уже продолжительное время представляет тему для обсуждения и дискуссий. Филогенетические взаимоотношения гольцов рода *Salvelinus* остаются неразрешимы, поскольку были выявлены, во-первых, полифилия внутри *S. malma* и *S. alpinus*, во-вторых, парафилетические отношения *S. malma* с *S. alpinus*, *S. malma* с *S. confluentus*, *S. alpinus* с *S. confluentus* [9, 12, 15, 17-18, 20]. В рамках настоящего исследования, нас в большей степени интересует отсутствие реципрокной монофилии *S. alpinus*, которую исследователи чаще всего связывают с исторической интрогрессивной гибридизацией, либо с сохранением предкового полиморфизма. Однако эти гипотезы большей частью постулируются, а не доказываются (например, [8]).

В соответствии с центрами видообразования у арктического гольца *S. alpinus* (или *S. alpinus* complex) были выделены три эволюционные линии [10-11]. Европейская линия, включает два подвида *S. a. alpinus* и *S. a. salvelinus*. Арктическая линия (*S. a. erythrinus*) объединяет азиатские популяции из Сибири и североамериканские, расположенные восточнее р. Маккензи, с центром происхождения в Сибири. В качестве самостоятельной таксономической группы (*S. a. oquassa*) также



рассматривают реликтовые популяции арктических гольцов из штата Мэн и провинции Южный Квебек арктического побережья Северной Америки. В отдельную филогенетическую группу, но без определения таксономического статуса, был выделен голец Таранца.

Генетические исследования изменили общее представление как на филогеографию *S. alpinus*, так и на основные филогенетические группы и их взаимоотношения [4-5, 9, 12-13, 20]. Филогеографический анализ выделяет общую эволюционную линию для *S. a. alpinus* и *S. a. salvelinus* (атлантическую, согласно [12]; или евразийскую, согласно [9]). Предполагаемый подвид *S. a. oquassa* также дифференцируется по отдельной акадийской филогруппе, что поддерживает таксономическое деление североамериканских популяций на два подвида – *S. a. oquassa* и *S. a. erythrinus*. В то же время, эволюционная линия *S. a. erythrinus* оказалась разделена на две филогенетические линии, арктическую и сибирскую.

Следовательно, полученные результаты не подтверждают объединение североамериканских и сибирских популяций в рамках одного таксона *S. a. erythrinus*, морфологическое сходство которых связывалось с происхождением от общего предка. Напротив, филогеографический анализ может свидетельствовать в пользу первоначальных взглядов Р. Бенке [10], постулировавшего разделение между эволюционными линиями сибирских гольцов (Таймыр, Забайкалье), объединенных в группу *S. a. erythrinus*, и популяциями с арктического побережья Канады, первоначально обозначенных, как *S. a. stagnalis*.

Поскольку дивергенция гольцов рода *Salvelinus* определялась глобальными циклическими геологическими и климатическими изменениями в позднем кайнозое, наиболее адекватным молекулярным методом в данном случае следует признать анализ быстро эволюционирующей митохондриальной ДНК. МтДНК, как молекулярно-генетический маркер I типа, активно используется в ведущих лабораториях мира для уточнения филогенетических отношений видов и филогеографического анализа.

Методом прямого анализа нуклеотидных последовательностей исследованы гены, кодирующие цитохром b (*Cyt b*) и первую субъединицу цитохромоксидазы (*COI*), а также некодирующий *CR* участок, содержащий *D*-петлю, митохондриального генома у гольцов рода *Salvelinus*. Общая длина нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов составила 2955 п.н. Проанализировано 96 особей из 30 популяций, включающие места первоописания для нескольких таксонов: *S. taranetzi* (оз. Аччен, оз. Пекульнейское, Чу-

котка), *Salvelinus* sp. 4 (оз. Начикинское, Камчатка), *S. krogiusae* (оз. Дальнее, Камчатка), *S. andriashevi* (оз. Эстихед, Чукотка), *S. boganidae* (оз. Эльгыгытгын, Чукотка), *S. elgyticus* (оз. Эльгыгытгын, Чукотка), *S. alpinus alpinus* (оз. Ситасьяуре, Швеция; оз. Карлук, Аляска; оз. Лама, п-ов Таймыр), *S. alpinus oquassa* (Пруд Фладс, Северная Америка), *S. malma malma* (р. Паратунка, р. Камчатка, оз. Начикинское, Камчатка; оз. Аччен, оз. Пекульнейское, Чукотка; р. Конгакут, р. Фрости-Крик, Аляска), *S. curilus* (р. Вал, о. Сахалин; р. Лесная, о. Кунашир; р. Акур, материковое побережье Японского моря), *S. malma miyabei* (оз. Сикарибетсу, о. Хоккайдо), *S. malma lordi* (бухта Оук-Бей, Северная Америка), *S. confluentus* (р. Накина, Северная Америка). В качестве внешних групп использованы виды *Salvelinus leucomaenis* и *Salvelinus levanidovi*.

На основе оценки распределения нуклеотидных замен в последовательностях мтДНК, маркирующих группы родственных таксонов, подтверждены: 1) арктическая филогенетическая группа, объединяющая *S. taranetzi*, *Salvelinus* sp. 4, *S. krogiusae*, *S. andriashevi*, *S. boganidae*, *S. elgyticus* Азии; 2) евразийская (*S. alpinus alpinus*) и акадийская (*S. alpinus oquassa*) подгруппы арктического гольца; 3) берингийская группа *S. malma malma*; 4) западно-тихоокеанская группа (*S. curilus*, *S. malma miyabei*). Следовательно, получено подтверждение предложенному ранее делению на самостоятельные филогенетические группы гольца Таранца *S. taranetzi* и арктического гольца *S. alpinus*, а также северной мальмы *S. malma malma* и южной азиатской мальмы *S. curilus* (согласно: [15]). Новые данные отчетливо дифференцируют обсуждаемые таксоны. Отсутствие общих гаплотипов свидетельствует о давней генетической изоляции митохондриальных геномов *S. taranetzi* и *S. alpinus*, которая не связана с географической изоляцией популяций.

Реконструкция филогении рода *Salvelinus* позволила сформулировать новую гипотезу, согласно которой, в случае с филогруппами *S. alpinus* основные причины парафилии могут заключаться в противоречиях, связанных: (1) с представлениями о таксономическом ранге гольца Таранца и его родственных отношениях с арктическим гольцом; (2) с нерешенной проблемой взаимоотношений *S. taranetzi* Азии и *S. a. erythrinus* Северной Америки.

Согласно Р. Бенке [10-11], голец Таранца является самостоятельной филогенетической группой без определенного таксономического статуса. Эта интерпретация широко используется исследователями и соответствует представлениям о существовании полиморфного вида *S. alpinus complex*

[6]. Напротив, по мнению других авторов [7], видовая самостоятельность обитающего на Чукотке *S. taranetzi* не вызывает сомнения. Эта позиция поддерживается анализом генетической дифференциации популяций *S. taranetzi* и *S. m. malma* в области симпатрии [1-2, 5]. Таким образом, альтернатива объединению гольцов в полнокомплексный вид *S. alpinus* complex заключается в том, что *S. alpinus*, вероятнее всего, состоит из нескольких видов [15, 18].

Конструктивное решение филогенетических и таксономических проблем, связанных с отсутствием реципрокной монофилии *S. alpinus* станет возможным только после проведения дополнительных исследований, которым должны предшествовать поиск репрезентативных ядерных маркеров. Крайне необходима и ревизия ранее полученных результатов, поскольку часть исследований проводилась без учета внутривидовой подделанности и наличия интрогрессии в контактных зонах. Следует отметить, что особенности эволюции ядерных и митохондриальных генов, связанные с разным типом наследования, скоростью накопления мутационных замен, направлением потока генов при гибридизации [14], могут представлять объективную причину несоответствия между разными филогенетическими гипотезами. Однако совместный анализ ядерных и митохондриальных генов позволяет разрешить часть противоречий, в частности, связанных с интрогрессией мтДНК через видовые барьеры [17, 19], а также получить взаимодополняющие данные об эволюции таксонов [13].

Исследование выполнено при поддержке РФФИ, грант № 15-04-01000.

#### Литература:

1. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Брыков Вл.А. 2004. Дифференциация мальмы *Salvelinus malma* и гольца Таранца *Salvelinus taranetzi* по данным PCR-RFLP анализа митохондриальной ДНК. Генетика. 40(3): 386–392.
2. Олейник А.Г., Скурихина Л.А. 2007. Генетическая дивергенция симпатричных гольцов рода *Salvelinus* из озера Начикинское (Камчатка). Генетика. 43(8): 1097–1106.
3. Олейник А.Г., Скурихина Л.А., Брыков Вл.А. 2015. Филогения гольцов рода *Salvelinus* по данным анализа митохондриальной ДНК. Генетика. 51(1): 63–77.
4. Осинов А.Г. 2001. Эволюционные взаимоотношения между основными таксонами *Salvelinus alpinus* – *Salvelinus malma* complex: результаты сравнительного анализа аллозимных данных разных авторов. Вопр. ихтиологии. 41(2): 167–183.
5. Радченко О.А. 2005. Изменчивость митохондриальной ДНК гольцов рода *Salvelinus*. 153 с.

6. Савваитова К.А. 1989. Арктические гольцы (структура популяционных систем, перспективы хозяйственного использования). 223 с.

7. Черешнев И.А., Волобуев В.В., Шестаков А.В., Фролов С.В. 2002. Лососевидные рыбы Северо-Востока России. 496 с.

8. Шедько С.В., Гинатулина Л.К., Мирошниченко И.Л., Немкова Г.А. 2007. Филогеография митохондриальной ДНК южной азиатской мальмы *Salvelinus curilus* (Pallas, 1814) (*Salmoniformes*, *Salmonidae*): опосредованная интрогрессия генов? Генетика. 43(2): 227–239.

9. Alekseyev S.S., Bajno R., Gordeeva N.V., Reist J.D., Power M., Kirilov A.F., Samusenok V.P., Matveev A.N. 2009. Phylogeography and sympatric differentiation of the Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) complex in Siberia as revealed by mtDNA sequence analysis. J. Fish Biol. 75: 368–392.

10. Behnke R. J. 1980. A systematic review of the genus *Salvelinus*. In Charrs: Salmonid Fishes of the Genus *Salvelinus*. 441–480.

11. Behnke R. J. 1989. Interpreting the phylogeny of *Salvelinus*. Physiology and Ecology Japan. 1: 35–48.

12. Brunner P.C., Douglas M.R., Osinov A., Wilson C.C., Bernatchez L. 2001. Holarctic phylogeography of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. Evolution. 55(3): 573–586.

13. Crête-Lafrenière A., Weir L.K., Bernatchez L. 2012. Framing the salmonidae family phylogenetic portrait: a more complete picture from increased taxon sampling. PLoS ONE (www.plosone). 7(10): e46662.

14. Funk D.J., Omland K.E. 2003. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. Annu. Rev. Ecol. Syst. 34: 397–423.

15. Oleinik A.G., Skurikhina L.A., Brykov V.A. 2007. Divergence of the *Salvelinus* species mitochondrial DNA from northeastern Asia. Ecology of Freshwater Fish. 16(1): 87–98.

16. Osinov A. G., Senchukova A. L., Muge N. S., Pavlov S. D., Chereshev I. A. 2015. Speciation and genetic divergence of three species of charr from ancient Lake El'gygytgy (Chukotka) and their phylogenetic relationships with other representatives of the genus *Salvelinus*. Biological Journal of the Linnean Society. doi:10.1111/bij.12559.

17. Redenbach Z., Taylor E.B. 2002. Evidence for historical introgression along a contact zone between two species of char (*Pisces*: *Salmonidae*) in northwestern North America. Evolution. 56(5): 1021–1035.

18. Taylor E. B., Lowery E., Lilliestrål A., Elz A., Quinn T. P. 2008. Genetic analysis of sympatric char populations in western Alaska: Arctic char

(*Salvelinus alpinus*) and Dolly Varden (*Salvelinus malma*) are not two sides of the same coin. J. Evol. Biol. 21: 1609–1625.

19. Yamamoto S., Kitano S., Maekawa K., Koizumi I., Morita K. 2006. Introgressive hybridization between Dolly Varden *Salvelinus malma* and

white-spotted charr *Salvelinus leucomaenis* on Hokkaido Island, Japan. J. Fish Biol. 28(Suppl. A): 68-85.

20. Yamamoto S., Maekawa K., Morita K., Crane P., Oleinik A. 2014. Phylogeography of a salmonid fish, Dolly Varden (*Salvelinus malma*): multiple glacial refugia in the north pacific rim. Zoological Science. 31: 660–671.

# ИММУНОЛОГИЯ

Водяницкий Е.В.<sup>1</sup>, Даровских С.Н.<sup>2</sup>, Шишкова Ю.С.<sup>3</sup>, Вдовина Н.В.<sup>4</sup>

## О ПРОБЛЕМЕ ПРОФИЛАКТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И НАПРАВЛЕНИИ ЕЁ РАЗРЕШЕНИЯ

<sup>1</sup>аспирант кафедры инфокоммуникационных технологий  
Южно-Уральского государственного университета  
г. Челябинск

<sup>2</sup>д.т.н., профессор кафедры инфокоммуникационных технологий  
Южно-Уральского государственного университета  
г. Челябинск

<sup>3</sup>д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики Южно-Уральского медицинского университета, г. Челябинск

<sup>4</sup>старший преподаватель кафедры инфокоммуникационных технологий  
Южно-Уральского государственного университета  
г. Челябинск

### ABOUT THE PROBLEM OF PREVENTION OF ONCOLOGICAL DISEASES AND LINE SOLUTIONS

Vodjanickij Evgenij Viktorovich  
graduate student of Information and Communication Technologies of

South Ural state university

Chelyabinsk

Darovskikh Stanislav Nikiforovich

PhD, professor of Information Communication Technologies of

South Ural state university

Chelyabinsk

Shishkova Yuliya Sergeevna

Doctor of Medicine, professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of South Ural Medical University

Chelyabinsk

Vdovina Nadezhda Vladimirovna

senior lecturer of Information Communication Technologies of

South Ural state university

Chelyabinsk

### АННОТАЦИЯ

На основе анализа общих закономерностей жизнедеятельности микроорганизмов и онкоклеток, полученных результатов теоретических и экспериментальных исследований по снижению резистентных свойств микроорганизмов, обоснована гипотеза использования моделированного низкоинтенсивного микроволнового излучения Солнца СВЧ-диапазона для профилактики онкологических заболеваний. Центральное место в

практической реализации этой гипотезы отводится разработанному устройству моделирования микроволнового излучения Солнца, достигающего поверхности Земли.

### ABSTRACT

On the basis of the general laws of microorganisms and cancer cells, these results of theoretical and experimental studies on the reduction of drug-resistant properties of microorganisms, unsubstantiated hypothesis simulated use of low-intensity microwave radiation of the Sun microwave for the prevention of cancer. Central to the practical realization of this hypothesis is given to develop a device of the microwave radiation from the sun simulation, reaching the Earth's surface.

Ключевые слова: гипотеза, профилактика, онкология, Солнце, излучение.

Keywords: hypothesis, prevention, cancer, sun, radiation.

### Введение

Из анализа большого объема научной информации о возможных причинах и механизмах образования злокачественной опухоли следует, что современные медицинские технологии не позволяют фиксировать начальный процесс её образования [1]. Обнаруживают опухоль, как правило, уже сформированной, в стадии прогрессирования. Так как этот процесс иногда длится годами, актуальным является в первую очередь профилактика указанного заболевания. Однако на вопрос: «что делать и как её проводить?» - ответа нет. Рекомендации в виде пожеланий «вести здо-

ровый образ жизни» в широком смысле его значения на практике не спасают от указанного заболевания ни детей, ни взрослых, ни стариков.

В этой связи можно говорить о фундаментальной научной проблеме: проблеме разработки эффективных мер по профилактике онкологического заболевания.

### **О направлении поиска решения проблемы профилактики онкологического заболевания**

Высокая резистентность онкоклеток в отношении иммунной системы человека указывает на наличие проблемы их распознавания. Одна из причин состоит в том, что морфологические свойства и онкоклетки, и соматической клетки одна и та же. В этой связи профилактика онкологического заболевания, основанная на активации только иммунной системы человека, оказывается априорно недостаточной. Необходимо воздействие, при котором онкоклетки теряет свою морфологическую идентичность с соматическими клетками. При этом так же важно, чтобы это воздействие стимулировало биохимические процессы внутри клетки, препятствующие её модификации в онкоклетку.

Такое воздействие, не разрушающее другие клеточные структуры и позитивно на них влияющее, как раз и должно составлять основу технологии профилактики онкологических заболеваний. Какое это воздействие: физическое, химическое или их комбинация, какие его особенности, пока не известно. При этом важным является определение места расположения клеточных структур, ставших по разным причинам на «путь изоляции» от иммунной системы человека.

Похожая ситуация возникла в последние десятилетия в отношении ослабления чувствительности патогенных, условно-патогенных микроорганизмов к антибиотикам как эндогенного, так и экзогенного происхождения. И в этом случае, также как и в вышеописанном, мы имеем дело с неадекватной реакцией иммунной системы, допускающей неконтролируемый рост количества микроорганизмов. Причина всё возрастающей резистентности микроорганизмов к

антибиотикам микробиологам известна и связана она с образованием ими биопленок, препятствующих антибиотикам выполнять свою бактерицидную или бактериостатическую функцию.

Важная особенность и онкоклеток, и микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания, является наличие общих закономерностей их жизнедеятельности. К ним можно отнести их изолированность от других клеточных структур, неконтролируемый процесс размножения, способность к метастазированию и др.

В этой связи логичным предположить, что способ эффективного снижения резистентных свойств микроорганизмов может быть с высокой степенью вероятности эффективен и для профилактики онкологических заболеваний.

### **Способ снижения резистентных свойств микроорганизмов, аппаратно-программные средства его реализации и основные итоги исследований по оценке его эффективности**

Основной итог исследований по проблеме ослабления резистентности микроорганизмов состоит в том, что к настоящему времени нет конструктивных предложений по снижению их персистентного потенциала. Существующие биохимические технологии синтеза бактерицидных и бактериостатических антибиотиков, практически исчерпали свои потенциальные возможности.

В этой связи целесообразным является применение способа, направленного на восстановление управляющей роли в живой природе микроволновых излучений Солнца, достигающих поверхности Земли [2,3].

Сущность этого способа состоит в использовании для противодействия образованию микроорганизмами биопленок моделированных микроволновых излучений Солнца СВЧ-диапазона, сравнимых по интенсивности с фоновыми излучениями техногенного происхождения (не превышающими 10-100 мкВт/см<sup>2</sup>).

Для реализации данного способа разработано устройство моделирования различных видов микроволнового излучения Солнца (Рисунок 1) в диапазоне частот (4,0-4,3)ГГц [4,5].



Рисунок 1 – Устройство моделирования микроволнового излучения Солнца в диапазоне частот (4,0-4,3)ГГц

Как показали теоретические и экспериментальные исследования [6-8] в основе позитивного эффекта взаимодействия микроорганизмов с моделированным микроволновым излучением Солнца СВЧ-диапазона лежит «радиовибрационный» механизм [9]. Сущность этого механизма состоит в том, что при поглощении электромагнитного излучения веществом не вся его энергия превращается в тепловую. Часть её преобразуется в механическую энергию, которая является источником низкоинтенсивных упругих (акустических) колебаний, которые оказывают вибрационное воздействие на клеточные структуры организма. Под воздействием указанных колебаний активируются метаболические процессы в микроорганизмах, препятствующие биопленкообразованию [10].

