

*Журнал Научное обозрение.
Педагогические науки
зарегистрирован Федеральной службой
по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.
Свидетельство ПИ № ФС77-57475
ISSN 2500-3402*

Импакт-фактор РИНЦ (двухлетний) = 0,646

*Учредитель, издательство и редакция:
НИИЦ «Академия Естествознания»,
Почтовый адрес: 105037, г. Москва, а/я 47
Адрес редакции: 410056, г. Саратов,
ул. им. Чапаева В.И., д. 56*

**Founder, publisher and edition:
SPC Academy of Natural History,
Post address: 105037, Moscow, p.o. box 47
Editorial address: 410056, Saratov,
V.I. Chapaev Street, 56**

*Подписано в печать 24.10.2019
Дата выхода номера 24.11.2019
Формат 60×90 1/8*

*Типография
НИИЦ «Академия Естествознания»,
410035, г. Саратов,
ул. Мамонтовой, д. 5*

**Signed in print 24.10.2019
Release date 24.11.2019
Format 60×90 8.1**

**Typography
SPC «Academy Of Natural History»
410035, Russia, Saratov,
5 Mamontovoi str.**

*Технический редактор Нестерова С.Г.
Корректор Галенкина Е.С.*

*Тираж 1000 экз.
Распространение по свободной цене
Заказ НО 2019/5
© НИИЦ «Академия Естествознания»*

Журнал «НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ» выходил с 1894 по 1903 год в издательстве П.П. Сойкина. Главным редактором журнала был Михаил Михайлович Филиппов. В журнале публиковались работы Ленина, Плеханова, Циолковского, Менделеева, Бехтерева, Лесгафта и др.

Journal «Scientific Review» published from 1894 to 1903. P.P. Soykin was the publisher. Mikhail Filippov was the Editor in Chief. The journal published works of Lenin, Plekhanov, Tsiolkovsky, Mendeleev, Bekhterev, Lesgaft etc.



М.М. Филиппов (M.M. Philippov)

С 2014 года издание журнала возобновлено
Академией Естествознания

**From 2014 edition of the journal resumed
by Academy of Natural History**

Главный редактор: Н.Ю. Стукова
Editor in Chief: N.Yu. Stukova

Редакционная коллегия (Editorial Board)

**А.Н. Курзанов (A.N. Kurzanov)
М.Н. Бизенкова (M.N. Bizenkova)
Н.Е. Старчикова (N.E. Starchikova)
Т.В. Шнуровозова (T.V. Shnurovozova)**

НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ • ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

SCIENTIFIC REVIEW • PEDAGOGICAL SCIENCES

www.science-education.ru

2019 г.



***В журнале представлены научные обзоры,
литературные обзоры диссертаций,
статьи проблемного и научно-практического
характера***

The issue contains scientific reviews, literary dissertation reviews,
problem and practical scientific articles

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕРИАЛЫ XI МЕЖДУНАРОДНОЙ СТУДЕНЧЕСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ 2019»

Биологические науки (03.00.00, 03.02.00, 03.03.00)

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ IN VITRO ЛУКОВИЧНЫХ РАСТЕНИЙ <i>Алимбай А.Б., Амирова А.К., Лесова Ж.Т.</i>	7
ЦИТОКОММУНИКАТИВНЫЕ ИНДУКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ГЕПАТОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОДНОКРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ <i>Антонова Е.И., Костина О.М., Волкова Е.С., Бармина С.А.</i>	11
КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ МЕЛАНОЦИТОВ И ИХ БИОЛОГИЯ ПРИ МЕЛАНОМЕ <i>Антонова Е.И., Бармина С.А., Волкова Е.С., Костина О.М.</i>	15
ГИСТОТОПОГРАФИЯ И ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСУДИСТОГО РУСЛА ПЕЧЕНОЧНОГО АЦИНУСА В УСЛОВИЯХ МНОГОКРАТНОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ <i>Антонова Е.И., Бармина С.А., Волкова Е.С., Костина О.М.</i>	19
ПОВЕДЕНЧЕСКОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>Балакин Г.Ю., Синельникова В.А., Поляков Н.К., Андреюк О.А.</i>	22
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ <i>Барышева Е.С., Суптеля В.С., Иванова А.В., Мликов Е.М.</i>	27
МИКРОДИАЛИЗ И МИКРОФЛЮИДИКА – СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>Бервинова А.В., Кулешова Л.М., Завалиева Д.П., Власова А.А.</i>	31
МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ИХ РОЛЬ В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУКАХ <i>Бородин В.О., Сабиров Д.Х., Цыбина А.Н., Звада Е.А.</i>	36
ОБЗОР МЕТОДИК УЧЕТА СИБИРСКОГО ШЕЛКОПРЯДА (<i>DENDROLIMUS SUPERANS</i> <i>SIBIRICUS TSCHEW.</i>) <i>Бубнова М.А., Бубнов М.И.</i>	41
ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ КАК МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ <i>Колотова А.А., Васильева О.Ю., Горошко П.В.</i>	46
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДИК ОЦЕНКИ ПЕРЕКИСНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ <i>Вельш О.А., Филончикова Е.С., Трофимова Е.Е.</i>	52
СОВРЕМЕННЫЕ АППАРАТНЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПСИХОФИЗИОЛОГИИ <i>Иванова Ю.Д., Бурькина К.Ю., Лебедева Ж.И., Волонтырь А.В.</i>	55
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЙОДА ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА ОРЕНБУРГ <i>Китова Е.П., Кривоносова Е.В., Ильясова Ю.З., Бибарцева Е.В.</i>	59
СКЛОННОСТЬ К РИСКУ КАК КРИТЕРИЙ СПОРТИВНОГО ОТБОРА <i>Ларин Н.А., Мирошникова С.С.</i>	63

ПРИМЕНЕНИЕ ОБЩЕЛАБОРАТОРНОГО ОБОРУДОВАНИЯ В ОБЩЕБИОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Лебедева Н.А., Бондарева А.А., Костина А.С., Панова А.С. 67

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Магомедов Д.М., Кан А.Е., Павлов В.М., Ососков В.С. 71

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОАРХИТЕКТониКИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ БРЫЖЕЙКИ СЕРОГО КИТА (ESCHRICHTIUS ROBUSTUS)

Романова А.В., Букина Л.А., Созонов В.М., Сунцова Н.А. 75

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ЦИНКА НА РОСТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ, ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Русяева М.Л., Филончикова Е.С., Сизенцов Я.А. 79

НАСЕЛЕНИЕ ПУШНЫХ ВИДОВ ОХОТНИЧЬИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА НАЧАЛО ОХОТНИЧЬИХ СЕЗОНОВ 2017 И 2018 Г. ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛЬТЫ» УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ» (ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)

Рыков В.П., Суворова К.А., Козлова Н.Ю. 83

НАСЕЛЕНИЕ БОРОВОЙ ДИЧИ НА ОСЕНЬ 2018 Г. ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛЬТЫ» УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ» (ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)

Суворова К.А., Козлова Н.Ю., Енин Э.В., Швырев А.Д. 88

НАСЕЛЕНИЕ КОПЫТНЫХ И КРУПНЫХ ХИЩНИКОВ НА ОСЕНЬ 2018 Г. ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛЬТЫ» УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ» (ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)

Суворова К.А., Рыков В.П., Козлова Н.Ю. 92

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНОСОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ

Сухова А.П., Хмара К.В., Васенко Е.А., Жерихова Я.Н. 96

Экологические науки (03.02.08, 03.00.16, 25.00.36)

УГОЛЬНЫЙ РАЗРЕЗ «КАНГАЛАССКИЙ» КАК ИСТОЧНИК ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА (ЦЕНТРАЛЬНАЯ ЯКУТИЯ)

Егорова З.Н. 100

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ – ВАЖНЕЙШИЕ ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОСТИ

Лузгина В.А., Шишелова Т.И. 103

CONTENTS

PROCEEDINGS OF THE XI INTERNATIONAL STUDENT'S SCIENTIFIC CONFERENCE «STUDENT SCIENTIFIC FORUM 2019»

Biological sciences (03.00.00, 03.02.00, 03.03.00)

IN VITRO CULTIVATION OF ONION PLANTS

Alymbay A.B., Amirova A.K., Lessova Z.T. 7

CYTOCOMMUNICATOR INDUCTION AND INDICATORS OF CELL CYCLE OF HEPATOCYTES OF A SINGLE ETHANOL INTOXICATION

Antonova E.I., Kostina O.M., Volkova E.S., Barmina S.A. 11

CELL LINES OF MELANOCYTES AND MELANOMA BIOLOGY

Antonova E.I., Barmina S.A., Volkova E.S., Kostina O.M. 15

HISTOTOPOGRAPHY AND DYNAMICS OF INDICATORS OF THE VASCULAR BED OF THE HEMATIC ACINUS IN THE CONDITIONS OF MULTIPLE ETHANOL INTOXICATION

Antonova E.I., Barmina S.A., Volkova E.S., Kostina O.M. 19

BEHAVIORAL PHENOTYPE TESTS AND THEIR APPLICATION IN MODERN BIOLOGICAL RESEARCH

Balakin G.Y., Sinelnikova V.A., Polyakov Y.A., Andreyuk A.O. 22

BIO-ENERGETIC VALUE OF MILK AND DAIRY PRODUCTS

Barysheva E.S., Suptelya V.S., Ivanova A.V., Mlikov E.M. 27

MICRODIALYSIS AND MICROFLUIDICS – MODERN METHODS IN BIOMEDICAL RESEARCH

Bervinova A.V., Kuleshova L.M., Zavaliyeva D.P., Vlasova A.A. 31

MICROSCOPIC METHODS AND THEIR ROLE IN MODERN BIOLOGICAL SCIENCES

Borodin V.O., Sabirov D.K., Tsibina A.N., Zvada E.A. 36

REVIEW OF METHODS OF ACCOUNT OF SIBERIAN SHELK ORDER (DENDROLIMUS SUPERANS SIBIRICUS TSCHETW.)

Bubnova M.A., Bubnov M.I. 41

POLYMERASE CHAIN REACTION AS THE RESEARCH TECHNIQUE IN MOLECULAR AND GENETIC DIAGNOSTICS

Kolotova A.A., Vasileva O.Y., Goroshko P.V. 46

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE METHODOLOGY FOR ESTIMATING THE PERXIFICITY OF ERYTHROCYTES BASED ON LITERARY DATA

Velsh O.A., Filonchikova E.S., Trofimova E.E. 52

MODERN HARDWARE METHODOICAL APPROACHES IN EXPERIMENTAL PSYCHOPHYSIOLOGY

Ivanova Y.D., Burykina K.Y., Lebedeva Z.I., Volontyr A.V. 55

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE CONTENT OF IODINE OF ORENBURG CITY RESIDENTS

Kitova E.P., Kryvonosova E.V., Ilyasova J.Z., Bybartseva E.V. 59

RISK TOLERANCE AS A CRITERION IN SPORTS SELECTION

Larin N.A., Miroshnikova S.S. 63

APPLICATION OF PUBLISHING EQUIPMENT IN GENERAL BIOLOGICAL RESEARCH

Lebedeva N.A., Bondareva A.A., Kostina A.S., Panova A.S. 67

MODERN APPROACHES IN CLINICAL AND BIOCHEMICAL RESEARCH	
<i>Magamedov D.M., Kan A.E., Pavlov V.M., Ososkov V.S.</i>	71
FEATURES OF CYTOARCHITECTONICS OF LYMPH NODES OF MESENTERY ESCHRICHTIUS ROBUSTUS	
<i>Romanova A.V., Bukina L.A., Sozonov V.M., Suntsova N.A.</i>	75
STUDYING THE EFFECTS OF ZINK SALTS ON THE GROWTH OF PROBIOTIC, PATHOGENIC AND CONDITIONALLY-PATHOGENIC STRAINS OF MICROORGANISMS	
<i>Rusyaeva M.L., Filonchikova E.S., Sizentsov Y.A.</i>	79
POPULATION OF FOOD SPECIES OF HUNTING MAMMALS AT THE BEGINNING OF HUNTING SEASONS 2017 AND 2018 TERRITORY OF THE EDUCATIONAL BASE «MOLTS» TRAINING AND EXPERIMENTAL HUNTING EDUCATIONAL BASED HUNTING ECONOMIC HUNTING GROWTH OF THE HOLDS OF TRAINING AND EXPERIENCED HUNTING TRAINING MOLTA	
<i>Rykov V.P., Suvorova K.A., Kozlova N.Y.</i>	83
POPULATION OF THE BORING DOG ON THE AUTUMN 2018 THE TERRITORY OF THE TRAINING BASE «MOLTS» OF THE EDUCATIONAL-EXPERIENCED HUNTING ECONOMY «HOLOUT» (SOUTHERN BAYCALE)	
<i>Suvorova K.A., Kozlova N.Y., Enin E.V., Shvyrev A.D.</i>	88
POPULATION OF HUNDRED AND LARGE PREDATORS FOR THE AUTUMN 2018 TERRITORY OF THE EDUCATIONAL BASE «MOLTS» EDUCATIONAL AND EXPERIMENTAL HUNTING ECONOMY «HOLOUSTNOJE» (SOUTH PREDBAYKALJE)	
<i>Suvorova K.A., Rykov V.P., Kozlova N.Y.</i>	92
MODERN APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN CLINICAL MEDICINE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY	
<i>Sukhova A.P., Khmara K.V., Vasenko E.A., Zherikhova Y.N.</i>	96
Ecological sciences (03.02.08, 03.00.16, 25.00.36)	
KANGALASSKY COAL MINE AS A SOURCE OF AIR POLLUTION (CENTRAL YAKUTIA)	
<i>Egorova Z.N.</i>	100
ENVIRONMENTAL ISSUES –THE MAJOR ISSUES OF THE DAY	
<i>Lounguina V.A., Shishelova T.I.</i>	103

УДК 581.14, 576.32

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ IN VITRO ЛУКОВИЧНЫХ РАСТЕНИЙ

Алимбай А.Б., Амирова А.К., Лесова Ж.Т.

Алматинский технологический университет, Алматы,

e-mail: zhaniha_lesova@mail.ru

В данной статье представлены результаты использования методов биотехнологии для размножения луковичных растений Зефирантеса (*Zephyranthes rosea*) и исчезающего вида Рябчика бледноцветкового (*Fritillaria pallidiflora*), занесенного в Красную Книгу Республики Казахстан. В качестве эксплантов использовали отрезки пазушных почек, донца луковицы (видоизмененный стебель) и луковичных чешуй данных растений. Высокий процент стерильности эксплантов (70–80%) был достигнут при использовании дезинфицирующих растворов 0,5% гипохлорита натрия (7 мин) и 70% этанола (5 мин). Показана возможность получения клеточных культур, в том числе каллусов и растений-регенерантов в условиях *in vitro*. Обнаружено, что питательная среда Мурасиге и Скуга с добавлением 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК является оптимальной для регенерации растений, где частота прямой регенерации растений из отрезков луковой чешуи и из донца луковицы достигала до 3,3% и 100%, соответственно. Установлено, что в культуре *in vitro* луковичных растений удобными эксплантами для регенерации растений являются отрезки донца луковицы.

Ключевые слова: каллусогенез, регенерация растений, размножение, *in vitro*, декоративные и лекарственные растения

IN VITRO CULTIVATION OF ONION PLANTS

Alymbay A.B., Amirova A.K., Lessova Z.T.

Almaty Technological University, Almaty, e-mail: zhaniha_lesova@mail.ru

This article presents the results of using biotechnology methods for reproduction of onion plants *Zephyranthes rosea* and endangered species *Fritillaria pallidiflora*, listed in the Red Book of the Republic of Kazakhstan. As explants have been used the pieces of axillary buds, bulbs bottom (modified stems) and onion scales of these plants. A high percentage of explants sterility (70–80%) have been achieved using disinfectant solutions of 0.5% sodium hypochlorite (7 min) and 70% ethanol (5 min). The possibility of obtaining *in vitro* cell cultures, including calluses and regenerated plants, has been shown. It was found that the Murashige and Skoog nutrient medium supplemented with 10.0 mg/l BAP and 1.0 mg/l NAA is optimal for plant regeneration, where the frequency of direct plant regeneration from pieces of onion scales and from bulbs bottom achieved up to 3.3% and 100%, subsequently. It was established that convenient explants for plant regeneration *in vitro* culture of onion plants are pieces of bulbs bottom.

Keywords: callusogenesis, plant regeneration, reproduction, *in vitro*, ornamental and medicinal plants

Луковичные растения – красивоцветущие декоративные растения, которые издавна использовались для озеленения. К наиболее популярным декоративным растениям формирующим луковицы относятся тюльпаны, нарциссы, лилии, рябчик и др. В данной статье мы рассматриваем введение в культуру *in vitro* двух видов луковичных растений – Рябчик бледноцветковый и Зефирантес.

Рябчик бледноцветковый (*Fritillaria pallidiflora*) относится к семейству *Liliaceae*, достаточно высокорослый азиатский вид, достигающий в высоту до 40–50 см. Листья относительно крупные, до 2 см в ширину, матово-зеленые, собраны в мутовки. Стебель с большим числом листьев, из верхней пазухи которых в мае появляются 3–9 желтоватых цветков с зеленым рисунком внутри, похожих по форме на крупные колокольчики. В зависимости от разновидности, их цвет может быть также сметанно-белым или зеленовато-желтым [1]. Луковицы рябчика широко используют в китайской, тибетской и корейской традиционной ме-

дицине. Содержащиеся в луковицах растений алкалоиды, в малых дозах, оказывают лечебное действие, а в больших дозах – опасны для здоровья. В китайской медицине на основе содержащихся в луковицах алкалоидов изготавливают отхаркивающие и успокаивающие средства. Для любителей альпинариев рябчики являются красивыми декоративными растениями, а для аборигенов Камчатки их луковицы служили источником пищи. Чешуи луковиц сушили, нанизывали на веревки и продавали индейцам, которые называли их северо-западным рисом. В Казахстане из луковиц рябчика бледноцветкового делают средство, которое применяется при лечении гипертонии [2].

Зефирантес (*Zephyranthes rosea*) – род цветковых растений семейства Амариллисовые (*Amaryllidaceae*), некоторые виды используются как комнатные растения. Родиной растений рода Зефирантес являются тропические и субтропические регионы Северной, Центральной и Южной Америки. Название рода означает в переводе с греческого «цветок Зефира» (*Zephyr*– имя бога

западного теплого ветерка и *anthes* – цветок). Этому экзотическому растению на родине дали название «дождевой лилий», так как она начинает цвести с началом сезона дождей. В народе это растение называют «высочкой» из-за того что как луковица выпускает стрелку, так на ней сразу же распускается бутон [3, 4]. В народной медицине луковицу зефирантеса используют при абсцессах (в горячих компрессах), заболеваниях печени. Все растение зефирантеса белого применяется при конвульсиях и гепатите. В разных странах препараты зефирантеса используют для лечения рака, диабета, туберкулеза, при простуде [5].

В естественных условиях произрастания, а также в интродукции скорость вегетативного размножения данных растений невысока, и от одной луковицы можно получить только две за год. Такой низкий потенциал не позволяет размножать виды луковичных растений традиционным делением луковицы. Семенное воспроизводство очень длительное и составляет в среднем 3 – 5 лет. Размножение в условиях *in vitro* является эффективным и альтернативным способом воспроизведения данных растений и позволяет получить большое количество растений в короткие сроки [6]. В связи с этим нами начаты исследования по размножению луковичных растений Зефирантесиз сем. *Amaryllidaceae* и исчезающего вида – Рябчик сем. *Liliaceae* и в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили Рябчик бледноцветковый *Fritillaria pallidiflora* из семейства *Liliaceae* и Зефирантес розовый *Zephyranthes rosea* из семейства *Amaryllidaceae*. Оба вида относятся к луковичным растениям. В качестве исходного материала (экспланта) использовали отрезки пазушных почек, донца луковицы (видоизмененный стебель) и луковичных чешуй данных растений.

Для введения в культуру *invitro* исходные экспланты стерилизовали в следующих дезинфицирующих растворах: 70% этанол и 0,5% гипохлорит натрия. Этапы стерилизации растительного материала для получения стерильных эксплантов:

- 1) почистить растение от грязи;
- 2) помыть мыльной водой;
- 3) прополоскать проточной водой;
- 4) простерилизовать этанолом 70%-м – 5 мин;
- 5) простерилизовать раствором гипохлорита натрия 0,5%-м – 7–10 мин;
- 6) промыть дистиллированной водой 3–5 раз.

После стерилизации экспланты: чешуи, пазушные почки, донца луковицы разрезали на мелкие отрезки, которые помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) [7] с разным соотношением фитогормонов. Использовали среды МС, содержащие 6-бензиламинопурин (БАП) и нафтилуксусную кислоту (НУК) в следующих соотношениях: 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК; 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК. Полученные растения-регенеранты поместили в закрытую чашку с небольшим количеством воды на неделю, при этом воду меняли каждый день. Затем растения переместили в заранее подготовленный грунт.

Результаты исследования и их обсуждение

Стерилизация эксплантов 0,5%-м раствором гипохлорита натрия (7 мин.), 70% раствором этанола (5 мин.) и трехкратным промыванием в дистиллированной воде с последующим высушиванием на стерильной фильтровальной бумаге показала высокий процент стерильности высаженных эксплантов (70–80%).

Каллусогенез луковичных растений в культуре ткани *in vitro*. На всех использованных нами эксплантах через 3 недели было обнаружено образование каллусных тканей. Характеристика каллусных тканей: гетерогенные каллусы беловато-прозрачного цвета с иголчатыми выступами на поверхности ткани (рис. 1).

В культуре пазушных почек, использованных в качестве экспланта, частота каллусогенеза составила – 84,6% на питательной среде МС с фитогормонами в соотношении 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК. Из чешуек луковицы частота каллусогенеза составила – 46,6% на аналогичной среде. На среде МС, содержащего фитогормоны в соотношении 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, индукция каллусных тканей из отрезков зеленых пазушных почек составила – 100% (таблица).

Таким образом, нами установлено, что для индукции каллусогенеза наиболее подходящими эксплантами являются зеленые пазушные почки растений и оптимальной питательной средой для каллусогенеза из пазушных почек являются среды МС содержащие фитогормоны в соотношении 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК и МС 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, где частота каллусообразования составила 100% и 84,6%, соответственно. Для эксплантов из чешуек наиболее оптимальной оказалась среда МС с добавлением 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК, где частота каллусогенеза составила – 46,6%.

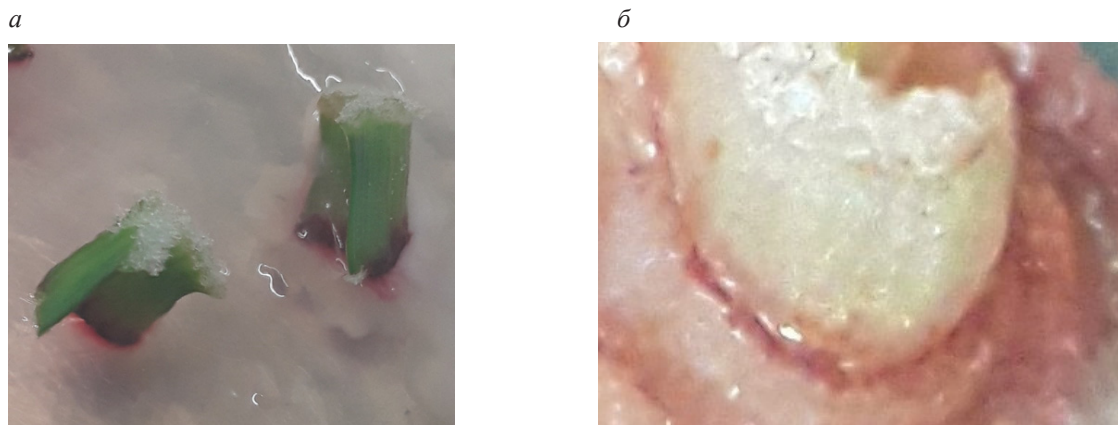


Рис. 1. Каллусогенез луковичных растений:
а – из зеленых пазушных почек луковичных растений; б – из луковичных чешуй

Влияние компонентов питательной среды
на каллусогенез и морфогенез

Варианты сред	Количество посаженных эксплантов, шт				Каллусогенез				Прямая регенерация			
	Общее количество эксплантов	Зеленые пазушные почки	Чешуи	Донце	Зеленые пазушные почки		Чешуя		Чешуя		Донце	
					шт	%	шт	%	шт	%	шт	%
МС с 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК	31	13	15	3	11	84,6	7	46,6	2	13,3	3	100
МС с 2,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК	20	8	12	–	8	100	–	–	–	–	–	–

Регенерация растений в культуре *in vitro*. Через 4 недели на тканевых культурах при культивировании на свету при освещенности 1,5 тыс лк наблюдали образование побегов и выход растений-регенерантов. Из двух использованных вариантов питательных сред для регенерации растений среда МС с 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК оказалась оптимальной. На этой среде прямая регенерация растений из отрезков чешуек составила 3,3 %, из отрезков донца луковицы – 100 %. Наиболее удачной оказалась среда МС с 10,0 мг/л БАП

и 1,0 мг/л НУК, на которой через 4 недели наблюдалась прямая регенерация растений изэксплантов (отрезков чешуи и донца) (рис. 2).

Таким образом, наиболее оптимальной для регенерации растений из луковичных растений оказалась среда МС с добавлением фитогормонов 10,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л НУК. Для получения растений-регенерантов удобными эксплантами являются отрезки донца луковицы, так как из кусочков донца в условиях *in vitro* достигнута 100 % регенерация растений.

a



б



Рис. 2. Регенерация растений у луковичных:

a – прямая регенерация растений из отрезков донца луковицы; *б* – регенерация из отрезков чешуи

Полученные результаты экспериментов показывают, что способ размножения луковичных растений в условиях *in vitro* с использованием в качестве эксплантов отрезков донца луковиц, является наиболее приемлемым способом размножения луковичных растений, который дает эффективный результат.

Научные руководители: Амирова Айгуль Кузембаевна, Лесова Жаниха Туреевна.