Аналогичные процессы будут лежать в основе профилактики онкологических заболеваний. В частности, экспериментально обнаруженное улучшение микроциркуляции крови при сложных деструктивных изменениях в мышечных тканях [11] свидетельствует о возможности с помощью разработанного устройства обеспечить ослабление негативных процессов анаэробного энергообмена в клеточных структурах с выраженными нарушениями системы кровообращения. Это будет способствовать выполнению иммунной системой своих «контрольных» функций. Активация метаболических процессов в тканевых структурах в условиях восстановления клеточного аэробного энергообмена будет препятствовать их модификации в онкоклетки. Отмеченное выше индуцированное механическое воздействие при поглощении микроволнового излучения может вызвать разрушение мембран онкоклеток. Такие клетки, потерявшие морфологическую идентичность с соматическими клетками, становятся «мишенью» для иммунной системы с последующим их фагоцитозом. Объектом воздействия моделированным микроволновым излучением Солнца в целях профилактики онкологического заболевания должен стать орган (область его расположения), испытывающий постоянные нарушения своего гомеостаза.

## Заключение

Приведенные выше обоснования биофизической гипотезы разрешения проблемы профилактики онкологических заболеваний, безусловно требуют экспериментальной проверки. Такая проверка в силу сложности её организации и сбора достоверных данных может растянуться на многие десятилетия. Вместе с тем применение природоподобной технологии на основе использования моделированного микроволнового излучения Солнца оправдано уже сейчас. Она не имеет противопоказаний. За больше, чем двадцать лет апробации этой технологии собраны доказательства не только абсолютной её безопасности, но и целесообразности при лечении различных заболеваний детей и взрослых [12]. Все это обусловлено использованием аналогов электромагнитных излучений природного происхождения. Другой альтернативы, обеспечивающей профилактику широкого спектра заболеваний, включающих также и онкозаболевания, в условиях необратимых изменений свойств окружающей среды, её электромагнитного загрязнения в частности, на сегодняшний день не существует.

## Литература:

1. Беспалов В.Г. Индивидуальная профилактика рака. – Санкт-Петербург: Питер, 2001. – 192с
2. Shishkova Y.S. Simulated Solar Microwave Radiation Blocks the Formation of Biofilms [текст] / Y.S. Shishkova, S.N. Darovskih, N.L. Pozdnyakova, N.V. Vdovina, I.A. Komarova, E.V. Shishkova and E.V. Vodyanitskiy // Natural Science. – 2015. – n. 7. – PP. 127-131, available at: <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2015.7301>
3. Даровских С.Н. Информационно-волновая концепция противодействия электромагнитному загрязнению окружающей среды и другим негативным факторам антропогенного происхождения [текст] / С.Н. Даровских, А.А. Разживин, Ю.И. Кудряшова, М.Е. Кузнецов // Биомедицинская радиоэлектроника. 2008. №11. С.20–28

4. Вдовина Н.В. Устройство моделирования микроволнового излучения Солнца СВЧ диапазона для оценки его модифицирующего действия на организмы [текст] / Н.В. Вдовина, Н.Н. Гудаев, В.Н. Багаев, С.Н. Даровских, Е.П. Попечителев, Е.В. Водяницкий // Вестник ЮУрГУ. Серия: Компьютерные технологии, управление, радиоэлектроника. –2015. – Том 15. – №1. – С. 5-10
5. Darovskih S. Modern aspects of construction of information microwave therapy devices / S. Darovskih, E. Popchitelev, N. Vdovina, I. Novikov // Natural Science. – 2013. – n.5. – PP. 1230-1237, available at: <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2013.512150>
6. Даровских С.Н. Сравнительная оценка модифицирующего действия микроволновых излучений природного и антропогенного происхождения на золотистый стафилококк [текст] / С.Н. Даровских, Ю.С. Шишкова, Н.В. Вдовина, Е.В. Шишкова // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2015. – № 3. – С. 50-55
7. Даровских С.Н. Радиофизическая технология повышения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам [текст] / С.Н. Даровских, Ю.С. Шишкова, Н.В. Вдовина // Материалы VI международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные науки сегодня». North Charleston, USA. – 2015. – С. 6-9
8. Шишкова Ю.С. Применение моделированного низкоинтенсивного микроволнового излучения Солнца СВЧ диапазона для снижения персистентного потенциала микроорганизмов и повышения их чувствительности к антимикробным препаратам [текст] / Ю.С. Шишкова, С.Н. Даровских, Н.В. Вдовина // Материалы V международной научно-практической конференции «Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки». North Charleston, USA. – 2015. – Том 1. – С. 9-11
9. Шишкова Ю.С. Модифицирующее действие моделированного низкоинтенсивного микроволнового излучения Солнца СВЧ диапазона (4,0 – 4,3 ГГц) на морфологический статус микроорганизмов [текст] / Ю.С. Шишкова, С.Н. Даровских, Н.В. Вдовина // V Международная научно-практическая конференция «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия», Новосибирск, – №5. – Часть 3. – С.50-53
10. Даровских С.Н. Радиовибрационный механизм взаимодействия биологической ткани организмов с электромагнитными полями и излучениями [текст] / С.Н. Даровских, Ю.С. Шишкова, Е.П. Попечителев, О.Б. Цейликман, Н.В. Вдовина, М.С. Лапшин // Вестник ЮУрГУ. Серия: Компьютерные технологии, управление, радиоэлектроника. –2014. – Том 14. – №3. – С. 5-10
11. Даровских С.Н. Опыт применения микроволновой магниторезонансной терапии в эксперименте при удлинении голени у собак [текст] / С.Н. Даровских, С.А. Ерофеев, Н.К. Чикорина, В.М. Бойцов // Гений ортопедии: научно-практический журнал. 2006. №1. С.48–51
12. Даровских С.Н. Основы построения устройств информационной электромагнитной терапии / С.Н. Даровских – Челябинск : Издательский центр ЮУрГУ, 2011. – 138с.

# КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ, ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ

Иванова В.В.<sup>1</sup>, Серебрякова О.Н.<sup>2</sup>, Бузенкова А.В.<sup>3</sup>

## ВЛИЯНИЕ МНОГОКРАТНОЙ АМПУТАЦИИ РЕЗЦОВ И ТОТАЛЬНОЙ СИАЛОАДЕНЭКТОМИИ НА СЕМЕННИКИ КРЫС

<sup>1</sup>ассистент кафедры морфологии и общей патологии,  
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

<sup>2</sup>студент IV курса,

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

<sup>3</sup>студент IV курса,

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

### EFFECT OF REPEATED AMPUTATIONS AND TOTAL SIALOADENECTOMY ON THE STRUCTURE OF RAT TESTIS

Ivanova Vera

Assistant professor of morphology and general  
pathology department,

Siberian State Medical University, Tomsk

Serebrjakova Olga

student, Siberian State Medical University,  
Tomsk

Busenkova Angelina

student, Siberian State Medical University,  
Tomsk

### АННОТАЦИЯ

Целью работы была оценка влияния многократной ампутации резцов и тотальной сиалоаденэктомии на семенники неполовозрелых и половозрелых крыс с помощью гистологических и морфометрических методов. Показано, что многократная ампутация резцов и тотальная сиалоаденэктомия приводят к нарушению сперматогенеза, более выраженному у неполовозрелых животных.

### ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of the repeated incisors amputations and total sialoadenectomy on the immature and adult rat testes using histological and morphometric methods. Repeated incisors amputations and total sialoadenectomy lead to disruption of spermatogenesis, more pronounced in immature animals.

**Ключевые слова:** ампутация резцов; сиалоаденэктомия; семенники; сперматогенный эпителий.

**Keywords:** incisors amputation; sialoadenectomy; testis; spermatogenic epithelium.

Большие слюнные железы крыс, синтезируя факторы роста, паротин, сиалорфин и антимикробные вещества, выполняют ряд непитававательных функций, в частности, оказывают влияние на репродуктивную систему самцов. Сиалоаденэктомия у мышей приводит к уменьшению количества половых клеток семенника и его придатка [3, 4, 5]. Эпидермальный фактор роста слюнных желёз влияет на формирование семенников эмбрионов мыши [2], сиалорфин модулирует половое поведение крыс, паротин влияет на подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. Конкретные механизмы действия слюнных желёз на семенники неполовозрелых и половозрелых крыс не определены. Целью исследования было изучение влияния многократной ампутации резцов и удаления больших слюнных желёз на морфологию и функциональное состояние семенников неполовозрелых и половозрелых крыс.

В работе использовано 310 беспородных крыс-самцов: 1-я группа (155 крыс) – неполовозрелые (20 дней, 45±10 г); 2-я группа (155 крыс) половозрелые (60 дней, 150±20 г). В каждой из указанных групп выделяли: интактных животных – 40 крыс (ИН1 и ИН2, соответственно), ложноперирированных – 40 крыс (ЛО1 и ЛО2, соответственно), животных с многократной ампутацией резцов – 35 крыс (АР1 и АР2, соответственно) и сиалоаденэктомированных – 40 крыс (СЭ1 и СЭ2, соответственно). Крысы содержались в стандартных условиях вивария, выведение из эксперимента осуществлялось асфиксией углекислым газом на 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 и 12 неделе.

Для формирования гипертрофии больших слюнных желёз крысам (АР1 и АР2) проводили многократную ампутацию нижних и верхних резцов [1] каждые три дня в течение двух недель (всего 5 ампутаций), зубной прикус понижался до уровня 1-2 мм выше десневого края.



Животным СЭ1 и СЭ2 проводили двустороннюю эктомию больших слюнных желёз. Под наркозом (золетил, 5 мг/100 г <sub>(массы тела)</sub>), интраперитонеально выделяли и удаляли с обеих сторон поднижнечелюстные, подъязычные и околоушные железы. При проведении ложной операции крысам ЛО1 и ЛО2 выделение и эктомию больших слюнных желёз не осуществляли.

Для гистологического исследования семенники и большие слюнные железы фиксировали в 10% (рН 7,4) формалине (БиоВитрум, Россия), промывали в воде, обезвоживали в изопропанол (БиоВитрум, Россия) и заливали в парафиновую смесь HISTOMIX (БиоВитрум, Россия). Парафиновые срезы органов толщиной 5 мкм готовили на полуавтоматическом микротоме (МЗП 01-Техном, Россия), окрашивали гематоксилином и эозином, заключали в канадский бальзам. На препаратах больших слюнных желёз измеряли удельную площадь ацинусов (не менее 50 на каждом), на препаратах семенников измеряли диаметр извитых семенных канальцев (в 50 строго поперечно срезаемых канальцах) при помощи ImageJ 1.48. На 50 канальцах каждого среза семенника

вычисляли индекс сперматогенеза по формуле  $ИС = (4 \times a_4 + 3 \times a_3 + 2 \times a_2 + a_1) / A$ , где  $a_4$  – число канальцев, содержащих 4 типа сперматогенных клеток,  $a_3$  – 3 типа,  $a_2$  – 2 типа,  $a_1$  – 1 тип;  $A$  – количество проанализированных канальцев. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы «SPSS 17.0». Результаты представлены в виде средней и стандартного отклонения ( $M \pm \sigma$ ). Для сравнения средних значений морфометрических показателей между экспериментальными группами, использовали однофакторный дисперсионный анализ для независимых выборок, внутри групп – однофакторный дисперсионный анализ повторных измерений для зависимых выборок.

Большие слюнные железы представлены соединительнотканной стромой и эпителиальной паренхимой, состоящей из ацинусов и выводных протоков. Увеличение площади ацинусов поднижнечелюстных желёз AP1 крыс наблюдается на 3-6 неделе, AP2 крыс – на 3, 6 и 10 неделе по сравнению с соответствующими интактными животными (табл. 1).

Таблица 1

**Площадь ацинусов поднижнечелюстных желёз интактных и подвергшихся многократной ампутации резцов крыс, мкм<sup>2</sup>**

Срок эксперимента	2 неделя	4 неделя	6 неделя	8 неделя	10 неделя
Площадь ацинусов поднижнечелюстных слюнных желёз неполовозрелых крыс, мкм <sup>2</sup> , (M±σ)					
ИК1	564,5±124,6	557,1±112,8	1151,6±316,4 #	759,3±189,5 #	782,6±236,9 #
AP1	754,6±557,9	847,1±313,7 *	1623,1±478,3 #*	891,1±259,8	819,9±302,8
Площадь ацинусов поднижнечелюстных слюнных желёз половозрелых крыс, мкм <sup>2</sup> , (M±σ)					
ИК2	910,2±280,7	969,3±263,1	719,8±194,8	766,8±145,3	671,9±108,4
AP2	784,5±126,5	1013,7±185,0 #	1200,1±199,8 #*	861,8±217,2	1211,7±205,1 #*

Примечание: \* - отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # - отличие от показателя этой же группы на 2 неделю,  $p < 0,05$

Показатели семенников ложнооперированных и интактных животных (1 и 2 групп) не различались, поэтому сравнение AP1, AP2, СЭ1 и СЭ2 проводили с показателями соответствующих интактных крыс.

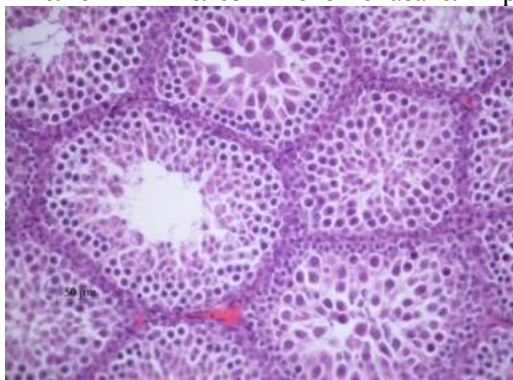
Строма семенников у животных AP1 со 2 по 4 неделю, СЭ1 – с 1 по 3 неделю эксперимента визуально выражена в меньшей степени, чем у ИН1. Стромальные компоненты семенников (клетки Лейдига, сосуды) половозрелых крыс после многократной ампутации резцов на 2-3 неделе, после сиалоаденэктомии на 1-2 неделе визуально менее

выражены, чем у соответствующих интактных животных.

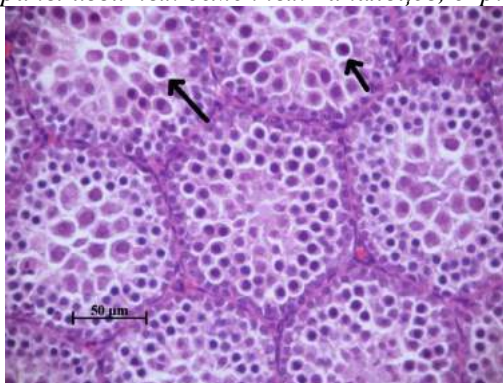
У крыс ИН1 группы просвет извитых семенных канальцев появляется на 1 неделе эксперимента, поздние сперматиды – на 2 неделе, сперматозоиды – на 3 неделе эксперимента (рис. 1). В семенниках крыс AP1 группы просвет семенных извитых канальцев обнаруживается со 2 недели после первой ампутации резцов, поздние сперматиды – с 4 недели, сперматозоиды – с 6 недели. На 2-4 неделе эксперимента наблюдается утолщение базальной мембраны извитых семенных каналь-

цев, в составе сперматогенного эпителия присутствуют гибнущие клетки. У крыс СЭ1 группы просвет извитых семенных канальцев появляется, начиная с 1 недели, поздние сперматиды – с 3 недели, сперматозоиды – с 4 недели (рис. 2). На 1-4 неделе после удаления больших слюнных желёз

наблюдается утолщение базальной мембраны, на 3 неделе эксперимента в сперматогенном эпителии выявляются гибнущие клетки. У крыс АР1 группы индекс сперматогенеза на 2-10 неделю, у СЭ1 – на 1 неделе экспериментаниже аналогичного показателя крыс ИН1 (табл. 2).



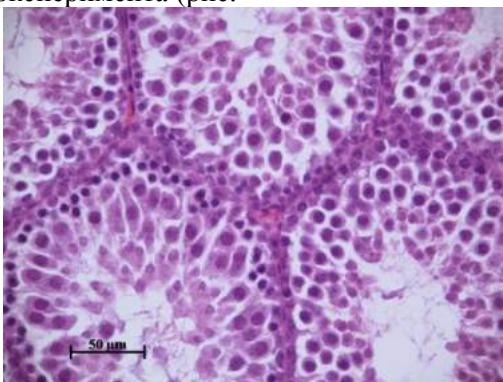
*Рисунок 1. Семенник неполовозрелой крысы после многократной ампутации резцов, 3 неделя. Сперматозоиды и поздние сперматиды в сперматогенном эпителии отсутствуют, наблюдается утолщение базальной мембраны извитых семенных канальцев, окр. гематоксилин и эозин.*



*Рисунок 2. Семенник неполовозрелой крысы после сиалоаденэктомии, 3 неделя. Сперматозоидов и поздних сперматид в сперматогенном эпителии не определяется. Гибнущие клетки (отмечены стрелкой), утолщение базальной мембраны извитых семенных канальцев, окр. гематоксилин и эозин.*

В извитых семенных канальцах интактных половозрелых крыс на протяжении всего эксперимента обнаруживаются все клеточные популяции, тогда как у животных АР2 и СЭ2 групп сперматозоиды выявляются с 3 недели эксперимента (рис.

3, рис. 4). Индекс сперматогенеза крыс АР2 группы на 2-3 неделе, СЭ2 – на 1-2 неделе эксперимента был ниже такового у крыс ИН2 группы.



*Рисунок 3. Семенник половозрелой крысы, подвергшейся многократной ампутации резцов, 3 неделя. Сперматозоидов и поздних сперматид в сперматогенном эпителии нет, наблюдается утолщение базальной мембраны извитых семенных канальцев, окр. гематоксилин и эозин.*

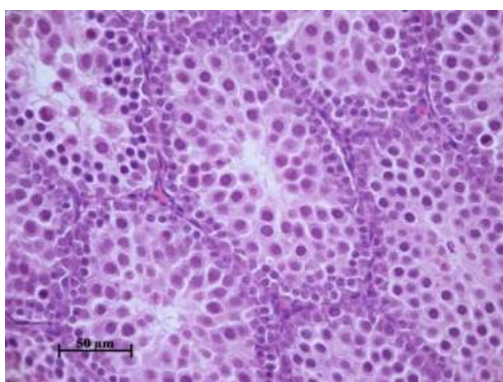


Рисунок 4. Семенник половозрелой крысы после сиалоаденэктомии, 2 неделя. Сперматозоиды и поздние сперматиды в сперматогенном эпителии отсутствуют, окр. гематоксилин и эозин.

Многократная ампутация резцов приводит к снижению диаметра извитых семенных канальцев с 3 по 10 неделю, сиалоаденэктомия – со 2 по 6 неделю эксперимента по сравнению с интактной группой. С 10 недели после удаления больших

слюнных желёз диаметр семенных извитых канальцев превышает таковой у животных ИН1 группы (табл. 2). У крыс АР2 группы диаметр извитых семенных канальцев со 2 по 10 неделю, у крыс СЭ2 группы на 1, 2, 4 и 8 неделю меньше такового у ИН2 животных (табл. 2).

Таблица 2

**Индекс сперматогенеза и диаметр извитых семенных канальцев крыс**

срок эксперимента	1 неделя	2 неделя	4 неделя	6 неделя	8 неделя	10 неделя
Индекс сперматогенеза неполовозрелых крыс, (M±σ)						
ИН1	2,55±0,14	2,69±0,37	3,24±0,08 #	3,39±0,07 #	3,46±0,07 #	3,48±0,05 #
АР1	-	2,8±0,12	2,63±0,12 *	3,12±0,08 *	3,31±0,06 #*	3,18±0,07 #*
СЭ1	2,13±0,06 *	2,59±0,21	3,04±0,07 #	3,51±0,09 #	3,47±0,08 #	3,44±0,05 #
Индекс сперматогенеза половозрелых крыс, (M±σ)						
ИН2	3,49±0,06	3,55±0,14	3,53±0,09	3,59±0,07	3,51±0,04	3,49±0,04
АР2	-	3,05±0,16 *	3,42±0,18 #	3,55±0,08 #	3,49±0,06 #	3,54±0,04 #
СЭ2	2,83±0,04 *	2,77±0,09 *	3,49±0,08 #	3,49±0,04 #	3,52±0,07 #	3,53±0,05 #
Диаметр извитых семенных канальцев неполовозрелых крыс, мкм, (M±σ)						
ИН1	141,4±24,8	169,7±20,5 #	237,3±21,8 #	305,4±37,5 #	263,8±19,0 #	340,4±26,6 #
АР1	-	160,4±13,5	142,0±15,6 #*	225,7±28,3 #*	230,0±16,4 #*	200,8±16,8 #*
СЭ1	134,2±18,3	150,1±19,7 *	182,4±42,1 #*	260,9±30,0 #*	235,2±71,0 #	293,2±40,8 #*
Диаметр извитых семенных канальцев половозрелых крыс, мкм, (M±σ)						
ИН2	246,8±16,2	258,4±18,2 #	263,4±26,8 #	264,3±21,2 #	283,3±32,9 #	289,9±23,4 #
АР2	-	201,0±28,1 *	213,2±27,6 #*	287,0±26,2 #*	222,8±31,0 #*	237,9±33,0 #*
СЭ2	180,4±23,1 *	133,0±16,9 #*	218,6±25,6 #*	257,1±25,4 #	254,3±33,8 #*	321,4±29,7 #*

Примечание: \* - отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # - отличие от показателя этой же группы на 1 неделю,  $p < 0,05$

Таким образом, в ранние сроки (1-10 нед.) после многократной ампутации резцов наблюдается уменьшение диаметра извитых семенных канальцев, снижение индекса сперматогенеза, появление гибнущих клеток в составе сперматогенного эпителия у неполовозрелых и половозрелых крыс. В результате сиалоаденэктомии у неполовозрелых и половозрелых крыс наблюдается уменьшение диаметра извитых семенных канальцев со 2 по 8 неделю эксперимента, снижение индекса сперматогенеза, в сперматогенном эпителии обнаруживаются гибнущие клетки. Изменения в семенниках неполовозрелых и половозрелых крыс выражены в большей степени после многократной ампутации резцов, нежели в результате тотальной сиалоаденэктомии. Изменения в семенниках неполовозрелых крыс в результате многократной ампутации резцов и сиалоаденэктомии более выражены, чем у половозрелых животных.

#### Список литературы

1. **Бабаева А. Г., Юдина Н. В.** 1977. Многократная ампутация нижних резцов и феномены гипертрофии слюнных желез и семенников. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 78 (8): 220-221.
2. **Bodare R. D., Pillai M. M.** 2013. Effect of salivaryadenectomy of the pregnant mother on testicular lactase dehydrogenase in mice. Int. J. Biol. Med. Res. 3: 2560-2564.
3. **Russel L.D., Weis T., Goh J.C., Curl J. L.** 1990. The effect of submandibular gland removal on testicular and epididymal parameters. Tissue cell. 22 (3): 263-268.
4. **Tokida N., Shinoda I., Kurobe M., Tatemoto Y., Mori M., Hayashi K.** 1988. Effect of sialoadenectomy on the level of circulating mouse epidermal growth factor (mEGF) and on the reproductive function in male mice. J. Clin. Biochem. Nutr. 5 (3): 221-229.
5. **Tsutsumi O., Kurachi H., Oka T.** 1986. A physiological role of epidermal growth factor in male reproductive function. Science. 233 (4767): 975-977.

# МАТЕМАТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА

Волков Владимир Петрович

## НОВЫЙ АЛГОРИТМ КОМПЛЕКСНОЙ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕДИКО- БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

кандидат медицинских наук,  
заведующий отделом медицинских экспертиз  
Тверской центр судебных экспертиз, г. Тверь

NEW ALGORITHM OF THE COMPLEX  
STATISTICAL ASSESSMENT OF INDICATORS IN  
MORPHOLOGICAL MEDICO-BIOLOGICAL  
RESEARCHES

Volkov Vladimir Petrovich  
candidate of medical sciences,  
head of department of medical examinations  
Tver center of judicial examinations, Tver

### АННОТАЦИЯ

Предложен алгоритм нового комплексного метода исследования для интегральной оценки изучаемых патоморфологических признаков одновременно по трем различным характеристикам – лабильности, чувствительности и информативности. В его основе лежат оригинальный подход к трактовке динамики полученных базовых морфометрических показателей, математический метод определения «размера эффекта» по J. Cohen и информационный анализ.

Новый алгоритм представляет интерес для исследовательских работ как в области морфологии, так и в сфере других медико-биологических дисциплин.

### SUMMARY

The algorithm of a new complex method of research for an integrated assessment of the studied patomorphological signs at the same time according to three various characteristics – lability, sensitivity and informational content is offered. Original approach to interpretation of dynamics of the received basic morphometric indicators, a mathematical method of determination of Cohen's "effect size" and the information analysis are his cornerstone.

The new algorithm is of interest to research works both in the field of morphology, and in the sphere of other medico-biological disciplines.

Ключевые слова: медико-биологические исследования, количественные методы, новый алгоритм.

Keywords: medico-biological researches, quantitative methods, new algorithm.

На современном этапе развития морфологических наук чисто описательный подход к изучению патологических процессов оказывается недостаточным для точной и, главное, объективной характеристики наблюдаемых патологических изменений [11=, 25=]. В настоящее время к морфологическим исследованиям предъявляются требования объективизации полученных результатов на основе методов точных наук [11=, 25=, 13=, 31=]. Этой цели как нельзя лучше отвечает применение морфометрических методов исследования, позволяющих придать объективность полученным результатам и существенно повысить достоверность сделанных выводов, так как итоговые данные имеют количественное выражение и легко поддаются статистическому анализу [11=, 13=, 12=].

При интерпретации итогов подобного рода исследований одним из основных доказательных инструментов является математическая оценка выявленных структурных сдвигов с целью обнаружения статистически значимых различий между количественными характеристиками тех или иных морфологических признаков в изучаемых группах наблюдений.

Вместе с тем современная доказательная медицина не может обходиться лишь констатацией наличия указанных различий, так как сам по себе этот факт ничего не говорит об их величине [16=]. Для оценки последней используются другие подходы, в частности вычисление такого индекса, как «размер эффекта» по J. Cohen (Cohen's d effect size) [17=, 18=, 19=], который в количественном выражении определяет силу воздействия изучаемого фактора на тот или иной объект исследования. Считается, что включение этого показателя в инструмент математической обработки данных укрепляет строгость исследования

и придает больший вес проведенному анализу, сделанным выводам и предложенным рекомендациям [20=].

Принята следующая приблизительная градация величины коэффициента Коэна ( $d^*C$ ): незначительная – менее 0,20; малая – 0,20–0,49; средняя – 0,50–0,79; большая – 0,80 и выше [15=, 16=, 17=, 19=].

Серьезного внимания заслуживают также изыскания, направленные на определение диагностической ценности отдельных характерных структурных признаков заболеваний с помощью метода информационного анализа [29=, 30=, 31=, 35=]. Он определяет информативность ( $I_x$ ) отдельного признака  $x$ , представленную в цифровом выражении и показывающую его диагностическую значимость среди прочих признаков [25=, 26=, 27=, 28=, 29=, 30=, 31=, 32=, 34=, 35=, 36=]. Расчет  $I_x$  можно производить лишь при наличии статистически значимых различий между сравниваемыми средними величинами ( $M_x$ ), а также не следует учитывать признаки с показателем  $I_x$  меньше 0,5 [25=, 13=, 26=, 27=, 28=, 31=, 32=].

Использование указанных математических методов в морфологических медико-биологических исследованиях открывают широкие возможности для дальнейшего развития нового научного направления – количественной морфологии. Эти методы не только повышают точность описания изучаемых явлений, но и значительно усиливают логику доказательств [25=].

Вместе с тем необходимо постоянное совершенствование подходов к изучению различных аспектов медико-биологических дисциплин, в частности вопросов патологической морфологии.

Цель настоящей работы – на основе описанных статистических методов разработать новый комплексный алгоритм исследования для интегральной оценки изучаемых признаков одновременно по трем различным характеристикам – лабильности, чувствительности и информативности.

#### Описание алгоритма нового метода

Метод основан на интегральной оценке обнаруженных изменений изучаемых признаков с помощью комплексного использования трех статистических методов, позволяющих дать объективную информацию одновременно по трем характеристикам указанных признаков – лабильности, чувствительности и информативности.

Первый этап исследования включает в себя изучение структурных изменений тех или иных органов на макро- (органо) и микроскопическом (тканевом и клеточном) уровнях их организации. Для этого используются различные морфометрические методы исследования, подробные

описания которых имеются в литературе [11=, 13=, 25=, 12=]. В результате в распоряжении исследователя оказываются количественные данные, объективно и точно характеризующие изучаемые явления и процессы. Это могут быть показатели мерные, представленные в единицах измерения, и относительные, например, проценты или доли целого.

Статистическая обработка полученных данных проводится с помощью общепринятых методов. При этом определяются значения средних арифметических ( $M_x$ ) обследованных выборок, стандартного (среднего квадратичного) отклонения ( $\sigma$ ) и других статистических величин, устанавливается наличие значимых различий между обследованными выборками и т.д.

Далее, согласно предлагаемому методу, следует определить в порядке возрастания ранг изученных показателей. Здесь кроется определенная трудность. Дело в том, что необходим объективный и универсальный критерий, позволяющий одновременно ранжировать как мерные, так и относительные признаки. Этому условию отвечает такой введенный нами показатель, как индекс различия ( $M_\Delta$ ), выраженный в процентах, значения которого и подлежат ранжированию.

Для нахождения  $M_\Delta$  устанавливается прирост (или убыль) величины изучаемого признака в одной из сравниваемых совокупностей по отношению к таковой в другой. При этом берутся абсолютные значения (без учета знака) величин  $M_\Delta$ , так как знак показывает лишь вектор направленности изменений, а не их величину.

При этом берутся абсолютные значения (без учета знака) величин  $M_\Delta$ , так как знак показывает лишь вектор направленности изменений, а не их величину. Этот показатель в полной мере отражает динамику изменений выраженности того или иного признака, то есть уровень его лабильности.

Итак, лабильность является первой составляющей общей характеристики изучаемого признака.

На втором этапе работы проводится определение «размера эффекта», используя расчет  $d^*C$ , и ранжирование по возрастающей полученных средних значений ( $M_{d^*C}$ ) этого коэффициента.

При оценке групповых различий  $d^*C$  рассчитывается по формуле (1) [16=, 17=, 18=, 19=, 20=]:

$$d^*C = M_1 - M_2 / \sqrt{\sigma_1^2 - \sigma_2^2 / 2} \quad (1).$$

Также для расчета  $d^*C$  удобно пользоваться специальными компьютерными калькуляторами [37=].

Здесь необходима следующая небольшая ремарка. Говоря о силе изучаемого воздействия можно полагать, что величина этой силы зависит

как от патогенных свойств самих повреждающих факторов, так и от резистентности органов-мишеней. При этом главное значение, по-видимому, имеет именно морфофункциональная устойчивость последних к воздействию патологических агентов, свойства которых обычно являются постоянными.

Поэтому величина  $d^*C$  характеризует скорее не столько силу самого воздействия того или иного патогенного фактора, сколько степень индивидуальной чувствительности к нему органов-мишеней. Таким образом, ранжированные значения  $d^*C$  показывают чувствительность изучаемых признаков в отношении повреждающего фактора. Этот параметр, представленный в количественном выражении, служит второй составляющей комплексной характеристики указанных признаков.

Третий этап исследования – проведение информационного анализа исходных количественных данных. При этом использованы соответствующие формулы С. Кульбака (2 и 3) [32=]. Для мерных признаков служит формула (2), где исходными параметрами являются  $M_x$  и  $\sigma_x$ :

$I_{x1-x2} = 1,0857 \cdot [(\sigma_1/\sigma_2)^2 + (\sigma_2/\sigma_1)^2 - 2 + (1/\sigma_1^2 + 1/\sigma_2^2) \cdot (M_1 - M_2)^2]$  (2). Уровень  $I_x$  относительных признаков оценивается по другой формуле (3), основанной на их частотной характеристике:

$$I_{x1-x2} = 10 \lg (P_1/P_2) \cdot (P_1 - P_2) \quad (3),$$

где  $P_1$  – относительная частота признака в верифицируемой группе, выраженная в долях единицы;  $P_2$  – относительная частота признака в контрольной группе.

После определяется  $I_x$  изучаемых явлений подсчитывается ее средняя арифметическая ( $M_{I_x}$ ) в выборках. Этот показатель является третьей составляющей интегральной характеристики анализируемых признаков.

Заключительная часть работы представляет собой комплексный анализ итогов предыдущих ее этапов. Производится расчет среднего значения ( $M_{p-r}$ ) трех ранговых рядов ( $M_A$ ,  $d^*C$  и  $I_x$ ) изученных признаков и выведение рейтинга ( $Rt$ ) последних. Этот интегральный индекс характеризует каждый показатель с трех различных сторон, одновременно учитывая его лабильность, чувствительность и информативность.

Предложенный алгоритм нового комплексного метода исследования, направленного на определение  $Rt$  того или иного признака, основанного на интегральной оценке последнего одновременно по трем различным характеристикам, представляет, на наш взгляд, существенный интерес как для исследовательских работ в области морфологии, так и для других медико-биологических дисциплин.

### Список литературы

1. **Автандилов Г.Г.** 1980. Введение в количественную патологическую морфологию. М.: Медицина: 216.
2. **Автандилов Г.Г.** 1990. Медицинская морфометрия: руководство. М.: Медицина: 384.
3. **Автандилов Г.Г.** 2002. Основы количественной патологической анатомии. М.: Медицина: 240.
4. **Генкин А.А.** 1999. Новая информационная технология анализа медицинских данных. Программный комплекс ОМИС. СПб.: Политехника: 191.
5. **Гублер Е.В.** 1978. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина: 296.
6. **Гублер Е.В., Генкин А.А.** Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – 2-е изд. Л.: Медицина: 141 с.
7. **Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю.** 1988. Практическая морфометрия органов и тканей. Томск: Изд-во Томского ун-та: 136.
8. **Зубрицкий А.Н.** 2000. Морфометрия легочного сердца при хронических неспецифических заболеваниях легких. М.: Медицина: 160.
9. **Кактурский Л.В., Свищев А.В.** 1982. Определение информативности различия средних показателей в морфометрических исследованиях. Арх. пат. 7: 78–79.
10. **Копьева Т.Н., Кактурский Л.В.** 1976. Определение диагностической информативности неспецифических морфологических признаков. Арх. пат. 12: 60–63.
11. **Кульбак С.** 1967. Теория информации и статистика / пер. с англ. М.: Наука: 408.
12. **Рубанович А.В.** Биостатистика. – 7. Введение в метаанализ [Электронный ресурс]. – URL: vigg.ru/fileadmin/user\_upload/...ppt (дата обращения: 05.08.2014).
13. **Шмуклер А.Б.** 2012. Доказательные исследования в психиатрии: анализ практической значимости. Психиат. психофармакотер. 14(5): 4–13.
14. **Cohen J., Cohen P., S.G. West S.G., Aiken L.S.** 2003. Applied multiple correlation/regression analysis for the behavioral sciences. Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates: 736.
15. **Cohen J.** 1988. Statistical power analysis for the behavioral sciences – 2nd ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates: 567.
16. **Cohen J.** 1983. The cost of dichotomization. App. Psychol. Measurement. 7(3): 249–253.

17. Computation of effect sizes [Электронный ресурс]. – URL: [http://www.psychometrica.de/effect\\_size.html](http://www.psychometrica.de/effect_size.html) (дата обращения: 08.12.2015).

18. **Hall S.** 2014. How to calculate effect sizes [Электронный ресурс]. Дата обновления: 17.04.2014. – URL: [http://www.ehow.com/how\\_5502737\\_calculate-effect-sizes.html](http://www.ehow.com/how_5502737_calculate-effect-sizes.html) (дата обращения: 08.08.2014).

19. **Zubricky A.** 1995. Informative analysis as a quantitative method. Path. Res. Pract. 191(7–8): 825–826.

20. **Zubricky A.** 1993. Informational analysis of morphometric parameters of pulmonary heart in chronic nonspecific pulmonary diseases. Path. Res. Pract. 189(1): 42–51.

21. **Zubricky A.** 2000. The application of informative analysis in clinical pathology. Scripta periodica. 3(1): 51–52.



# МИКОЛОГИЯ

Массалимов И.А.<sup>1</sup>, Ахмед Исмаил Саит Ахмет<sup>2</sup> Самсонов М.Р.<sup>3</sup>, Ишмухаметов А.А.<sup>4</sup>

## СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАДИЦИОННЫХ АНТИГРИБКОВЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ С МИКРО- И НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЫ

<sup>1</sup>Доктор технических наук, профессор

Башкирский государственный университет, г. Уфа

<sup>2</sup>Кандидат биологических наук, исследователь отделения патологии растений,

Центр исследования пустынь, г. Каир, Египет

<sup>3</sup>Аспирант, Научно - исследовательский институт гербицидов, г. Уфа

<sup>4</sup>Магистрант,

Научно - исследовательский технологический институт гербицидов, г. Уфа

### COMPARISON OF TRADITIONAL ANTIFUNGAL ORGANIC DRUGS EFFECTIVENESS WITH MICRO - AND NANOPARTICLES OF SULFUR

Massalimov Ismail Aleksandrovich

Doctor of technical science, professor

Bashkir state university, St. Ufa.

Ahmed Ismail Sayed Ahmed

PhD, Department of plant pathology re-  
searcher,

Desert Research Center – Egypt, St. Cairo, Ah-  
med.

Samsonov Marat Robertovich

Graduate student

Scientific - Research Institute of herbicides

Ishmukhametov Aynur Albertovich

Undergraduate student

Scientific - Research Institute of herbicides

### АННОТАЦИЯ

В работе поставлена цель заменить известные токсичные препараты частично или полностью экологически безопасными формами при создании средств защиты растений. В работе проведено сравнение антифунгальной активности известных органических соединений и серы в микро- и наноформах. Установлена высокая эффективность наночастиц серы по отношению ко всем испытанным патогенным организмам. Полученные результаты позволяют рекомендовать использовать смеси, в которых токсичные препараты заменены частично либо полностью безопасными и эффективными, например, такими как наночастицы серы.