Список литературы

1. Каталог растений для альпинария – Рябчик (*fritillaria*). [Электронный ресурс]. – URL: <http://gardenweb.ru/ryabchik-fritillaria> (14.02.2019).
2. Энциклопедия лекарственных растений. [Электронный ресурс]. – URL: <http://lektrava.ru/encyclopedia/ryabchik/#pharm> (14.02.2019).
3. Википедия. Свободная энциклопедия. [Электронный ресурс]. – URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Зефирантес> (14.02.19).
4. Про цветы. Уход за зефирантесом или выскочкой в домашних условиях [Электронный ресурс]. – URL: <http://proklumbu.com/otkrutui-grunt/mnogoletniki/vyskochka.html> (15.02.19)
5. FloralWorld.ru. Мир растений. Энциклопедия ухода за растениями [Электронный ресурс]. URL: <https://www.floralworld.ru/encyclopedia/plants/Zephyranthes.html> (14.02.19)
6. Эрст А.А., Эрст А.С., Шауло Д.Н., Кульханова Д.С. Охранение и размножение *in vitro* редких видов *Fritillaria* (Liliaceae) // Растительный мир Азиатской России. – 2014. – № 1(13). [Электронный ресурс]. – URL: <https://docplayer.ru/42850827-Sohranenie-i-razmnozhenie-in-vitro-redkih-vidov-roda-fritillaria-liliaceae-a-a-erst-a-s-erst-d-n-shaulo-d-s-kulhanova.html> (10.02.19).
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia plantarum*. – 1962. – Vol. 15(3). [Электронный ресурс]. – URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x> (15.02.19).

УДК 616.711-002-07

ЦИТОКОММУНИКАТИВНЫЕ ИНДУКЦИИ И ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА ГЕПАТОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ОДНОКРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

Антонова Е.И., Костина О.М., Волкова Е.С., Бармина С.А.

*ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии, Ульяновск, e-mail: wolkova.katja97@mail.ru*

Повреждения печени вызывают каскад активации основных и вспомогательных путей фазы инициации/прайминга для обеспечения адекватного вступления в фазу пролиферации. В основе регенерации печени лежит взаимодействие стромально-паренхимных клеточных типов, за счет вырабатываемых ими биологически активных веществ. Проведен анализ цитокоммуникаций в пределах печеночного ацинуса, клеточной пролиферации и гибели гепатоцитов по различным путям программируемой клеточной гибели, возникающих в ответ на этаноловую интоксикацию. Отмечено увеличение количества гепатоцитов в стадии активных фазов цикла пролиферации (S+G2+M) и полиплоидизации, увеличивается количество клеток секретирующих IL-1 β и IL-6, тогда как секретирующих TNF- α снижается. В остром опыте, на 1-е, 3-и и 15-е сутки наблюдается увеличение количества гепатоцитов с признаками кариорексиса (PI+ гепатоциты), количество гепатоцитов на этапе сигналинга – аннексин V-позитивные – V+ снижается и увеличивается количество гепатоцитов погибших по пути некроза (аннексин V- PI+ гепатоциты). Исключение составляют 7-е сутки эксперимента, когда наблюдается обратная тенденция в реализации стадий апоптоза и количестве гепатоцитов с реализацией программы гибели – программируемый некроз.

Ключевые слова: гепатоциты, печень, пути программируемой клеточной гибели, интерлейкины, этанол

CYTOCOMMUNICATOR INDUCTION AND INDICATORS OF CELL CYCLE OF HEPATOCYTES OF A SINGLE ETHANOL INTOXICATION

Antonova E.I., Kostina O.M., Volkova E.S., Barmina S.A.

*Ulyanovsk state pedagogical university named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk,
e-mail: wolkova.katja97@mail.ru*

Liver damage causes a cascade of activation of the main and auxiliary pathways of the initiation / priming phase to ensure adequate entry into the proliferation phase. The basis of the regeneration of the liver is the interaction of stromal-parenchymal cell types, due to the biologically active substances produced by them. An analysis of cytocommunications within hepatic acini, cell proliferation and death of hepatocytes was carried out along various paths of programmed cell death arising in response to ethanol intoxication. An increase in the number of hepatocytes in the stage of active phases of the proliferation cycle (S + G2 + M) and polyploidization is noted, the number of cells secreting IL-1 β and IL-6 increases, while secreting TNF- α decreases. In the acute experiment, on the 1st, 3rd and 15th day, an increase in the number of hepatocytes with signs of karyorrhexis (PI + hepatocytes) is observed, the number of hepatocytes at the signaling stage is annexin V-positive – V + decreases and the number of hepatocytes killed along the necrosis path increases (annexin V-PI + hepatocytes). The exception is the 7th day of the experiment, when there is a reverse trend in the implementation of the stages of apoptosis and the number of hepatocytes with the implementation of the death program – programmable necrosis.

Keywords: hepatocytes, liver, PCD, interleukins, ethanol

Регенерация печени – это комплекс жестко регулируемых процессов пролиферации гепатоцитов, непаренхимных клеток и последующего восстановления нарушенной функции органа после его повреждения [1]. Одним из гепатотоксикантом является этанол, который не является чужеродным агентом для печени. Особую важность представляют комплексные исследования механизмов регенерации печени в условиях этаноловой интоксикации с учетом что исследования также несут важную биосоциальную значимость [2]. Цитокины, такие как интерлейкин-1 (ИЛ-1), интерлейкин-6 (ИЛ-6), туморнекротизирующий фактор (TNF- α), а также простагландины, синтезируемые клетками Купфера, способны воздействовать

на гепатоциты в острую фазу ответа на повреждение и играют существенную роль в их пролиферации и дифференцировке [3].

Интерес к процессу физиологической гибели клеток неуклонно растет, что связано с выявляемыми его нарушениями в ряде патологических состояний, в том числе при аутоиммунных и онкологических заболеваниях [4, 5]. В связи с этим целью нашего исследования являлось изучить динамику цитокинов с позиции цитокоммуникативных взаимодействий паренхимных и непаренхимных клеток печени, а также показатели клеточного цикла гепатоцитов и распределение клеток по этапам апоптоза в норме и после воздействия этанола в однократном режиме.

Эксперимент поставлен на беспородных нелинейных мышах *Mus Musculus*, животные получали этанол в виде единственного источника питания. Забор материала проводили в остром опыте, через 1, 3-е, 7-е и 15-е сутки. Цитокоммуникативные индукции в печени определяли по уровню содержания цитокинов TNF- α , IL-1 β и IL-6. Для этого готовили гомогенат печени на гомогенизаторе WiseStir HS-30D (Daihan Scientific, Южная Корея), далее гомогенат центрифугировали (Beckman Coulter, Германия) в течение 5 минут при T 48°C, при 700 об/мин., собирали супернатант, в котором и определяли уровень цитокинов методом проточной цитометрии согласно инструкции изготовителя.

Для анализа клеточного цикла гепатоцитов готовили гомогенат на гомогенизаторе WiseStir HS-30D (Daihan Scientific, Южная Корея) на фосфатно-солевом буфере (PBS, pH=7,4, Gibco, США), который центрифугировали на центрифуге (Beckman Coulter, Германия) в течение 5 минут при 1500 об/мин, далее супернатант отбрасывали и осадок ресуспендировали в PBS. Процедуру повторяли три раза. К осадку добавляли 5 мл 2% раствора параформальдегида в PBS, ресуспендировали. Полученную суспензию фильтровали через нейлоновый фильтр CellTrics (Partec, Германия) с диаметром пор 100 мкм. К полученному осадку гепатоцитов добавляли 1 мл раствора пропидиума йодида для окрашивания. Осадок гепатоцитов ресуспендировали и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. Окрашенную суспензию, объемом 1 мл, фильтровали через нейлоновый фильтр CellTrics (Partec, Германия) с диаметром пор 30 мкм. и полученный образец, объемом в 1 мл. анализировали на цитофлюориметре (Partec, Германия). Для оценки стадии апоптоза в ткани печени применялась детекция апоптоза методом TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling). В результате проведенных исследований было выявлено, что у особей в остром эксперименте гепатоцитов в активных фазах цикла пролиферации (S+G₂+M) и полиплоидизации гепатоцитов больше чем в контрольной группе почти в пять раз. На первые сутки этот показатель увеличивается в два раза. На третьи сутки в экспериментальной группе увеличение числа гепатоцитов в активных фазах цикла пролиферации (S+G₂+M) и полиплоидизации гепатоцитов происходит почти в три раза.

Количество диплоидных гепатоцитов (G₀/G₁) в остром эксперименте по сравнению с контрольной группой остается на прежнем уровне, на первые и третьи сутки в этаноловой группе снижается бо-

лее чем в два раза в сравнении с контролем.

На седьмые сутки эксперимента, сохраняется тенденция к снижению числа гепатоцитов в G₀/G₁ стадии клеточного цикла (в два раза) и увеличение числа гепатоцитов в три раза в стадии активных фаз цикла пролиферации (S+G₂+M) и полиплоидизации.

На пятнадцатые сутки показатели остаются на прежнем уровне, что и на седьмые сутки. Соотношение живых и погибших гепатоцитов по сравнению с контролем увеличивается почти в 15 раз.

По проведенному анализу выявлено: в контрольной группе процент клеток, которые не секретирующих ни один из анализируемых интерлейкинов составляет 91,6%. 5% клеток секретирует интерлейкин TNF- α , тогда как интерлейкин IL-1 β около 3%. Интерлейкин IL-6 секретируется 20% клетками.

В остром опыте в экспериментальной группе процент клеток, не синтезирующих ни один интерлейкин составляет 73%, IL-1 β синтезирует 25% клеток, TNF- α синтезирует около 0,78%, тогда как IL 6 почти 11% клеток.

Количество клеток на первые сутки после однократной этаноловой интоксикации, которые не секретируют ни один из интерлейкинов составляет 92%, секретирующих только интерлейкин TNF- α 0,4%, интерлейкин IL-1 β секретируется 7,6% клеток. Интерлейкин IL 6 секретируется 11% гепатоцитов.

Изменения динамики секреции интерлейкинов на третьи сутки после однократной этаноловой интоксикации выявил, что количество клеток, которые не продуцируют ни один из исследуемых цитокоммуникаций составляет 93%. Количество клеток, секретирующих интерлейкин TNF- α на 2%, IL-1 β синтезируют 4% гепатоцитов, а интерлейкин IL-6 секретируют 16%.

Динамика показателей цитокоммуникаций гепатоцитов на седьмые сутки распределяется следующим образом. Незначительно снижается показатель количества клеток, не продуцирующих ни один интерлейкин, тогда как количество гепатоцитов, синтезирующих TNF α снижается почти в два раза. Но в то же время наблюдается увеличение синтеза TGF-1 β , а именно количество клеток, синтезирующих данных интерлейкин увеличивается в 2 раза. Снижается количество гепатоцитов, синтезирующих TGF 6 на 20%.

В алкоголизированной группе на пятнадцатые сутки на 2% увеличивается процент клеток, не синтезирующих ни один

из изучаемых интерлейкинов. Отмечается резкое снижение количества гепатоцитов, секретирующих TNF α в пять раз. Почти в два раза увеличивается количество клеток, которые синтезируют TGF-1 β , и снижается количество клеток печени, продуцирующих TGF 6 на 29%.

Таким образом количество клеток, которые не продуцируют ни один из исследуемых цитокинов снижается и в большей мере в остром опыте, тогда как к 1-м и 3-м суткам их количество проявляет тенденцию к увеличению выше контрольных показателей числа клеток, которые синтезируют анализируемые цитокины, за исключением TNF- α .

Аннексин V применяли для выявления гепатоцитов, вступивших в апоптоз (аннексин V⁺ клетки). Пропидий йодид (PI) употребляли в качестве маркера жизнеспособности гепатоцитов (аннексин V-PI- клетки) и клеточного некроза (аннексин V- PI⁺ клетки). Апоптоз анализировался методом проточной цитофотометрии с учетом этапов таких как сигналинг – он характеризуется переносом серина на E-поверхность плазматической мембраной, в этом случае применялся краситель PI. Краситель аннексин V отражает процесс разрушения мембраны ядра, что сопряжено с образованием его фрагментов и представляет собой стадию патологии ядра – кариорексис.

После проведенного анализа выявлено, что в остром эксперименте отмечается незначительное снижается процент живых гепатоцитов, при этом увеличивается количество гепатоцитов, погибших по пути апоптоза (PI⁺ гепатоциты), что составляет почти 10%. Снижается количество гепатоцитов на этапе сигналинга на 11% (аннексин V-позитивные – V⁺). Так же увеличивается количество гепатоцитов, погибших по пути некроза на 2% (аннексин V-PI⁺ гепатоциты).

Отмечено что на первые сутки эксперимента снижается количество аннексин V позитивных гепатоцитов на 13%. В 7 раз увеличивается количество гепатоцитов, находящихся в стадии позднего апоптоза. Также увеличивается количество гепатоцитов, погибших по пути некроза, на 15%. В экспериментальной группе снижается количество живых гепатоцитов на 8%.

На третьи сутки происходит увеличение количества гепатоцитов, находящихся в кариорексисе в три раза. Также наблюдается тенденция к увеличению других показателей. А именно в эксперименте увеличивается количество гепатоцитов, погибших по пути апоптоза в пять раз. В два раза увеличивается количество гепатоцитов, погибших по пути некроза. В этом случае умень-

шается количество живых гепатоцитов в два раза, по сравнению с контрольной группой.

После проведенного анализа, на седьмые сутки были определены следующие показатели. Наблюдается выравнивание показателей, количество живых клеток снижается на 5%, при этом на 14% увеличивается количество клеток, которые находятся в ранней стадии апоптоза (аннексин V-позитивные – V⁺), почти в два раза увеличивается количество гепатоцитов, погибших по апоптотическому пути (PI⁺ гепатоциты). Незначительно по сравнению с контролем наблюдается снижение гепатоцитов, погибших по пути некроза, а именно на 2% (аннексин V-PI⁺ гепатоциты).

Пятнадцатые сутки эксперимента в однократном режиме характеризуются резким снижением количества клеток, находящихся в ранней стадии апоптоза – в два раза (аннексин V позитивные – V⁺). Наблюдается небольшое увеличение количества гепатоцитов, которые находятся в стадии кариорексиса (PI⁺ гепатоциты), примерно на 6%. В 14 раз увеличилось количество клеток, погибших по пути некроза (аннексин V-PI⁺ гепатоциты). При этом наблюдается увеличение количество живых гепатоцитов на 4%.

Туморнекротизирующий фактор (TNF- α) – проявляет резкое снижение в остром опыте и на первые сутки эксперимента с тенденцией на увеличение на 3-и сутки, но не достигая контрольных показателей. Это отражает резкое угнетение синтеза клетками Купфера данного цитокина. Выявленная динамика IL-6 отражает устойчивое снижение участия клеток Купфера в процессах пролиферации и дифференцировке гепатоцитов в ответ на повреждение этанолом в исследуемые периоды.

Динамика показателей IL-1 β синтезируемый клетками Ито, проявляет резкое увеличение в остром опыте и далее резкое снижение на 1-е и 3-е сутки эксперимента. Это отражает резкое угнетение реагирования специфического иммунного, а также выступая в качестве одного из главных медиаторов, ответственных за развитие неспецифических форм защиты, отражает угнетение формирования местной воспалительной реакции и острофазного ответа, после этаноловой интоксикации, а также отражает угнетение процесса обновления и ремоделирования внеклеточного матрикса (ВКМ) не только путем синтеза структурных матриксных белков клетками Ито, но и путем синтеза и секреции коллагеназ.

Выявленная дифференцированная динамика исследуемых цитокинов обеспечила стимулирование гепатоцитов к пролифера-

ции и как следствие снижение числа диплоидных гепатоцитов в G_0/G_1 стадии клеточного цикла.

Список литературы

1. Гайворонская В.В., Оковитый С.В., Колышев И.Ю., Шустов Е.Б. Влияние бемитила, этомерзола и яктона на процессы регенерации печени после частичной гепатэктомии // Биомедицина. – 2013. – № 1. – С. 16–21.

2. Ельчанинов А.В., Большаков Г.Б. Пролиферация и клеточная гибель гепатоцитов регенерирующей пе-

чени плодов крыс // Цитология. – 2012. – Т. 54; № 4. – С. 313–317.

3. Asanoma M. et al. Cytokine expression in spleen affects progression of liver cirrhosis through liver-spleen cross-talk // Hepatol Res. – 2014. – Vol. 44, № 12. – P. 1217–1223.

4. Гинкул Л.Б., Александрова С.А., Швемберггер И.Н. Апоптоз и генетическая вариабельность клеток гепатомы МГ – 22а мыши: Всерос. симп. «Клеточная биология на пороге XXI века» // Цитология. – 2001. – Т.43, № 4. – С. 333–334.

5. Rokeach L.A., Jbel M., Dulude D. Another face of cell death // Cell Cycle. – 2014. – Vol.13; № 2. – P. 181–182.

УДК 61:57.085.23

КЛЕТОЧНЫЕ ЛИНИИ МЕЛАНОЦИТОВ И ИХ БИОЛОГИЯ ПРИ МЕЛАНОМЕ

Антонова Е.И., Бармина С.А., Волкова Е.С., Костина О.М.

ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии, Ульяновск, e-mail: barmina.lana@inbox.ru

В работе представлен анализ результатов исследований по изучению биологии клеточных линий эпидермальных меланоцитов человека – отростчатых пигментных клеток кожи, которые имеют неврогенное происхождение, на предмет проявления свойств онкогенности и оптимизации протоколов ведения клеточных линий меланоцитов *in vitro*, выделенных из биопсийного материала пациентов с диагнозом меланома кожи – одной из наиболее агрессивных злокачественных опухолей в онкодерматологии. Применение метода культур клеток *in vitro* и метода световой микроскопии позволило нам изучить биологию онкогенных меланоцитов, а так же оптимизировать протокол культивирования на основе данных о состоянии культур в различные временные промежутки эксперимента. В ходе эксперимента производилось изучение как цитологических характеристик каждой линии: расположение и количество клеток, образование комплексов, размеры и формы клеток, форма и размеры ядра, ядерно-цитоплазматическое соотношение, количество и форма ядрышек, наличие митозов, так и их жизнеспособность. Результаты исследований биологии опухолеродных меланоцитов и возможность их выращивания вне живого организма способны помочь в развитии методов ранней диагностики и в поиске методов лечения злокачественных новообразований меланоцитарной природы.

Ключевые слова: меланоциты, меланома кожи, клеточные культуры

CELL LINES OF MELANOCYTES AND MELANOMA BIOLOGY

Antonova E.I., Barmina S.A., Volkova E.S., Kostina O.M.

Ulyanovsk state pedagogical university named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk, e-mail: barmina.lana@inbox.ru

The article presents an analysis of the results of studies on the biology of cell lines of human epidermal melanocytes – pigmented skin cells of neurogenic origin, for the manifestation of the properties of oncogenicity and optimization of protocols for the management of cell lines of melanocytes *in vitro* isolated from the biopsy material of patients diagnosed with skin melanoma – one of the most aggressive malignant tumors in oncodermatology. The application of the *in vitro* cell culture method and the light microscopy method allowed us to study the biology of oncogenic melanocytes, as well as to optimize the cultivation Protocol (based on the data on the state of the cultures in different periods of the experiment). During the experiment, the study was carried out as cytological parameters of each line: the location and number of cells, the formation of complexes, the size and shape of cells, the shape and size of the nucleus, the nuclear-cytoplasmic ratio, the number and shape of nucleoli, the presence of mitoses, and their viability. The results of studies of the biology of tumor-bearing melanocytes and the possibility of their cultivation outside the living organism can help in the development of methods of early diagnosis and search for methods of treatment of malignant tumors of melanocytic nature.

Keywords: melanocytes, skin melanoma, cell cultures

Меланоциты – гетерогенная группа клеток, развивающаяся из мультипотентных клеток нейроэктодермального гребня [1].

Меланоциты кожи – отростчатые пигментные клетки неврогенного происхождения, локализующиеся в эпидермисе, и составляющие примерно 15 – 25% от общего числа клеток эпидермиса, и дерме [2].

Меланоциты имеют характерную ультраструктуру. В их цитоплазме содержится значительное количество различных органелл. Цитоплазматическая сеть выражена хорошо, количество митохондрий значительно. В клетках сильно развит пластинчатый комплекс Гольджи. В цитоплазме много везикул, рибосом и небольшое количество лизосом. Ядро имеет неровные контуры мембраны с неглубокими впячиваниями и очень плотной нуклеоплазмой [3].

Отростки меланоцитов содержат множество меланосом, рибосом и контактируют с несколькими кератиноцитами при помощи десмосом. Каждый меланоцит секретирует гранулы меланина в связанные с ним кератиноциты. Это партнерство «меланоцит – кератиноцит» называют меланиновой эпидермальной единицей. Один меланоцит контактирует с 36 (40) кератиноцитами [4, 5]. Последствия нарушения работы меланоцитов объединяют в 3 группы: гиперпигментация, гипопигментация и смешанные гипер- / гипопигментационные расстройства. Одним из наиболее распространенных и сложных заболеваний является одна из наиболее агрессивных злокачественных опухолей – меланома кожи, составляющая не более 4,0% всех новообразований кожи, которая, согласно статистике, является при-

чиной примерно 80 % случаев летальных исходов в онкодерматологии [1], что связано с недостаточной изученностью проблемы диагностики и лечения этого заболевания. Заболеваемость меланомой кожи в период с 2000 по 2010 г. увеличилась с 3,18 до 3,95 случая на 100 тыс. населения. Среднегодовой темп прироста составил 1,99 %, а общий прирост заболеваемости 21,81 %.

Меланома кожи относится к наиболее агрессивно протекающим злокачественным новообразованиям, характеризующимся быстрым развитием метастазирования и резистентностью к стандартной цитостатической терапии, поэтому 5 летняя выживаемость больных с метастатическим процессом находится в пределах 10–15 %.

Целью нашего исследования является изучение клеточных линий меланоцитов и их биологии при меланоме, а также оптимизация протоколов культивирования меланоцитов для возможности дальнейшего углубленного изучения вопроса.

Эксперимент был поставлен на меланоцитах, выделенных из злокачественных новообразований кожи больных меланомой. Каждой клеточной линии был присвоен индивидуальный код. После забора материал сразу помещали в транспортную среду на сутки при комнатной температуре. В лаборатории Клеточных технологий НИЦ ФППББ УлГПУ биоптаты механически измельчались на фрагменты размером около 5x5 мм, и инкубировались в 0,25 % растворе трипсина 18 часов при температуре 37°C, в CO₂ – инкубаторе («Binder», Германия) с содержанием CO₂=5 %. Далее проводили отделение слоя эпидермы от дермы, фрагменты эпидермы и опухоли помещали в 0,05 % раствор ЭДТА на 5 минут для дезагрегации клеток. Суспензию центрифугировали при 1500 об/мин 5 минут. После этого сбрасывали супернатант и к полученной взвеси клеток приливали 5 мл готовой полной среды. Для культивирования было выбрано 2 основные среды – RPMI-1640 и Melanocytes Growth Medium с содержанием ЭТС 5 % и 20 %. Полученную смесь помещали в культуральные флаконы объемом 25 см³ и культивировали в CO₂-инкубаторе. Культивирование осуществляли на протяжении 8 пассажей, каждый из которых высевали на 15 флаконов. Подсчёт клеток вели с использованием счетчика клеток («Bio – Rad TC10», Сингапур), красителем трипановый синий. Через 48 часов после инокуляции осуществляли замену среды. В дальнейшем среду меняли при необходимости (около одного раза в неделю), исходя из визуальных характеристик, таких как: – цвет среды – светло –

розовая с желтизной, что говорит об изменении pH.

После формирования монослоя (спустя 2 – 4 недели), наличие которого просматривали на инвертированном микроскопе Axio Vert. A1 («Carl Zeiss», Германия), клетки снимали с поверхности флакона 0,25 % раствором трипсина – Версена (1:1) и проводили пересадку, предварительно обработав флакон PBS.

Для определения цитологических характеристик полученные клетки окрашивали гематоксилином Карацци и водно-спиртовым раствором эозина. При увеличении: x40; x100 определяли: размеры и количество клеток, образование комплексов, размеры и формы клеток и ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение, количество и форму ядрышек, наличие митозов. Размеры ядер и клеток измеряли с помощью программного обеспечения ZEN («Carl Zeiss», Германия). Форма клеток показывает уровень их дифференцировки и развития. Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) – отношение между площадями цитоплазмы и ядра живой клетки является важной морфологической характеристикой, которая оценивает уровень метаболизма, выявить проявление компенсаторных реакций. Изменение размеров ядер и ядерно-цитоплазматического отношения могут служить индикатором воспалительных процессов, а также проявлениями некоторых форм онкологических заболеваний. Если ЯЦО равно или больше 1, это значит, что в клетке большое ядро и мало цитоплазмы, что указывает на низкий уровень метаболизма этих клеток. Такие клетки функционально неактивны, однако они обладают способностью делиться, в норме. Наоборот, клетки, у которых ЯЦО меньше 1, имеют большой объем цитоплазмы и, следовательно, большое количество органелл. Они высокодифференцированы и способны активно функционировать.

В первой экспериментальной модели – культивирование меланоцитов на среде RPMI-1640, было сформировано 2 подгруппы:

1) с содержанием ЭТС – 5 % (клеточные линии Mel I, Mel II);

2) с содержанием ЭТС – 20 % (клеточные линии Mel III, Mel IV).

Для среды RPMI-1640 с содержанием ЭТС 5 % количество клеток x10⁵/мл = 3,95±1,01, из них процент живых клеток составил – 40,07 % в пятом пассаже.

В соответствии с измеряемыми параметрами для каждой клеточной линии была составлена характеристика.

Проведенный анализ позволил выявить, что для линии онкомеланоцитов

Mel I свойственны следующие характеристики: клетки варьируют по размеру от 306,7 мкм² до 1250,6 мкм² и лежат разрозненно. Формы клеток данной линии различны от полигональной до звездчатой и трёхгранной. Встречаются атипичные клетки с крупными ядрами (до 230,2 мкм²), округлой формы. ЯЦО составляет 0,17. Количество ядрышек чаще от 2 до 4. При визуальном исследовании препарата, в поле зрения был выявлен один митотически делящийся меланоцит.

В линии онкомеланоцитов Mel II клетки варьируют по размеру от 170,4 мкм² до 2441,4 мкм². Клетки расположены разрозненно и имеют полигональную, звездчатую, трёхгранную и веретеновидную формы. Встречаются и гигантские клетки с крупными ядрами (до 571,8 мкм²), округлой формы. ЯЦО составляет 0,26. Количество ядрышек колеблется от 2 до 4. В поле зрения было выявлено 2 митотически делящихся меланоцита.

Для среды RPMI-1640 с содержанием ЭТС 20% количество клеток $\times 10^5/\text{мл} = 5,97 \pm 1,5$, из них процент живых клеток составил – 72,33% (пятый пассаж).

Линии онкомеланоцитов Mel III свойственны следующие характеристики: клетки варьируют по размеру от 289,7 мкм² до 590,9 мкм². Фиксировалось как разрозненное расположение клеток, так и плотные скопления. Размер ядра варьирует от 35,7 мкм² до 166,5 мкм², округлой, либо вытянутой формы. ЯЦО составляет 0,25. Количество ядрышек чаще от 2 до 3. В поле зрения выявляется митотически делящийся меланоцит.

Клеточная линия опухолевидных меланоцитов Mel IV имела размер клеток от 134,4 мкм² до 747,4 мкм². Меланоциты группировались в плотные скопления, но местами были заметны и единичные, разрозненно лежащие клетки. Форма меланоцитов полигональная, трёхгранная, веретеновидная. Размер ядра варьирует от 25,4 мкм² до 91,4 мкм², округлой, либо вытянутой формы. ЯЦО составляет 0,18. Количество ядрышек чаще от 1 до 5. Во второй экспериментальной модели – культивирование меланоцитов на среде Melanocytes Growth Medium, было сформировано 2 подгруппы:

1) с содержанием ЭТС – 5% (клеточные линии Mel V, Mel VI);

2) с содержанием ЭТС – 20% (клеточные линии Mel VII).

Для среды Melanocytes Growth Medium с содержанием ЭТС 5% количество клеток $\times 10^5/\text{мл} = 5,74 \pm 0,9$, из них процент живых клеток составил – 53,20% (пятый пассаж).

Для линии онкомеланоцитов Mel V свойственны следующие характеристики: клетки варьируют по размеру от 122,8 мкм² до 712,8 мкм², лежат разрозненно. Форма клеток: полигональная, звездчатая, трёхгранная, веретеновидная, округлая. Размеры ядер клеток варьируют от 41,0 мкм² до 251,0 мкм². По форме ядра округлые. Количество ядрышек чаще 1 – 4, редко встречается 5. В поле зрения было выявлено четыре митотически делящихся меланоцита.

Линии Mel VI характерны следующие измерения: клетки варьируют по размеру от 199,3 мкм² до 2321,4 мкм² и местами группируются в неплотные скопления. Форма различна от полигональной, звездчатой, трёхгранной, округлой. Ядра клеток размерами от 31,0 мкм² до 609,1 мкм², округлой формы. ЯЦО = 0,31, количество ядрышек чаще 1 – 4. В поле зрения было выявлено 4 митотически делящихся меланоцита.

Для среды Melanocytes Growth Medium с содержанием ЭТС 20% количество клеток $\times 10^5/\text{мл} = 6,51 \pm 1,2$, из них процент живых клеток составил – 94,00% (пятый пассаж). Онкомеланоцитам Mel VII свойственны следующие характеристики: клетки варьируют по размеру от 149,2 мкм² до 1076,0 мкм², расположены они разрозненно, но местами могут группироваться в неплотные скопления. Были выявлены клетки полигональной, звездчатой, трёхгранной формы. Ядра клеток размерами от 50,4 мкм² до 235,8 мкм², округлой формы. ЯЦО = 0,21. Количество ядрышек чаще 1 – 4, в крупных клетках может быть больше.

В ходе эксперимента по изучению биологии меланоцитов мы пришли к выводу о том, что оптимальной средой для культивирования клеточных линий меланоцитов является среда Melanocytes Growth Medium с содержанием ЭТС 20%, так как именно среди клеток линии, культивируемых на этой среде, наблюдалась наибольшая численность живых меланоцитов (94%).

Наиболее благоприятным для культивирования оказался пятый пассаж.

Также была выявлена ведущая морфологическая форма онкомеланоцитов – полигональная (Mel I, Mel II, Mel VI, Mel VII), трёхгранная (Mel III, Mel IV), веретеновидная форма (Mel V), преобладающее количество отростков у звёздчатых меланоцитов – 5–6. Наибольшее ядерно-цитоплазматическое отношение = 0,31 у линии Mel VI, культивируемой на среде Melanocytes Growth Medium с содержанием ЭТС 5%, что указывает на пониженный уровень метаболизма и вероятную онкогенность клеток.

Список литературы

1. Хейнштейн В.А. Патоморфологическая характеристика спектра веретенчатых меланом: дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2015. – 147 с.
2. Попова М.Ю., Танурова К.С. Уvealная меланома: особенности диагностики и лечения (литературный обзор) // Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. – 2016. – Т. 1; № 4 (15). – С. 62–64.
3. Кичигина Т.Н., Грушин В.Н., Беликова И.С., Мяделец О.Д. Меланоциты: строение, функции, методы выявления, роль в кожной патологии // Вестник ВГМУ. – 2007. – Т. 6; № 4. – 1–16 с.
4. Малюк Е.А., Целуйко С.С., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика эпидермиса в норме и при действии экстремальных факторов // Дальневосточный медицинский журнал. – 2016. – № 1. – С. 113–117.
5. Кузнецов С.Л., Горячкина В.Л., Цомартова Д.А., Заборова В.А., Луцевич О.А. Современные представления о структуре и функциях эпидермиса // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2013. – № 2. – С. 26–32.

УДК 612.354.2

ГИСТОТОПОГРАФИЯ И ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСУДИСТОГО РУСЛА ПЕЧЕНОЧНОГО АЦИНУСА В УСЛОВИЯХ МНОГОКРАТНОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Антонова Е.И., Бармина С.А., Волкова Е.С., Костина О.М.

*ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Научно-исследовательский центр фундаментальных
и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии, Ульяновск, e-mail: wolkova.katja97@mail.ru*

Печень является жизненно важным органом. Полифункциональность печени в эволюции формировалась таким образом, что даже в физиологической норме функционирование органа протекает в условиях повышенной концентрации токсических веществ. Одним из гепатотоксикантом является этанол, который не является чужеродным агентом для печени. Проведен анализ результатов гистотопографии и динамики показателей сосудистого русла структурно-метаболической единицы печени – печеночного ацинуса. С использованием морфологических методов отмечено увеличение венозного звена печеночного ацинуса в области портального тракта и просвета синусоидных капилляров перивенулярной и центролобулярной зон на протяжении 15-ти суток. С помощью метода электронной микроскопии определены изменения объемной плотности ядра, ядрышка и липидов на протяжении всего эксперимента. Со стороны клеточного состава крови животных отмечено угнетение клеточного и гуморального иммунитета, который постепенно восстанавливается от острого опыта к третьим суткам, стойкое снижение объемных показателей эритроцитов и содержания в них количества гемоглобина, а также в гетерогенности тромбоцитов, увеличение общего количества лейкоцитов что указывает на стресс в ответ на действие этаноловой интоксикации в многократном режиме.

Ключевые слова: ацинус, гепатоциты, сосудистое русло, объемная плотность

HISTOTOPOGRAPHY AND DYNAMICS OF INDICATORS OF THE VASCULAR BED OF THE HEMATIC ACINUS IN THE CONDITIONS OF MULTIPLE ETHANOL INTOXICATION

Antonova E.I., Barmina S.A., Volkova E.S., Kostina O.M.

*Ulyanovsk state pedagogical university named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk,
e-mail: barmina.lana@inbox.ru*

The liver is a vital organ. The polyfunctionality of the liver in evolution was formed in such a way that even in the physiological norm, the functioning of the organ proceeds under conditions of elevated concentrations of toxic substances. One of the hepatotoxicants is ethanol, which is not a foreign agent to the liver. The analysis of the results of histotopography and the dynamics of indicators of the vascular bed of the structural and metabolic unit of the liver – hepatic acini was carried out. With the use of morphological methods, an increase in the venous level of the hepatic acini in the portal tract and the lumen of the sinusoidal capillaries of the perivenular and centrolobular zones was observed over a period of 15 days. Using the method of electron microscopy, changes in the bulk density of the nucleus, nucleolus and lipids were determined throughout the experiment. On the part of the cellular composition of the blood of animals, inhibition of cellular and humoral immunity is noted, which gradually recovers from acute experience by the third day, a persistent decrease in erythrocyte volume indices and their hemoglobin content, as well as in platelet heterogeneity, an increase in total white blood cells, which indicates stress in response to the action of ethanol intoxication in a multiple mode.

Keywords: acinus, hepatocytes, vascular bed, bulk density

Одна из приоритетных функций этого органа – детоксикационная, состоит в обезвреживании эндогенных и экзогенных токсических веществ. Сложность структуры, полифункциональность, быстрота вовлечения печени в деструктивные и репаративные процессы – все это определяет неослабевающий интерес исследователей к проблемам ее регенерации, а в частности, к источникам и механизмам. В связи с этим цель нашего исследования – изучение динамики интегральных показателей состояния организма, гистотопографии печеночного ацинуса и ультраструктуры гепатоцитов в условиях многократного действия этаноловой интоксикации.

Избыточное поступление экзогенного этанола в организм сопровождается патологическими изменениями в обмене угле-

водов, липидов, белков, нейромедиаторов, гормонов, активацией свободно-радикальных процессов в тканях [1].

Печень образована на 80 % паренхимными клетками – гепатоцитами и на 6,5 % непаренхимными (мезенхимными, стромальными) – клетки Ито, клетками Купфера, эндотелиальными, Pit-клетками, внутрипеченочными лимфоцитами [2]. Гепатоциты – высокодифференцированные клетки, основная масса которых находится в G0-фазе клеточного цикла.

Основной структурной единицей принято считать печеночную дольку. Но в последние десятилетия понятие о печеночной дольке перетерпело значительные изменения. В настоящее время рассматриваются три модели печеночных долек: классиче-

ская, портальная и ацинарная [3]. Классические дольки отделены друг от друга соединительной тканью [4].

Следующая структурно-метаболическая единица – ацинус – имеет форму ромба, вершины которого образованы центральными венами соседних гексогональных печеночных долек и смежными портальными зонами; не является частью классической дольки, располагается на территории двух соседних классических долек [5].

Забор образцов печени мышей для гистологических исследований проводился после многократной этаноловой интоксикации: через 20 минут (острый эксперимент), через 1-е, 3-и, 7-е и 15-е сутки. Раствор этанола (DL_{50}) подавался животным в качестве единственного источника питья три раза через трое суток.

Забор материала проводился под легким эфирным наркозом. Печень забиралась из правой крупной доли печени с последующей фиксацией в 10% забуференном нейтральном формалине и заливкой в парафин далее изготавливали серийные срезы по стандартной методике.

Для морфологического анализа образцы печени фиксировали в 10% – нейтральном забуференном формалине, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином. На гистологических срезах печени определяли диаметр сосудов ацинуса портального тракта: артериолы, вены, желчного протока, лимфатического русла, а также синусоидных капилляров и центральной вены.

Анализ показателей периферической крови проводился с помощью геманализатора MEK-6450K, (NihonKondeh Япония).

Электронномикроскопическое исследование проводилось для оценки объемной плотности ($мкм^3/мкм^3$) V_v , поверхностной плотности ($мкм^2/мкм^3$) – S_v и численной плотности ($мкм^0/мкм^3$) N_v митохондрий, хроматина, ядрышка, липидов, лизосом, гликогена гепатоцитов. Для этого в каждом случае анализировали 50 полей зрения паренхимы печени, произвольно отснятых при просмотре материала в электронном микроскопе при увеличении 3000–20000. Объемную, поверхностную и численную плотность изучаемых структур измеряли на электроннограммах с использованием встроенной программы «UTHSCSA ImageTool 3.0» Количественные параметры оценивались на единицу площади ($100 мкм^2$) паренхимы печени. Образцы печени животных фиксировали погружением в 4% растворе параформа на 0,1M фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением сахарозы (5%). После фиксации заключали в парафин, готовили фронтальные срезы толщиной 10мкм, окрашивали 0,1%

толуидиновым синим, дофиксировали в 1% растворе четырехокси осмия и заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом, цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе «Hitachi-600H» (Япония).

После многократного получения этанола в виде единственного источника питья остром периоде и на протяжении 15–ти суток наблюдений отмечается нарушение кровоснабжения печеночного ацинуса. Об этом свидетельствуют количественные показатели, так в остром опыте отмечается увеличение внутреннего диаметра вены и синусоидных капилляров II и III зоне ацинуса на 10%, 16%, 14% соответственно в сравнении с контрольной группой.

На первые сутки эксперимента внутренний диаметр вены увеличивается на 8%, диаметр синусоидных капилляров во II и III портальных зонах на 27% и 12%.

На 3-е сутки просвет вены увеличивается на 9%. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной и перивенулярной зонах увеличиваются на 27% и 12,4%.

На 7-е сутки анализ динамики изменения показателей внутреннего диаметра сосудов портального тракта выявил незначительное увеличение диаметра вены на 1%. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной зоне практически сравнялись и перивенулярной зонах остаются увеличенными на 20%.

На 15-е сутки в перивенулярной зоне утрачивается балочное расположение гепатоцитов, увеличивается межклеточный просвет, сохраняется ориентация разрастания волокон коллагена из области портального тракта к центральной вене, но и в перивенулярной области этот процесс не затухает, и тяжи волокон внедряются в паренхиму. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной зоне незначительно ниже контроля на 5% и перивенулярной зоне остаются увеличенными на 24%. Диаметр вены увеличен на 1%.

Показатели периферической крови отражают угнетение клеточного и гуморального иммунитета, который постепенно восстанавливается от острого опыта к 3-е суткам. Так в остром опыте показатель общего числа лейкоциты увеличивается более чем в три раза, средний объем эритроцитов, наоборот, снижается на 1%, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах снижается на 5%, показатель количество тромбоцитов увеличивается на 25% и показатель гетерогенности тромбоцитов снижается на 6,8%.

На первые сутки эксперимента наблюдается небольшое уменьшение у показателей

MCV на 9,2%, MCHC на 1,2% и RDW на 7,7%. В свою очередь на третьи сутки небольшое уменьшение наблюдается MCV на 9,2%, MCHC на 1,2% и RDW на 7,7%.

На седьмые сутки эксперимента сутки после алкоголизации выявлены следующие изменения показателей крови: наблюдается уменьшение показателя WBC на 25%. В свою очередь небольшое увеличение наблюдается у показателей MCV на 2,9%, MCHC на 2% и уменьшение RDW на 1,8%, PLT на 3%.

На пятнадцатые сутки после алкоголизации выявлены следующие изменения показателей крови: наблюдается значительное уменьшение показателя WBC – 52%. В свою очередь увеличение наблюдается у показателей MCV на 24%, MCHC на 25% и RDW на 25%, PLT на 45%.

На субклеточном уровне выявлено, что в остром эксперименте наблюдается снижение Vv митохондрий на 50%, Vv ядра на 15%, Vv ядрышка на 35% и Vv липидов на 13%. На первые сутки Vv митохондрий уменьшается 12%, ядра на 5%, ядрышка на 32% и Vv липидов увеличивается на 42%.

На третьи сутки эксперимента снижается Vv митохондрий на 30%, Vv ядра на 15% и Vv ядрышка на 30%, что отражает нарушение работы генов и нарушение клеточного дыхания. Объемная плотность липидов Vv наоборот увеличивается на 17%.

На 7 сутки Электронномикроскопически выявлено, что объемная плотность митохондрий остается меньше по сравнению с контролем на 16%, что может отражать нарушение клеточного дыхания. Ближе к контролю становятся показатели объема ядра на 8% и на 30% уменьшился показатель объема ядрышка, уменьшение объема ядрышка говорит о замедлении процесса сбора рибосом и как следствие в цитоплазме снижается интенсивность синтеза белка. Тогда как объем липидов – 43% увеличивается, на фоне снижения интенсивности синтеза белка активируется процесс липогенеза, за счет активации алкогольдегидрогеназы и проявляются все начальные признаки ожирения печени. На пятнадцатые сутки уменьшается объемная плотность митохондрий на 30%, объемная плотность ядра и ядрышка на 45% и 27% соответственно. Объем липидов на 40% увеличился.

Таким образом наши исследования выявили изменения со стороны сосудистого русла печеночного ацинуса, большем притоке венозной крови с реактивными метаболитами (особенно на 3-и сутки эксперимента), увеличение просвета синусоидных капилляров в центрлобулярной и перивенулярной зоне ацинуса могут вызывать аутоповреждения гепатоцитов, что проявляется в полученных ультраструктурных показателях. Так

достоверно выявлено снижение объемной плотности митохондрий (особенно в остром опыте), ядра и ядрышка (также в большей мере в остром опыте), это указывает на нарушение отвода электронов от митохондрий для использования во внутриклеточном метаболизме и развитие метаболической депрессии. Изменения объемных показателей ядра и ядрышка отражают затухание матричных синтезов, так как с ядрышками связаны процессы транскрипции и процессинга р-РНК. Размеры и структура ядрышек в большинстве случаев коррелируют с объемом клеточного белкового синтеза гепатоцитами. Изменения объемных показателей ядра отражает нарушение процессов перестройки гетерохроматина, которая осуществляется в соответствии с потребностями синтеза РНК и белка, обеспечивая согласование уровней транскрипции и трансляции. Объемные показатели липидов снижаются в остром опыте и на 1-е сутки, на 3-и сутки наоборот увеличиваются, это указывает на токсическое действия этанола результатом которого является нарушение обмена липидов, что сопровождается снижением утилизации жирных кислот гепатоцитами с одной стороны с другой стороны увеличение объемных показателей липидов может указывать на использование продуктов их расщепления в качестве источника эндогенной воды. Выявленные интегральные показатели проявляются в стойком снижении показателей объемных показателей эритроцитов и содержания в них гемоглобина, а также в гетерогенности тромбоцитов. В остром опыте резко увеличивается число лейкоцитов (лейкоцитоз) и тромбоцитов. Это отражает нарушение транспорта газов крови, в свою очередь резкое увеличение количества тромбоцитов на протяжении всего эксперимента отражает увеличение свертываемости крови. Увеличение общего количества лейкоцитов указывает на стресс в ответ на действие этаноловой интоксикации.

Список литературы

1. Шикалова И.А., Шилов В.В., Васильев С.А., Батоцыренов Б.В., Лоладзе А.Т. Фармакологическая коррекция токсических поражений печени у больных с тяжелыми формами острых отравлений этанолом // Эксперим. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 4. – С. 30–33.
2. Байкова И.Е., Никитин И.Г., Гогова Л.М. Алкогольная болезнь печени // Болезни органов пищеварения. – 2011. – Т. 19. – С. 1068.
3. Ельчанинов А.В., Большакова Г.Б. Прлиферация и клеточная гибель гепатоцитов регенерирующей печени плодов крыс // Цитология. – 2012. – Т. 54. – С. 313–317.
4. Бобков П.С., Дробленков А.В., Карелина Н.Р. Количество эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени как показатель направленности алкогольного фиброза // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – Т. 18; № 2. – С. 29–30.
5. Дробленков А.В., Бобков П.С., Карелина Н.Р. Центроацинарная направленность капилляризации и перисинусоидального фиброза печени при алкогольном стеатозе у человека // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8; № 1. – С. 74–77.

УДК 57.024:616–092.4

ПОВЕДЕНЧЕСКОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Балакин Г.Ю., Синельникова В.А., Поляков Н.К., Андреев О.А.

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru*

В данной статье описаны различные методы поведенческого фенотипирования, их особенности, а также специализированное оборудование, применяемое в каждом из них. Поведенческое фенотипирование помогает выявить различные отклонения в функционировании центральной нервной системы у трансгенных и нокаутных генотипов, начиная с моторно-двигательных реакций и заканчивая особенностями эмоционально-психической сферы. Также совокупность данных методов используется при тестировании различных лекарственных препаратов на лабораторных животных. Разделение поведения на моторные и сенсорные, эмоциональные, социальные и «интеллектуальные» компоненты является во многом условным, но необходимым для дифференцировки их друг от друга. В связи с этим целью данной работы было осветить, описать, изучить и классифицировать множество методов поведенческого фенотипирования. Данная работа может помочь молодым исследователям правильно подобрать методы для того или иного эксперимента, корректно применить их и может стать опорой для адекватного анализа результатов различных исследований на животных.

Ключевые слова: поведенческое фенотипирование, биологические исследования, поведенческие тесты, моторная активность, сенсорная функция, эмоциональное поведение

BEHAVIORAL PHENOTYPE TESTS AND THEIR APPLICATION IN MODERN BIOLOGICAL RESEARCH

Balakin G.Y., Sinelnikova V.A., Polyakov Y.A., Andreyuk A.O.

Volgograd Medical State University, Volgograd, e-mail: post@volgmed.ru

This article describes the various methods of behavioral phenotyping, their features, as well as specialized equipment used in each of them. Behavioral phenotyping helps to identify various abnormalities in the functioning of the central nervous system in transgenic and knockout genotypes, ranging from motor-motor responses to the features of the emotional-mental sphere. Also, the combination of these methods is used when testing various drugs in laboratory animals. The separation of behavior into motor and sensory, emotional, social and "intellectual" components is in many respects conditional, but necessary for their differentiation from each other. In this regard, the purpose of this work was to illuminate, describe, study and classify a variety of methods of behavioral phenotyping. This work can help young researchers to choose the right methods for this or that experiment, apply them correctly, and can be the basis for an adequate analysis of the results of various animal studies.

Keywords: behavioral phenotyping, biological research, behavioral tests, motor activity, sensory function, emotional behavior

Поведенческое фенотипирование – процедура комплексной оценки поведенческих характеристик лабораторных животных. Она помогает выявить различные отклонения в функционировании центральной нервной системы у трансгенных и нокаутных генотипов, начиная с моторно-двигательных реакций и заканчивая особенностями эмоционально-психической сферы. Также совокупность данных методов используется при тестировании различных лекарственных препаратов на лабораторных животных, а также при оценке их безопасности [1]. Разделение поведения на моторные и сенсорные, эмоциональные, социальные и «интеллектуальные» компоненты является во многом условным, но необходимым для дифференцировки их друг от друга. Реально эти поведенческие паттерны представляют пересекающиеся множества, где в каждом присутствуют компоненты всех остальных. В эксперименте предваритель-

ное тестирование моторных и сенсорных функций позволяет избежать фальшивых положительных и отрицательных результатов при предъявлении более сложных поведенческих задач, например, с обучением, при котором используются сенсорные стимулы и в ходе выполнения участвует моторика. Все эти тесты преследуют единую цель всесторонней проверки функционирования нервной системы. Разные лаборатории используют вариативные наборы поведенческих тестов.

Цели: осветить, описать, изучить и классифицировать имеющиеся методы поведенческого фенотипирования, их особенности, а также специализированное оборудование, применяемое в каждом из них.

Актуальность: данный обзор поможет молодым исследователям правильно подобрать методы для того или иного эксперимента, корректно применить их и может стать опорой для адекватного анализа ре-

зультатов различных исследований на животных.

1. Методы исследования поведенческих реакций, требования к модели поведения

Исследование поведенческих реакций осуществляется при помощи группы методов, как правило инструментальных:

1. Методы оценки индивидуальной (моторной) активности;
2. Методы оценки сенсорных функций;
3. Методы оценки эмоционального поведения;
4. Методы оценки когнитивных функций;
5. Методы исследования социального поведения.

Существует несколько принципов выбора экспериментальной модели поведения. Первый принцип – чувствительность к проводимым манипуляциям. Это подразумевает наличие четких поведенческих изменений в ответ на действие внешних или внутренних факторов. Вторым, не менее важным принципом, является валидность. Это обоснованность и пригодность выбранной модели для адекватного моделирования соответствующей патологии [2].

Также важными критериями выбора модели являются ее релевантность и надежность. Релевантность – это соответствие и сходство воздействия и поведенческой реакции животного таковым в естественных условиях; надежность – повторяемость результатов у разных экспериментаторов при разных условиях. В современном мире одним из обязательных критериев выбора тест-модели поведения является этичность. Этичность касается как выбора теста, так и выбора модельного объекта – животного.

Процедура тестирования поведенческой модели подразумевает подготовительный этап и непосредственно тестирование. Не менее чем за 1 час до проведения эксперимента животных следует поместить в тихое и слабоосвещенное помещение. При этом исключаются перегруппировка животных, кормление, и активные манипуляции с ними, при этом необходимо учитывать общее состояние животных [3, 4, 5].

2. Тесты и аппаратура для фиксации результатов тестирования

Регистрирующее оборудование. Эта категория оборудования включает в себя приборы для ручной и автоматической фиксации поведенческих реакций. К таковым относятся аналоговые и цифровые приборы, снабженные различными датчиками, позволяющими зафиксировать поведенческий акт, а также тесты, снабженные системами автоматической фиксации.

Оборудование для видеотрекинга. Системы видеотрекинга представляют собой системы цифровой фиксации поведенческих реакций животных. Они позволяют регистрировать активность исследуемых животных, траектории их движения, поведенческие акты и другие параметры [6].

Инфракрасный монитор активности. Представляет собой двухмерную квадратную раму и систему инфракрасных лучей для детектирования движений животного.

Для проведения тестов используется различное оборудование, побуждающее животное к тому или иному поведенческому акту, который в свою очередь регистрируется при помощи приведенного выше оборудования или снабженное собственной системой автоматической фиксации. К таковому относится оборудование, позволяющее оценить координацию, моторную активность, способность к обучению, память, а также провести оценку эмоционального поведения животных.

Тесты оценки сенсорных функций

В таковых используются приборы для регистрации слуховых, зрительных, обонятельных и болевых реакций. Измерение подёргиваний хвостом: хвост животного подвергается воздействию источника тепла, животное подергивает хвостом, ощущая дискомфорт. Время от начала стимуляции до ответной реакции измеряется автоматически.