### ABSTRACT

The paper set a goal to replace known toxic agents partially or totally by environmentally friendly forms when creating the plant protection products. The comparison of antifungal activity of known organic compounds and sulfur in the micro- and

nanofoms have been established. The high efficiency of sulfur nanoparticles against all tested pathogens was found. The obtained results allow to recommend the use of mixtures in which toxic agents are replaced partially or completely by safe and effective formulations, for example, such as sulfur nanoparticles.

Ключевые слова: фунгицид, сера, наночастицы, карбендазим, тебуконазол

Keywords: fungicide, sulfur, nanoparticles, carbendazim, tebuconazole

### Введение

Напряженная ситуация в области обеспечения населения планеты продуктами питания привела к тому, что в большинстве стран развитых и развивающихся используется огромное количество удобрений средств защиты растений, так как использование химических препаратов это наиболее экономичный способ получения высокого урожая. Химические средства защиты растений (пестициды) [1-3] выпускаются химической промышленностью и отпускаются потребителям по сравнительно невысоким ценам, что обуславливает высокую окупаемость их применения и ставит их на первый план при ведении сельского хозяйства. Пестициды снижают затраты на борьбу с сорняками, способствуют повышению урожая сельскохозяйственных культур. Химические средства защиты растений по объему применения занимают большое место и имеют много преимуществ, особенно с точки зрения экономической целесообразности. Однако наряду с достоинствами следует отметить и их недостатки, прежде всего токсичность для теплокровных животных и человека. Резкое возрастание объемов использования гербицидов и фунгицидов привело к значительному загрязнению окружающей среды. В связи с необходимостью обеспечения безопасно-

сти применения химических препаратов для человека и окружающей среды возрастают требования к качеству таких препаратов, возникает необходимость разработки и внедрения новых, более технологичных и безопасных способов их применения. Пестициды должны обладать следующими свойствами: малой острой и хронической токсичностью для человека и животных; умеренной персистентностью и способностью разлагаться в течение одного вегетационного периода во внешней среде; высокой технической и экономической эффективностью, удобством применения, хранения и транспортировки; селективностью по отношению к полезным организмам [4,5].

Одним из перспективных направлений создания экологически безопасных и в тоже время эффективных удобрений, средств защиты и стимуляции роста растений являются нанотехнологии. Отличительной характеристикой препаратов на основе нанотехнологий является способность оказывать эффективное воздействие на растения в очень малых концентрациях [6,7]. Применение нанопрепаратов не заменяет применение традиционных азотных, калийных и фосфорных удобрений, но их использование позволит увеличить эффективность их использования. А использование нанопрепаратов в качестве средств защиты растений от болезней и вредителей, а также для стимуляции роста растений во многих случаях может эффект намного превышающий действие традиционных препаратов. Так, применение нанопрепаратов, приводит к повышению устойчивости к неблагоприятным погодным условиям и увеличению урожайности практически всех производственных (картофель, зерновые, овощные, плодово-ягодные) и технических (лен, хлопок) культур [8,9].

В настоящее время одной из наиболее актуальных проблем связанных с охраной окружающей среды является замена токсичных пестицидов их более безопасными аналогами. В связи с вышесказанным в данной работе поставлена задача изучения антифунгальных свойств экологически безопасных микро- и наночастиц серы, по отношению к патогенным грибам и приводится сравнение их эффективности с соответствующими характеристиками известных органических препаратов таких как: карбендазим, раксил, оказывающими неблагоприятное воздействие на окружающую среду, широко используемых для защиты растений от грибковых заболеваний и растительноядных клещей.

Вышеуказанные виды веществ обладают различными механизмами подавления патогенных организмов и потому интересно сравнить действие столь различных антифунгальных препаратов на одни и те же патогенных организмы.

Важнейшей характеристикой любого препарата является его критическая концентрация, приводящая к полному уничтожению колонии патогенных организмов. В связи с этим, в данной работе мы представляем результаты измерения критических концентраций каждого из указанных выше веществ на пяти видах патогенных грибов.

#### Материалы и методы

В качестве микронизированной серы была использована элементарная сера измельченная в промышленной роликовой мельнице мельницы. Для получения наночастиц серы был использован раствор полисульфида кальция [10] из которого постепенным добавлением 10% лимонной кислоты был получен порошок наночастиц серы по методу подробно описанному в [11].

Для исследования антифунгальных свойств препаратов была использована питательная среда Сабуро, приготовленная в соответствии с технической спецификацией ТУ №9229-014-00419789-95.

В качестве патогенных организмов были использованы следующие штаммы патогенных грибов:

1. *Candida albicans* – представитель простейших дрожжеподобных грибов, ведущих исключительно паразитирующий образ жизни, относится к классу условно патогенных грибов;
2. *Aspergillus niger* - представитель высших аэробных плесневых грибов, относится к классу условно патогенных грибов;
3. *Penicillium notatum* - представитель плесневых грибов, образующийся на продуктах питания и вследствие этого портящий их
4. *Fusarium graminearum* – грибы, известные также как *Gibberella zeae* или сумчатые грибы (аскомицеты), поражающие пшеницу и кукурузу, продуцирующие микотоксины дезоксиниваленол и зеараленон).

5. *Alternaria alternate* - частая и повсеместно распространенная разновидность плесени, встречающаяся на многих растениях и других субстратах, включая почву, пищевые вещества и ткани.

В работе мы исследовали антифунгальное воздействие следующих дисперсных веществ:

1. микронизированная элементарная сера, средний размер частиц 40 мкм;
2. наночастицы элементной серы, средний размер частиц 20 нм;
3. тебуконазол ( $C_4H_{22}ClN_3O$ ), который хорошо известен и широко применяется в сельском хозяйстве в качестве системного фунгицида из класса триазолов, обладающий защитным, лечебным и искореняющим действием, средний размер частиц 5 мкм;
4. карбендазим ( $C_9H_9N_3O_2$ , БМК), который также хорошо известен и широко применяется в

сельском хозяйстве в качестве фунгицида системного действия с длительным защитным эффектом из группы производных бензимидазола, средний размер частиц 3 мкм;

5. производная карбендазима, комплекс с соляной кислотой - БМК · НСl · Н<sub>2</sub>О (водорастворимая форма);

6. производная карбендазима, комплекс с салициловой кислотой - БМК · С<sub>7</sub>Н<sub>6</sub>О<sub>3</sub>;

**Результаты**

В таблице 1 мы представляем результаты измерения антифунгальной активности вышеприведенных пяти видов неорганических веществ, в

Таблица. Критические концентрации неорганических препаратов, приводящие к полному уничтожению колонии патогенных грибов.

Разновидности штаммов грибов	Концентрации препаратов, приводящие к полному подавлению роста колонии грибов (мг / мл)					
	1	2	3	4	5	6
	S <sub>m</sub>	S <sub>n</sub>	tebukanozol	carbendazim (БМК)	БМК НСl Н <sub>2</sub> О	БМК · С <sub>7</sub> Н <sub>6</sub> О <sub>3</sub> ;
<i>Candida albicans</i>	200	20	0.3	4	0.3	0.5
<i>Aspergillus niger</i>	200	20	0.4	6	5	2
<i>Penicillium notatum</i>	200	20	0.4	6	0.4	2
<i>Fusarium graminearum</i>	200	20	0.4	10	2	2
<i>Alternaria alternata</i>	200	20	0.3	10	3	2

Из представителей органических препаратов представленных в таблице наиболее эффективным является тебуканозол, который широко применяется в качестве фунгицида в растениеводстве, концентрации препарата в количестве равном 0.3-0.4 мг/мл достаточно для уничтожения колоний всех микроорганизмов. Карбендазим является 10 – 30 раз менее эффективным препаратом по сравнению с тебуканозолом и для увеличения его эффективности создаются различные производные карбендазима, например, в виде комплексов с соляной и салициловой кислотами [12]. Соответствующие значения для этих производных карбендазима приведены в 5 и 6 столбцах таблицы, они указывают на возможность увеличения эффективности применения карбендазима для отдельных видов грибов.

При рассмотрении эффективности воздействия препаратов на растения нужно учитывать не только их антифунгальные и рост регулирующие свойства, но также оценивать их воздействие на окружающую среду. В этом отношении препараты на основе серы не имеют себе равных, так как являются экологически безопасными. В тоже

ней номера столбцов совпадают с вышеприведенной нумерацией веществ. Данные для частиц серы указывают на универсальность воздействия частиц серы на все изученные штаммы патогенных грибов. Установлено, что для концентрации наночастиц серы 20 мг/мл рост всех представленных в таблице видов патогенных микроорганизмов полностью подавляется. Из данных приведенных в таблице также видно, что применение наночастиц серы взамен микронных частиц снижает критическую концентрацию в 10 раз, это означает, что, наночастицы серы в 10 эффективнее, чем микрочастицы.

приводящие к полному уничтожению колонии патогенных грибов.

время оба органических препарата (карбендазим и тебуканозол) представляют опасность для окружающей среды. Карбендазим хотя относится к классу малоопасных препаратов согласно данным Всемирной организации здравоохранения, этот препарат токсичен для печени, влияет на репродуктивную систему и считается потенциально канцерогенным соединением. Карбендазим нарушает гормональную систему организма и может вызывать раковые заболевания. Из-за способности проникать сквозь верхний слой растений, его невозможно смыть до конца. Тебуканозол относится ко 2-му классу опасности, для млекопитающих этот препарат среднетоксичен, не влияет на численность полезной флоры и фауны, но нельзя допускать его попадания в водоемы.

Учитывая полученные результаты по антифунгальной и рост стимулирующей активности рассмотренных выше препаратов можно для снижения пестицидной нагрузки на окружающую среду рекомендовать обрабатывать растения и протравливать семена смесью наночастиц серы с одним из выбранных более токсичных препаратов

(карбендазим и тебуканозол) со снижением дозы применения последних.

### Выводы

На основании полученных данных для изученных антифунгальных препаратов можно сделать следующие выводы:

1. данные, приведенные в таблице, показывают, что все исследованные препараты подавляют развития патогенных организмов в разной степени, диапазон критических концентраций варьируется от 0,3 мг/мл для тебуканозола до 200 мг/мл для микронных частиц серы;

2. использование препаратов на основе серы приводит подавлению всех исследованных патогенных организмов, а применение ее в виде наночастиц со средним размером 20 нм увеличивает антифунгальную эффективность в 10 раз по сравнению с данными полученными для микронных частиц со средним размером 70 мкм;

3. максимальным антифунгальным воздействием из препаратов, приведенных в таблице обладает тебуканозол, который широко применяемый в качестве средства защиты растений;

4. для снижения пестицидной нагрузки на окружающую среду можно в будущем рекомендовать использовать смеси, в которых токсичные препараты, должны быть заменены частично либо полностью безопасными и эффективными, например, такими как наночастицы серы;

5. необходимо учитывать также, что наночастицы серы проявляют также ярко выраженные свойства стимулятора роста растений при протравливании семян, а при обработке пшеницы на стадии вегетации способствуют увеличению содержания белка [13];

### Список литературы

1. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М: Химия, 1987. 711 с..

2. Гольшин Н.М., Кравцов А.А. Препараты для защиты растений. Справочник. М.: Колос, 1984. 175 с.

3. Горбачев И.В., Гриценко В., Захваткиным Ю. Защита растений от вредителей. М.: Колос. 2002. 496 стр.

4. Агрэкология. Методология, технология, экономика. Редактор Чекерес В.А. М.: Колос, 2004. 400 с.

5. Агрэкологические сельско-хозяйственные принципы. Русский академии сельскохозяйственных наук. Всероссийского научно-исследовательского института сельского хозяйства и охраны природы и экологии. - М: Колос, 1983. 264 с..

6. Сергеев Г.В. Нанохимия. Москва: МГУ, 2003. 588 с.

7. Балабанов В. Нанотехнологии. Наука будущего. М.: Эксмо. 2009. 256 стр.

8. Федоренко В.Ф., Buklagin Д.С., Голубев И.Г. Использование нанотехнологий и наноматериалов в сельскохозяйственном секторе и вызовы от них информатизации. Нанотехнологии - производство. 2006, стр. 409-413.

9. Егоров Н.П., Шафранов О.Ф., Егоров Д.Н., Сулейманов Е.В. Бюллетень Нижегородской университета. им. М.И. Лобачевского. 2008. №6. С. 94-99.

10. Массалимов, И.А., Абдракипова Л.Ф., Л.Ф., Хусаинов, А.Н., Мустафин, А.Г., Получение наноразмерных частиц серы из водных растворов полисульфидов кальция и натрия. Журнал прикладной химии, 2009, т. 82, нет. 12, стр. 2087-2092.

11. Массалимов И.А. Мустафин А.Г., Шангареев А.Р., А.Н. Хусаинов Способ получения наноразмерной коллоидной серы. Патент РФ № 2456231 от 20.07.12.

12. Чикишева Г.Е., Медведев Ю.А., Колбин А.М., Мухамедеева О.Р. Сравнительная антифунгальная активность некоторых производных метилового эфира 2-бензимидазол-карбаминовой кислоты в отношении антропо - зоопатогенных грибов. Успехи медицинской микологии. Том XI. Материалы У1 Всероссийского конгресса по медицинской микологии. М., Национальная Академия Микологии. 2014. С.380-383.) .

Техническая условия №113-04-327-90 Сера 80% смачиваемый порошок.

13. Массалимов И. А., Гайфулин Р.Р., Мустафин А.Г. Удобрение и способ обработки пшеницы этим удобрением. Патент РФ №2411712, от 04.08.2009.

# МИКРОБИОЛОГИЯ

Киселева Е.П.<sup>1</sup>, Михайлопуло К.И.<sup>2</sup>, Новик Г.И.<sup>3</sup>

## ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА КРОЛИКА, ИММУНИЗИРОВАННОГО КЛЕТКАМИ *BACILLUS CEREUS* БИМ В-491: ПОЛУЧЕНИЕ И ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ

<sup>1</sup>кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник  
Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

<sup>2</sup>научный сотрудник

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

<sup>3</sup>кандидат биологических наук, зав. лаб. "Коллекция микроорганизмов"  
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

*POLYCLONAL RABBIT ANTIBODIES TO  
ANTIGENS OF CELLS OF BACILLUS CEREUS  
BIM В-491: PRODUCTION AND POSSIBLE  
APPLICATIONS*

*Kiseleva Elena*

*PhD, Leading Researcher*

*Institute of Bioorganic chemistry, National  
Academy of Sciences of Belarus, Minsk*

*Mikhailopulo Konstantin*

*Researcher*

*Institute of Bioorganic chemistry, National  
Academy of Sciences of Belarus, Minsk*

*Novik Galina*

*Head of the laboratory "Collection of microor-  
ganisms"*

*Institute of Microbiology, National Academy of  
Sciences of Belarus, Minsk*

**АННОТАЦИЯ**

Цель работы – получение поликлональных антител (ПАТ) кролика к антигенам целых клеток *Bacillus cereus* БИМ В-491 (*Bc 491*) и локализация антигенов в системе клетка – среда. Метод исследования: иммуноферментный анализ (ИФА). Результаты: ПАТ имеют рабочий титр 1/1 000 – 1/16 000 и взаимодействуют с внутриклеточными, секреторными антигенами и антигенами клеточной стенки *Bc 491*. Выводы: ПАТ пригодны для детекции целых клеток и растворимых антигенов *Bc 491* в различных средах методами ИФА. Область применения ПАТ – производство препаратов пробиотического действия, контроль качества продуктов питания.

**ABSTRACT**

*Background: obtaining rabbit polyclonal antibodies (PAb) by immunization with the whole cells of Bacillus cereus BIM В-491 (Bc 491); localization of antigens in the system "bacterial cell – environment". Method: ELISA. Results: The PAb have a titre 1/1 000 – 1/16 000. The antigens interacting with PAb*

*were found in cytoplasm, cell wall of Bc 491 and culture media. Conclusion: The PAb are suitable for use in ELISA test kits for detection of whole cells and soluble antigens of Bc 491. PAb application area includes production of probiotic preparations and food quality control.*

*Ключевые слова: поликлональные антитела; антигены; Bacillus cereus; ИФА*

*Key words: polyclonal antibodies; antigens; Bacillus cereus; ELISA*

Бациллы являются грамположительными, аэробными, спорообразующими бактериями, обнаруживаемыми в почве, воде и находящимися транзитом в организме человека и животных [1]. Род *Bacillus* включает 88 видов, относящихся к группам *B. subtilis* и *B. cereus* [2]. Диапазон отношений человека с бациллами группы *B. cereus* очень широк [2]. Крайние позиции занимают *B. anthracis*, возбудитель сибирской язвы, и собственно *B. cereus*, ряд штаммов которого используют в качестве пробиотика в медицине, сельском хозяйстве и аквакультуре [3, 4, 5]. Помимо пищевых добавок, споры бацилл группы *B. cereus* используют в качестве ветеринарных препаратов, например, Тойоцерина (*B. cereus* var. *toyoi* [6]), и фармпрепаратов для лечения дисбактериоза, например, Бактисубтила (*Bacillus cereus* IP 5832b (АТСС 14893) [1]. Другие штаммы *B. cereus* продуцируют ряд энтеротоксинов, являющихся причиной диареи и рвоты [7, 8]. Только в 2008 г. в Европе отмечено 102 эпидемии массового отравления (более 1000 человек) пищей, загрязненной бациллами [9].

Производство бациллами биосурфактантов и ряда ферментов является основой применения этих бактерий для биоремедиации, в частности, для ликвидации разливов нефти и устранения жи-

ровых загрязнений [10], очистки воды от нитритов и нитратов [11], а также биодеградации пестицидов [12], полиэтилена [13] и т.д. Ряд бактерий группы *B. cereus* пригодны для защиты сельскохозяйственных растений. Помимо веществ со свойствами антибиотиков и инсектицидов [14, 15], они производят соединения, повышающие системную устойчивость растений [16].

Указанные выше области практического использования *B. cereus*, с одной стороны, а также необходимость обнаружения присутствия спор, вегетативных форм и токсинов *B. cereus* в продуктах питания, с другой стороны, объясняют актуальность получения и характеристики ПАТ, специфичных к антигенам этих бактерий, и указывают на возможные сферы применения ПАТ.

### Материалы и методы

#### *Бактерии и условия их культивирования.*

Использовали культуры третьей генерации *Bacillus cereus* ВМ В-491 (*Bc* 491) из научной коллекции типовых и промышленно-ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Культивировали бактерии в мясопептонном бульоне (HiMedia, Индия) в течение 6, 12, 24 ч в аэробных условиях при 30 °С.

*Иммунизировали* шестимесячных самцов кроликов подкожно в область лопаток по следующей схеме: инъекция - 1, 14, 28, 60, 90-й день, забор крови - 40, 72, 100-й день с начала процедуры. Препарат для иммунизации одного животного: 2 мг лиофилизированных нежизнеспособных клеток *Bc* 491 (24 ч роста культуры), 0,1 мл стерильного 0,15 М NaCl, 2 мл полного адьюванта Фрейнда. Антисыворотку (Ас) хранили при -70 °С.

*Получение и характеристика препаратов бактерий.* Клетки/споры бактерий, выращенных в 50 мл культуральной среды, отделяли от культуральной жидкости (КЖ) центрифугированием, по 3 мл каждого препарата КЖ лиофилизовали, хранили при -20 °С, непосредственно перед анализом разводили водой до 300 мкл (10-кратный концентрат КЖ). Клетки/споры промывали, суспендировали в 1 мл 0,01 М натрий-фосфатного буфера, рН 7,5 (буфер 1), разрушали ультразвуком, осаждали обломки клеточных стенок (КС) и споры, отбирали супернатант (бесклеточную фракцию, БФ), как указано в работах [17, 18]. Определяли значения оптической плотности каждого препарата БФ при длине волны 260 нм в кювете с длиной оптического пути 1 см ( $A_{260 \text{ нм}, 1 \text{ см}}$ ), используя спектрофотометр (Carl Zeiss, Германия). Препараты БФ (БФ<sub>6</sub>, БФ<sub>12</sub>, БФ<sub>24</sub>), концентраты КЖ (КЖ<sub>6</sub>, КЖ<sub>12</sub>, КЖ<sub>24</sub>) и осадки, содержащие КС и споры (КС<sub>6</sub>, КС<sub>12</sub>, КС<sub>24</sub>), хранили при -20 °С.

*Иммуноферментный анализ (ИФА).* Использовали планшеты Greiner bio-one (Германия).

Для иммобилизации антигенов использовали буфер 1. Промывали лунки (3 раза по 200 мкл из расчета на лунку) после иммобилизации и каждой стадии анализа буфером 1, содержащим 0,2 М NaCl (буфер 2). В качестве инкубационного использовали буфер 2, содержащий 1 г/л бычьего сывороточного альбумина (БСА) (буфер 3) или 3 г/л БСА (буфер 4). Анализ проводили в дубликатах.

На 1-ой стадии ИФА использовали ПАТ, находящиеся в составе Ас кролика (ПАТ<sub>анти-*Bc* 491</sub>) или общие иммуноглобулины, выделенные из Ас (Ig<sub>анти-*Bc* 491</sub>) по стандартной методике, включающей последовательное осаждение сывороточного альбумина каприловой кислотой при рН 4,8 и Ig 45% раствором сульфата аммония при рН 7,0 – 7,5 [19]. Концентрацию Ig<sub>анти-*Bc* 491</sub> определяли спектрофотометрически, используя коэффициент поглощения  $A_{280 \text{ нм}, 1 \text{ см}, 1 \text{ мг/мл}}$ , равный 1,35. На 2-ой стадии ИФА детектировали ПАТ<sub>анти-*Ll* В-493</sub>, связавшиеся с антигенами, с использованием конъюгата пероксидазы из корней хрена (Sigma, США) с ПАТ барана против Ig кролика (ГНУ "Институт биоорганической химии НАН Беларуси", РБ). 1-ая и 2-ая стадии ИФА происходили в течение 1 ч (каждая) при 37 °С. Инициировали и останавливали ферментативную реакцию пероксидазы как указано в работе [17]. Измеряли оптическую плотность раствора в лунках при длине волны 450 нм ( $A_{450}$ ) с использованием спектрофлуориметра Infinite M200 (Tecan, Австрия).

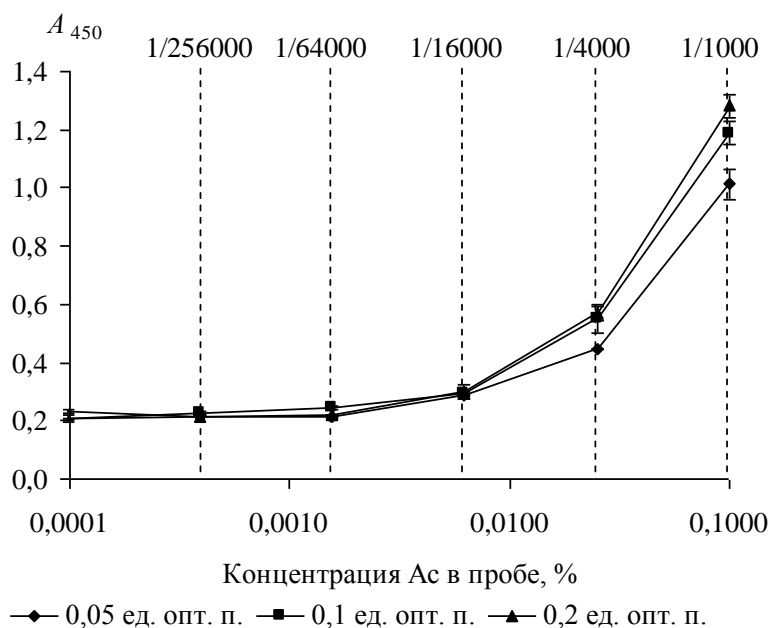
Далее указан состав раствора в лунках в процессе иммобилизации антигенов бактерий и на 1-ой стадии ИФА. *I - Определение титра Ас.* Иммобилизация - БФ<sub>12</sub> *Bc* 491 в буфере 1,  $A_{260 \text{ нм}, 1 \text{ см}} = 0,05; 0,1; 0,2$  ед. опт. п.; 100 мкл на лунку. 1-ая стадия ИФА - ПАТ<sub>анти-*Bc* 491</sub> в буфере 3, титр 1/1 024 000 – 1/1 000; 100 мкл на лунку. *II - Динамика удельной концентрации (из расчета на клетку) ( $C_{\text{уд}}$ ) антигенов *Bc* 491 в БФ.* Иммобилизация – БФ<sub>6</sub>, БФ<sub>12</sub>, БФ<sub>24</sub> *Bc* 491 в буфере 1,  $A_{260 \text{ нм}, 1 \text{ см}} = 0,1$  ед. опт. п. (каждый препарат); 100 мкл на лунку. 1-ая стадия ИФА - Ig<sub>анти-*Bc* 491</sub> в буфере 3; (0,41 – 52) мкг/мл; 100 мкл на лунку. *III. Детекция антигенов *Bc* 491 в КЖ.* Иммобилизация - БФ<sub>6</sub>, БФ<sub>12</sub>, БФ<sub>24</sub> *Bc* 491 в буфере 1,  $A_{260 \text{ нм}, 1 \text{ см}} = 0,025$  ед. опт. п. (каждый препарат); 100 мкл на лунку. 1-ая стадия ИФА - Ig<sub>анти-*Bc* 491</sub> в буфере 3; 15 мкг/мл; 50 мкл на лунку; 10-кратные концентраты КЖ (КЖ<sub>6</sub>, КЖ<sub>12</sub>, КЖ<sub>24</sub>) в количестве (0; 25 – 400) мкл на 1 мл для проб (В<sub>0</sub>; В<sub>1</sub> – В<sub>5</sub>), соответственно; 50 мкл на лунку соответствующей серии. *IV. Детекция антигенов бацилл в КС.* Иммобилизация – см. пункт III выше. Подготовка к 1-ой стадии ИФА - суспендировали препараты КС *Bc* 491 (КС<sub>6</sub>, КС<sub>12</sub>, КС<sub>24</sub>) в соответствующем объеме буфера 2; соотношения объемов суспензий находилось в пропорции,

соответствующей пропорции значений, рассчитанных для соответствующих препаратов БФ (БФ<sub>6</sub>, БФ<sub>12</sub>, БФ<sub>24</sub>) как  $A_{260\text{ нм}, 1\text{ см}}$  (ед. опт. п.) препарата БФ  $\times$  объем БФ (мл). Методом последовательных разведений буфером 2 готовили 3 серии проб, содержащих КС *Vc* 491 (КС<sub>6</sub>, КС<sub>12</sub>, КС<sub>24</sub>) (пробы В<sub>1</sub> – В<sub>5</sub> в каждой серии), используя смеситель Bio Vortex V-1 plus (BioSan, Латвия) для обеспечения гомогенности суспензий. Смешивали 0,2 мл каждой пробы (или 0,2 мл буфера 2 - проба В<sub>0</sub>) и 0,1 мл буфера 4, содержащего 22,5 мкг/мл  $I_{\text{анти-Вс } 491}$ . Перемешивали с использованием Multi Bio RS-24 (BioSun, Латвия) 2 ч при комнатной температуре. Осаждали КС центрифугированием при 13 000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге Eppendorf Mini Spin plus (Eppendorf AG, Германия). 1-ая стадия ИФА - 100 мкл супернатанта на лунку соответствующей серии.

**Результаты и обсуждение**

Теоретической основой для данной работы являлись представления о местонахождении антигенов бактерий [17, 18]. Они состоят в том, что

все антигены синтезируются внутри клетки, а затем распределяются между цитоплазмой и системной плазматической мембраной – КС или секретируются во внешнюю среду (продукты первичной секреции) в соответствии с биологическими функциями, выполняемыми каждым из биополимеров, обладающих антигенными свойствами. Кроме того, поступление антигенов во внешнюю среду может являться результатом отделения от поверхности живых клеток компонентов наружной части КС (белково-полисахаридного комплекса), происходящего по мере увеличения ее толщины в ходе старения клеток (продукты вторичной секреции) [20], или следствием гибели клеток. В соответствии с этими представлениями, максимальный набор антигенов находится в БФ, представляющей собой совокупность цитоплазмы и части компонентов КС, переходящих в раствор при разрушении клеток ультразвуком. В этой связи именно препарат БФ был использован для определения титра Ас.



Установлено, что рабочий титр Ас, полученной в результате 2-го забора крови, находится в диапазоне 1/ 1 000 - 1/16 000 (рисунок 1), и прак-

тически не изменяется в ходе процедуры иммунизации (данные не представлены), что может свидетельствовать об иммунном ответе преимущественно на полисахаридные антигены [21].

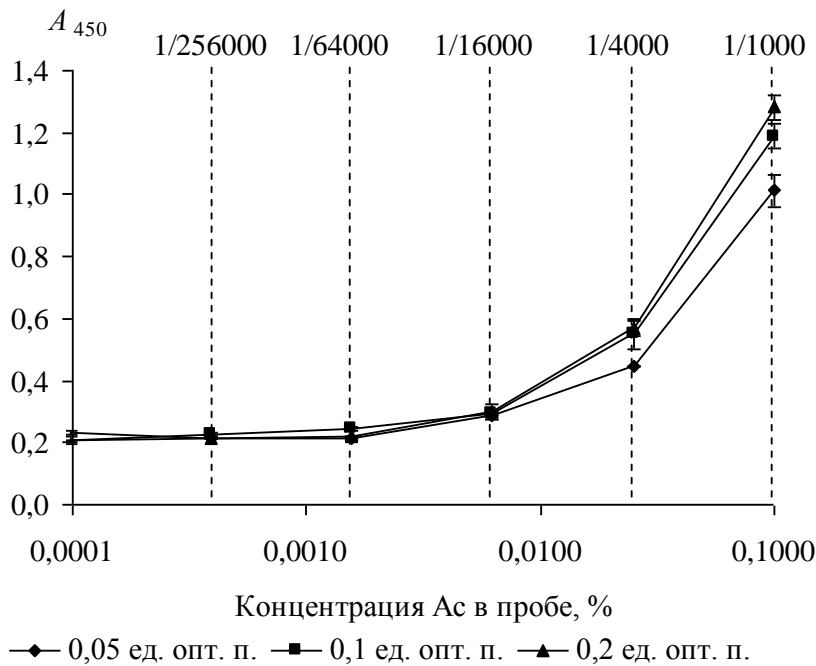


Рисунок 1 – Концентрационная зависимость связывания ПАТ<sub>анти-Vс 491</sub> (2-ой забор крови), с иммобилизованными антигенами Vс 491, находящимися в составе БФ. БФ иммобилизована из растворов со значениями A<sub>260 нм, 1 см</sub>, равными (0,05 – 0,2) ед. опт. п.

Полученные данные (рисунок 1) подтверждают присутствие антигенов бацилл в БФ. Ниже

представлены данные, подтверждающие присутствие антигенов Vс 491 в составе КЖ (секреторные антигены) (рисунок 2, А) и КС (рисунок 3, А).

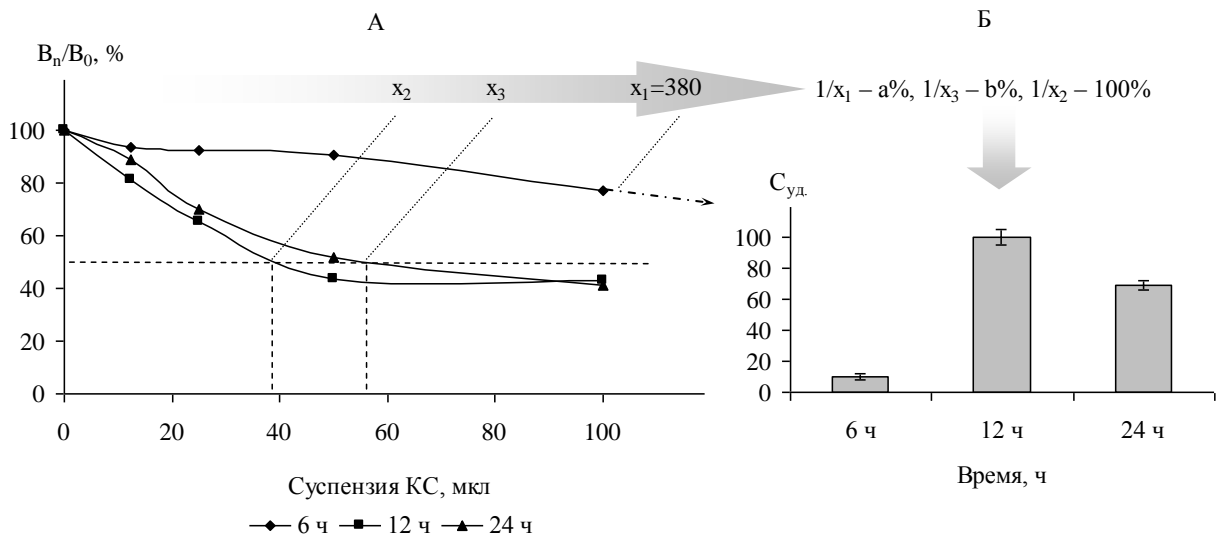


Рисунок 2. А. Опосредованная конкуренция антигенов Vс В-491, находящихся в составе КС, с внутриклеточными антигенами, находящимися в составе БФ, за связывание Ig<sub>анти-Vс 491</sub>. Представлены средние данные трех независимых экспериментов. Погрешности находятся в диапазоне не более 5%. Б. Зависимость удельной концентрации (C<sub>уд</sub>) антигенов КС Vс В-491 от продолжительности роста культуры.

Данные, представленные на рисунках 2, Б и 3, Б, демонстрируют возможность использования

ПАТ<sub>анти-Vс 491</sub> в качестве “инструмента” для исследования динамики удельной концентрации (из



расчета на клетку) секреторных антигенов и антигенов КС, соответственно. Для получения значений  $C_{уд.}$  (из расчета на клетку) антигенов, находящихся в составе КЖ и КС, "уравнивали" препараты БФ *Vc* 491 (6, 12, 24 ч роста культуры) перед их иммобилизацией на твердой фазе разведением до равных значений  $A_{260\text{ нм}, 1\text{ см}}$ , соответствующих равным концентрациям общих нуклеиновых кислот (НК) (или равному числу клеток, являющихся источником БФ [22]). Препараты КС также "уравнивали" посредством их разведения в пропорции,

соответствующей пропорции значений общего количества НК в соответствующих препаратах БФ (БФ<sub>6</sub>, БФ<sub>12</sub>, БФ<sub>24</sub>), рассчитанных как  $A_{260\text{ нм}, 1\text{ см}}$  (ед. опт. п.) препарата БФ × объем БФ (мл) (рисунок 2, А). В случае КЖ (секреторные антигены) нормализацию результатов ИФА производили математически, как указано на рисунке 3, используя для расчета общее количество НК в препарате БФ, полученном для каждой культуры.

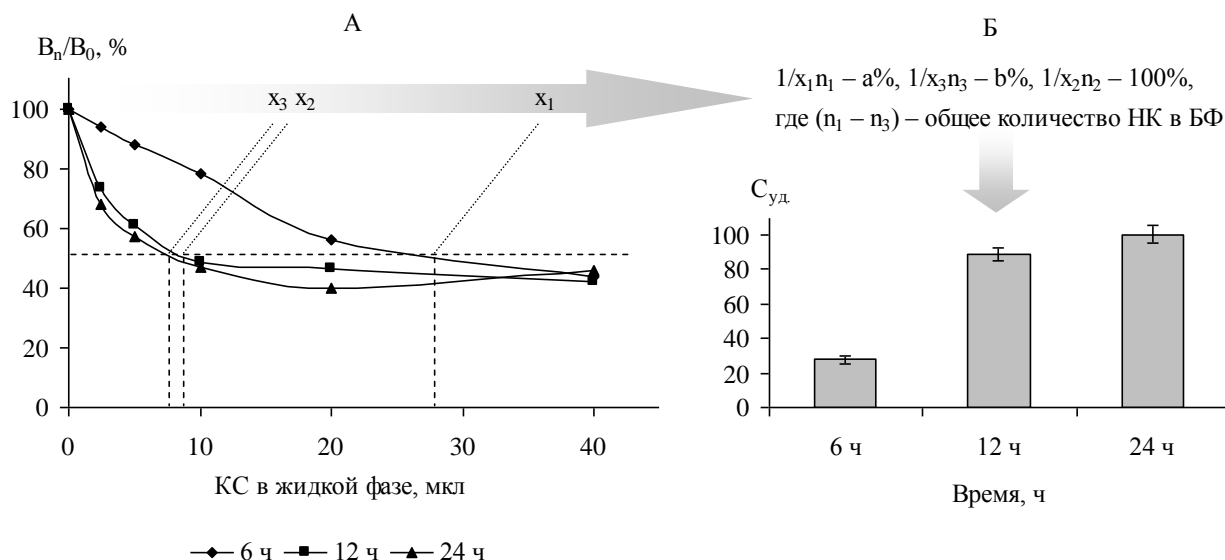


Рисунок 3. А. Конкуренция секреторных антигенов *Vc* В-491, находящихся в составе КЖ, с внутриклеточными антигенами, находящимися в составе БФ, за связывание  $Ig_{анти-Vc\ 491}$ . Представлены средние данные трех независимых экспериментов. Погрешности находятся в диапазоне не более 5%. Б. Зависимость удельной концентрации ( $C_{уд.}$ ) секреторных антигенов *Vc* В-491 от продолжительности роста культуры.

Аналогичным образом можно исследовать динамику удельной концентрации (из расчета на клетку) внутриклеточных антигенов (рисунок 4), "уравнивая" препараты БФ *Vc* 491 (6, 12, 24 ч роста культуры) перед их иммобилизацией на твердой фазе как указано выше.

Объектами подобных исследований, проводимых с использованием ПАТ<sub>анти-Vc 491</sub>, могут

являться другие штаммы бацилл, содержащие антигены, идентичные или подобные антигенам *Vc* 491. Основанием для этого утверждения являются результаты наших предыдущих работ, в которых было показано, что ПАТ, полученные в результате иммунизации животных целыми клетками бифидобактерий [18], лактококков [17] и дрожжевых грибов [23], являются видо- или родоспецифичными.