Тест «горячая пластина». Тест оценивает болевой рефлекс при контакте подушечек лап с горячей поверхностью, время до подергивания конечности фиксируется. Давление на конечность, тест Рэндэлла и Селитто: тест для определения порога болевой чувствительности посредством равномерно увеличивающегося давления на лапу животного. Тест инвалидности: тест для изучения болевой чувствительности у грызунов в отсутствие внешнего болевого стимула. Основан на регистрации спонтанных изменений положения тела животного (рис. 1).

Тесты для оценки координации и моторной функции

Открытое поле. Установка представляет открытую арену, дно которой размечено равными квадратами (рис. 2). В центр помещается животное. Тест основан на регистрации количества пересеченных квадратов разметки в течение определенного промежутка времени. Данный метод позволяет оценивать моторную активность, координацию и исследовательскую активность. Данный тест используется в совокупности с системами видеофиксации [7].

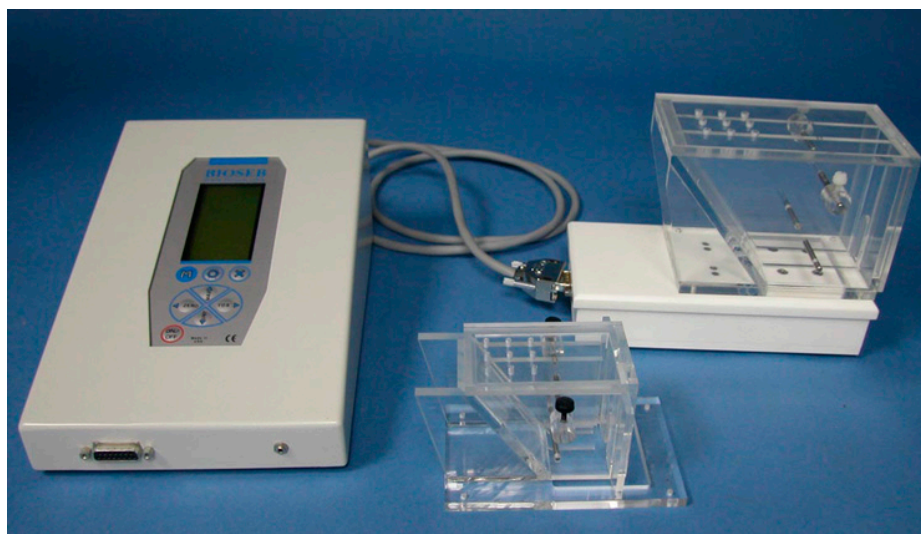


Рис. 1. Тест инвалидности компании PanLab

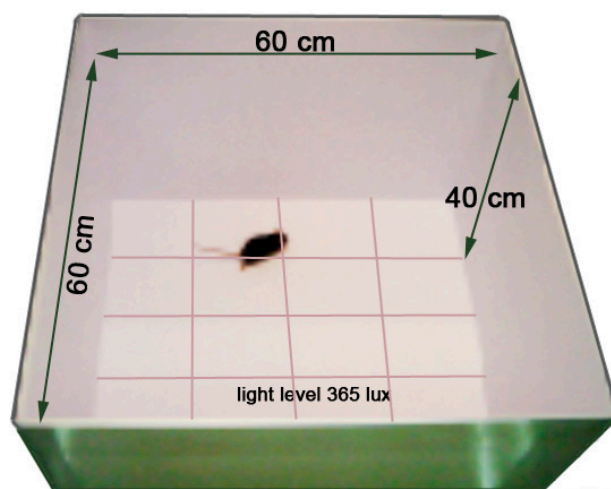


Рис. 2. Тест открытое поле

Ротарод. Животные помещаются на вращающийся валик, скорость вращения и ускорение которого контролируются экспериментатором (рис. 3). Время удержания животного на валике фиксируется автоматически.

Ротометр. На изучаемое животное надевают упряжку, которая подсоединяется к датчику вращения при помощи эластичной ленты. Животное помещается в прозрачный контейнер, после чего ротамер записывает число частичных и полных по-

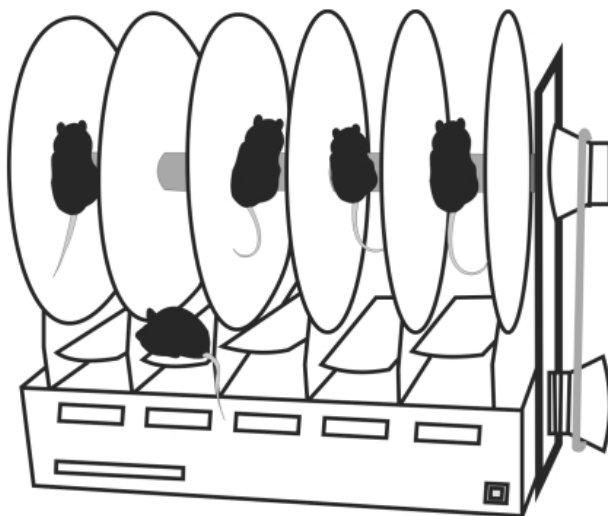


Рис. 3. Ротарод

воротов по направлению часовой и против часовой стрелки во время исследования животным его окружения [8].

Прибор измерения силы хватки. Животное держат за хвост и позволяют ухватиться за рамку прибора, который затем регистрирует максимальную силу хватки, развиваемую животным (рис. 4).

зунов. Представляет собой колесо, которое устанавливается в клетку, может быть снабжено датчиками для фиксации времени, скорости и других параметров вращения колеса [3].

Тесты для оценки обучения, памяти и внимания

Ящик для изучения реакции пассивного избегания. Оценка реакции пассивного

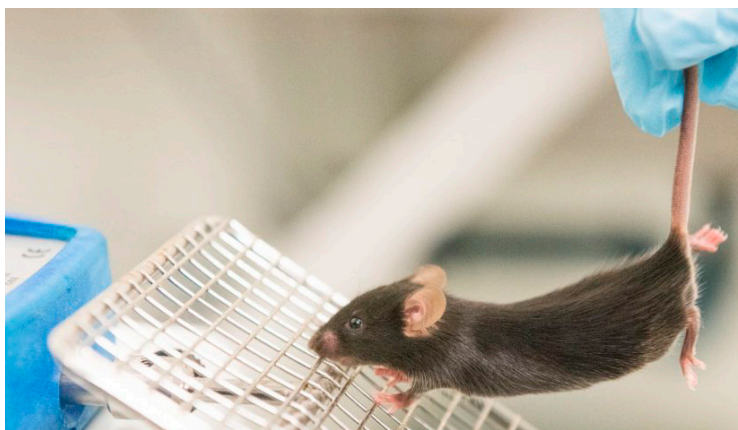


Рис. 4. Прибор измерения силы хватки

Беговая дорожка. Представляет собой ленту, движущуюся с задаваемой скоростью и наклоном. Животные принуждаются к бегу с помощью ударов электрического тока, осуществляемых при помощи электрода, расположенного в конце дорожки.

Беговое колесо. Устройство для оценки добровольной двигательной активности гры-

избегания является способом изучения памяти грызунов. Ящик состоит из большого ярко освещенного отделения белого цвета и небольшого слабо освещенного отделения черного цвета, вход в которое сопровождается слабым ударом тока [4].

Челночный ящик. Используется для изучения активных и пассивных реакций из-

бегания. Состоит из двух отделений одинакового размера и оборудован генераторами звуковых и зрительных раздражителей. Положение животного регистрируется автоматически для определения числа перемещений между отделениями [9].

Радиальный лабиринт. Восьмилучевой радиальный лабиринт используется для изучения пространственной и непространственной памяти, ассоциированной с различными типами мотивации.

Устройство для самостимуляции. Модульная конструкция для проведения экспериментов, связанных с поощрением и завысностью.

Ящик для изучения места предпочтения. Ящик состоит из двух соединенных коридором отделений, различающихся рисунком на стенах, текстурой пола и размером. Время, проведенное в каждом из отделений, фиксируется автоматически.

Тесты для оценки эмоциональной активности

Черно-белый ящик. Тест основан на предпочтительном нахождении животного в одном из отделений ящика: небольшом слабо освещенном отделении черного цвета или ярко освещенном большом отделении белого цвета [3].

Приподнятый крестообразный лабиринт. Данный тест представляет собой 2 открытые и 2 закрытые дорожки, крестообразно сочлененные и приподнятые над уровнем пола. Тест основан на конфликте между страхом открытого пространства и стремлением исследовать незнакомое окружение [9].

Конфликтная ситуация по Вогелю. Используется для оценки степени тревожности грызунов. В этом тесте попытка пить предварительно лишенного воды животного сопровождается ударом электрического тока. При этом измеряется число попыток пить и число ударов тока.

Принудительное плавание. Животные помещаются в цилиндрические емкости с водой, из которых они не в состоянии выбраться. Время, в течение которого животное неподвижно висит в воде, т.е. проявляет симптомы депрессии, фиксируется видеосистемой [6].

Подвешивание за хвост. Животное подвешивается за хвост, после чего с помощью датчиков-преобразователей усилия регистрируется сила, энергия и мощность движений мыши, пытающейся избежать подвешивания.

Заключение

Таким образом, были приведены и классифицированы имеющиеся методы поведенческого фенотипирования, освещены основные требования к моделям поведения, описаны тесты и аппаратура для фиксации результатов тестирования для каждого из приведенных методов.

Список литературы

1. Букатин М.В., Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Спасов А.А. Влияние эноксифола на поведенческую активность крыс-самцов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2012. – № 1 (41). – С. 93–95.
2. Сендрякова В.Н., Кокаева И.К., Трохов К.А., Букатин М.В. Проблемы моделирования гнойной раны у крыс // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 8. – С. 38.
3. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13. – № 3. – С. 529–542.
4. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х., Аликина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15–21.
5. Bukatin M.V., Ovchinnikova O.Y., Krivitskaya A.N., Chernikov M.V., Samburov A.V., Sendrakova V.N. Technique of the integral estimation the general condition of laboratory animals in medical and biologic experiments // Международный журнал экспериментального образования. – 2010. – № 6. – С. 40.
6. Конушин А., Ветров Д., Воронин П., Синдеев М., Ломакина-Румянцева Е. Система видеонаблюдения за поведением лабораторных животных с автоматической сегментацией на поведенческие акты // ГрафиКон'2008: труды 18-й Международной конференции по компьютерной графике и зрению. – М., 2008. – С. 199–205.
7. Пермяков А.А., Елисеева Е.В., Юдицкий А.Д., Исакова Л.С. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле» // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2013. – № 3. – С. 83–90.
8. Etemadzadeh E., Koskinen L., Kaakkola S. Computerized rotometer apparatus for recording circling behavior. Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. – 1989. – Т. 11. – № 6. – С. 399–407.
9. Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюренков И.Н. Экспериментальные модели поведения // Естественные науки. – 2009. – Т. 27. – № 2. – С. 140–152.

УДК 577.1

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ МОЛОКА И МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Барышева Е.С., Сuptеля В.С., Иванова А.В., Мликов Е.М.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург,

e-mail: anuta-16.06@mail.ru;

*Оренбургский медицинский колледж Оренбургского института путей сообщения, филиала ФГБУ
ВПО «Самарский государственный университет путей сообщения», Оренбург*

В статье представлены результаты сравнительного анализа показателей биоэнергетической ценности молока и молочных продуктов, обусловленная его химическим составом. У различных пород животных специфичный химический состав по причине разных условий кормления животного, от его породы или вида. Исходя из химического состава молока можно определить его пищевую ценность. Пищевая ценность молочных продуктов и самого молока выше, чем у других продуктов питания, встречающихся в природе. Это связано с тем, что в молоке содержится более ста двадцати различных компонентов, в том числе двадцать аминокислот, шестьдесят четыре жирные кислоты, сорок минеральных веществ, пятнадцать витаминов и десятки ферментов. Так же молоко обладает практически полной усвояемостью. В том случае, если человек не может в полной мере употреблять в пищу молоко из-за лактазной недостаточности, в настоящее время, на полках магазинов можно увидеть безлактозную или низколактозную продукцию. В качестве объектов исследования выбраны образцы разнородной молочной и безлактозной продукции. Представлена информация об альтернативах питания при лактозной недостаточности для поддержания качества жизни.

Ключевые слова: молочные продукты, молочнокислые бактерии, сыр, творог, безлактозное молоко

BIO-ENERGETIC VALUE OF MILK AND DAIRY PRODUCTS

Barysheva E.S., Suptelya V.S., Ivanova A.V., Mlikov E.M.

Orenburg State University, Orenburg, e-mail: anuta-16.06@mail.ru;

*Orenburg medical College of Orenburg Institute of communications, branch of Samara state University of
railway engineering, Orenburg*

The article presents the results of a comparative analysis of indicators of the bioenergy value of milk and dairy products, due to its chemical composition. Different breeds of animals have a specific chemical composition due to the different feeding conditions of the animal, from its breed or species. Based on the chemical composition of milk, you can determine its nutritional value. The nutritional value of dairy products and milk itself is higher than that of other foods found in nature. This is due to the fact that milk contains more than one hundred twenty different components, including twenty amino acids, sixty-four fatty acids, forty minerals, fifteen vitamins and dozens of enzymes. Milk also has almost complete digestibility. In the event that a person cannot fully consume milk due to lactase deficiency, at present, lactose-free or low-lactose products can be seen on store shelves. Samples of dairy and lactose-dispersed dairy products were selected as objects of study. Information is presented on nutritional alternatives for lactose deficiency to maintain quality of life.

Keywords: dairy products, lactic acid bacteria, cheese, cottage cheese, lactose-free milk

Молоко является уникальным продуктом, который человек употребляет с момента рождения и на протяжении всей жизни.

Молоко – самая сбалансированная по всем компонентам пища, в которую входят все незаменимые для человека вещества. Включение в пищевой рацион молочных продуктов повышает его полноценность и содействует усвоению других компонентов рациона. Молоко усваивается при минимальном напряжении пищеварительных желез.

Если утром выпить стакан молока, то можно получить полноценный и полезный завтрак, так как это готовый пищевой продукт. Также важность молока во время завтрака определяется в более медленном переваривании углеводов и помогает под-

держивать более низкий уровень сахара в крови. Стакан молока – достаточная порция, которая удовлетворяет значительную часть потребности человека в определенных макро- и микронутриентах. Диетологи всегда подчеркивали важность здорового завтрака, и это должно побуждать потребителей включать молоко в свой ежедневный утренний рацион.

Минеральный состав, содержание витаминов и соотношение белков, жиров и углеводов в молоке напрямую зависит от того, чем питалось животное, какие были условия его содержания и от других внешних факторов. В целом, принято считать, что в 100 г коровьего молока содержится большое количество важных для здоровья человека веществ и соединений, приведенных в табл. 1 [1].

Таблица 1

Химический состав коровьего молока на 100 г продукта

Вещество	Содержание
Вода	88 г
Белки	3,2 г
Жиры	2,35 г
Углеводы	5,2 г
Ретинол (Витамин А)	28 мкг
Тиамин (Витамин В1)	0,4 г
Рибофлавин (Витамин В2)	0,18 мг
Кобаламин (Витамин В12)	0,44 мкг
Витамин D	2 МЕ
Кальций	113 мг
Магний	10 мг
Калий	143 мг

В меньшем количестве содержатся натрий, фосфор, сера, хлор и микроэлементы такие как медь, йод, железо, селен, хром, марганец, кобальт, молибден, олово, алюминий, стронций.

Молочные продукты играют огромное значение для пищеварения человека, на их основе создано множество лечебных диет, позволяющих нормализовывать функции нашего организма.

Особой популярностью среди населения пользуются кисломолочные продукты сыр и творог. В их состав входят кисломолочные бактерии, такие как *Lactococcus lactis* и *Lactobacillus delbrueckii subsp*, отвечающая за самопроизвольное свертывание молока в течение 24 часов [2].

Это белковые продукты, они положительно воздействуют на ногти, волосы, ускоряя их рост, а так же поставляют в организм энергию.

Белок сыра намного полезнее и питательнее, чем белок молока. В процессе созревания сыров белки расщепляются на аминокислоты и это способствует его быстрому и легкому усвоению.

Из-за высокого содержания кальция и фосфора в сыре, его рекомендуется употреблять для профилактики переломов и патологий костной ткани. Сычужные сыры считаются наиболее полезными для организма, потому что сохраняют в молочной сырной массе высокий процент кальция. Творожные сыры легко усваиваемые, но при этом они содержат меньшее количество кальция [3].

Определение кальция в творожных продуктах проводилось по ГОСТ Р 55331–2012 «Молоко и молочные продукты. Титриметрический метод определения содержания кальция». Результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Содержание кальция
в различных образцах творога

Образец творога	Концентрация ионов Ca^{2+} (моль/л)
Творог натуральный	0,017
Творожный сырок «Винни пух»	0,016
Творожная масса	0,016

Творог сочетает в себе качества молока и сыра. Но при этом он отличается невысоким содержанием жиров. Творог является источником кальция, магния и железа. Он улучшает пищеварение и нормализует обмен веществ, поэтому он полезен при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Однако не стоит употреблять творог при наличии серьезных заболеваний почек, так как он содержит высокий процент белка [4].

В настоящее время все большее количество людей страдают непереносимостью лактозы.

Непереносимость лактозы – это состояние, при котором лактаза, фермент, необходимый для правильного метаболизма лактозы (составляющей молока и других молочных продуктов), не производится в зрелом возрасте. Для поддержки качества жизни, люди используют безлактозные заменители молока, такие как миндальное, соевое, овсяное молоко и другие виды молока. Так же существует коровье низколактозное молоко, где лактоза расщеплена ферментом лактазой.

В разных странах отношение к безлактозному молоку – различное. В России потребление низколактозной продукции проявляется в наименьшей степени, чем в Европе и Америке, где население в основном потребляет заменители коровьего молока. Самым популярным видом такого напитка является миндальное молоко.

На полках больших супермаркетов могут находиться несколько сортов соевого молока, молочные напитки из орехов. Спрос на такие заменители возрастает с каждым годом. По данным британских ученых, 4 из 10 англичан уже употребляют именно такие молочные «альтернативы» в горячих напитках, с завтраками и используют в приготовлении различных блюд.

По своей сути миндальное молоко – это напиток, приготовленный из молотого миндаля и воды. Это популярная растительная альтернатива коровьему молоку. На самом деле, миндальное молоко существует со времен средневековья, когда благородные семьи предпочитали его животному молоку. Но особые обороты миндальное молоко набрало за последние три-пять лет, появившись на прилавках не только в виде молока, но и как ингредиент мороженого и других пищевых продуктов. По данным Boston Globe, в 2014 году миндальное молоко превзошло соевое молоко как самый популярный продукт животного происхождения, не относящийся к животным [5].

Миндальное молоко имеет приятный вкус и не вызывает дискомфортных реакций, обусловленных коровьим молоком. Новое исследование Университета Макгилла, рассматривающее наиболее часто потребляемые виды молочных напитков из растительных источников, выяснили, что после коровьего молока, которое по-прежнему является наиболее питательным, соевое молоко выходит явным победителем [6].

Для производства ещё одного особенно популярного (в первую очередь в азиатских странах, где его не только пьют в чистом виде, но и используют для производства других продуктов, например, тофу) вида растительного молока используют соевые бобы. Содержание кальция в соевом молоке уступает коровьему, но показатель выше, чем в других видах молока. Также оно является отличным источником магния и марганца, фосфора, селена и калия.

Результаты собственных исследований по определению содержания кальция в соевом и коровьем молоке представлены в табл. 3.

Таблица 3

Сравнение содержания кальция
в различных видах молока на 100 г

Вид продукта	Содержание кальция
Молоко коровье	115 мг
Молоко соевое	23 мг

Соевое молоко изготавливается из размоченной проваренной сои, которая содержит эстрогены – женские гормоны – растительного происхождения. Они подавляют выработку тестостерона, так что соевое молоко больше рекомендуется женщинам.

Согласно новым исследованиям, у младенцев, которые употребляли смесь на основе сои были различия в некоторых показателях гормонального фона по сравнению с теми, кто использовал смесь из коровьего молока или находился на грудном вскармливании. Исследователи утверждают, что данные различия были незначительными, но отражали необходимость дальнейшего изучения долгосрочных эффектов воздействия эстрогеноподобных соединений, обнаруженных в формулах на основе сои [7].

В поисках замены молоку животного происхождения веганы смогли получить нужный продукт даже из злаков – например, из овса. Это, как оказалось, больших усилий не требует: нужно только залить овсяные хлопья большим количеством воды (1:3), измельчить в блендере, процедить – и напиток готов. Получается овсяное молоко – сладковатый напиток, который легко усваивается организмом.

Кокосовое молоко – единственное из всех нелактозных, которое содержит лауриновую кислоту. Именно она способствует повышению иммунитета, подавляя распространение вирусов. Поэтому данное молоко рекомендуется для осени и зимы, когда нужно позаботиться о своём иммунитете. Вкус у него насыщеннее, чем у всех других видов веганского молока, однако никакого вреда здоровью и фигуре это не несёт – дело в том, что кокосовое молоко содержит очень мало сахара.

Кешью – ещё один орех, идеально подходящий для получения безлактозного молока. Хотя это гораздо менее распростра-

нённый продукт, чем миндальное, соевое и овсяное молоко, он всё равно используется вегетарианцами. Это молоко сочетает в себе приятный вкус и пользу для здоровья, которую обеспечивает содержание в нём большого количества белка и кальция.

Любые молочные продукты обладают рядом полезных биохимических эффектов, обеспечивая организм макроэлементами и микроэлементами, витаминами и минеральными веществами. Но в случае, если потребление коровьего молока невозможно, можно воспользоваться безлактозными альтернативами для коррекции состояния лактазной недостаточности.

Список литературы

1. Авдеева Л.В., Алейникова Т.Л., Андрианова Л.Е. Биохимия: учебник. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2013. – 768 с.
2. Бредихин С.И., Космодемьянский Ю.В., Юрин В.Н. Технология и техника переработка молока. – М.: Колос, 2008. – 528 с.
3. Степанова Л.И. Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры. – СПб.: ГИОРД, 1999. – 384 с.
4. Ведищев С.М., Милованов А.В. Технологии и механизация первичной обработки и переработки молока: Учеб. пособие. – Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2005. – 152 с.
5. McGill University. Nutritionally-speaking, soy milk is best plant-based milk: Closest to cow's milk in range of nutrients it offers // ScienceDaily. – 2018. 29 January [Электронный ресурс]. – URL: www.sciencedaily.com/releases/2018/01/180129131311.htm (дата обращения: 14.03.2019).
6. Children's Hospital of Philadelphia. Babies fed soy-based formula have changes in reproductive system tissues: CHOP co-author of NIH-led study: Subtle estrogen-like responses in infants point to need for longer-term follow-up of effects // ScienceDaily. – 2018. 12 March [Электронный ресурс]. – URL: www.sciencedaily.com/releases/2018/03/180312150509.htm (дата обращения: 14.03.2019).
7. Mäkinen O.E., Wanhalinna V., Zannini E., Arendt E.K. Foods for Special Dietary Needs: Non-Dairy Plant Based Milk Substitutes and Fermented Dairy Type Products // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2015. – P. 339–349. DOI: 10.1080/10408398.2012.761950.

УДК 542.816:616–074

МИКРОДИАЛИЗ И МИКРОФЛЮИДИКА – СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Бервинова А.В., Кулешова Л.М., Завалиева Д.П., Власова А.А.

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: larisa.kuleshova28@yandex.ru*

Инновации и развитие технологий в области биологии и медицины не стоят на месте. Одним из векторов этого движения, является разработка компактных и многофункциональных систем исследования, к которым, в частности, относятся микродиализ и микрофлюидика. Данные системы, основанные на изучении химического состава ткани и жидкости, являются высокочувствительными и требуют малый объем образцов. Микродиализ это метод исследования химического состава внеклеточного пространства живой ткани, позволяющий получить непосредственное представление о процессах, происходящих в живом организме. Данный метод является важнейшим прорывом в области нейрофизиологии. С его помощью изучаются нейромедиаторные и метаболические процессы в головном мозге – как в нормальных условиях, так и при воздействии различных фармакологических и токсикологических агентов. Другой многообещающей и быстро развивающейся междисциплинарной областью исследований химии, биологии и медицины, является микрофлюидика. Микрофлюидика лежит в основе так называемых лабораторий на чипе, что дает возможность проводить традиционные и оригинальные исследования в миниатюрном формате. Данный метод широко используется в экспериментальной и аналитической эмбриологии, а так же является распространенным вариантом при секвенировании и амплификации нуклеиновых кислот. В статье раскрывается актуальность и сущность данных методов, описаны области применения, а также их преимущества.

Ключевые слова: микродиализ, микрофлюидика, биотехнология

MICRODIALYSIS AND MICROFLUIDICS – MODERN METHODS IN BIOMEDICAL RESEARCH

Bervinova A.V., Kuleshova L.M., Zavalieva D.P., Vlasova A.A.

*Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd,
e-mail: larisa.kuleshova28@yandex.ru*

Innovations and the development of technologies in the field of biology and medicine are not standing still. One of the vectors of this movement is the development of compact and multifunctional research systems, which, in particular, include microdialysis and microfluidics. These systems, based on the study of the chemical composition of tissue and fluid, are highly sensitive and require a small volume of samples. Microdialysis is a method of studying the chemical composition of the extracellular space of living tissue, which allows to get a direct idea of the processes occurring in a living organism. This method is the most important breakthrough in the field of neurophysiology. It is used to study neurotransmitter and metabolic processes in the brain, both under normal conditions and when exposed to various pharmacological and toxicological agents. Microfluidic is another promising and rapidly growing interdisciplinary field of research in chemistry, biology and medicine. Microfluidics underlies the so-called laboratories on a chip, which makes it possible to conduct traditional and original research in a miniature format. This method is widely used in experimental and analytical embryology, as well as a common option for sequencing and amplifying nucleic acids. The article reveals the relevance and nature of these methods, describes the scope, as well as their advantages.

Keywords: microdialysis, microfluidics, biotechnology

Микродиализ

Микродиализ это метод исследования химического состава внеклеточного пространства живой ткани. Данный метод позволяет непосредственно получить представление о процессах, происходящих в ткани, до того как они появятся в виде системных изменениях. Основа метода заключается в пассивной диффузии веществ, находящихся в интерстициальной жидкости.

Для проведения микродиализа используют специальные зонды, имплантируемые в ткань, один конец из которого представлен полупроницаемой мембраной. После имплантации зонда, к его внутреннему каналу подключают специализированный инфузионный насос, в котором находится раствор

схожий по электролитному составу с тканевой жидкостью.

В районе мембраны, куда доходит раствор, происходит уравнивание химических составов физиологического раствора и внеклеточной жидкости, так что содержание компонентов в перфузате становится пропорциональным их содержанию во внеклеточной жидкости. Анализ перфузата позволяет получить представление о химическом составе изучаемой ткани. Зонд для микродиализа устроен как система концентрических трубок; перфузионная жидкость подается через внутреннюю трубку, доходит до ее дистального конца, где поступает в пространство между внутренней трубкой и внешней диализной мембраной. Направление потока жидкости меняется

на противоположное; перфузионная жидкость вытекает через выводной шланг и собирается для последующего анализа. Когда перфузионная жидкость находится между внутренней трубкой и диализной мембраной, происходит процесс диализа.

Так как молекулярный обмен через диализную мембрану происходит в двух направлениях, микродиализный зонд может использоваться для одновременного отбора эндогенных компонентов и доставки химических веществ (например, лекарств) непосредственно в ткань. Градиент отдельного компонента зависит не только от разницы между концентрациями данного вещества в перфузате и внеклеточной жидкости, но и от скорости потока жидкости в зонде.

Основы постановки микродиализного эксперимента

Существуют параметры и условия, которые необходимо учитывать при микродиализе:

1. Предел отсечения мембраны зонда.
2. Длина мембраны (чем длиннее мембрана, тем выше выход исследуемых веществ).
3. Скорость потока перфузионной жидкости (использование высоких скоростей позволит удалить/доставить большее количество молекул в единицу времени).
4. Состав перфузионной жидкости (состав перфузионной жидкости должен быть максимально приближен к химическому составу внеклеточной жидкости).
5. Тип зонда (жесткий зонд, для стереотаксических экспериментов в мозге; гибкий зонд – для периферических органов).
6. Время, необходимое для достижения равновесного состояния.
7. Контрольный эксперимент.
8. Эксперименты «доза-ответ».

Целевые органы в микродиализе

Микродиализные методы широко используются для отбора проб внеклеточной жидкости в живых органах. Первой целью применения данного метода, была центральная нервная система (ЦНС) экспериментальных животных. Основная цель исследований – исследование функции мозга, изменение уровней эндогенных соединений (нейротрансмиттеры, метаболиты). В исследованиях ЦНС обратный микродиализ (ретродиализ) также может широко использоваться для исследования эффектов различных фармакологических и токсикологических агентов (антидепрессанты, антипсихотические средства, антипаркинсоновые молекулы, алкоголь, галлюциногены и экспериментальные препараты) [1, 2, 3].

Таким образом, методы микродиализа в значительной степени способствовали не только выяснению физиологической роли серотонинергических, дофаминергических, глутаматергических, нейронных систем, но и разработке терапевтических стратегий для лечения ряда нейропсихиатрических расстройств [4].

Исследования взаимодействия носителей с использованием микродиализа

Существует много разных способов анализа образцов микродиализа для исследуемых молекул. Образцы могут анализироваться автономно или напрямую с помощью датчиков. Для анализа в автономном режиме определенный объем выборки (обычно 1–20 мкл) собирается во флаконах или пробирках для последующего анализа. Временное разрешение, которое может быть получено в этих экспериментах, обычно определяется скоростью потока микродиализа, восстановлением аналита и чувствительностью аналитического метода. Он-лайн-анализ образцов предлагает несколько потенциальных преимуществ перед автономным анализом. В онлайн-системе этапы сбора, манипулирования, инъекции и анализа образцов интегрированы в плоское устройство непрерывным, оптимизированным способом. Поэтому проблемы, связанные с обработкой объемов субмикролитера образца (потеря образца, неправильная маркировка, испарение и поверхностное натяжение), а также деградация образца, которая может возникать при воздействии образца на воздух (например, аскорбиновая кислота и катехоламины) можно избежать. Такие системы обычно способны манипулировать и анализировать объемы проб субмикролитера, которые позволяют проводить анализ высокого временного разрешения и близкие к данным в реальном времени данные, которые обеспечивают немедленную обратную связь с исследуемым биологическим процессом.

Большинство приложений требуют разделения аналита в образцах диализата до обнаружения. Наиболее часто используемыми методами разделения являются жидкостная хроматография, и электрофорез (в капиллярном или в формате микрочипа). Также могут быть использованы различные методы обнаружения, включая ультрафиолетовое, флуоресцентное, электрохимическое и масс-спектрометрическое обнаружение. Жидкостная хроматография (ЖХ) является наиболее часто используемым аналитическим методом для разделения аналитов, присутствующих в образцах микродиализа. Метод обнаружения, используемый

для ЖХ-анализа, зависит от интересующего аналита. Ультрафиолетовое обнаружение популярно для обнаружения лекарств во время фармакокинетических исследований [5]. Электрохимическое обнаружение используется для обнаружения катехоламинов и других окислительно-активных соединений, представляющих биологический интерес, таких как тиолы и ароматические амины. Обнаружение флуоресценции также было популярным, но обычно требует дериватизации аналитов перед анализом. Наконец, масс-спектрометрия (МС) становится все более популярной для внелинейного анализа образцов микродиализа после жидкостного хроматографического разделения.

Капиллярный электрофорез особенно привлекателен для анализа образцов микродиализа, поскольку он имеет очень низкие требования к объему образцов (нанолитры для пиколитов) и может выполнять чрезвычайно быстрое разделение. Могут использоваться различные детекторы, в том числе ультрафиолетовые, лазерные; индуцированная флуоресценция, электрохимическая (амперометрическая и проводимость).

За последнее десятилетие электрофорез в микрочипе превратился в привлекательную аналитическую платформу для онлайн-анализа образцов микродиализа. Например, у устройств Microchip есть как минимум два основных преимущества: очень быстрое разделение на кристалле для мониторинга быстрых биохимических процессов и миниатюризации системы в экспериментах на животных.

Помимо аналитических подходов, основанных на разделении, существуют также несепарационные методы для биоанализа образцов микродиализата. Биосенсоры представляют собой аналитические устройства с элементом биологического распознавания, которые генерируют электрический сигнал в ответ на биологические изменения. Идеальный биосенсор должен быть способен выполнять непрерывный и надежный мониторинг аналита из сложных жидкостей организма в течение значительного периода времени. Существует много типов биосенсоров. Большинство из них основаны на ферментах и используют либо электрохимическое, либо оптическое детектирование.

Другим аналитическим подходом «без разделения» является иммунологический анализ. Иммуноанализы используются после отбора образцов микродиализа для измерения пептидов и некоторых лекарственных веществ в данных образцах.

Микродиализ обнаруживает преимущества окончательной идентификации аналита на основе молекулярной массы, а также

чувствительности к обнаружению низких концентраций аналита (ов), часто присутствующих в образцах микродиализа. Например: нейропептиды присутствуют при наномолярно-пикомолярных концентрациях во внеклеточной жидкости головного мозга. Кроме того, восстановление пептидов через диализную мембрану, как правило, значительно ниже, чем восстановление более мелкого молекулярного веса нейромедиатора, генерируя чрезвычайно разбавленные образцы аналита.

Восстановление анализа является очень важным параметром при отборе и биоанализе микродиализа. При типичных расходах, используемых при отборе образца (от 1 до 5 мкмоль/л), недостаточно времени для полного уравнивания между перфузатом и окружающей средой, и поэтому концентрация аналита в перфузате отражает только процент от общего количества, присутствующего во внеклеточном пространстве или образце.

Восстановление определяется как отношение концентрации диализата к фактической концентрации в тканях. Для соединений, которые присутствуют при очень низких концентрациях во внеклеточной жидкости, одним из способов уменьшить зависимость анализа от чувствительности аналитического метода является увеличение выздоровления.

Это может быть достигнуто за счет уменьшения расхода или путем добавления вещества (бета-циклодекстрина, бычьего сывороточного альбумина и т. д.) к перфузату, который имеет сильное сродство к представляющему интерес соединению.

Микрофлюидика

Микрофлюидика – многообещающая и быстро развивающаяся междисциплинарная область исследований, изучающая течение жидкости в микроканалах. Она особенно востребована в химии и биомедицинских исследованиях, где возникает необходимость провести химический синтез малых доз вещества или выполнить разделение частиц биоматериала.

Микрофлюидика лежит в основе так называемых лабораторий на чипе – миниатюрных приборов, позволяющих осуществлять многостадийные химические процессы, включающие химические реакции, перемешивание, концентрирование и сепарацию на одном чипе размером с маленькую монетку. Такие системы перспективны не только в качестве микрореакторов в синтетической химии, но и в качестве портативных аналитических устройств, например, для диагностики онкологических и инфекционных

заболеваний. Лаборатория на чипе является одним из самых востребованных методов микрофлюидики [6].

Микрофлюидная система (МФС) представляет собой многослойную конструкцию, состоящую из нескольких материалов, например ПММА – ПДМС. Топология и конструкция микрочипа для исследования биологических объектов определяются теми операциями, которые планируется реализовать на чипе. В простейшем случае микрофлюидный чип представляет собой конструкцию из двух герметично соединённых пластин: на одной пластине формируются микроканалы, реакторы, клапаны, электрод и другие функциональные элементы, другая пластина – защитная.

Важным моментом в обеспечении работы микрофлюидного устройства является организация движения потоков жидкости по микроканалам. В общем случае способы и методы управления движением частиц и потоков в микрофлюидных устройствах можно классифицировать, исходя из природы воздействующего поля, побуждающего движение потоков частиц: силовые поля (давление, разрежение, гравитация, центробежные силы и др.); электрические постоянные (электроосмос, электрофорез) и переменные поля (диэлектрофорез, электроротации и т.д.); электромагнитные поля (фотофорез, оптофорез, электромагнитофорез, оптический пинцет); магнитные поля (магнитофорез и т.д.); ультразвуковые поля.

Традиционными материалами для микрочиповых устройств являются кремний, кварц и стекло. Оптические характеристики и электропроводность кремния несколько ограничивают его применение в микрофлюидных чипах. Кварц и стекло являются оптически прозрачными в широкой области спектра, что позволяет применять оптические методы детектирования. В последнее время наметилась устойчивая тенденция использования полимерных материалов, таких как полидиметилсилоксан, поликарбонат, полиметилметакрилат, полиэтилентерефталат, полиимид, полимер SU-8 и т.д.. Полимеры получили широкое распространение благодаря низкой себестоимости и относительно низкой стоимости при массовом производстве. Более простыми являются и способы герметизации полимерных пластин. Но тем не менее кремний и стеклянные материалы остаются востребованными при создании микроаналитических систем, в отношении которых предъявляются повышенные требования к метрологическим характеристикам.

Жидкости, заключённые в микрожидкостную среду, взаимодействуют с несколь-

кими физическими эффектами, которые приводят к вариантам физических свойств жидкостей, движущихся по большим каналам. Микрофлюидикам удалось использовать различия, существующие между жидкостями, текущими в макромасштабе и движущимися через микроканалы, что позволяет выполнять методы и эксперименты, которые невозможны в макромасштабе.

В типичном низком режиме Рейнольдса с микрофлюидикой вязкие силы перегружают инерционные силы и жидкости, принимая ламинарный поток. Этот факт имеет важные последствия и составляет основу многих технологий на основе микрофлюидики.

Перемешивание жидкости в микрожидкостном режиме происходит через диффузию, что приводит к длительному времени смешивания.

Применение метода микрофлюидики

Микрофлюидика как метод нашла своё применение и экспериментальной и аналитической эмбриологии.

Микрофлюидные устройства предоставляют возможность выполнять эксперименты, которые практически невыполнимы другими подходами. Такие устройства позволяют автоматизировано, быстро, надёжно и правильно размещать много живых эмбрионов на подложке для параллельного конфокального сканирования, отсортировать их, или инъецировать их различными агентами. Такие устройства позволяют, в частности, создавать контролируемые градиенты параметров микроокружения вдоль ряда развивающихся эмбрионов или, даже, скачок параметров в пределах микроокружения одного эмбриона, так что головная половина находится в других условиях по сравнению с хвостовой (при непрерывном сканировании). Такие подходы находят применение как в академических исследованиях функций генных ансамблей контроля раннего развития включая проблемы устойчивости ранних паттернов к возмущениям, так и в тест-системах для скрининга химических агентов на развивающихся эмбрионах [7].

Две особенности типичного микроустройства для работы с эмбрионами – это его интеграция с системой микроскопирования (обычно как компонента автоматизированного микроскопного столика) и технические решения, обеспечивающие успешное манипулирование именно с такими необычными микрообъектами как живые эмбрионы (обеспечение их кислородом, прежде всего).

Микрофлюидные устройства были разработаны для управления микросредой,

в которую помещен эмбрион, для того, чтобы локальными возмущениями в пространстве (локализованные изменения микроокружения эмбриона) и/или пульсами во времени воздействовать на индивидуальное развитие. Перспективная цель подобных разработок – масштабные автоматизированные эксперименты со многими развивающимися эмбрионами параллельно (и так чтобы эмбрионы были на близких этапах развития).

Также распространенным вариантом применения микрофлюидики является секвенирование и амплификация нуклеиновых кислот. Например, когда имеется ограниченное количество ДНК, особенно когда анализируется биологический материал из образцов человека. Это справедливо, и тогда, когда, например, будут рассмотрены циркулирующая бесклеточная фетальная ДНК в материнской крови или мутантная ДНК в редких циркулирующих опухолевых клетках. Подобные ограничения также обнаруживаются в судебных приложениях из-за небольшого количества биологического материала, который может быть извлечен из некоторых образцов места преступления. В этой перспективе были предприняты усилия по разработке более чувствительных методов обнаружения нуклеиновых кислот, способных непосредственно трансдуцировать процессы гибридизации из ограниченных биологических образцов. Именно по этой причине ключевым этапом в протоколах обнаружения нуклеиновых кислот является амплификация последовательности – мишени. Усиление генерирует большое количество целевых копий, что значительно повышает чувствительность к анализу. Наиболее широко применяемые процедуры амплификации используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) на основе полимеразной активности для направленной на праймер амплификации. Однако, несмотря на многочисленные

преимущества, ПЦР имеет и недостатки, которые привели к разработке альтернативных методов амплификации. По сравнению с методами ПЦР методы изотермической амплификации, не требуют какого-либо термоциклирования, легче работают и требуют меньше энергии, чем ПЦР-методы, которые вместо этого требуют быстрых ступеней нагрева и охлаждения. Эти функции значительно упрощают реализацию изотермического усиления в диагностических устройствах с точки зрения ухода. Кроме того, использование полностью закрытых микроструктурированных устройств, в которых выполняется изотермическая амплификация, снижает риск загрязнения образца и подразумевает низкое потребление проб, мультиплексный анализ ДНК, интеграцию и портативные устройства.

Список литературы

1. Изучение влияния острой алкогольной интоксикации на поведенческую активность крыс в тесте «Открытое поле» / А.А. Лунев, Д.В. Степанникова, З.А. Ахмедова, С.А. Харин, М.В. Букатин // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 1. – С. 116.
2. Nesbitt K.M., Jaquins-Gerstl A., Skoda E.M., Wipf P., Michael A.C. Pharmacological Mitigation of Tissue Damage during Brain Microdialysis // Anal. Chem. – 2013. – № 85. – P. 17.
3. Шумейко В.К. Влияние слабоалкогольных энерготоников на репродуктивное поведение грызунов / Шумейко В.К., Качурин А.С., Букатин М.В. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 1. – С. 118–119.
4. Петриков С.С., Голубев Б.А., Солодов А.А., Титова Ю.В. Использование тканевого микродиализа в нейрохирургии // Нейрохирургия. – 2012. – № 3. – С. 50–51.
5. Уайтсайде Г.М. Истоки и будущее микрофлюидики / Природа, 2006. – С. 48.
6. Занавескин М.Л., Миронова А.А., Попов А.М. Микрофлюидика и ее перспективы в медицине // Молекулярная медицина. – 2012. – № 5. – С. 9–16.
7. Дмитриенко Д.В. Микрофлюидика dolomite для решения биотехнологических задач. // Международная научно-практическая конференция «Биотехнология и качество жизни»: материалы конференции, 2014. – С. 15–17.

УДК 577.16.086:57

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И ИХ РОЛЬ В СОВРЕМЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУКАХ

Бородин В.О., Сабиров Д.Х., Цыбина А.Н., Звада Е.А.

ФГБОУ ВО «ВолГМУ Минздрава России», Волгоград, e-mail: vasbrdn@yandex.ru

Зародившись в XVI веке оптические приборы произвели настоящую революцию, как в научной, так и в прикладной сферах биологических наук. Эти инструменты впервые позволили человеку заглянуть в мир микроскопических существ и отдельных клеток, дали возможность изучать биологические объекты чрезвычайно малых размеров и их отдельные элементы. С тех пор методы микроскопии прошли длинную эволюцию, постоянно совершенствуясь и достигая всё большей разрешающей способности. Благодаря этому, методы микроскопии несколько не потеряли своей актуальности и по сей день, находя самое широкое применение в биологических и медицинских науках, лабораторных и клинических исследованиях, позволяя изучать морфологию и физиологию клеток – строительных блоков всех живых существ. Так же они применяются в исследованиях наноматериалов, при выполнении работ, требующих особой тонкости, таких как микрохирургия. С годами были разработаны различные конструкции микроскопа (прямые, инвертированные, стереоскопические микроскопы), а также большое количество модификаций метода микроскопии, таких как светлоструйная, фазово-контрастная, темнопольная, люминесцентная, лазерная конфокальная и мультифотонная микроскопия. Микроскопия является неотъемлемой частью многих исследовательских работ, при этом регулярно появляются новые методы и перспективы для их применения.

Ключевые слова: оптическая микроскопия, биологические исследования, флуоресцентная микроскопия, фазово-контрастная микроскопия, темнопольная микроскопия, мультифотонная микроскопия

MICROSCOPIC METHODS AND THEIR ROLE IN MODERN BIOLOGICAL SCIENCES

Borodin V.O., Sabirov D.K., Tsibina A.N., Zvada E.A.

Volgograd Medical State University, Volgograd, e-mail: vasbrdn@yandex.ru

Originating in the XVI century, optical instruments ushered a real revolution, both in the scientific and applied spheres of the biological sciences. These tools for the first time allowed humans to look into the world of microscopic creatures and individual cells, made it possible to study extremely small biological objects and their individual elements. Since then, the methods of microscopy have undergone a long evolution, constantly improving and achieving ever greater resolution. Due to this, the methods of microscopy have not lost their relevance to this day, finding the widest application in biological and medical sciences, laboratory and clinical studies, allowing to study the morphology and physiology of the building blocks of all living beings – cells. They are also used in studies of nanomaterials, when performing exceptionally fine work, such as microsurgery. Over the years, various microscope designs (direct, inverted, stereoscopic microscopes) have been developed, as well as a large number of modifications of the microscopy method, such as bright field, phase-contrast, dark field, luminescent, laser confocal, and multiphoton microscopy. Microscopy is an integral part of many researches, and new methods and prospects for their use appear regularly.

Keywords: optical microscopy, biological research, fluorescence microscopy, phase-contrast microscopy, dark-field microscopy, multiphoton microscopy

Микроскопия – это изучение объектов и элементов чрезвычайно малых размеров. Человеческий глаз имеет предел разрешения и детализации таких объектов, диктуемый его природными свойствами. Для преодоления этого биологического ограничения используются различные приборы-микроскопы. На сегодняшний день, одним из ведущих методов исследования микрообъектов в биологических науках является оптическая (она же световая) микроскопия. Световые микроскопы являются важнейшими инструментами как при проведении некоторых рутинных медицинских анализов, так и в биологических и медико-биологических научных исследованиях. Они незаменимы при изучении морфологических свойств микробиологических объектов, к которым относятся насекомые и их части,

многие паразиты, клетки растений и животных, простейшие и бактерии. Возможность изучения топографии, морфологии, ультраструктуры позволило человеку значительно расширить свои знания о микроорганизмах. В медицине, микроскопы позволяют проводить подсчёт клеток крови, анализ биопсий на структуру, морфологию и наличие определённых включений. С применением молекулярно-биологических техник, появилась возможность выявить локализацию отдельных химических веществ.

Сущность оптических методов

Современная световая микроскопия обеспечивает увеличение до 2–3 тысяч раз, что является достаточным для изучения различных форм жизни на клеточном уровне и других биологических объектов [1, 2]. Ос-

новными характеристиками любого микроскопа являются разрешающая способность и контраст. Разрешающая способность – минимальное расстояние, на котором находятся две точки, различаемые как отдельные объекты. Контраст – возможность различать объекты и отдельные детали от их фона. Если различие в яркости объекта и фона составляет менее 3 – 4%, то его невозможно различить, даже если оптика микроскопа теоретически способна разрешить его детали. На контраст влияют как свойства объекта, которые изменяют световой поток по сравнению с фоном, так и способности оптики прибора уловить возникающие различия в свойствах луча. Главным ограничением для возможностей светового микроскопа является волновая природа света, которое не позволяет увидеть объекты, размеры которых сопоставимы с длиной волны электромагнитного излучения светового диапазона, т.е. меньше 1 микрометра.

Для различных нужд создаются оптические системы различной конструкции [3, 4]:

Прямой микроскоп является наиболее часто встречаемой конструкцией. Такая схема используется чаще всего при изучении прозрачных и полупрозрачных микрообъектов размеров, сопоставимых с клетками. Лабораторные микроскопы особенно широко применяются в различных областях биологии (ботанике, микробиологии, цитологии) и медицины (обычно это микробиологический и гистологический анализ материала).

Инвертированная схема микроскопа отличается от прямой тем, что в ней объективы находятся не над, а под исследуемым предметом. Это позволяет оптимизировать конструкцию инструмента для работы с достаточно большими по своему объему объектами, вроде флаконов для культивирования клеток. В зависимости от назначения и особенностей конструкции, инвертированные микроскопы могут быть биологическими, люминесцентными, металлографическими и др. Подобные приборы широко используются при различных научных и лабораторных исследованиях в микробиологии и медицине.

Стереоскопические или стереомикроскопы имеют в своей конструкции два расположенных под углом объектива, и благодаря этому позволяют получать стереоскопическое изображение исследуемого объекта. Стереомикроскопы обладают существенно большей глубиной резкости, чем обычные, что позволяет использовать их для изучения относительно крупных и выпуклых микрообъектов – таких как части растений, грибов, колонии микроорганизмов. Выделяют два типа конструкции световых микроско-

пов: схема Грену и оптическая система с общим главным объективом.

Вариации микроскопии

Светлопольная микроскопия

Светлопольная микроскопия позволяет исследовать объекты в проходящем свете в светлом поле [2,5]. Данный вид микроскопии предназначен для исследования морфологии, размеров клеток, их взаимного расположения, структурной организации клеток и других особенностей. У светового микроскопа максимальная разрешающая способность составляет 0,2 мкм, что обеспечивает высокоточное увеличение микроскопа до 1500х.

Фазово-контрастная микроскопия

Фазово-контрастная микроскопия (рис. 1) используется для получения высококонтрастных изображений прозрачных образцов, таких как живые клетки, микроорганизмы, тонкие кусочки ткани, литографические узоры, волокна, латексные дисперсии, осколки стекла и субклеточные частицы, включая ядра и другие органеллы. Метод контраста участка использует оптический механизм для того, чтобы перевести мельчайшие изменения в участке в соответствующие изменения в амплитуде, которые можно визуализировать как различия в контрасте изображения. Одно из главных преимуществ микроскопии контраста участка в том, что живущие клетки можно рассмотреть в их естественном положении, без предварительного убийства. В результате динамика протекающих биологических процессов может наблюдаться и регистрироваться в высоком контрасте, с высокой четкостью мельчайших деталей образца.

Темнопольная микроскопия

Чтобы хорошо визуализировать эти биологические материалы, они должны иметь контраст, вызванный надлежащими показателями преломления, или окраску. Поскольку красители обычно токсичны, для достижения контраста может использоваться темная поляризационная микроскопия [2, 6]. В темнопольной микроскопии конденсатор предназначен для формирования «полого» конуса света (рис. 2). В темной микроскопии объектив находится в темной полости этого конуса, а свет распространяется вокруг объектива, но не входит в зону конуса. Все поле зрения кажется темным, но когда на предметный столик помещается образец, он кажется ярким на темном фоне. Он похож на заднее освещение объекта, который может быть того же цвета, что и фон,

на котором он сидит, – чтобы он выделялся. Темнопольная микроскопия позволяет увидеть объекты, величина которых измеряется сотыми долями микрометра, что находится за пределами разрешающей способности обычного светлопольного микроскопа. Однако наблюдение за объектами в темном поле позволяет исследовать только контуры клеток и не дает возможности рассмотреть их внутреннюю структуру.