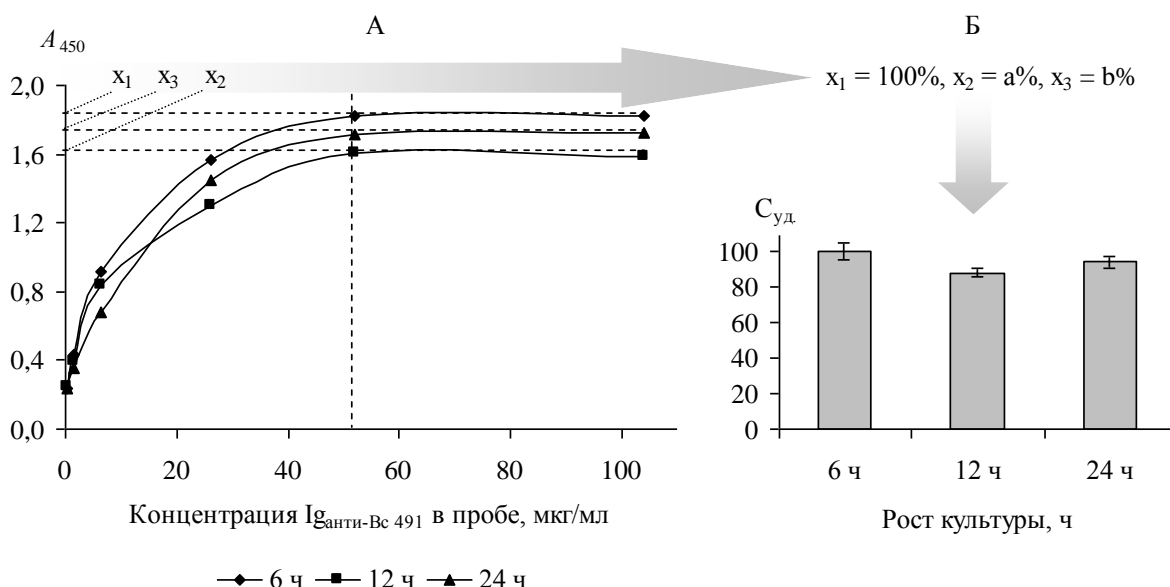


Рисунок 4. А. Концентрационная зависимость связывания Ig<sub>анти-Вс 491</sub> с внутриклеточными антигенами Вс В-491, находящимися в составе БФ. Представлены средние данные трех независимых экспериментов. Погрешности находятся в диапазоне не более 5%. Б. Зависимость удельной концентрации ( $C_{уд}$ ) внутриклеточных антигенов Вс В-491 от продолжительности роста культуры.

**Выводы**

Получены ПАТ кролика, иммунизированного целыми клетками Вс 491. Рабочий титр Ас находится в диапазоне 1/1 000 – 1/16 000 и практически не изменяется в ходе иммунизации, что может свидетельствовать об иммунном ответе преимущественно на антигены полисахаридной природы.

Показано, что ПАТ<sub>анти-Вс 491</sub> взаимодействуют с антигенами БФ, КС и секреторными антигенами, присутствующими в КЖ, и, следовательно, могут быть использованы в качестве реагентов для детекции целых клеток и растворимых антигенов Вс 491 в различных средах методами ИФА. ПАТ<sub>анти-Вс 491</sub> и данные о характере распределения антигенов бацилл в системе “клетка – среда” могут найти применение в научных исследованиях, производстве препаратов пробиотического действия, контроле качества продуктов питания и охране окружающей среды. В случае обнаружения перекрестной реакции ПАТ<sub>Вс 491</sub> с антигенами бацилл других штаммов и видов, сфера применения ПАТ<sub>Вс 491</sub> может распространиться на те виды деятельности человека, в которых используются бактерии, имеющие антигены, идентичные или сходные с антигенами штамма, используемого для иммунизации.

**Литература:**

1. Hong H.A., Ducle H., Cutting S.M. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics / H.A. Hong, H. Ducle, S.M. Cutting // FEMS Microbiol. Rev. 29 (4): 813-835.
2. Fritze D. 2004. Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: the aerobic endospore-

forming bacteria. *Phytopathology*. 94 (11): 1245-1248.

3. Lodemann U., Lorenz B.M., Weyrauch K.D., Martens H. 2008. Effects of *Bacillus cereus* var. *toyoi* as probiotic feed supplement on intestinal transport and barrier function in piglets. *Arch. Anim. Nutr.* 62 (2): 87-106.

4. Li J., Xu Y., Jin L., Li X. 2015. Effects of a probiotic mixture (*Bacillus subtilis* YB-1 and *Bacillus cereus* YB-2) on disease resistance and non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research*. 46 (12): 3008–3019.

5. Simon O., Vahjen W., Scharek L. 2003. Microorganisms as feed additive-probiotics. Proc. 9th International symposium on digestive physiology in pigs. Banff, Canada. 1: 295-318.

6. Williams L.D., Burdock G.A., Jiménez G., Castillo M. 2009. Literature review on the safety of Toyocerin, a non-toxigenic and non-pathogenic *Bacillus cereus* var. *toyoi* preparation. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 55 (2): 236-246.

7. Ceuppens S., Uyttendaele M., Drieskens K., Heyndrickx M., Rajkovic A., Boon N., Van de Wiele T. 2012. Survival and germination of *Bacillus cereus* spores without outgrowth or enterotoxin production during in vitro simulation of gastrointestinal transit. *Appl. Environ. Microbiol.* 78 (21): 7698 – 7705.

8. Senesi S., Ghelardi E. 2010. Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. *Toxins*. 2 (7): 1690-1703.

9. Ramarao N., Sanchis V. 2013. The pore-forming haemolysins of *Bacillus cereus*: a review. *Toxins*. 5 (6): 1119-1139.
10. Borah D., Yadav R.N.S. 2014. Optimization of BH medium for efficient biodegradation of diesel, crude oil and used engine oil by a newly isolated *Bacillus cereus* strain DRDU1 from an automobile engine. *Biotechnology*. 13 (4): 181-185.
11. Yao R.L., Qiu L.N., Zhang W.W., Cai H. 2013. Isolation and characteristics of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus cereus* X7 at high salinity. *Advanced Materials Research*. 864-867: 111-114.
12. Singh B., Kaur J., Singh K. 2013. Bioremediation of malathion in soil by mixed *Bacillus* culture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*. 4: 674-678
13. Sowmya H.V., Ramalingappa B., Krishnappa M., Thippeswamy B. 2014. Biodegradation of polyethylene by *Bacillus cereus*. *Advances in Polymer Science and Technology: An International Journal*. 4 (2): 28-32.
14. Romeiro R.S., Filho R.L., Macagnan D., Garcia F.A.O., Silva H.S.A. 2010. Evidence that the biocontrol agent *Bacillus cereus* synthesizes protein that can elicit increased resistance of tomato leaves to *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology*. 35 (1): 011-015.
15. Perchat S., Buisson C., Chaufaux J., Sanchis V., Lereclus D., Gohar M. 2005. *Bacillus cereus* produces several nonproteinaceous insecticidal exotoxins. *Journal of Invertebrate Pathology*. 90: 131-133.
16. Niu D., Wang X., Wang Y., Song X., Wang J., Guo J., Zhao H. 2016. *Bacillus cereus* AR156 activates PAMP-triggered immunity and induces a systemic acquired resistance through a NPR1-and SA-dependent signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 469 (1): 120-125.
17. Езубец А.П., Киселева Е.П., Коложин-Краевска Д., Новик Г.И. Поликлональные антитела кролика, иммунизированного целыми клетками *Lactococcus lactis* БИМ В-493 Д: получение, методология тестирования и основные свойства. 2014. Известия НАН Беларуси. Приложение. 32-36.
18. Киселева Е.П., Старовойтова Т.А., Михайлопуло К.И., Швайцер Дей Э., Новик Г.И. 2014. Антигены бифидобактерий: синтез и распределение в системе клетка – среда. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. Ин-т микробиологии НАН Беларуси; под. науч. ред. Э.И. Коломиец, А.Г. Лобанка. Минск: Белнаука. 6: 286-300.
19. Perosa F, Carbone R, Ferrone S, Dammacco F. 1990. Purification of human-immunoglobulins by sequential precipitation with caprylic acid and ammonium-sulfate. *J. Immunol. Methods*. 128 (1): 9-16.
20. Новик Г.И., Астапович Н.И., Рябая Н.Е., Самарцев А.А. 1997. Выделение и характеристика белково-полисахаридного комплекса, секретируемого *Bifidobacterium adolescentis*. *Микробиология*. 66 (5): 621-627.
21. Lazarus R., Clutterbuck E., Yu L.-M., Bowman J., Bateman E.A., Diggle L., Angus B., Peto T.E., Beverley P.C., Mant D., Pollard A.J. 2011. A randomized study comparing combined *Pneumococcal* conjugate and polysaccharide vaccination schedules in adults. *Clin. Infect. Dis*. 52 (6): 736-742.
22. Kiseleva E.P., Mikhailopulo K.I., Novik G.I., Sz wajcer Dey E., Zdrovenko E.L., Shashkov A.S., Knirel Y.A. 2014. Glycopolymers from *Saccharomyces cerevisiae* БИМ Y-195 with unusual immunochemical properties: isolation, structural identification and prediction of their role in pathogenesis/treatment of autoimmune thyroid diseases. *Research in immunology: an international journal*. Article ID 355367.
23. Киселева Е.П., Шостак В.В., Езубец А.П., Михайлопуло К.И., Швайцер Дей Э., Бондаревич Н.В., Новик Г.И. 2015. Поликлональные антитела кроликов, иммунизированных целыми клетками *Saccharomyces cerevisiae* БИМ Y-195 или *Debaryomyces hansenii* БИМ Y-4: методология тестирования и основные свойства. Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. Ин-т микробиологии НАН Беларуси; под. науч. ред. Э.И. Коломиец, А.Г. Лобанка. Минск: Белнаука, 7: 349-371.

# ПАРАЗИТОЛОГИЯ

Кадельник Л.А.<sup>1</sup>, Захарчук А.И.<sup>2</sup>

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКИХ ДЕРМАТОЗОВ НА ФОНЕ ПАРАЗИТАРНОЙ ЛЯМБЛИОЗНОЙ ИНВАЗИИ

<sup>1</sup>врач дерматовенеролог, соискатель,  
кафедра медицинской паразитологии и тропических болезней,  
Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>доктор медицинских наук, профессор,  
ВГУЗУ «Буковинский государственный медицинский университет»  
г. Черновцы, Украина

### CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC DERMATOSES THE BACKGROUND GIARDIASIS PARASITIC INFESTATION

Kadelnik Lyudmila  
dermatologist, competitor,  
Department of Medical Parasitology and  
Tropical Diseases,  
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate  
Education,  
Kharkiv, Ukraine  
Zakharchuk Alexander  
MD, Professor,  
Bukovinian State Medical University,  
Chernivtsi, Ukraine  
АННОТАЦИЯ

Исследована клинико-иммунологическая характеристика и показано усугубляющее влияние лямблиозной паразитарной инвазии на клиническое течение тяжелых и хронических форм дерматозов. Комплексное лечение больных хроническими дерматозами на фоне лямблиоза с хронотерминованным назначением протистостатических препаратов производных орнидазола обеспечило клиническое выздоровление 88,3% больных.

#### ABSTRACT

We studied the clinical and immunological characteristics and shows the effect of aggravating giardiasis parasitic infestation on the clinical course of severe and chronic dermatoses. Complex treatment of patients with chronic dermatoses in the background with giardiasis hronodeterminovannym appointment protistostatsidnyh derivatives Ornidazole drugs provided clinical recovery of 88,3% of patients.

Ключевые слова: лямблиоз, инвазия, хронический дерматоз, иммунитет.

Keywords: giardiasis, invasion, chronic dermatosis, immunity.

**Актуальность.** Значительная роль в механизмах формирования дерматозов отводится наследственным, нейрогенным, иммунным факторам, эндотоксемии и др. В последние годы появились отдельные сообщения о влиянии паразитарных инвазий хронические воспалительные процессы, получены данные о значительной роли в патогенезе хронических кожных процессов паразитарных инвазий кишечника (гельминтоз, лямблиоз), которые инициируют или поддерживают хронические дерматозы (ХД) [4, с. 27-32].

Общеизвестно, что в инициации и регуляции иммунного ответа значительная роль принадлежит цитокинами - биологически активным медиаторам, которые осуществляют взаимодействие иммунокомпетентных клеток между собой и с другими специализированными клетками тканей и органов. Они индуцируют и регулируют воспаление, фагоцитоз, апоптоз и другие биологические реакции, поэтому изучение цитокинового профиля имеет большое диагностическое и прогностическое значение и позволяет глубже понять механизмы развития патологического процесса. Изменения в системе цитокинов отражают дисбаланс на разных уровнях иммунной системы [5, с. 106-107]. Однако остается не изученным цитокиновый профиль у больных различными клиническими формами хронических дерматозов, а также при сочетании ХД с паразитарной инвазией.

Гладкомышечные клетки, которые находятся в постоянном взаимодействии с клетками иммунной системы (естественные киллеры, макрофаги, нейтрофилы), также влияют на состояние сосудов. Установлено, что они способны продуцировать ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и  $\gamma$ -ИФН. Так, ИЛ-8, который является хемоаттрак-

тантом нейтрофилов, включает их в процесс ремоделирования сосудов [3, с. 8-12; 10, с. 411-417].

Также с ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  тесно связан апоптоз эндотелиальных и гладкомышечных клеток [8, с. 2638-2640]. Причиной программируемой гибели эндотелиальных клеток может быть свободнорадикальное повреждение клеток в условиях гипероксигенации и повышенного уровня провоспалительных цитокинов.

Соответственно, накопление в кровотоке избыточных количеств регуляторных цитокинов с разнонаправленными эффектами может приводить не только к нарушению активации иммунокомпетентных клеток, но и к иммунопатологическим реакциям, нарушениям гомеостаза и прямому повреждающему эффекту цитокинов [9, с. 1453-1457].

С целью адекватной оценки состояния цитокиновой звена иммунитета и ее вклада в патогенез хронических дерматозов необходимо иметь комплексное представление о его роли в развитии патологического процесса при ХД [2, с. 217-220]. Цитокины можно рассматривать как возможные диагностические и прогностические маркеры, и как основания для выбора, в случае необходимости, иммуотропной терапии и оценки ее эффективности [1, 512 с.]. Однако авторы, как правило, рассматривают одно из звеньев патогенеза хронических дерматозов, тогда как в их развитии тесно взаимодействуют различные системы организма человека, и поэтому для изучения механизмов развития хронических заболеваний кожи необходимо использовать системный подход.

Собственно кожные проявления хронических дерматозов часто рассматривают как аллергическую реакцию организма на наличие чужеродных микроорганизмов, вирусов и паразитов на продукты их жизнедеятельности, когда развивается интоксикация организма. В этом случае говорят об инфекционно-аллергической природе ХД.

Отдельные исследователи считают, что важнейшим этиологическим фактором развития хронических дерматозов являются паразитозы [7, с. 659-660]. В литературе приведены данные о наличии кожных высыпаний у больных при выявлении у них кишечных паразитов. Так, работами G.M. Swank, E.A. Deitch [10, с. 411-417] показано наличие у больных дерматозами (экзема, псориаз, крапивница, нейродермит) протозойных и гельминтных инвазий.

За 2010-2015 гг. констатировано более чем двукратное увеличение заболеваемости лямблиозом. Деструктивные изменения слизистой оболочки тонкого и толстого отделов кишечника под влиянием длительного паразитирования простей-

ших и гельминтов приводят к нарушению процессов пищеварения и всасывания, до мальабсорбции, что является патогенетически важным фактором для больных ХД [6, с. 63-87].

Лямблиоз — заболевание, возбудителями которого являются лямблии (*Lambliа intestinalis*), в зарубежной литературе применяют термины *Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis* и *Giardia duodenalis*. Вегетативные формы обитают обычно в верхних отделах тонкого кишечника (двенадцатиперстная кишка и начальный отдел тощей кишки), в желчных путях и протоках, а при попадании в толстую кишку они превращаются в цисты (споры), которые с фекалиями выделяются во внешнюю среду.

Лямблиозная инвазия, возникающая на фоне иммунного дисбаланса в организме человека, усугубляет патологические изменения клеточного и гуморального звеньев иммунитета, формируя синдром взаимного отягощения. В литературе отсутствуют данные о клинико-патогенетических особенностях течения хронических дерматозов (ХД) на фоне лямблиоза, механизмах их развития и методах комплексной терапии.

**Цель.** Повысить эффективность лечения больных ХД аллергического генеза на фоне лямблиоза на основании изучения патогенеза и совершенствование диагностики сопутствующей паразитарной инвазии.

**Методы.** Клинические, лабораторные, паразитологические, иммуноферментные (определение антител к лямблиям, уровня IgE), иммунологические (показатели клеточного и гуморального иммунитета), статистические.

**Результаты.** Изучены особенности клинического течения хронических аллергодерматозов на фоне лямблиозной инвазии, в частности усиление зуда и появление новых высыпаний в ночное время, более частая хронизация процесса. Базисная терапия ХД, ассоциированных с лямблиозом, оказалась малоэффективной: у 47,6% больных — без положительной динамики, у 36,9% — наблюдалось ухудшение состояния с усилением зуда и появлением свежих высыпаний (у пациентов без сопутствующего паразитоза положительный результат лечения отмечен у 80,4% лиц). Резистентность к базисной терапии, особенно в случаях выраженной хронозависимости аллергодерматозов, послужила показанием для дополнительного обследования больных на наличие сопутствующего лямблиоза. Лямблиоз подтверждали паразитологическим исследованием фекалий, по показаниям — желчи. Установлено отягощающее влияние лямблиоза на клиническое течение ХД, характеризующееся преобладанием тяжелых и хронических форм. Частота выявления лямблий при первом исследовании фекалий больных ХД на фоне приема

энтеросорбентов достигала 30%, а у больных, которые избегали приема энтеросорбентов в течение 5-7 дней перед обследованием лямблии выявляли у 91% больных ( $P < 0,001$ ). У больных ХД на фоне лямблиоза и без него установлено снижение ( $P < 0,01$ ) в крови процента CD3 (соответственно  $46,49 \pm 0,48$  против  $65,20 \pm 4,80$  в контрольной группе), показатели CD8 ( $13,28 \pm 0,21$  против  $20,70 \pm 2,10$ ) были ниже ( $P < 0,05$ ) на фоне сопутствующего паразитоза. Наблюдалось повышение иммунорегуляторного индекса ( $2,51 \pm 0,39$  против  $1,89 \pm 0,03$  в контрольной группе). У больных лямблиозом без патологии кожи процент CD3, CD8, CD4 был меньше нормы, не отличаясь от показателей у пациентов с ХД. Содержание IgE в сыворотке крови пациентов с дерматозами на фоне лямблиоза было более значительным ( $129,51 \pm 10,52$ ), чем у здоровых ( $75,00 \pm 5,00$  ед/мл) ( $P < 0,01$ ), и больше, чем у пациентов с ХД без сопутствующего лямблиоза ( $70,16 \pm 7,68$  ед/мл) ( $P < 0,01$ ). Количественные изменения IgA, IgM, IgG и ЦИК у больных ХД не зависели от наличия сопутствующей паразитарной инвазии. Комплексное лечение больных ХД на фоне лямблиоза с хронодетерминированным назначением протистоцидных препаратов производных орнидазола обеспечило клиническое выздоровление 88,3% больных против 19,2% - без такой терапии ( $P < 0,001$ ), улучшение состояния клеточного звена иммунитета, в частности повышение относительных и абсолютных показателей CD3 ( $P < 0,01$ ). Показатели количества CD4, CD8, CD16 приблизились к уровню нормы.

#### **Выводы:**

1. Установлено усугубляющее влияние лямблиозной паразитарной инвазии на клиническое течение хронических дерматозов, характеризующееся преобладанием тяжелых и хронических форм.