Лазерная конфокальная микроскопия

Конфокальная микроскопия (рис. 3) обладает такими особенностями, как контролируемая глубина резкости, устранение шумов вне фокуса и возможность сбора последовательных оптических секций из толстых образцов [5]. Конфокальная микроскопия основана на использовании пространственной фильтрации для устране-

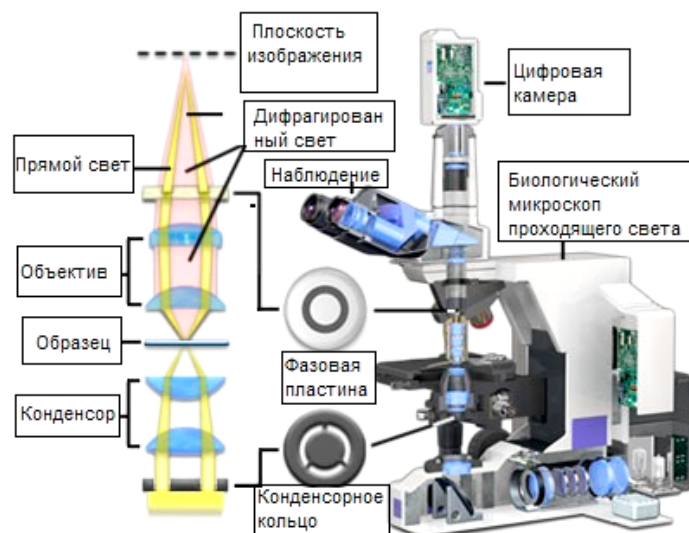


Рис. 1. Интернет: Stormoff, stormoff.ru, 2018



Рис. 2. Интернет: Studopedia, studopedia.ru, 2018

ния света вне фокуса и вспышки в образцах, которые толще плоскости фокусировки. Когда флуоресцентные образцы визуализируются с использованием обычного широкополосного оптического микроскопа, вторичная флуоресценция, испускаемая образцом вдали от интересующей области, часто мешает разрешению тех объектов, которые находятся в фокусе. Конфокальный метод визуализации обеспечивает незначительное улучшение как в осевом, так и в поперечном разрешении, но также обладает способностью исключить из изображения вспышку «вторичную флуоресценцию», которая возникает в густых флуоресцентно меченых образцах. Эта особенность вызвала большой рост популярности конфокальных микроскопов. Освещение достигается путем сканирования одного или нескольких фокусированных лучей света, обычно от лазера. Изображения, полученные путем сканирования образца таким образом, называются оптическими сечениями.

при работе с толстыми образцами, как правило, ограничена вспышкой без фокуса. Это ограничение значительно сокращается в конфокальном микроскопе, с помощью конфокального отверстия для отклонения фоновой флуоресценции фокуса и получения несжатых оптических секций менее 1 микрометра. Мультифотонная микроскопия имеет преимущества: 1. Вследствие значительно меньшего поглощения тканей и клеток в ИК – области по сравнению с УФ, уменьшается повреждение живых клеток фотоиндуцированными процессами. 2. Достигается большая глубина проникновения излучения в биологические объекты. 3. Отсутствует возбуждение и выцветание флуорохромов вне фокального микрообъема, поэтому конфокальная диафрагма не требуется.

Заключение

Эпоха, когда оптическая микроскопия была чисто описательным инструментом

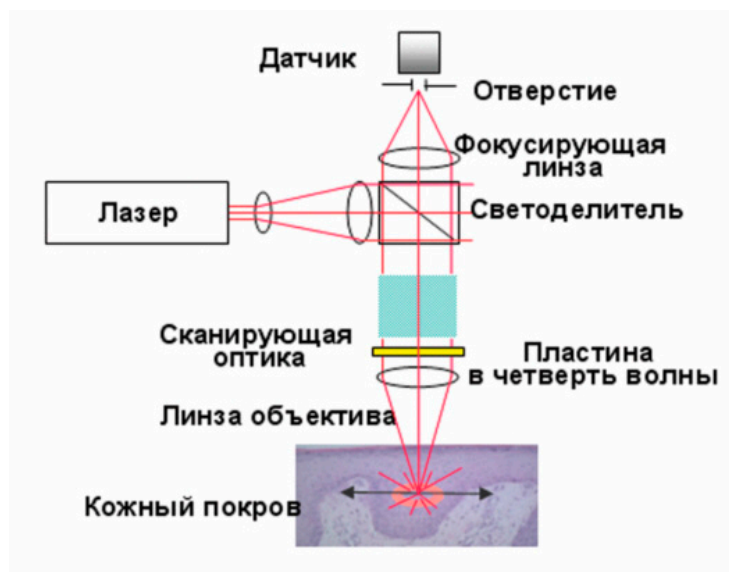


Рис. 3. Интернет: 5fan, 5fan.ru, 2018

Мультифотонная микроскопия

Мультифотонная микроскопия схожа с конфокальной и обеспечивает четкие преимущества для трехмерной визуализации [6]. Она хорошо подходит для визуализации живых клеток, особенно в интактных тканях, таких как срезы мозга, эмбрионы, а так же целые органы или небольшие организмы. Эффективная чувствительность флуоресцентной микроскопии, особенно

прошла. В настоящее время формирование оптического изображения является лишь первым шагом к анализу данных. Микроскоп выполняет этот первый шаг в сочетании с электронными детекторами, процессорами изображений и устройствами отображения, которые можно рассматривать как расширения системы формирования изображения. Компьютеризированное управление фокусом, сценическим поло-

жением, оптическими компонентами, ставнями, фильтрами и детекторами широко распространено и позволяет проводить экспериментальные манипуляции, которые невозможны для человека при использовании механических микроскопов. Возрастающее применение электрооптики в флуоресцентной микроскопии привело к созданию оптических пинцетов, способных манипулировать субклеточными структурами или частицами, изображениями отдельных молекул и широким спектром сложных спектроскопических приложений.

Список литературы

1. Потатуркина-Нестерова Н.И., Немова И.С., Артамонова М.Н., Горельникова Е.А., Куяров А.А., Потехина Л.П., Радаева О.А., Самышкина Н.Е. Современные методы микроскопии в изучении биологических объектов // *Современные проблемы науки и образования*. – 2012. – № 6.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=7868> (дата обращения: 27.01.2019).
2. Spasov A.A., Bugaeva L.I., Bukatin M.V., Kuzubova E.A., Rebrova D.N. The influence of a new antioxidatic preparation on the reproductive function of male-rats // *European Journal of Natural History*. – 2007. – № 1. – С. 115–116.
3. Stevens A., Yang H., Kovarik L., Yuan X. Compressive Sensing in Microscopy: a Tutorial // *Microscopy and Microanalysis*, 2016. Т. 22. №. S3. P. 2084–2085. DOI: 10.1017/S1431927616011260.
4. Снегирева Л.В. Оптические методы исследования в биологии и медицине // *Международный журнал экспериментального образования*. – 2017. – № 2. – С. 51–52.
5. Феофанов А.В. Спектральная лазерная сканирующая конфокальная микроскопия в биологических исследованиях // *Успехи биологической химии*. – 2007. – № 47. – С. 371–410.
5. Надеждин С.В., Федорова М.З., Буржинская В.А. Теоретические основы современных методов микроскопии. – Белгород: БелГУ, 2008. – 123 с.

УДК 574.3

ОБЗОР МЕТОДИК УЧЕТА СИБИРСКОГО ШЕЛКОПРЯДА (*DENDROLIMUS SUPERANS SIBIRICUS* TSCHETW.)

Бубнова М.А., Бубнов М.И.

*Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, Иркутск,
e-mail: bubmaria@yandex.ru;*

Институт управления природными ресурсами им. В.Н. Скалона, Иркутск

На основании литературы и нормативной документации были изучены основные методики учета сибирского шелкопряда. Для своевременного выявления очагов сибирского шелкопряда используется несколько основных способов учета – в кроне и в подстилке. Для учета гусениц в кроне используют метод околота деревьев, каломерный и способ учетных ветвей. Учет в подстилке рекомендуется проводить в пределах проекции кроны модельных деревьев I яруса на небольших площадках. Так же существует не менее действенный способ учета сибирского шелкопряда – феромонный метод, но такие ловушки не показывают плотность популяции. Наиболее популярным и менее трудоемким на территории Российской Федерации является метод околота деревьев. В дальнейшем при работе с данными по учёту проводится изучение границ заселенности и, если заселенность превышает норму, то производится оформление документов по химической, либо биологической обработке местности, для предотвращения разрастания численности и возникновения очагов. Если вовремя не принять меры, то при благоприятных для шелкопряда условиях это может привести к катастрофической численности, которая повлечёт за собой крупный материальный ущерб для государства.

Ключевые слова: сибирский шелкопряд, методика учета, вредители леса, повреждения сосны сибирской кедровой, мониторинг вредителей леса

REVIEW OF METHODS OF ACCOUNT OF SIBERIAN SHELK ORDER (*DENDROLIMUS SUPERANS SIBIRICUS* TSCHETW.)

Bubnova M.A., Bubnov M.I.

Irkutsk state agricultural university n.a. A.A. Ezhevsky, e-mail: bubmaria@yandex.ru;

Institute of management of natural resources n.a. V.N. Skalon, Irkutsk

On the basis of the literature and regulatory documentation, the main methods of accounting for the Siberian silkworm were studied. For the timely detection of the foci of the Siberian silkworm, several basic methods of counting are used – in the crown and in the litter. To account for the caterpillars in the crown, the tree-lining method, the calomer method, and the method of registration branches are used. Accounting in the litter is recommended to be carried out within the limits of the crown projection of model trees of the I tier at small sites. There is also an equally effective way to account for the Siberian silkworm – the pheromone method, but such traps do not show the population density. The most popular and less labor-intensive method in the Russian Federation is the tree-cutting method. In the future, when working with accounting data, the study of the population boundaries is carried out and, if the population exceeds the norm, then documents are prepared on the chemical or biological treatment of the area to prevent the proliferation of numbers and the occurrence of foci. If time does not take action, then under favorable conditions for the silkworm, this can lead to a catastrophic number, which would entail major material damage to the state.

Keywords: Siberian silkworm, method of registration, forest pests, damage to Siberian cedar pine, forest pest monitoring

Сибирский шелкопряд (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetw.) имеет различную окраску, она варьирует от серо-бурой до темно-коричневой. Длина тела гусеницы к концу развития 55–70 мм, на 2-м и 3-м сегментах тела имеют черные с синеватым отливом поперечные полосы, а на 4–12-м сегментах – черные подковообразные пятна. Лет начинается во второй половине июля и длится около месяца [1, 2]. В середине августа из яиц выходят гусеницы первого возраста и начинают питаться. К концу сентября гусеницы достигают II–III возраста и уходят на зимовку в подстилку. В мае поднимаются в крону, где они питаются до осени и уходят на вторую зимовку в V–VI возрасте. Весной гусеницы вновь поднимаются в кроны и после активного питания в июне

плетут плотный кокон. Развитие шелкопряда в куколке длится 3–4 недели [1, 3].

Сибирский шелкопряд по своему воздействию на лесные экосистемы особо выделяется в ряду хвое-листогрызущих вредителей [4]. Прежде всего масштабом воздействия и широтой своего распространения. Этот вид занимает неоспоримое первое место по силе своего воздействия на бореальные леса. Современный ареал сибирского шелкопряда охватывает всю азиатскую часть России, Казахстан, Северную часть Китая и Монголии, Корею [5].

Это насекомое в Сибири является одним из наиболее опасных вредителей хвойных лесов. Периодические подъемы его численности на значительных площадях приводят к существенным изменениям структуры

бореальных лесов, усыханию древостоев и дают толчок процессу зоогенной сукцессии [5, 6].

Для своевременного выявления очагов сибирского шелкопряда используется несколько основных способов учета – в кроне и в подстилке.

Учет в кроне наиболее часто выполняется околотом гусениц на полог. Для околота выбираются «учетные» деревья диаметром 10–20 см. В средневозрастных насаждениях это могут быть деревья основного яруса, а в спелых древостоях – деревья II яруса. Для выполнения околота очищают от кустарников и застилают пологом площадку в пределах проекции кроны. Выпиливают «околот» длиной около 2 м и толщиной 16–20 см, приставляют его к стволу нижним концом, а верхним ударяют по стволу дерева, три серии по три удара. От сотрясения ветвей гусеницы сваливаются на полог. Околот наиболее результативен при учете гусениц II–III группы возраста [7]. В I группе возраста они зависят на образуемых шелковинках, а в VI группе очень крепко удерживаются на ветвях.

Валка околоченных деревьев кедр и пихты показала, что около 25% гусениц остаются в кроне, поэтому к полученным результатам нужно добавлять 20% учетного количества для темнохвойных пород и 10% – для лиственных [8].

В кедровниках производят околот деревьев II яруса и для определения заселенности средних деревьев I яруса применяют специальные коэффициенты [9]. Относительная заселенность I яруса выявляется при визуальном обнаружении экскрементов гусениц старших возрастов на площади 0,5–1,0 м² в пределах проекции кроны близко к стволу, для средних деревьев.

Околот деревьев 2-го яруса широко используется как в лиственных и темнохвойных формациях в Сибири, так и в широколиственно-кедровых лесах. По данным заселенности «учетных» деревьев, можно определить $K_{\text{рм}}$, то есть характеризовать динамику численности популяций [8].

Относительная заселенность деревьев II яруса в начальной фазе нарастания численности меньше, чем I яруса. Абсолютная заселенность для средних деревьев I яруса может быть рассчитана по данным околота с использованием множителей (коэффициентов). В горных кедровниках со средним диаметром 30–40 см принимают множитель 8–10 в мае и июне и 4–6 – в августе и сентябре. В долинных кедровниках используют множитель 8–10 как весной, так и осенью. Указанные различия связаны с тем, что в августе и сентябре, при достаточном

количестве тепла, молодое поколение мало мигрирует. Гусеницы, которые вывелись из кладок, размещенных в нижних ярусах, остаются на деревьях второго яруса и на подросте. Весной гусеницы стремятся вверх и более плотно заселяют верхнюю часть кроны деревьев I яруса. В долинных насаждениях, вероятно, из-за более густого полога кустарников, кладки размещаются выше и соотношение заселенности I яруса и учетных деревьев более стабильное. Техника выполнения околота описана выше.

Способ учетных ветвей или спуска кроны не применяется широко из-за его трудоемкости и опасности, но может быть целесообразен для уточнения заселенности в случае принятия ответственных решений.

В кронах кедр I яруса самая большая плотность гусениц на крупных ветвях в верхней трети, а слабо заселена нижняя часть кроны до высоты 9 метров. Поэтому по протяженности кроны следует выпилить в одном секторе 10–12 ветвей, которые будут служить учетными. На деревьях диаметром 26–32 см в качестве учетных берут ветви диаметром 2,5–3,6 см, на деревьях диаметром от 36 до 48 – 4–6 см [8]. Средняя заселенность ветвей умножается на подсчитанное количество таких ветвей в кроне для расчета заселенности дерева. Средняя плотность на модельной ветви, равная 1,3 гусеницы, соответствует 100 шт., а 6–8 гусениц на ветви – 300–500 шт. в кроне. При такой плотности, свойственной периоду образования очагов, средняя заселенность лесопатологического выдела достоверно определяется по 60–80 ветвям, которое следует срезать с 5–7 деревьев.

Куколки размещены в кроне более равномерно, чем гусеницы. Гусеницы VI группы возраста со второй половины июня и до конирования мигрируют в пределах кроны, и многие спускаются даже в почву. В связи с этим учет куколок может осуществляться по ветвям нижних частей крон. Если представляется возможным провести учет куколок на срубленных деревьях, то в выборку из 60–80 ветвей лучше набирать по 3–4 ветви дерева.

Учет в подстилке рекомендуется проводить в пределах проекции кроны модельных деревьев I яруса на небольших площадках. В основных стадиях, как кедровых, так и лиственных, условия зимовки гусениц, связанные с толщиной и влажностью подстилки, достаточно однообразны, поэтому большинство гусениц, спустившись по стволу, накапливаются в области проекции кроны. При групповом размещении деревьев в кедровниках и средней полноте других насаждений учет под кроной с по-

следующим определением заселенности модельного дерева более эффективен, чем расчет плотности на 1 м² (1 га), хотя последний способ тоже может быть приемлем. Учет гусениц в подстилке в пределах проекции кроны вполне надежен. Исследования выявили надежную зависимость числа гусениц от расстояния по радиусу от ствола, которая может быть описана показательным уравнением. Более простой способ для практического применения – определение средней плотности гусениц на подкроновой площади через учет их в зоне максимальной плотности по формуле

$$y = 16 (0,57x + 0,09) [8],$$

где y – средняя плотность на 1 м² подкроновой площади; x – среднее число гусениц в расчете на площадку размером 0,25×0,25 м, из которых три размещают в непосредственной близости к стволу, а другие 4 удалены от них на 0,5 м по разным радиусам (расстояние между центрами площадок по радиусу 0,75 м). Количество гусениц на дерево определяется умножением средней плотности на площадь проекции кроны [3].

Каломерный способ в деталях разработан для кедровников, но может применяться и в других насаждениях, особенно ценных, где следует избегать частых учетов способом околата, который приводит к травмированию деревьев; для этого способа выбирают модельное дерево 1 яруса. Этот способ определения абсолютной заселенности доступен для исполнителей с любыми физическими возможностями и безвреден для насаждений, по сравнению со способами околата и спуска кроны. Он применяется для определения заселенности модельных деревьев 1 яруса древостоя. Абсолютная заселенность модельного дерева определяется делением общего количества экскрементов, вычисленного для площади проекции кроны в расчете на сутки, на суточную норму экскрементов одной гусеницы. Для расчета общего количества экскрементов учитывается их количество (масса или число) на части подкроновой площади и используется выявленная при исследованиях закономерность: распределение экскрементов по радиусу проекции кроны удовлетворительно описывается прямой линией, имеющей определенный угол наклона.

Техника выполнения работы следующая. Два или четыре тканевых полога размером 1,1×1,1 м, имеющих завязки по углам, размещают под учетным деревом на определенном расстоянии от оси ствола до центра полога: 1 м для деревьев с радиусом про-

екции кроны менее 3 м, 1,5 м – при радиусе 3,0–3,5 м, 2,0 м – при радиусе более 3,5 м. Пологи натягивают на колышки на расстоянии 10–15 см над поверхностью почвы, в центре полога кладут груз.

Экскременты должны быть собраны не менее чем за трое суток; что бы не допустить разрушения их дождем, лучше собирать ежедневно. Сбор проводят в бумажные пакеты, на которых записывают номер дерева и номер полога. Если количество экскрементов не превышает нескольких десятков, то их следует учитывать по возрастам гусениц. Высушенные до воздушно-сухого состояния экскременты взвешивают, а затем рассчитывают среднюю массу (или количество) на 1 м² для каждого учетного дерева. Общее их количество для учетного дерева определяют, используя график (рис.) и следующую формулу:

$$P_y = 6,28 (a/2 R^2 - b/3 R^2) [18],$$

где P_y – общее количество экскрементов в области проекции кроны за сутки, г (шт.); R – средний радиус кроны, м; b – находят из соотношения $Y_y/R - R_y$; Y_y – среднее количество экскрементов на 1-метровом пологе, г (шт.); R_y – расстояние от оси ствола до центра полога, м; a – находят графически на пересечении линии Y , с осью Y , г. Более просто, но менее точно, можно рассчитать P , пользуясь формулой:

$$P_y = Y_y \cdot S_y + 0,5 Y_y (S_R - S_y) [8],$$

где S_R – вся площадь проекции кроны, м²; S_y – площадь с радиусом 2 м (12,5 м²) или 2,5 м (19,6 м²), в зависимости от расстояния до центра полога 1,0 или 1,5–2,0 м; $(S_R - S_y)$ – оставшаяся площадь проекции кроны, м².

Для определения суточной нормы экскрементов в изоляторах содержат собранных способом околата гусениц, экскременты от которых собирают за трое суток. Удобны для этого мешки из капроновой сетки размером 0,6×0,6 м, в которые помещают 15–30 гусениц, в зависимости от возраста, и развешивают для питания на подросте кормовых растений.

В некоторых случаях, при не очень ответственных учетах, можно использовать следующие формы фекальных комочков: 15–20 шт./сутки для гусениц II–V групп возрастов, 20–25 шт./сутки – для гусениц VI группы возраста. Принимая то или иное число, следует учитывать интенсивность линьки в период учета, так как в течение 2–3 дней линьки гусеницы не питаются. Лучшие сроки для определения заселенности каломерным способом в кедровниках: 10–25 сентября и с 15 мая по 15 июня [10].



Нахождение параметров для формулы расчета количества экскрементов в области проекции кроны [8]

Феромонный метод мониторинга сибирского шелкопряда основан на достаточно изученном явлении привлечения самцов самками или синтетическим аналогом их полового аттрактанта в специальные ловушки. Суточный ритм половой активности бабочек сибирского шелкопряда обусловлен уровнем освещенности в температурном интервале от +8 до +25°C. Он продолжается с 23 часов ночи до 5 часов утра с максимумом между 23 и 3 часами. Самки обладают привлекательностью для самцов, в среднем, на протяжении 9 дней, наиболее сильной – двух-четырёхдневные особи.

Уловы феромонных ловушек не показывают плотность популяции, но организованный определенным образом феромонный мониторинг в межвспышечный период выявляет тренд изменения ее численности. Кроме того, если вывести ловушки в первой декаде июня и проверять с интервалом 15–20 дней, то можно получить информацию о соотношении числа особей, развивавшихся с однолетней и двухлетней продолжительностью генерации. Возрастную структуру популяции важно знать для понимания темпов роста численности.

Размещение феромонных ловушек оптимально в насаждениях, которые являются местообитаниями высокой опасности массовых размножений вредителя – в резервациях или местах первичных очагов. Поскольку такие места бывают удалены или труднодоступны в условиях горного ре-

льефа, то часть ловушек можно размещать на некотором расстоянии от их или в местообитаниях средней опасности массовых размножений.

Методика феромонного мониторинга популяций сибирского шелкопряда прошла опытно-производственную проверку в 1988–2004 гг. Следует считать приемлемым ловушки с инсектицидными пластинками и феромоном в количестве 20 мкг, которые использовались в 2003 и 2004 гг. Ловушки привлекают самцов на протяжении двух месяцев.

Таким образом, самым эффективным и менее трудоёмким является метод учёта путем околота деревьев, который показывает наиболее точную заселенность вредителя на выделенном участке. В дальнейшем при работе с данными по учёту проводится изучение границ заселенности и, если заселенность превышает норму, то производится оформление документов по химической, либо биологической обработке местности, для предотвращения разрастания численности и возникновения очагов. Если вовремя не принять меры, то при благоприятных для шелкопряда условиях это может привести к катастрофической численности, которая повлечёт за собой крупный материальный ущерб для государства. Способ учетных ветвей, каломерный способ, учет гусениц в подстилке и феромонный метод менее удобны и требуют больших трудовых затрат.

Список литературы

1. Плешанов А.С. Насекомые – дефолианты лиственных лесов Восточной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1982. – 209 с.
2. Рожков А.С. Сибирский шелкопряд. Систематическое положение, филогения, распространение, экономическое значение, строение и образ жизни. – М., 1963. – 176 с.
3. Михайлов Ю.З., Сумина Н.Ю. Сибирский шелкопряд (*Dendrolimus superans* Butler, 1877) и борьба с ним в Иркутской области // Байкальский зоологический журнал. – 2012. – № 3(11). – С. 25–29.
4. Леонтьев Д.Ф., Лабедски А. К оценке уязвимости Иркутской области и Байкальской природной территории к воздействию сибирского шелкопряда // Охрана и рациональное использование животных и растительных ресурсов: мат-лы междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 110-летию со дня рождения профессора В.Н. Скалона (Иркутск, 23–26 мая 2013 г.). – Иркутск, 2013. – С. 349–351.
5. Леонтьев Д.Ф. Распространение и прогнозирование численности сибирского шелкопряда (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.) (Научный обзор) // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. – № 11 – 5. – С. 705–709.
6. Брюханов А. Экологическая оценка состояния лесов в Сибири: тревожные итоги // Устойчивое лесопользование. – 2009. – № 2(21). – С. 21–31.
7. Бубнов М.И. Динамика численности сибирского шелкопряда (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.) в Черемховском лесничестве // Мат-лы VI междунар. Научно-практич. конференции. – 2017. – С. 168–173.
8. Сибирский и белополосый шелкопряды на Дальнем Востоке // Пособие по мониторингу. – Хабаровск. – 2007. – 57 с.
9. Приказ Министерства природных ресурсов и экологии российской федерации № 470 от 12 сентября 2016 года «Об утверждении Правил осуществления мероприятий по предупреждению распространения вредных организмов» [Электронный ресурс]. URL: <http://docs.cntd.ru/document/420377911> (дата обращения: 15.03.2019).
10. Колтунов Е.В., Ермаков Л.Н. Особенности цикличности многолетней динамики вспышек массового размножения различных географических популяций сибирского шелкопряда (*Dendrolimus superans sibiricus* tschetv) в Сибири // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11003> (дата обращения: 25.03.2019).

УДК 616–078:577.2

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ КАК МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ В МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Колотова А.А., Васильева О.Ю., Горошко П.В.

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru*

Бурное развитие молекулярно-генетической диагностики в течение последних десятилетий требует совершенствования имеющихся методов и разработки новых. Современная медицина использует достижения естественных наук, успешно применяя новые технологии диагностики заболеваний. Наряду с традиционными методами молекулярно-генетической диагностики, такими как кариотипирование, секвенирование, метод флуоресцентной диагностики и др., немаловажное место занимает метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), основанный на увеличении количества копий определенного фрагмента ДНК. Метод полимеразной цепной реакции, изобретенный во второй половине XX века, по сей день является популярным и фундаментальным, т.к. отличается высокой точностью и чувствительностью, а также скоростью проведения, что является несомненным плюсом и основанием для повсеместного использования данного метода. Данная технология считается одной из самых передовых в области диагностики различных инфекций и заболеваний. Разработанный не так давно, метод ПЦР постоянно совершенствуется и обсуждается на страницах медицинских журналов. В статье приведены исторические предпосылки разработки метода ПЦР, методика проведения реакции, описаны ее различные способы проведения. Сделан вывод об актуальности данного метода, описаны примеры областей его использования.

Ключевые слова: ПЦР, полимеразная цепная реакция, молекулярно-генетическая диагностика

POLYMERASE CHAIN REACTION AS THE RESEARCH TECHNIQUE IN MOLECULAR AND GENETIC DIAGNOSTICS

Kolotova A.A., Vasileva O.Y., Goroshko P.V.

*Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd,
e-mail: post@volgmed.ru*

Rapid development of molecular and genetic diagnostics within the last decades demands perfecting of the available methods and development of new. The modern medicine uses achievements of natural sciences, successfully applying new technologies of diagnosis of diseases. Along with traditional methods of molecular and genetic diagnostics, takes the important place the method of the polymerase chain reaction (PCR) based on increase in number of copies of a particular fragment of DNA. The method of polymerase chain reaction invented in the second half of the 20th century is popular and fundamental since differs in a high precision and sensitivity and also carrying out speed that is undoubted plus and the basis for universal use of this method. This technology is considered one of the most advanced in the field of diagnosis of various infections and diseases. Recently developed, the PCR method is constantly improved and discussed on pages of medical magazines. Historical prerequisites of development of the PCR method, a technique of carrying out reaction are given in article, its various ways of carrying out are described. The conclusion is drawn on relevance of this method, examples of fields of its use are described.

Keywords: PCR, polymerase chain reaction, molecular and genetic diagnostics

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК/РНК) в биологическом материале (пробе).

Многочисленные открытия в области молекулярной биологии и генетики способствовали открытию ПЦР. В 1869 г. И. Мишер выделил вещество из клеток гноя, которое содержало азот и фосфор. Изначально вещество называли нуклеином, а когда были определены его кислотные свойства нуклеиновой кислотой. В 1944 г. были проведены эксперименты по трансформации бактерий учеными О. Эвери, К. Маклауда и М. Маккарти. В ходе этих экспериментов было доказано, что за трансформацией бактерий

(приобретением болезнетворных свойств безвредной культурой в результате добавления в неё убитых кипячением болезнетворных бактерий) стоит выделенная из пневмококков ДНК. В 1952 г. учеными А. Херши и М. Чейзом был проведен эксперимент с помеченными радиоактивными изотопами ДНК и белками. В результате они выяснили, что в зараженную клетку передается только нуклеиновая кислота, а не белок, как считалось ранее. В 1949–1951 гг. были сформулированы «правила Чаргаффа». Группа биохимика Э. Чаргаффа установила количественное соотношение между различными типами азотистых оснований в составе нуклеотидов ДНК.

Правила Чаргаффа и данные рентгеноструктурного анализа Розалинд Франклин сыграли решающую роль в расшифровке

структуры ДНК. На основе этих данных в 1953 году Дж. Уотсоном и Ф. Криком был установлен принцип комплементарности. Ученые сделали вывод о том, что ДНК представляет собой двойную полипептидную цепь, образующую спираль благодаря водородным связям между азотистыми основаниями (аденин-тимин и гуанин-цитозин). В 1955 г. произошло открытие фермента ДНК-полимераза А. Корнбергом. Этот фермент способен удлинять полипептидную цепь присоединяя к 3'-концу цепи ДНК дополнительный нуклеотид. Для этого необходимо, чтобы праймер связался с цепью ДНК (матрицей) по принципу комплементарности. Чтобы реакция прошла раствор должен содержать нуклеозидтрифосфаты (дНТФ), которые используются в качестве «строительного материала». В 1971 г. Клеппе с соавторами определили состав реакционной смеси, и принципы использования ДНК-праймеров для получения новых копий ДНК. Однако, из-за технологической сложности искусственного синтеза праймеров и нестабильности реакции, метод ПЦР было невозможно использовать на практике в полной мере. В 1975 г. Т. Брок и Х. Фриз открыли *Thermusaquaticus* (грамотрицательную палочковидную экстремально термофильную бактерию). А в 1976 г. была выделена Таq-полимераза – фермент, который способен работать при повышенных температурах (оптимум 72–80°C). В 1983–1984 гг. К. Мюллисом был проведен ряд экспериментов по разработке ПЦР. Ученый первый начал использовать вместо ДНК-полимеразы устойчивую к высоким температурам Таq-полимеразу, что позволило ускорить работу по разработке полимеразной цепной реакции. Кроме того, К. Мюллисом в соавторстве с Ф. Фалуном был разработан алгоритм циклических изменений температуры в ходе ПЦР.

Открытие метода ПЦР стало одним из наиболее выдающихся событий в области молекулярной биологии за последние десятилетия. Метод продолжает развиваться, появляются новые модификации, но мы предлагаем рассмотреть методику проведения классической ПЦР.

Методика полимеразной цепной реакции

Метод постановки ПЦР требует наличия в реакционной смеси ряда основных компонентов: праймеры, Таq-полимераза, смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов, буфер, анализируемый образец.

Праймеры – искусственно синтезируемые олигонуклеотиды, как правило, размером от 15 до 30 нуклеотидов, которые

идентичны соответствующим участкам ДНК-мишени. Игрют ключевую роль в амплификации, образуя продукты реакции.

Для полимеразной цепной реакции последовательности праймеров очень важны, потому что реакционный цикл имеет определенные величины температур, используемые на этапах нагрева и охлаждения.

Кроме того, большой избыток праймеров в реакционной смеси ПЦР приводит к тому, что они с большей вероятностью сталкиваются с частично комплементарным праймером, чем с полностью комплементарной ДНК матрицей. Таким образом, следует избегать комплементарности праймеров друг другу.

Таq-полимераза – термостабильный фермент, который обеспечивает достраивание 3'-конца второй цепи ДНК по принципу комплементарности. Этот фермент довольно часто используется при проведении стандартной ПЦР.

Таq ДНК полимеразы имеет оптимальную температуру репликации – 75–80°C и выдерживает длительное воздействие температур до 96°C. Таким образом, она может оставаться активной после каждого из шагов денатурации.

Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ) – «строительный материал», который используется Таq-полимеразой для синтеза второй цепи ДНК. Включает в себя дезоксиаденозинтрифосфат (дАТФ), дезоксигуанозинтрифосфат (дГТФ), дезоксицитозинтрифосфат (дЦТФ) и дезокситимидинтрифосфат (дТТФ).

Для оптимального включения оснований в синтезируемую цепь ДНК их обычно добавляют к реакционной смеси ПЦР в эквимольных количествах. Как правило, конечная концентрация каждого дезоксинуклеотидтрифосфата составляет 0,2 мМ.

Буфер – смесь катионов и анионов используемая в определенной концентрации, обеспечивающая оптимальные условия для реакции, а также стабильное значение pH. Значение pH буфера колеблется от 8,0 до 9,5 и стабилизируется Трис-HCl.

Одним из компонентов буфера Таq-полимеразы является ион калия (KCl), который способствует отжигу праймеров. Буферная концентрация ионов магния является еще одним важным фактором для правильного функционирования ДНК-полимеразы. Ионы магния служат кофактором для ДНК полимеразы.

Анализируемый образец – вносимый в реакционную смесь препарат, обычно содержащий искомую ДНК, служащую мишенью для амплификации. В случае отсутствия ДНК-мишени продукт не образуется.

Иногда для удобства детекции или контроля эффективности в состав реакционной смеси могут быть внесены дополнительные компоненты.

Внутренние контроли – несвойственный данному организму фрагмент ДНК, как правило, большего размера, ограниченный специфическими праймерами. Практически представляет собой альтернативную матрицу ПЦР и позволяет контролировать эффективность амплификации в каждой конкретной пробирке.

ДНК-зонды – искусственно синтезированные олигонуклеотиды небольшого размера (около 30 нуклеотидов), комплементарные специфическим ампликонам (продуктам реакции). Могут использоваться для детекции продуктов ПЦР, благодаря прикрепленному к ним изотопным или флуоресцентным меткам.

Для улучшения результатов ПЦР используются различные ПЦР добавки. Эти компоненты способны понижать температуру денатурации матрицы или стабилизируют ДНК-полимеразу.

Обычно используемые ПЦР-добавки включают диметилсульфоксид (ДМСО), сульфат аммония, полиэтиленгликоль, бычий сывороточный альбумин (BSA), желатин, N-триметилглицин и глицерин.

Если в пробе имеется искомая ДНК, с ней происходит ряд последовательных циклических реакций, которые различаются температурными режимами.

Ход реакции

Амплификация может включать в себя множество циклов, но все они состоят из трёх этапов: денатурация, отжиг, элонгация [1].

Денатурация – процесс перехода двухнитевой формы ДНК в однонитевую из-за разрыва водородных связей между комплементарными парами оснований при воздействии высоких температур.

Отжиг – процесс присоединения праймеров к одноцепочечной ДНК-мишени. Отжиг происходит благодаря правилу комплементарности Чаргаффа. Без соблюдения этих условий праймеры не отжигаются.

Элонгация (синтез). Таq-полимераза достраивает вторую цепь ДНК с 3'-конца праймера.

Температура в реакционной смеси доводится до оптимума работы Таq-полимеразы. Затем она максимально эффективно начинает синтезировать вторую цепь ДНК от 3'-конца праймера, который связан с матрицей, и продвигается в направлении от 3' к 5' концу.

Результатом ПЦР будет экспоненциальное увеличение количества специфического фрагмента ДНК, описываемое формулой

$$A = M(2n - n - 1) \sim 2n,$$

где A – количество специфических (ограниченных праймерами) продуктов реакции амплификации; M – начальное количество ДНК-мишеней; n – число циклов амплификации.

Таким образом, специфические фрагменты, ограниченные на концах праймерами, впервые появляются в конце второго цикла, накапливаются в геометрической прогрессии и очень скоро начинают доминировать среди продуктов амплификации.

Виды ПЦР

Помимо классического варианта ПЦР существует также множество других вариантов постановки ПЦР, которые направлены на решение многих задач: увеличение эффективности реакции и снижения риска образования неспецифических продуктов; реализацию возможности проведения качественного и количественного анализа искомым участкам молекулы ДНК/РНК [2].

В клинко-диагностических лабораториях наиболее распространенными модификациями ПЦР являются:

ПЦР с «горячим» стартом (hot-start PCR) – суть этой модификации состоит в предотвращении возможности начала реакции до момента достижения условий, которые обеспечивают специфический отжиг праймеров.

В момент постановки ПЦР полимеразная активность фермента блокируется антителами или небольшими молекулами типа Affibody, имитирующими антитела, до наступления первой денатурации (при 95°C в течение 10 минут).

ПЦР с «горячим» стартом дает возможность минимизировать вероятность образования неспецифических продуктов ПЦР и возможность получения ложноположительных результатов анализа.

ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР, RT-PCR) – предназначен для амплификации, выделения или идентификации последовательности РНК. Сперва проводят синтез одноцепочечной молекулы ДНК (кДНК), с помощью ревертазы (обратной транскриптазы), используя для матрицы мРНК. Затем образовавшуюся кДНК используют для последующей ПЦР.

Возможность использовать РНК в качестве мишени для ПЦР расширяет спектр применения метода, например, геномы многих вирусов (гепатит С, вирусы гриппа, ВИЧ и т.д.) представлены именно РНК.

ПЦР с анализом результатов «по конечной точке» (End-point PCR) – эта модификация позволяет учитывать результаты реакции по наличию флуоресценции после амплификации, не открывая пробирку. Таким образом, решается проблема контаминации ампликонами. Одним из вариантов является метод «FLASH» (FLuorescent Amplification-based Specific Hybridization) – специфическая гибридизация в процессе амплификации с ДНК-зондами, меченными флуорофорами).

ПЦР в режиме «реального времени» (Real-Time PCR, ПЦР-РВ) – используется одновременно для амплификации и измерения количества искомой молекулы ДНК. Преимущество состоит в возможности совмещения детекции и количественного определения специфической последовательности ДНК в образце после каждого цикла амплификации в реальном времени.

Для этого используются флуоресцентные красители, которые интеркалируют в двуцепочечные молекулы ДНК или модифицированные дезоксирибонуклеотиды, флуоресцирующие после гибридизации с комплементарными участками ДНК.

Мультиплексная (мультипраймерная) ПЦР – амплификация двух и более последовательностей ДНК в одной пробирке одновременно. Преимущество этого метода заключается в возможности выявления ряда патогенов, генетических модификаций организмов или генотипирования множественных аллелей и т.д., поместив проб в одну пробирку.

Все перечисленные виды ПЦР не могут быть проведены без необходимого пространства и оборудования.

Организация ПЦР-лаборатории и необходимое оборудование

Организация ПЦР-лаборатории и необходимый список оборудования регламентированы Методическими указаниями (МУ 1.3.2569–09) «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Комплект необходимого оборудования для проведения ПЦР должен включать в себя все необходимые приборы для выделения НК, их амплификации и детекции результатов. Все оборудование должно быть исправным, иметь технический паспорт и инструкцию по эксплуатации. Все приборы должны соответствовать нормам безопасности.

Для предотвращения контаминации исходных образцов используют одноразовые пробирки с плотно закрывающимися крышками и наконечники к микродозаторам, термостаты с твердотельным термоблоком, специальные контейнеры для сброса использованных наконечников и пробирок. Смена наконечников является обязательной после каждой проведенной манипуляции [3].

Для каждого отдельного помещения предусмотрено наличие холодильников и морозильников для поддержания определенной температуры, вентилаторов и ротаторов для перемешивания, центрифуг различной мощности для перемешивания и разделения образцов. Также необходимо наличие комплекта дозаторов различного диапазона объемов и подходящих для них наконечников, штативов для микропробирок, самих микропробирок (центрифужных, градуированных и пр.) различных объемов. Все комнаты должны быть оснащены бактерицидными рециркуляторами для дезинфекции воздуха при помощи УФ, все рабочие поверхности и наружные поверхности корпусов приборов должны быть устойчивы к дезинфекции. Помимо перечисленного списка каждая зона лаборатории должна содержать конкретный набор приборов, необходимых для выполнения соответствующих задач.

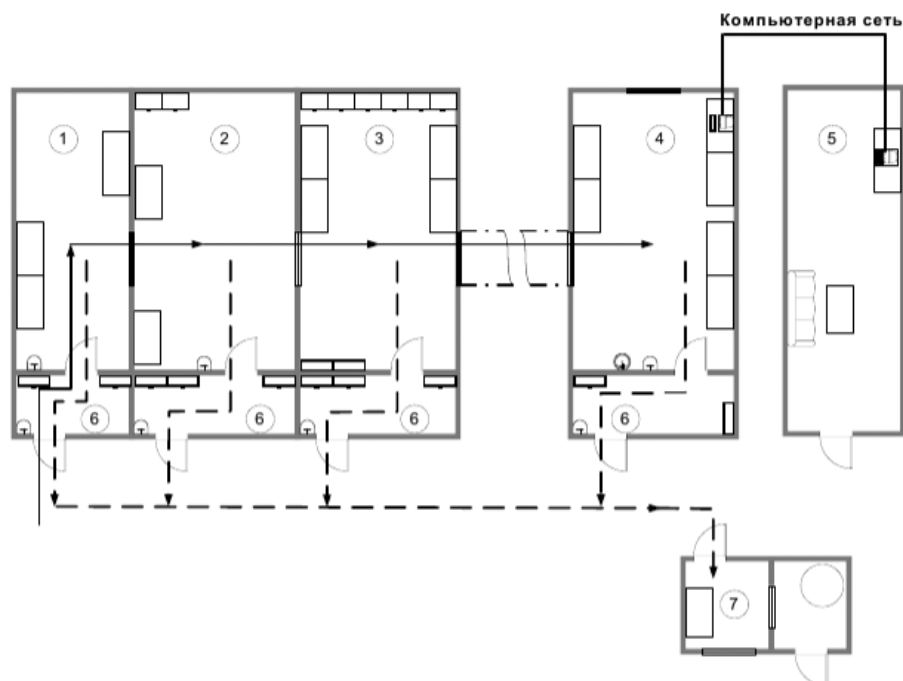
Организация зон лаборатории представлена на схеме [4].

Зона приема, регистрации и первичной обработки материала должна быть оборудована центрифугами для осаждения и разделения компонентов проб.

В зоне выделения НК необходимо наличие:

- абактериального бокса для защиты исследователя от патогенных агентов, передающихся воздушно-капельным путем;
 - процессора магнитных частиц для экстракции НК;
 - нанофотометра для определения количества и качества выделенной из образца ДНК/РНК;
 - термостата для поддержания постоянной температуры в пробирках, помещенных в гнезда термоблока;
 - дистиллятора для получения дистиллированной воды.
- Зона приготовления реакционной смеси и проведения ПЦР должна содержать:
- амплификатор, необходимый для нагрева/охлаждения пробирок;
 - бокс для стерильных работ для обеспечения защиты от контаминации при выделении ДНК и подготовке реакционной смеси.

Принципиальная схема размещения ПЦР-лаборатории



Обозначения:

- 1 – зона приема, разбора и первичной обработки материала;
2 – зона подготовки проб и выделения НК;
3 – зона приготовления реакционных смесей, проведения ОТ и ПЦР;
4 – зона детекции результатов методом электрофореза и ГиФА;
5 – комната анализа результатов;
6 – предбокс;
7 – комната обеззараживания материала.

⌒ – раковина; ○ – автоклав, || – окно, шлюз;
⊕ – устройство для слива воды после влажной уборки помещения

▭ – шкафы в предбоксах (для одежды) и боксах;

→ – движение исследуемого материала;
--- – движение отработанного материала.

Обязательными для зоны детекции результатов являются:

- камера для электрофореза – разделения продуктов амплификации нуклеиновых кислот, а также источник питания, преобразующий переменный ток в постоянный;
- система гель-документации для регистрации результатов и воспроизведения электрофореграмм, включающая в себя трансиллюминатор для детекции результатов в УФ спектре, а также компьютер;

- электронные прецизионные весы для приготовления агарозного геля, который используется при электрофорезе;
- электрическая плитка для тех же целей.

В последней, но немаловажной зоне дезинфекции материалов необходим паровой стерилизатор для обработки образцов водяным паром под давлением.

Состав оборудования может варьировать в зависимости от размера лаборатории и других факторов.

Заключение

Метод ПЦР находит применение в различных областях диагностики. Его применяют для выявления в клинических образцах вирусов, бактерий, простейших, а также для обнаружения приобретенных и врожденных генетических нарушений и идентификации личности [5].

Автоматизация этапов денатурации, отжига и элонгации с применением современного оборудования позволяет упростить проведение анализа и способствует его широкому применению в различных областях диагностики. Однако повсеместное внедрение данного метода ограничивается необходимостью ручной и трудоемкой подготовки проб и детекции результатов, а также необходимостью в оснащенной лаборатории со всеми необходимыми реактивами и оборудованием.

Сфера применения полимеразной цепной реакции в дальнейшем будет расширяться, т.к. все чаще в клинической практике имеют дело с очень небольшим количеством исследуемого материала, анализ которого возможен только этим методом.

Появление все новых видов ПЦР способствует охвату большего спектра возможностей для применения метода, упрощает и ускоряет его проведение, тем самым позволяя получить наиболее точный, верный и быстрый результат.

Список литературы

1. Зорина В.В. Основы полимеразной цепной реакции. – М.: ДНК-технология, 2012. – 80 с.
2. Shehnam Shafique. Polymerase Chain Reaction. – N.Y.: LAP Lambert Academic Publishing. 2012. – P. 96.
3. Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III–IV групп патогенности: Методические указания. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 19 с.
4. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности: Методические указания. – М.: Государственная система санитарно-эпидемиологического нормирования Российской Федерации, 2009. – 31 с.
5. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / пер. с англ.; под ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. – М.: Мир, 1999. – 558 с.

УДК 615.9

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДИК ОЦЕНКИ ПЕРЕКИСНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ НА ОСНОВЕ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ

Вельш О.А., Филончикова Е.С., Трофимова Е.Е.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, e-mail: velsh.lilya@mail.ru

Эритроциты, как одни из жизненно важных форменных элементов крови, постоянно подвергаются перекисному окислению, что является стрессовым фактором для мембран. В результате эволюции эритроциты приобрели резистентность к перекиси водорода, которая в свою очередь зависит от возраста форменных элементов и может уменьшаться в ходе их старения. Уменьшение резистентности эритроцитов до минимальных значений приводит к гемолизу. Гемолиз называется процесс разрушения мембран эритроцитов, сопровождающийся выходом гемоглобина в плазму крови. Гемолиз эритроцитов может быть вызван одной из активных форм кислорода – перекисью водорода. Ее образование может наблюдаться при различных процессах, таких как действие гормонов, гипероксия, инфекционные заболевания. С целью оценки перекисной резистентности в настоящем исследовании были рассмотрены две методики и выделены их недостатки и преимущества.

Ключевые слова: перекисная резистентность, эритроцит, перекись водорода, оптическая плотность, азид натрия, гемолиз

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE METHODOLOGY FOR ESTIMATING THE PEROXIFICITY OF ERYTHROCYTES BASED ON LITERARY DATA

Velsh O.A., Filonchikova E.S., Trofimova E.E.

Orenburg State University, Orenburg, e-mail: velsh.lilya@mail.ru

Erythrocytes, as one of the vital blood cells, are constantly subjected to peroxidation, which is a stress factor for membranes. As a result of evolution, red blood cells have become resistant to hydrogen peroxide, which in turn depends on the age of the formed elements and may decrease in the course of their aging. Reducing the resistance of red blood cells to minimal values leads to hemolysis. Hemolysis is the process of destruction of erythrocyte membranes, accompanied by the release of hemoglobin in the blood plasma. Hemolysis of red blood cells can be caused by one of the active forms of oxygen – hydrogen peroxide. Its formation can be observed in various processes, such as the action of hormones, hyperoxia, and infectious diseases. In order to assess peroxide resistance in the present study, two methods were considered and their advantages and disadvantages were highlighted.

Keywords: peroxide resistance, erythrocyte, hydrogen peroxide, optical density, sodium azide, hemolysis

При воздействии различных внешних и внутренних факторов могут изменяться морфологические и функциональные характеристики, которые обеспечивают целостность эритроцитов. Существует ряд факторов, таких как осмотические, механические, химические, температурные, к которым нормальный эритроцит способен противостоять до определенного предела. Такая способность кровяных клеток обусловлена понятием резистентности, которая в свою очередь зависит от возраста форменных элементов и может уменьшаться в ходе их старения [1]. Уменьшение резистентности эритроцитов до минимальных значений приводит к гемолизу. Гемолиз – это процесс разрушения мембран эритроцитов, сопровождающийся выходом гемоглобина в плазму крови. Плазма в таком случае будет окрашиваться в красный цвет, по другому ее называют «лаковая кровь». Гемолиз может проходить как *in vivo* так и *in vitro* [2].

Перекись водорода – одна из активных форм кислорода, которая способна вызывать гемолиз эритроцитов. Образование перекиси водорода может наблюдаться при различных процессах, таких как дей-

ствие гормонов, гипероксия, инфекционные заболевания. Главными мишенями клетки являются липиды и белки мембраны эритроцита, а также внутриклеточный белковый компонент. При недостатке витамина Е и внесении перекиси водорода наблюдается перекисное окисление фосфолипидов мембраны и последующий гемолиз по коллоидно-осмотическому типу. Фракцией липидов наиболее чувствительной к окислению является фосфатидилэтаноламин [3].

Против агрессивного действия свободных радикалов перекиси водорода действует специальная антиоксидантная система. Она состоит из ферментов, которые обеспечивают защиту эритроцитарной мембраны при окислении. К таким ферментам относятся: супероксид-дисмутаза (СОД), каталаза, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы, удаляющие органические перекиси.

Продукты перекисного окисления могут быть как «индикаторами», так и «первичными медиаторами» стресса как особого состояния клетки, которое может привести к увеличению ее резистентности [4].

Выработка активных форм кислорода (H_2O_2) увеличивается при высвобождении

из гена ионов трехвалентного железа. Такие активные формы способны приводить к прилипанию клеток крови к стенкам сосудов и вызывать окисление липопротеинов низкой плотности. В результате образуются перекиси липидов и нарушается структура и проницаемость мембраны эритроцитов. Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) играют важную роль в нормальном функционировании клетки и выступают ключевыми звеньями реакции организма на стресс [5].

Из литературных источников известно, что резистентность эритроцитов к воздействию различных факторов имеет информативный характер для оценки функционального состояния организма и его общей устойчивости к интенсивным физическим нагрузкам [2].

Содержание железа в окисленной форме соотносится с риском сердечнососудистых заболеваний, что объясняет постоянный научный интерес к изучению факторов, отвечающих за устойчивость эритроцитов к гемолизу. Особую актуальность приобретает изучение пероксидной резистентности клеток крови, так как повышенное содержание перекиси водорода в кровяном русле отмечается при различных патологических состояниях, в том числе инфекциях и воспалении [4].

Для изучения физико-химических свойств мембран клеток крови применяют метод определения перекисной резистентности эритроцитов.

Таким образом, целью нашего исследования является проведение литературного обзора изучения перекисной резистентности эритроцитов крови человека с использованием различных методик.

Исследование перекисной резистентности эритроцитов крови человека проводилось по двум методикам. Оба метода производят оценку перекисной резистентности эритроцитов на основе расчетов таких показателей как: оптическая плотность пробы, подвергшейся перекисному гемолизу; оптическая плотность, соответствующая 100% гемолизу и оптическая плотность, характеризующая спонтанный (без H_2O_2) гемолиз эритроцитов. Первая методика описанная В.И. Бенисовичем заключается в ингибции эритроцитарной каталазы при помощи азида натрия для оценки резистентности мембран эритроцитов к перекисному окислению, инициированному H_2O_2 . Данная методика предполагает приготовление суспензии эритроцитов, растворов перекиси водорода и азида натрия на забуференном физиологическом растворе с уровнем pH равным 7,4. Затем следует приготовление двух опытных проб путем добавления 2 мл 0,068% раствора перекиси водорода к 2 мл

5% суспензии эритроцитов и 0,16 мл 0,2% раствора азида натрия. Третья проба является контрольной и предназначена для определения спонтанного гемолиза эритроцитов. Данную пробу получают смешиванием тех же объемов суспензии эритроцитов и раствора азида натрия, которые использовали при приготовлении двух опытных проб, но вместо раствора перекиси водорода берут равный объем забуференного физиологического раствора с pH 7,4. Инкубация проб производится в термостате в течение одного часа при 37°C. Для получения 100% гемолиза эритроцитов к одной из опытных проб добавляют 0,2 мл 4% раствора сапони-на. Центрифугирование всех проб происходит после инкубации 10 минут при 2000 об/мин. После центрифугирования происходит осаждение эритроцитов, а надосадочную жидкость используют для определения степени гемолиза. Для этого к 0,3 мл надосадочной жидкости добавляют 2,7 мл трансформирующего раствора, который дает окрашенный комплекс с Fe^{3+} -гемоглобина. После этого на спектрофотокориметре определяют оптическую плотность E541, пропорциональную количеству гемоглобина в пробе [6].