2. Теоретически обосновано решение научной задачи, которая заключается в повышении эффективности лечения больных некоторыми формами хронических дерматозов аллергического генеза на фоне лямблиозной инвазии на основании изучения клинико-патогенетических особенностей их течения, совершенствование диагностики сопутствующего паразитоза.

3. Комплексная терапия хронических дерматозов обязательно должна включать противопаразитарный препарат орнидазол или его производные.

#### **Список литературы:**

1. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения : руководство для врачей, переработанное и дополненное, 3-е изд. / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. - Питер Ком, 2009. - 512 с.
2. Самцов А.В. Кожные и венерические болезни / А.В. Самцов, В.В. Барбинов. - СПб. : ЭЛБИ, 2002. - С. 217-220.
3. Сергиев В.П. Паразитарные болезни человека, их профилактика и лечение / В.П. Сергиев, М.П. Лебедева, А.А. Фролова // Эпидемиол. и инфекц. болезни. - 2007. - № 2. - С. 8-12.
4. Торопова Н.П. Паразитарная фауна кишечника у детей, страдающих атопическим дерматитом. Аспекты диагностики и патогенеза / Н.П. Торопова, Н.А. Сафронова, Л.М. Гордеева // Рос. ж. кож. и венер. болезней. - 2008. - № 2. - С. 27-32.
5. Elder J. T. Psoriasis clinical registries, genetics, and genomics / J. T. Elder // Ann Rheum. Dis. - 2005. - № 64. - P. 106-107.
6. Loppnow H. Invited review : Vascular cells contribute to atherosclerosis by cytokine and innate-immunity-related inflammatory mechanisms / H. Loppnow, K. Werdan, M. Buerke // Innate Immunity. - 2008. - Vol. 14, № 2. - P. 63-87.
7. Lynch N. R. Parasite infections and the risk of asthma and atopy / N. R. Lynch // Thorax. - 2009. - Vol. 54. - P. 659-660.
8. Scarpa R. Clinical and genetic aspects of psoriatic arthritis "sine psoriasis" / R. Scarpa, E. Cosentini, F. Manguso // J. Rheumatol. - 2003. - Vol. 30. - P. 2638-2640.
9. Shi W. Microbial control of nitrate concentrations in an agricultural soil treated with dairy waste compost or ammonium fertilizer / W. Shi, J. M. Norton // Soil. Biology and Biochemistry. - 2000. - Vol. 32. - P. 1453-1457.
10. Swank G. M. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes / G. M. Swank, E. A. Deitch // World. J. Surg. - 2006. - Vol. 20. - P. 411-417.

# СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Остапенко Н.В., Джамирзе Р.Р., Лоточникова Т.Н., Чинченко Н.Н.

## СОЗДАНИЕ НОВОГО СОРТА РИСА СТАНИЧНЫЙ

<sup>1</sup>кандидат сельскохозяйственных наук,  
ведущий научный сотрудник

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение  
«Всероссийский Научно-Исследовательский Институт риса»

Краснодар, пос. Белозёрный, 3

<sup>2</sup>кандидат сельскохозяйственных наук,  
старший научный сотрудник

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение  
«Всероссийский Научно-Исследовательский Институт риса»

Краснодар, пос. Белозёрный, 3

<sup>3</sup>кандидат сельскохозяйственных наук,  
ведущий научный сотрудник

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение  
«Всероссийский Научно-Исследовательский Институт риса»

Краснодар, пос. Белозёрный, 3

<sup>4</sup>младший научный сотрудник

Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение  
«Всероссийский Научно-Исследовательский Институт риса»

Краснодар, пос. Белозёрный,

### DEVELOPMENT OF NEW RICE VARIETY STANICHNY

*Ostapenko Nadezhda Vasilievna*

*Ph.D. in agriculture,*

*Leading researcher*

*Federal State Budgetary Scientific Institution*

*All-Russian Rice Research Institute*

*Krasnodar, p. Belozerny 3*

*Dzhamirze Ruslan Ramazanovich*

*Ph.D. in agriculture,*

*Senior scientist*

*Federal State Budgetary Scientific Institution*

*All-Russian Rice Research Institute*

*Krasnodar, p. Belozerny 3*

*Lotochnikova Tatyana Nikolaevna*

*Ph.D. in agriculture,*

*leading researcher*

*Federal State Budgetary Scientific Institution*

*All-Russian Rice Research Institute*

*Krasnodar, p. Belozerny 3*

*Chinchenko Natalya Nikolaevna*

*Junior scientist*

*Federal State Budgetary Scientific Institution*

*All-Russian Rice Research Institute*

*Krasnodar, p. Belozerny 3*

АННОТАЦИЯ

Для прогрессивного развития рисоводства необходима научно-обоснованная сортовая политика, включающая наращивание ассортимента возделываемых сортов разной технологической энергоёмкости (сорта интенсивного, экстенсивного и промежуточного типов), учитывающая характерные им особенности, а также агроклиматические условия возделывания.

Сортосмена – актуальный процесс, успех которого зависит от совместных усилий учёных и производителей. Во ВНИИ риса создан широкий спектр сортов, которые могут быть использованы в кулинарии для приготовления блюд различного назначения и позволяют обеспечить импортозамещение почти по всем видам продукции из риса. Давно и заслуженно пользуются спросом у потребителей и ценителей крупа сортов: Регул, Диамант, Хазар, Аметист, Фаворит, Лидер, Анаит, Кураж и др. В рамках научно-исследовательской работы ведётся целенаправленная селекция на выведение длиннозёрных сортов риса, увенчавшаяся определёнными успехами. Работа селекционеров направлена не только на улучшение качества крупы риса, но и увеличению устойчивости новых сортов к пирикулярриозу, как к основному патогену.

*Представлены результаты работы по созданию округлозерного сорта риса, высокоурожайного, интенсивного типа.*

#### ABSTRACT

*For progressive development of rice-growing it is necessary to maintain a scientifically grounded varietal policy which includes increasing range of cultivated varieties of various energy intensity (varieties of intensive, extensive and intermediate type), taking into consideration their specific features as well as agro-climatic conditions of cultivation.*

*Variety changing is currently important process, success of which depends on joint efforts of scientists and industrialists. In ARRRI there has been developed a wide range of varieties which can be used for cooking dishes of various purpose and allow providing import substitution for almost all kinds of rice products. Varieties Regul, Diamant, Khazar, Ametist, Favorit, Leader, Anait, Kurazh etc. are of great demand among consumers and gourmards. In the frameworks of research works there has been conducted targeted breeding for developing long-grained rice varieties, which has reached certain success. Breeders' work is not only focused on improving quality of rice grain, but also on increasing resistance of new varieties to blast, as the main pathogen.*

*Results of work on developing round-grained, high yielding rice variety of intensive type, are presented.*

*Ключевые слова: селекция риса, новый сорт, сортосмена.*

*Keywords: rice breeding, new variety, variety changing.*

Введение. В последние годы в отрасли рисоводства Краснодарского края высокими темпами ведётся сортосмена. В производство внедряются новые сорта с высокой потенциальной урожайностью и устойчивостью к стрессовым факторам среды для различных технологий возделывания, с высоким качеством зерна и ценными потребительскими свойствами крупы. Это позволило с 2005 года увеличить урожайность риса в 1,5 раза, и довести валовые сборы риса-сырца до 950 тысяч тонн [2].

Во многом рост урожайности и валовых сборов обеспечивается внедрением новых сортов риса, в основном интенсивного типа, что в свою очередь способствует росту эффективности рисоводства.

Во ВНИИ риса создан широкий спектр сортов, которые могут быть использованы в кулинарии для приготовления блюд различного назначения и позволяют обеспечить импортозамещение почти по всем видам продукции из риса. Давно и заслуженно пользуются спросом у потребителей

и ценителей крупа сортов: Регул, Диамант, Хазар, Аметист, Фаворит, Лидер, Анаит, Кураж и др.

Находит своего потребителя и крупа эксклюзивных сортов риса, созданных отечественными селекционерами: Виола, Виолетта, Вита, относящиеся к глютинозным или обволакивающим сортам; Марс и Рубин – краснозёрные, имеющие окрашенный перекарп шелушенного зерна риса; Южная ночь, Мавр и Гагат с более глубокой окраской поверхностных оболочек от тёмно-фиолетовой до графитовой. Эти сорта различаются по типу зерна и относятся к разным группам с индексом зерновки (l/b) от 1,6 до 3,5.

Созданы и районированы сорта риса – Серпантин, Изумруд, Нафант, Снежинка, Австрал и Шарм. Но они в силу различных причин не стали занимать значимых посевных площадей [3]. На Государственное сортоиспытание (ГСИ), по экспертной оценке, в 2015 году был передан длиннозёрный ароматический сорт Аромир, который создавался по типу классического Басмати. В настоящее время проходят Государственное испытание среднеспелые длиннозёрные сорта Наташа и Злата, с содержанием амилозы около 23 % [1].

Наряду с устойчивостью к стрессфакторам селекционеры работают над улучшением качества крупы новых сортов. Появились приоритетные направления потребительского спроса на рынке рисовой крупы. Расширился набор популярных блюд на основе риса. Блюда азиатской (плов), японской (суши, роллы), итальянской (паэлью, ризотто) кухни требуют для своего приготовления крупу специальных сортов. И спрос на крупу таких сортов стремительно увеличивается [6].

По мнению российских исследователей, большинство возделываемых в Краснодарском крае сортов риса относятся к подвиду японика и входят в группу короткозёрных сортов [1]. В США различают три типа шлифованного риса: длиннозёрный, среднезерный и короткозёрный рис. Типы определяются отношением длины к ширине целых зерен [5].

В имеющемся довольно широком наборе сортов риса у нас в производстве отсутствует группа с отношением длины зерновки к ширине от 1,5 до 1,7.

Цель работы – создать высокоурожайный, округлозёрный сорт риса интенсивного типа с отличным качеством крупы, устойчивый к пирикуляриозу, пригодный для возделывания по технологиям, принятым в хозяйствах Краснодарского края и Республики Адыгея.

Работа выполнялась в рамках рабочей программы НИР по теме (проекту) № 0685-2014-0011 «Создать высокоурожайный, округлозерный сорт риса интенсивного типа».



Актуальность работы заключается в создании нового отечественного высокоурожайного, устойчивого к пирикулярриозу короткозёрного сорта риса с отличным качеством крупы.

Новизна работы состоит в создании и изучении нового короткозёрного сорта риса, превышающего по урожайности сорт-стандарт Рапан.

Для достижения поставленной цели необходимо было в течении 3-4 лет провести конкурсное испытание (КСИ) 23-30 сортов риса и выделить лучший для передачи на Государственное испытание в 2016 году.

Материалом в исследованиях служили сорта конкурсного испытания и сортообразцы контрольного питомника предыдущих лет.

Для посева делянок КСИ использовали сеялку СЦВН с аппаратом центрального высева и Wintersteiger «Plotseed».

Научно-исследовательская работа выполнялась в соответствии с ГОСТ 15.101.80 «Порядок проведения научно-исследовательских работ» и методиками, разработанными во ВНИИ риса [4].

Конкурсное сортоиспытание сеяли делянками 20 м<sup>2</sup> (длина 15,2 м, ширина 1,2 м) в четырёхкратной повторности с нормой высева 7 млн. всхожих зёрен на 1 га. Размещение – рендомизированные повторения. Количество рядков в делянке – восемь, расстояние между рядами 15 см, расстояние между делянками 40 и 50 см. Сорто-стандартами в КСИ были: Снежинка (длиннозёрный), Флагман (среднезёрный) и Рапан (среднезёрный, универсального типа).

Опыты проводили на РОС ОПО ФГБНУ «ВНИИ риса». Срок посева – 29 апреля, первоначальный залив чека – 06 мая.

В опыте отмечали даты наступления фаз выметывания и полной спелости.

В течение вегетации делянки с изучаемыми сортами оценивались визуально на поле по пятибалльной шкале по густоте всходов в фазу всходов-кущения, в фазы трубкавания и выметывания

– по густоте стеблестоя, устойчивости к полеганию, поражённостью болезнями и вредителями, однородности и равномерности посевов.

После полевой браковки с делянок, намеченных к уборке, брали модельные снопы по 10-15 растений для биометрического анализа. Биометрический анализ растений проводили по признакам: высота растений, длина метёлки, общее количество колосков на метёлке, количество стерильных колосков, масса зерна с растения и с метёлки, масса соломы. Расчётным путём находили пустозёрность, плотность метёлки, количество продуктивных стеблей на 1 м<sup>2</sup>, озёрность посева (количество выполненных колосков на 1 м<sup>2</sup>), продуктивность одного дня вегетации (ПДВ), коэффициент хозяйственной эффективности фотосинтеза ( $K_{хоз.}$ ).

В опыте семенные делянки убирали вручную, остальные – малогабаритным корейским комбайном ДКС-515. После уборки учитывали урожайность и влажность зерна. Весь семенной материал просушивали до стандартной для хранения влажности и подвергали послеуборочной очистке и доработке.

Обработка результатов проводилась по методам дисперсионного и корреляционного анализов [7].

Результатом проведенной в течение последних трёх лет работы является новый сорт риса Станичный (ВНИИР 10257), переданный на Государственное испытание в 2016 году.

#### **Характеристика сорта риса Станичный (ВНИИР 10257).**

Среднепозднеспелый, округлозёрный сорт риса создан методом индивидуального отбора из ступенчатой гибридной комбинации: Нарцисс // Shimokita / 684 /// ВНИИР 7407 // Курчанка / ВНИИР10016 //// К-93-16 NSC-2 / Хазар // Фонтан / Лиман.

*Oryza sativa* L., subsp. *Japonica*, var. *subvulgaris* Braches.

Вегетационный период 125 дней, что на 15 дней больше, чем у Рапана (таблица).

**Таблица**  
**Характеристика сорта Станичный (ВНИИР 10257) в сравнении со стандартом Рапан, средняя за 2013-2015 гг.**

№	Признак	Станичный	Рапан (st)	+ / - к стандарту
1	Урожайность, т/га	9,7	8,0	+1,7
2	НСР <sub>05</sub> , т/га	0,58		
3	Продолжительность вегетационного периода, дн.	125	110	+15
4	Продуктивность дня вегетации, ц/дн./га	0,776	0,727	+0,049
5	Высота растения, см	91,0	89,0	+2,0
6	Густота продуктивного стеблестоя, шт./м <sup>2</sup>	294,0	211,0	+83,0
7	Озерненность ценоза, тыс. шт. / м <sup>2</sup>	39,56	29,35	+10,21
8	Длина главной метелки, см	17,0	17,1	-0,1
9	Общее количество колосков, шт	221	174	+47
10	Плотность главной метелки, шт./см	13,5	10,2	+3,3
11	Стерильность, %	18,0	10,5	+7,5
12	K <sub>хоз</sub>	0,5	0,5	0,0
13	Отношение длины к ширине (l/b)	1,6	2,1	-0,5
14	Масса 1000 абсолютно сухих зерен, г	22,7	23,4	-0,7
15	Масса 1000 зерен при 14 % влажности, %	25,9	26,7	-0,8
16	Пленчатость, %	19,1	19,0	+0,1
17	Стекловидность, %	85,7	95,6	-9,9
18	Общий выход крупы, %	73,2	70,8	+2,4
19	Содержание цел. ядра в крупе, %	92,1	89,8	+2,3
20	Поражаемость пирикулярриозом ИРБ, %	29,5	43,2	-13,7

Высота растений 85-95 см. Стебель, прочный, средней толщины, устойчив к полеганию. Куст плотный, вертикальный, продуктивная кустистость 1,8-2,6.

Метёлка вертикальная, среднеразвесистая, плотная, с сильным вторичным ветвлением, длиной 16-17 см. Плотность колосков 13,6 шт./см, их общее количество – 220 штук. По плотности и общему количеству колосков Станичный существенно превышает сорт-стандарт.

Пустозёрность – 8-20 %, выше стандарта в среднем на 7,5 %.

Зерновка округлой формы (l/b – 1,6) с зачатками остей (длиной 0,5-1,2 см) соломенно-желтого цвета по всему профилю метёлки у 80-90 % зерновок. Ножка метёлки средней толщины, прочная, выходит из влагалища листа на 0-1 см.

Листья зелёные, по величине промежуточные. Флаговый лист – 15-18 см, отходит от оси стебля на 20-30 градусов.

Масса 1000 абсолютно сухих зёрен – 24 г, при стандартной влажности (14 %) – 26-27 г, что практически не отличается от Рапана.

Стекловидность – 86-90 %. Этот показатель на 10 % ниже, чем у стандарта, и обусловлен мучнистой полоской на брюшке зерновки. Крупа жемчужного типа имеет отличный товарный вид с плотными стекловидно-прозрачными компактными ядрами.

Отличительной особенностью сорта Станичный является прочный, структурированный эндосперм с высокой степенью кристалличности, обеспечивающий высокий общий выход крупы (72-74 %) и содержание целого ядра (90-94 %).

Кулинарные достоинства шлифованной крупы оцениваются как хорошие и отличные. Подходит для приготовления суши-изделий, роллов, пудингов, запеканок и т.д. Так же сорт рекомендуется для производства нешлифованной и слабо шлифованной крупы повышенной питательной ценности, которая при кулинарной обработке имеет янтарный цвет, рассыпчатую консистенцию гарнира, оригинальную форму ядер, превосходный вкус и аромат.

Сорт устойчив к полеганию и осыпанию, к пирикулярриозу среднеустойчив при искусственном заражении с интенсивностью развития болезни 29,5 %, что на 13,7 ниже, чем сорта-стандарта Рапан. На естественном фоне поражение пирикулярриозом не наблюдалось.

Имеет средние темпы роста в начальный период.

Урожайность у сорта Станичный по годам изучения была стабильно высокой – 90-110 ц/га и превысила в среднем на 17 ц/га сорт-стандарт Рапан за счёт продуктивного стеблестоя (+ 83 шт./м<sup>2</sup>), продуктивности одного дня вегетации

(+0,049 ц/день/га) и озернённости ценоза на 25 % превосходящей стандарт.

В заключение следует отметить, что в отрасли рисоводства важно проводить высокими темпами сортосмену. Необходимо постоянно внедрять новые сорта риса с высокой потенциальной урожайностью и устойчивостью к неблагоприятным факторам среды для различных технологий возделывания, с высоким качеством зерна и крупы, а также ценными потребительскими свойствами. Новый округлозерный сорт риса Станичный высокоурожайный, среднеустойчивый к пирикулярриозу, с улучшенным качеством зерна и крупы займет достойное место в линейке отечественных сортов.

#### Список литературы

1. Зеленский, Г. Л. К проблеме создания и внедрения высококачественных длиннозёрных сортов риса / Г. Л. Зеленский, Н. Г. Туманьян, О. В. Зеленская, Н. В. Остапенко, А. А. Кочубей // Журнал «АгроСнабФорум», Спецвыпуск ЮГАГРО № 11, Краснодар. – С. 62-66.
2. Каталог сортов риса и овощебахчевых культур кубанской селекции // Коллектив авторов. – Краснодар: «ЭДВИ», 2015. – 100 с.
3. Малышева, Н. Н. Сорта риса специального назначения на Кубани / Н. Н. Малышева, Н.В. Остапенко // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции «Современные проблемы сельскохозяйственных наук в мире». Выпуск II. – Казань, 2015. – С. 15-18.
4. Создать высокоурожайный, круглозерный сорт риса интенсивного типа: отчёт о НИР (заключ.): рук. А. М. Оглы; отв. исп.: Н.В. Остапенко. – Краснодар: ФГБНУ «ВНИИ риса», 2015.
5. Уебб, Б. Д. Критерий качества риса в США / Б. Д. Уебб, Р. А. Стермер // Рис и его качество. Пер. с англ. – М.: Колос, 1976. – С. 96-114.
6. Харитонов, Е. М. Проблемы рисоводства в Российской Федерации и пути их решения. Качество риса / Е. М. Харитонов, Н. Г. Туманьян // Достижения науки и техники АПК. - 2010. - № 11. - С. 14-15.
7. Шеуджен, А. Х. Методика агрохимических исследований и статистическая оценка их результатов: учеб. пособие. 2-е изд. перераб. и доп. / А. Х. Шеуджен, Т. Н. Бондарева. – Майкоп: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2015. – 664 с.

# ФИЗИОЛОГИЯ

Кривчанская М.И.<sup>1</sup>, Пишак О.В.<sup>2</sup>, Хоменко В.Г.<sup>3</sup>

## ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА ПОЧКИ ПРИ БЛОКАДЕ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

<sup>1</sup>кандидат медицинских наук

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Буковинский государственный медицинский университет»  
г. Черновцы, Украина

<sup>2</sup>доктор медицинских наук, профессор,  
Черновицкий национальный университет имени Ю. Федьковича  
г. Черновцы, Украина

<sup>3</sup>кандидат медицинских наук, доцент  
Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Буковинский государственный медицинский университет»  
г. Черновцы, Украина

### EXPOSURE TO EXOGENOUS OF MELATONIN ON THE KIDNEYS AT BLOCKADE BETA-ADRENERGIC RECEPTORS

Krivchanskaya Maryana  
Candidate of Medical Sciences  
Higher State Educational Institution in Ukraine  
"Bukovina State Medical University"  
Chernivtsi, Ukraine  
Pishak Olga  
MD, Professor,  
Chernivtsi National University named after Fedkovych  
Chernivtsi, Ukraine  
Khomeiko Violetta  
PhD, Associate Professor  
Higher State Educational Institution in Ukraine  
"Bukovina State Medical University"  
Chernivtsi, Ukraine

### АННОТАЦИЯ

Клинические протоколы по применению  $\beta$ -адреноблокаторов не учитывают возможные воздействия препаратов этой группы на ренальную систему. Действие пропранолола, как одного из адреноблокаторов, обусловлено тем, что путем связывания адренорецепторов он их не активизирует, а тормозит взаимодействие с катехоламинами и предупреждает развитие клеточной реакции. Такой эффект лежит в основе влияния адреноблокаторов на все адренорецепторы или на отдельные их подтипы. Полученные результаты свидетельствуют, что пропранолол изменяет не только функции почек, но и нарушает их циркадианный ритм. Шишковидная железа явля-

ется центральным органом эндокринной системы, регулирующая циркадианные ритмы физиологических функций организма. Введение экзогенного мелатонина лишь частично нормализует явления десинхроноза.

### ABSTRACT

Clinical protocols for the use of  $\beta$ -adrenergic blockers do not account for the possible impact of preparations of this group on the renal system. Action of propranolol as one from adrenergic blockers, because to the fact that through binding adrenoceptor he their does not activate, and hinders the the interaction with by catecholamines and warns the development of cellular reaction. Such effect underlies influence adrenergic blockers for all adrenoceptors or for certain subtypes thereof. The results suggest that propranolol changes not only renal function but also violates their circadian rhythm. The pineal gland is the central organ of the endocrine system that regulates the circadian rhythms of functions organism. The introduction of exogenic melatonin only partially normalizes phenomena desynchronization.

Ключевые слова: шишковидная железа; мелатонин; адренорецепторы; бета-адреноблокатор; пропранолол.

Keywords: the pineal gland; melatonin; adrenoceptors, beta-adrenergic blocker, propranolol.

Одной из общих особенностей живых организмов, их систем и органов является их суточная периодичность [1, с. 240-265]. Это касается и такого важного органа, как почки [3, 256 с.]. Нашими исследованиями показано, что почкам интактных животных присуща четкая суточная периодизация. В физиологических условиях суточные ритмы функций почек характеризуются

относительной стабильностью и согласованностью действий.

Введение животным  $\beta$ -блокатора [4, с. 70-78] пропранолола в дозе 2,5 мг/кг массы тела при стандартных условиях освещения (12.00С:12.00Т) привело к определенным нарушениям циркадианной организации функций почек: уменьшение среднесуточного уровня мочеиспускания по сравнению с интактными животными на 43%, снижение скорости клубочковой фильтрации, рост азотемии, увеличение экскреции белка с мочой. Высокий уровень экскреции белка (протеинурия) является показателем повреждения клубочков и канальцев. Последнее подтверждается нарушением транспорта ионов натрия в проксимальном и дистальном отделах нефрона, в результате чего возрастает экскреция ионов натрия. Мы наблюдали также снижение кислотности мочи, уменьшение экскреции ионов водорода и аммонийного коэффициента. При стандартных условиях освещения аденоблокатор тормозит аденорецепторы нефрона, что сопровождается явлениями десинхроноза, а позже развиваются явления структурных перестроек: процент эпителиоцитов проксимальных канальцев с признаками альтерации и полнокровием клубочков.

Содержание животных в условиях постоянной темноты (0С:24Т) вызвало циркадианные перестройки основных почечных функций: изменение фазовых структур и снижения амплитуд циркадианных колебаний ритмов экскреции ионов калия, смещение бифазы скорости клубочковой фильтрации, рост относительной реабсорбции воды. Изменения фильтрационной способности почек приводили к достоверному росту уровня экскреции креатинина. Средний за сутки уровень проксимального и дистального транспорта ионов натрия был достоверно ниже контрольных величин. Ритм рН мочи приобретает инверсного характера, существенно возрастал базисный уровень указанного показателя. Наши исследования показали, что после воздействия пропранолола, при содержании животных в условиях постоянной темноты, изменены хроноритмы исследуемых функции почек, частично носят нормализующий характер. Вероятно, усиленный синтез эндогенного мелатонина лежит в основе нормализации основных почечных параметров.

Здесь четко показан защитный эффект эндогенного мелатонина, уровень которого существенно растет при удерживании животных в темноте. С одной стороны можно считать, что снижается чувствительность аденорецепторов в условиях длительного освещения к аденоблокатору. Такое предположение не лишено смысла и требует дальнейших исследований. Но, с другой стороны существует абсолютно доказанный факт,

что мелатонин устраняет продукты распада пероксинитриду, в частности гидроксильный радикал, двуокись азота и карбонатный радикал, которые негативно влияют на ход функционирования почек и ухудшают клубочково-канальцевый дисбаланс. Мелатонин способен поддерживать некоторые внутриклеточные антиоксидантные ферменты, в частности глутатионпероксидазу и супероксиддисмутазу.

Наибольшие функциональные изменения в почках мы регистрировали при действии  $\beta$ -блокатора в условиях постоянного освещения – высокий уровень экскреции белка и замедление скорости ультрафильтрации, натрийурез и снижение проксимальной и дистальной реабсорбции катиона, возрастание экскреции титрованных кислот. Нарушения экскреции натрия могут быть связаны со снижением концентрации альдостерону в плазме крови. Известно, что последний обеспечивает реабсорбцию ионов натрия в дистальном нефроне. Общеизвестно, что уровень альдостерону в крови подчинен суточным колебаниям из акрофазой у крыс ночью и минимальным уровнем в световой промежуток суток. Можно допустить, что длительное действие света обусловило супрессию плазменной концентрации альдостерону со следующим торможением канальцевой реабсорбции натрия.

Известно, что базальные концентрации цАМФ шишковидной железы крыс, которые испытали длительное освещение, существенно не отличались от базальных концентраций у крыс, которых удерживали в нормальном цикле изменения света и темноты. Но в ответ на норадреналин у последних активность цАМФ росла в четыре раза, а у животных, которые находились при длительном освещении уровни цАМФ повышались в девять раз. Следовательно, длительное освещение вызывает не только функциональные расстройства в шишковидной железе, возникают существенные биохимические сдвиги, которые нарушают синтез в органе эндогенного мелатонина. Нельзя пренебречь и снижением синтеза эндогенного мелатонина и адитивную роль пропранолола и длительное освещение (24С:0Т). Введение экзогенного мелатонина повышало экскрецию с мочой натрия и эндогенного креатинина, как показателя скорости клубочковой фильтрации. Но такой эффект был короткодлительным. Экзогенный мелатонин [2, с. 269-273], введенный в разные промежутки суток, способный влиять на показатели основных почечных функций и реализовать эффекты через стимулирование специфических мелатониновых рецепторов. Эти рецепторы с помощью специфических антител выявлены на базолатеральной мембране начальных отделов прокси-

мальных канальцев, и с меньшей мерой – в клубочках. Выявленные сдвиги только частично компенсировались введением экзогенного мелатонина (0,5 мг/кг массы) и касались модулирующих эффектов по отношению к транспорту воды и иона  $\text{Na}^+$  в проксимальном отделе нефрона.

**Список литературы:**

1. Агаджанян Н.А. Хронобиология и хрономедицина / Агаджанян Н.А. – М. : Медицина, 2000. – С. 240-265.
2. Анисимов В.Н. Мелатонин и его место в современной медицине / В.Н. Анисимов // Российский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 4. – С. 269-273.
3. Вандер А. Физиология почек / Вандер А. – СПб. : Питер, 2000. – 256 с.
4. Давыдова И.В. Бета-адреноблокаторы: механизмы действия, классификация, показания и противопоказания к применению / И.В. Давыдова // Кардиология. – 2009. – Т.60, №4. – С.70-78.

# ХИМИЧЕСКАЯ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Беляев Е.Н.<sup>1</sup> \* Смирнов С.В.<sup>2</sup>

## ХИМИЧЕСКАЯ (БИОЛОГИЧЕСКАЯ) БЕЗОПАСНОСТЬ В ГИГИЕНЕ ТРУДА КАК ОСНОВА ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ХАРАКТЕРА

<sup>1</sup>Первый заместитель главного врача Федерального бюджетного учреждения здравоохранения  
«Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора»,  
член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор, г. Москва

<sup>2</sup>главный консультант ректора по санитарно-эпидемиологическому благополучию (СЭБ), Ме-  
дицинский университет «РЕАВИЗ», кандидат медицинских наук, доцент, г. Самара

*THE CHEMICAL (BIOLOGICAL) SECURITY  
IN OCCUPATIONAL HEALTH AS A BASIS FOR  
PREVENTION OF A PROFESSIONAL NATURE*

*Belaev Evgeni*

*First Deputy Chief Physician of Federal  
Budget*

*Health Facility Facility*

*"Federal Centre of Hygiene and Epidemiol-  
ogy", Corresponding Member in Russian Academy of  
Medical Sciences, MD., professor, Moscow*

*Smirnov Sergei*

*Chief consultant of the rector of sanitary and  
epidemiological welfare Medical University  
"Reaviz" Candidate of Medical Sciences, Associate  
Professor, Samara*

**АННОТАЦИЯ**

*В статье приводится анализ причин и фак-  
торов, вызывающих рост профессионально обу-  
словленной патологии у работников отдельных  
отраслей промышленности; освещается про-  
блема возникновения заболеваний рабочих при  
воздействии промышленных аллергенов на уров-  
нях ниже допустимых (ПДК) с последующей их  
квалификацией как страховой случай.*

**ABSTRACT**

*The analysis of the causes and factors contrib-  
uting to the growth of occupational diseases among  
workers in selected industries; the problem of dis-  
eases of workers when exposed to industrial allergens  
at levels below permissible with their subsequent  
qualification as an insurance case.*

*Ключевые слова: аллерген; субпороговое  
действие; условия труда; страховой случай*

*Key words: allergen; subliminal effect; work-  
ing conditions; the insured event*

Одним из факторов, оказывающих значи-  
тельное влияние на состояние здоровья работаю-  
щих, являются условия труда, которые на многих  
предприятиях различных отраслей промышлен-  
ности не отвечают санитарно-гигиеническим тре-  
бованиям.

По данным официальной статистики на тер-  
ритории Самарской области представлен весь  
спектр вредных производств [1, 2].

Прямым следствием неудовлетворитель-  
ных условий труда является рост профессио-  
нально обусловленной патологии [3,4].

За последние годы уровень заболеваемости  
рабочих, занятых, во вредных условиях труда, а  
также имеющих контакт при выполнении профес-  
сиональных обязанностей с вредными факторами  
производства, сохраняются стабильно высоким в  
таких отраслях промышленности, как химиче-  
ская, строительная, металлургическая, а также  
мясная промышленность.

Проанализировав результаты государ-  
ственного санитарно-эпидемиологического  
надзора за условиями труда на объектах мясной  
промышленности и сходной инфраструктуры, на  
гальваническом производстве, а также у газо- и  
электросварщиков, установлено следующее [1, 2].

Профессиональные риски для здоровья ра-  
ботников указанных категорий профессий и ви-  
дам экономической деятельности обусловлены  
особыми условиями осуществления технологиче-  
ского процесса, сосредоточением в процессе тру-  
довой деятельности большого количества вред-  
ных производственных факторов химической  
и/или биологической природы.

На первый план выступает проблема поли-  
валентной сенсibilизации к профессиональным  
факторам, обладающим выраженным аллергизи-  
рующим действием на организм работника (ов).

Гигиенические параметры обитаемости соответствующих производств и предприятий на соответствующих рабочих местах не отвечают уровню санитарно-эпидемиологической безопасности, несмотря на проводимые мероприятия по устранению и предупреждению воздействия вредных и опасных факторов, по улучшению организации труда, быта и отдыха работников.

Остается по-прежнему значимой цифра профессиональной заболеваемости работников указанных категорий профессий, причем причинно значимыми не на последнем месте стоят профессиональные аллергены, зачастую присутствующие в производственных условиях в субполюговых концентрациях в воздухе рабочей зоны.

В некоторых субъектах Российской Федерации, в частности в Самарской области, уровень профессиональной заболеваемости составил в 2010 -2009г.г. соответственно 3,13 и 2,56 случая на 10000 работников. Удельный вес числа работников в структуре заболеваемости указанных категорий профессий составил до 80%. (по данным научных исследований: **Спиридонов А.М., Смирнов С.В., 2011-2012**).

Анализ состояния здоровья работающих на соответствующих объектах вредных производств за последние годы свидетельствует о его существенном ухудшении.

Имеют место факты сокрытия заболеваемости с целью продолжения работы лицами, имеющими целый ряд заболеваний, что является причиной низкой выявляемости профессиональной патологии на предприятиях указанных комплексов (производств).

Отмечаются систематические нарушения законодательства в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения на предприятиях среднего и малого бизнеса соответствующей инфраструктуры: не отлажена система по организации и проведению предварительных при поступлении на работу и периодических медицинских осмотров, не соблюдаются режимы труда и отдыха сварщиков, гальваников, работников производственного ветеринарного контроля (ОПВК) мясокомбинатов, недостаточное обеспечение санитарно-бытовыми помещениями, а также не проводится должным образом производственный контроль за условиями труда.

Рост профессиональной заболеваемости вызван на территории изучаемого региона накоплением хронической патологии у работающих за период социально-экономических преобразований в стране. В полной мере это утверждение применимо и к проблеме предупреждения возникновения профпатологии, причем, особенно когда невозможно достичь на местах должным образом организованной профилактики. В этих условиях

решить проблему первичной выявляемости профпатологии, подтверждения страховых случаев в группах риска с целью предупреждения как возникновения новых случаев, так и хронизации клинического течения заболевания у пострадавших, не представляется возможным.

Существующий в настоящее время мониторинг загрязнителей различных объектов окружающей среды, основанный на принципах ПДК, нуждается в модернизации (**Стародубов В.И., 2002**). Созданная в свое время как система нормативов, ориентированная на запросы народного хозяйства, теперь она должна быть переориентирована на принципы сохранения здоровья населения (**Стародубов В.И., Беляев Е.Н., Киселев А.С., 2002**).

В работе достоверно установлено, что удельный вес больных с общими заболеваниями легких, регистрируемые как общие заболевания в десятки раз превышают страховые случаи профессиональных аллергозов. По мнению автора это обстоятельство в большинстве случаев связано не с тем, что у больного определенным фактор производства и трудового процесса не вызвал развития профзаболевания, а чаще невозможностью оценить сотрудниками учреждений Роспотребнадзора действительный класс условий труда работника на его рабочем месте.

Данное обстоятельство диктует актуальность разработки конкретных научно обоснованных предложений в решении проблемы установления профессионального характера аллергозов работников (на примере заболеваний органов дыхания), независимо от величин кратности ПДК аллергена в воздухе рабочей зоны, зачастую не позволяющих установить класс условий труда, его степень вредности.

Нами достоверно установлено, что удельный вес больных с общими заболеваниями легких, регистрируемыми как общее заболевание в десятки раз превышает страховые случаи профессиональных аллергозов. По нашему мнению это обстоятельство в большинстве случаев связано не с тем, что у больного определенным фактор производства и трудового процесса не вызвал развития профзаболевания, сколько невозможностью оценить сотрудниками Роспотребнадзора действительный класс условий труда работника на его рабочем месте.

Это обстоятельство, в свою очередь, приводит не только к невозможности подтвердить страховой случай заболевания у работника, но и проводить аттестацию рабочих мест (с 01.01.2014г. – специальная оценка условий труда, Федеральный закон от 28.12.2013г. № 426 –ФЗ «О специальной оценке условий труда») пусть даже аккредитован-



ными в установленном законом порядке организациями в большинстве случаев на усмотрение работодателя, делая аттестацию рабочих мест весьма условной, имеющей необъективный характер, не позволяющей в итоге выделить ведущий фактор производства, имеющий непосредственное отношение к развитию профессионального заболевания. Наиболее часто регистрируемые случаи обращения работников в специализированной учреждения здравоохранения - Областные центры профпатологии, в т.ч. и в г. Самара, по поводу установления профессионального характера заболеваний органов дыхания превращают данную нозологическую группу профессиональной патологии в наиболее «чувствительную» к проблеме оценки класса условий труда работника, особенно в отношении профессиональных аллергозов [5].

### Список литературы

1. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2009г.». Москва, 2010.- 456С.
2. Государственный доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010г.». Москва, 2011.- 431С.
3. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации в 2008-2009гг. (Информационный сборник статистических и аналитических материалов), Москва.-2010.- 28С.
4. О состоянии профессиональной заболеваемости в Российской Федерации в 2009г. (Информационный сборник статистических и аналитических материалов), Москва.-2010.-76 С.
5. Профессиональные заболевания и их распределение по классам условий труда в Российской Федерации (Информационный сборник статистических материалов), Москва.-2013.-124С.

\*- фрагмент диссертационной работы

## Научный фонд "Биолог"

### Ежемесячный научный журнал

№ 2(16)/ 2016

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

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

#### Редакционный совет:

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

**Художник:** Вернандский Д.К.

**Верстка:** Артемьев З.Л.

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

Научный фонд "Биолог"

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

**Адрес электронной почты:** [office@biologyfond.ru](mailto:office@biologyfond.ru)

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

**Учредитель и издатель:** Научный фонд "Биолог"

Тираж 1000 экз.

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