В исследовании перекисной резистентности эритроцитов по второй методике предложенной С.С. Михайловым преследуется цель оценить общую резистентность эритроцитарных мембран, включая действие эритроцитарной каталазы, разлагающей перекись водорода. Величину перекисной резистентности определяют с учетом разбавления суспензии эритроцитов. Эритроциты дважды промывают физиологическим раствором и готовят 4,4% суспензию. В эксперименте используется перекись водорода с исходной рабочей концентрацией 2,2%. Такая концентрация обеспечивает удобную для измерения величину оптической плотности гемолизата (от 0,1 до 0,8). В данном методе также используются опытные и контрольные пробы. Для наиболее точного получения результата используют 10 образцов из одной и той же донорской крови. Оптическую плотность определяют на спектрофотометре при длине волны 536 нм. В кювету объемом 1 мл вносят 0,8 мл забуференного физиологического раствора (pH 7,4), добавляют 0,1 мл суспензии эритроцитов. Содержимое перемешивают [7].

По данной методике также проводится оценка перекисной устойчивости эритроцитов. Для получения результатов используются три параметра каждой пробы («а», «б» и «в»), которые представлены ниже в формуле (1), определяются непосредственно в одной и той же спектрофотометрической кювете.

Сначала вычисляется величина «в», характеризующая спонтанный гемолиз. По данным предварительных опытов было выяснено, что в условиях описываемого определения в течение 60' спонтанный гемолиз практически пропорционален времени инкубации. Сразу же после вышеописанного перемешивания пробу в спектрофотометрической кювете центрифугируют (5', 3000 об/мин) и определяют оптическую плотность надосадочной жидкости при длине волны равной 536 нм. Затем получают E_0 , т.е. нулевую точку на графике. Далее осадок взмучивают и после 30' инкубации при 37°C снова центрифугируют и определяют оптическую плотность E_{30} . Затем по графику с учетом линейной зависимости путем экстраполяции получают E_{60} . В данном случае $E_{60} = 2 E_{30} - E_0$. Для получения значения «а» определяют оптическую плотность опытной пробы после добавления 1 мл 2,2% раствора перекиси водорода и при постоянном покачивании кюветы. После чего содержимое пробы инкубируют в течение 30' при той же температуре. Затем пробу центрифугируют (5', 3000 об/мин) и определяют оптическую плотность.

Далее в кюветы вносят стеклянную палочку, смоченную в растворе сапонины, обеспечивающего 100% гемолиз, затем пробу снова центрифугируют и определяют величину «б» путем фотометрирования.

Обработку данных проводят по формуле

$$A = 100 (a - v) / (b - v),$$

где а – величина оптической плотности опытной пробы E_{541} или E_{536} ; б – величина оптической плотности при полном (100%) гемолизе под влиянием сапонины; в – величина оптической плотности контрольной пробы – характеристика спонтанного гемолиза эритроцитов в условиях опыта.

Данная формула определяет степень гемолиза А (в%) под влиянием перекиси водорода. Рассчитанная таким образом средняя перекисная резистентность эритроцитов для группы здоровых людей $A = 8,9 \pm 1,13$ [7].

По итогу проведения литературного обзора были выявлены недостатки первой методики определения перекисной устойчивости эритроцитов. Во-первых, при приготовлении проб количество эритроцитов оказывается различным во всех пробах, особенно при проведении массовых поточных определений. Соответственно оценка степени гемолиза эритроцитов в опытной пробе по отношению к пробе со 100% гемолизом сопровождается существенной ошибкой. Таким образом нецелесообразность суспензии эритроцитов и необходимость приготовления отдельной пробы для проведения 100% гемолиза негативно сказываются на точно-

сти метода. Во-вторых, по ходу определения устойчивости эритроцитов к перекиси водорода неоднократно приходится манипулировать малыми объемами субстрата и используемых реактивов. При измерении этих объемов создается погрешность, что также негативно сказывается на точности конечного результата. Второй представленный нами метод учитывает недостатки первого, тем самым является наиболее выгодным для применения в оценке перекисной резистентности эритроцитов. В данном способе не применяются азид натрия и трансформирующий раствор. Так как о степени гемолиза можно судить по оптической плотности E_{536} , которая непосредственно отражает концентрацию гемоглобина. Недостатки предыдущего метода были устранены с помощью индивидуализации каждой пробы. Суспензия эритроцитов, помещенная в спектрофотометрическую кювету, уже не покидает ее и используется сначала для определения спонтанного гемолиза, потом для определения гемолиза, вызванного добавлением H_2O_2 , и, наконец, для определения полного гемолиза, обусловленного добавлением сапонины.

Учет и исправление недостатков первого метода обуславливает повышение точности полученных результатов во втором методе. Таким образом методика предложенная С.С. Михайловым является значительно упрощенной в плане использования минимального набора реактивов и экономически выгодной из-за ненужности использования трансформирующего раствора.

Список литературы

1. Бондарев Л.С., Зайцев И.А., Жидких В.Н. Влияние некоторых воздействий на осмотическую стойкость эритроцитов // Лаб. Дело. – 1990. – № 7. – 31 с.
2. Андрийчук А.В., Ткаченко Г.М., Кургалюк Н.Н., Ткачева И.В., Грудневская Й., Вартовник М.С. Пероксидная резистентность эритроцитов и содержание маркеров окислительного стресса в крови лошадей украинской верховой породы в динамике физических нагрузок // Известия КГТУ. – 2015. – № 36. – 46 с.
3. Woollard K.J., Sturgeon S., Chin-Dusting J.P., Salem H., Jackson H. Erythrocyte hemolysis and hemoglobin oxidation promote ferric chloride-induced vascular injury // The Journal of Biological Chemistry. – 2009. – 284 p.
4. Кулинский В.И. Активные формы кислорода и окислительные модификации макромолекул: польза, вред и защита // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – 63 с.
5. Половинкина Е.О., Синицына Ю.В. Окислительный стресс и особенности воздействия слабых стрессоров физической природы на перекисный гомеостаз растительной клетки: учебно-методическое пособие. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2010. – 62 с.
6. Бенисович В.И., Идельсон Л.И. Образование перекисей непредельных жирных кислот в оболочке эритроцитов при болезни Маркшафа-Микели // Вопр. мед. химии. – 1973. – № 6. – С. 596–599.
7. Патент 2134420. Российская Федерация МПК G01N33/50 Способ определения перекисной резистентности эритроцитов / Михайлов С.С.; заявитель и патентообладатель Санкт-Петербургская государственная академия физической культуры им. П.Ф. Лесгафта; Михайлов С.С., Романчук Л.А., Фактор Э.А. заявл.: 09.04.97; опубл.: 10.08.99.

УДК 612.821:616–092.4

СОВРЕМЕННЫЕ АППАРАТНЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПСИХОФИЗИОЛОГИИ

Иванова Ю.Д., Бuryкина К.Ю., Лебедева Ж.И., Волонтырь А.В.

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru*

Для проведения различных медико-диагностических работ необходимо знать способы детекции, анализа и регистрации данных, полученных во время психофизиологических экспериментов. Использование современной аппаратуры позволяет снизить возможные ошибки, повысить качество исследования, научной работы. Правильно поставленный диагноз – ключ к эффективному и быстрому лечению, что ведет к уменьшению риска осложнений. Обязательным условием верно поставленного диагноза это использование не только современного, но и надежного, хорошо протестированного оборудования. Всё это в своей совокупности поможет сделать прогноз более благоприятным. Особенно важна быстрота работы оборудования, что используется не только в диагностике, но и при проведении других медицинских задач. Например, в реаниматологии, где важна каждая секунда, наличие качественного оборудования, способного в доли секунды помочь – крайне важно. Любое из направлений медицины требует такого уровня технологий, которые позволило не только повысить достоверность анализов, исследований, но и повысить эффективность в терапии диагностируемого заболевания. Поэтому очень важно не только иметь в наличии и пользоваться современным оборудованием, но и не забывать про его обновление и ремонт. В данной работе проведен сравнительный анализ и оценка многих технологий, оборудования, используемых при анализе и регистрации данных в экспериментальной психофизиологии.

Ключевые слова: способы детекции, психофизиологические эксперименты, медико-диагностические работы

MODERN HARDWARE METHODICAL APPROACHES IN EXPERIMENTAL PSYCHOPHYSIOLOGY

Ivanova Y.D., Burykina K.Y., Lebedeva Z.I., Volontyr A.V.

*Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd,
e-mail: post@volgmed.ru*

For various medical and diagnostic work, it is necessary to know the methods of detection, analysis and recording of data obtained during psychophysiological experiments. The use of modern equipment allows to reduce possible errors, improve the quality of research, scientific work. Correct diagnosis is the key to effective and fast treatment, which leads to a reduction in the risk of complications. A prerequisite for a true diagnosis is the use of not only modern, but also reliable, well-tested equipment. All this in its totality will help make the forecast more favorable. Especially important is the speed of the equipment, which is used not only in the diagnosis, but also when carrying out other medical tasks. For example, in resuscitation, where every second is important, the availability of high-quality equipment that can help in a fraction of a second is extremely important. Any of the areas of medicine requires such a level of technology, which allowed not only to increase the reliability of analyzes, research, but also to increase the effectiveness in the treatment of a diagnosed disease. Therefore, it is very important not only to have available and use modern equipment, but also not to forget about its updating and repair. In this paper, a comparative analysis and evaluation of many technologies, equipment used in the analysis and recording of data in experimental psychophysiology.

Keywords: detection methods, psychophysiological experiments, medical and diagnostic work

Исследование поведенческих эффектов различных экзогенных и эндогенных факторов имеет большое практическое значение в экспериментальной биологии, медицине и лекарственной токсикологии, так как позволяет выявлять этологические эффекты различных соединений на этапе доклинических исследований [1, 2]. На следующем этапе в блоке клинических исследований различных соединений – потенциальных лекарственных средств при оценке их нейро-функциональных эффектов, и изучения их механизмов, перспективными являются методические аппаратные подходы современной психофизиологии [3].

Для электрофизиологии и нейрофизиологии используются исследовательские системы ADInstruments, включающие систему

сбора данных PowerLab, ПО LabChartPro и специализированные усилители вместе с соответствующим приспособлением для записи, анализа и вывода на экран данных внеклеточных и внутриклеточных исследований.

Нейроусилитель EX FE185. Это практически бесшумный внеклеточный усилитель. Его используют на людях или животных используя металлические микроэлектроды, для записи отдельно взятых клеток, а также групп клеток. Этот прибор был одобрен для использования на людях, поэтому является идеальным для микронейрографических исследований.

Систему внеклеточной записи PL3508B73 используют вместе с предусилителем AC/DC и головки с электродом

из металла или стекла для записи сигналов. Он обладает хорошими характеристиками вычитывания синфазной помехи (CMRR), а также достаточно высокой толерантностью по постоянному току. Для записи внеклеточной активности, ЭКГ и ЭМГ у животных этот прибор подходит лучше всего.

Система внутриклеточной записи PL3508B74–V представляет собой тихий усилитель с оптимально низким дрейфом и с достаточно коротким временем ответа для записи высокоомных заполненных жидкостью стеклянных электродов. Одновременная стимуляция и запись одного электрода возможна за счёт цепи приложения тока. За счёт данных качеств этого прибора, а также легковесности головки, PL3508B74–V идеально подходит для быстрой и точной записи приложения тока и внутриклеточной записи [4].

Двухэлектродные системы записи при фиксации потенциала PL3508B75–Vi рабочая станция клампирования ооцитов PL3508B76 применяются для клампирования больших клеток и клеточных структур, например, ооцитов шпорцевой лягушки (*Xenopus*) и аксон кальмара. Есть систем записи пэтч-клампа с головками разной чувствительности, и с использованием тупого электрода для измерения уровней токов, проходящих через целые индивидуальные ионные каналы. В камерах Уссинга имеются системы эпителиальной фиксации потенциала, для изучения транспортных и электрических свойств эпителия.

Для стимуляции изолированных тканей используется стимулятор с двойным аналоговым выходом в PowerLab, также он используется для запуска иных стимуляторов высокой мощности, а также для их контроля. Для нейрофизиологических приложений идеально подходят стимуляторы STG. Они обладают оптически изолированными каналами и режимом стимуляции напряжением или током с очень высоким разрешением.

Для исследований в области сна идеально подходят системы сбора данных PowerLab, так как эти системы являются мощным, но достаточно простым в использовании инструментом для записи и анализа большого числа физиологических параметров, которые относятся к нарушениям процесса дыхания во время сна, к функциям сердечно-сосудистой системы, а также к СБН (синдром беспокойных ног) и внезапной смерти младенцев. Применяется как к животным, так и к человеку.

Системы PowerLab могут записывать и выводить на экран в LabChart до 32 каналов данных. Одновременная запись сигналов низкой частоты (температуры или ды-

хания) и сигналов с высокой частотностью возможна благодаря изменяемой частоте дискретизации при разумном размере файлов. В исследованиях сна, основными параметрами являются электроэнцефалограмма (ЭЭГ/ЭКоГ), электроокулограмма (ЭОГ), электромиограмма (ЭМГ), электрокардиограмма (ЭКГ). А также дополнительно регистрируются сатурация кислорода, параметры дыхания, инвазивное и неинвазивное кровяное давление, ректальная температура и температура кожи.

Для анализа данных сна, лучше всего подходит LabChart, т.к. он обладает разнообразными функциями и продвинутыми модулями. Кардиоваскулярные данные очень быстро и точно анализируются модулями кровяного давления, ЭКГ-анализа и ВЧСС.

Системы сбора данных PowerLab часто применяются в исследованиях психической деятельности на физиологическом уровне, функции вегетативной нервной системы, кардио-респираторный контроль, функции коры больших полушарий мозга, также боли и многого другого.

Типичные исследовательские применения включают: реакции кожной проводимости (КГР/РКП/ЭДР), электрокардиографию (ЭКГ), вариабельность ЧСС (HRV), симпатовагальный тонус (LF/HF), электроэнцефалографию (ЭЭГ), кровяное давление, а также температуру кожи, анализ дыхания, спирометрию, дыхательный ритм, полиграфию.

Кожная проводимость (КГР/ЭДР)

Нервозность, волнение и другие эмоциональные состояния испытуемого можно измерить с помощью кожной проводимости. Для этого используются такие приборы как КГР-усилитель FE116, блок записи данных PowerLab с ПО LabChart, с помощью которых записывается и анализируется кожная проводимость. На людях используют самый безопасный, изолированный и сертифицированный усилитель КГР, поставляемый с электродами КГР на палец MLT116F. Разные виды электродов КГР на палец MLT117F могут использоваться вместе с MPT оборудованием. Также может быть поставлен удлиненный кабель.

PowerLab и биоусилитель ADInstruments позволяют записывать различные биопотенциалы. Частота дискретизации до 200 000 Гц на одном канале (всего до 400 000 Гц).

Число записываемых каналов, нужных приложению, являются главным критерием для выбора модели биоусилителя. Для анализа ЭКГ и ВЧСС лучше всего использовать вдвоенный биоусилитель FE135, Восьмиканальный биоусилитель ML138 или 16-ка-

нальный биоусилитель GT201/F 16. Автоматизированный анализ ЭКГ можно сделать с помощью модуля анализа ЭКГ. ЭКГ модуль, нужный для определения и количественной оценки компонентов, позволяет проводить эффективное обнаружение, анализ и отчет по свойствам. [5]

Они включают: предустановки для целого ряда видов (человек, крыса, мышь, кролик, морская свинка, собака, свинья), модификация предустановок для любого вида, классификатор ударов для включения/исключения ударов ЭКГ, усреднение сигналов и построение графиков, автоматическое извлечение 15 параметров ЭКГ.

Количественную информацию об относительном влиянии симпатической и парасимпатической нервных систем предоставляет ВЧСС в сопряжении со спектральным анализом.

Основным инструментом для вычисления и анализа ВЧСС испытуемых в реальном или отложенном времени является модуль ВЧСС. Автоматическое определение и количественную оценку можно выполнить для разных значений интервала между ударами. Окна графика Пуанкарэ, гистограмма дельта-NN, периодическая гистограмма, тахограмма, спектр (БПФ) вместе со статистическим отчетом позволяют сделать и визуальные, и текстовые отчеты.

С помощью спектрального анализа записи ЭЭГ можно количественно оценить частоты и мощности компонентов ЭЭГ испытуемого. Его можно провести с помощью функции спектральный вид в LabChart.

Системы PowerLabSystems для предъявления стимулов можно использовать вместе с программным и аппаратным обеспечением. Получать данные по зрительным и слуховым стимулам, отмечать и проводить анализ времени реакции – все это возможно при использовании ПО для предъявления стимулов SuperLab. Приставка MLE1300 StimTracker позволяет синхронизировать время реакции на предъявляемые SuperLab стимулы с физиологическими сигналами, которые записаны и проанализированы с помощью PowerLab в реальном времени.

С кабелем ResponsePad-PowerLab приставки для ответов серии RB могут взаимодействовать напрямую, а через StimTracker – опосредованно. Для ответов используются 5,7 и 8-кнопочные приставки. Соединить коробку последовательных ответов PST (PsychologySoftwareTools) с цифровыми входами PowerLab возможно с помощью кабеля сопряжения с E-prime MLAC34. Также могут записываться постоянно меняющиеся ответы на стимулы. Это выполняется с по-

мощью измерителя ответов MLT1601/ST ADInstruments. Если нет гарантии получения дискретного ответа, можно воспользоваться MLT1601/ST ADInstruments. Определение и отслеживание событий в реальном времени и осуществление различных задаваемых пользователем действий возможно осуществлять с помощью расширения для управления событиями для LabChart для Windows. В таких сигналах, как ЭЭГ существует функция осциллографа, обеспечивающая методику усреднения сигнала, необходимую для исследований зрительных и слуховых вызванных потенциалов.

Функция осциллографа обеспечивает метод усреднения сигналов для изучения визуальных и слуховых вызванных потенциалов в таких сигналах, как ЭЭГ.

Кардиореспираторные эффекты PowerLabSystems позволяют психофизиологам отслеживать такие кардиореспираторные параметры, как артериальное давление, температура кожи, ритм дыхания, пульс и кровоснабжение кожи. Сфигмоманометр MLT1100 и кардиомикрофон MLT201 могут использоваться для получения дискретных неинвазивных измерений артериального давления с помощью осциллографии или аускультации.

Непрерывное неинвазивное кровяное давление (НИАД) может быть измерено и одновременно анализировано с помощью MIDI-искателя MLE1054-V, PowerLab и модуля анализа артериального давления. Изменения в перфузии крови кожи могут быть получены с помощью расходомера крови IN191 и стандартного поверхностного зонда. Температура кожи может быть измерена с помощью терморезистора ML309 и датчика температуры кожи. Полиграфия сочетает в себе несколько физиологических измерений, используемых исследователями, чтобы отличить правду от обмана.

Типичные физиологические измерения включают в себя: проводимость кожи, температуру кожи, ритм дыхания HR (рассчитывается путем расчета каналов от импульса или из ЭКГ). Кожная проводимость может быть записана с использованием усилителя KGR и PowerLab. Термистор с присоединением для термистора ML309 может точно записывать физиологическую температуру. Ритм дыхания может быть эффективно записан с использованием дыхательного пояса – преобразователя дыхательного пояса MLT1132 / D. Частота сердечных сокращений может быть определена из записи импульсов с использованием преобразователя импульсов MLT1010 или из за-

писи ЭКГ с использованием биоусилителя от ADInstruments.

Выводы

Проведённый в этом исследовании анализ показывает перспективность использования современного оборудования в экспериментальной психофизиологии. Применение данных технологий имеет преимущества, позволяющие провести исследование с минимальным количеством погрешностей и получить наиболее точный результат.

Список литературы

1. Букатин М.В., Бугаева Л.И., Кузубова Е.А., Спасов А.А. Влияние эноксифола на поведенческую активность

крыс-самцов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2012. – № 1 (41). – С. 93–95.

2. Букатин М.В., Бугаева Л.И., Кузубова Е.А. Изучение влияния курсового введения бемитила на компоненты полового поведения крыс-самцов // Современные наукоемкие технологии. – 2013. – № 1. – С. 100–101.

3. Фролов С.В., Строев В.М., Горбунов А.В., Трофимов В.А. Методы и приборы функциональной диагностики: учебное пособие. – Тамбов: Изд-во Тамб. гос. техн. ун-та, 2008. – 80 с.

4. Скребицкий В.Г., Шаронова И.Н. Технологии изучения механизмов действия препаратов для коррекции когнитивных расстройств // Бюллетень Национального общества по изучению болезни Паркинсона и расстройств движений. – 2018. – № 2. – С. 10–20. DOI: 10.24411/2071–5315–2018–12025.

5. Хало П.В., Галалу В.Г., Омельченко В.П. Модели и принципы активации резервных возможностей организма // Известия Южного федерального университета. Технические науки. – 2010. – Т. 110; № 9. – С. 63–70.

УДК 577

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЙОДА
ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА ОРЕНБУРГ****Китова Е.П., Кривоносова Е.В., Ильясова Ю.З., Бибарцева Е.В.***ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, e-mail: kitucya@mail.ru*

Статья посвящена исследованию обеспеченности йодом населения города Оренбурга, Оренбургской области – региона с выраженной эндемичностью по отношению к данному микроэлементу. В статье представлены результаты исследования мочи на количественное определение содержания в ней йода, по значениям которых можно выявить степень обеспеченности всего организма данным микроэлементом. В процессе анализа проводилась экстракция йода из пробы мочи с помощью хлороформа и спектрофотометрирование трийодатного комплекса, полученного в результате взаимодействия йодат-ионов с йодидом калия. Проведена аналитическая оценка полученных результатов с приведением рекомендаций по нормализации уровня йода у жителей региона.

Ключевые слова: йод, спектрофотометрический метод, центрифугирование, экстракция, Оренбург**SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE CONTENT OF IODINE OF
ORENBURG CITY RESIDENTS****Kitova E.P., Kryvonosova E.V., Ilyasova J.Z., Bybartseva E.V.***Orenburg State University, Orenburg, e-mail: kitucya@mail.ru*

The article is devoted to the study of iodine supply to the population of the city of Orenburg, Orenburg region – a region with a pronounced endemicity in relation to this trace element. The article presents the results of the study of urine to quantify the content of iodine in it, the values of which can reveal the degree of security of the whole body with this trace element. The analysis was carried out extraction of iodine from urine samples using chloroform and spectrophotometric triiodate complex, obtained by the interaction of the Iodate-ions with iodide of potassium. An analytical evaluation of the results with recommendations for the normalization of iodine levels in the region.

Keywords: iodine, spectrophotometric method, centrifugation, extraction, Orenburg

Йод – один из микроэлементов, присутствующих в организме человека, который незаменим и жизненно необходим для обеспечения нормальной жизнедеятельности. Самое важное значение йода заключается в участии его в синтезе гормонов щитовидной железы: трийодитиронина (T_3) и тетраiodитиронина (T_4). Йод единственный из известных в настоящее время микроэлементов, участвующий в биосинтезе гормонов. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы играют важную роль в метаболизме, участвуют в регуляции обмена веществ, процессов анаболизма и катаболизма, а также в работе сердца и других органов. При недостаточном поступлении йода, соответ-

ственно, понижается секреция тиреоидных гормонов, что может повлечь за собой ряд заболеваний: гипотиреоз, диффузный эндемический зоб, эндемический кретинизм и др.

Наиболее богаты данным микроэлементом морепродукты, такие как рыба и морская капуста, однако йод также содержится в яичном порошке, желтке куриного яйца, сухом молоке и молочных продуктах.

Для избегания йоддефицитных состояний необходимо придерживаться рекомендациям ВОЗ, характеризующим количество йода необходимое к ежедневному поступлению в организм [1]. Данные для разных возрастных групп указаны в таблице.

Группы людей	Потребность в йоде, мкг/сут
Дети до 1 года	50
Дети 2 – 6 лет	90
Дети школьного возраста (7–12 лет)	120
Подростки и взрослые (старше 12 лет)	150
Беременные и в период грудного вскармливания	250

Оценить обеспеченность организма йодом можно, проведя анализ мочи, так как около 90 % употребленного человеком йода выводится через урину. Критерии для оценки степени эндемии йодной недостаточности приведены в таблице [1].

Материалы и методы исследования. Для проведения анализа был использован спектрофотометрический метод определения микроконцентраций йода в моче. Данный метод запатентован Дороговой В.Б., Кучерявых Е.И., Маторовой Н.И. [43]

Выраженность йодного дефицита	Медиана концентраций йода в моче, мкг/л
Йодный дефицит отсутствует	Более 100
Легкий йодный дефицит	50–99
Умеренный йодный дефицит	20–29
Тяжелый йодный дефицит	Менее 20

Актуальность. Дефицит йода занимает первое место по распространенности среди микроэлементов. В условиях природного дефицита йода проживает около 2 млрд людей по всему миру [2]. В регионах, удаленных от морей, где почва недостаточно обогащена йодом, жители часто страдают йодной недостаточностью. Наоборот, у людей, населяющих прибрежные зоны, а также жителей островных государств большое место в рационе питания отведено богатым йодом морепродуктам, за счет которых суточная потребность в микроэлементе покрывается полностью, и такие люди гораздо реже сталкиваются с йододефицитными состояниями. В России более половины территорий являются йододефицитными. Оренбургская область не является исключением и также входит в число йододефицитных регионов [3]. Поэтому необходима регулярная оценка уровня обеспеченности йодом у жителей региона.

Объектом исследования являются: образцы мочи 15 жителей города Оренбург в возрасте от 19 до 72 лет.

Цель и задачи исследования. Цель исследования – выяснить, соответствуют ли показатели содержания йода жителей города Оренбург с нормальными значениями, установленными ВОЗ.

Для реализации поставленной цели необходимо выполнить следующие задачи:

- 1) освоить доступную и точную методику количественного определения йода в пробах мочи;
- 2) провести количественный анализ содержания йода в исследуемых образцах;
- 3) сравнить полученные результаты с параметрами нормы;
- 4) дать оценку состояния здоровья населения, опираясь на данные показателя йода в организме;

Первым этапом является подготовка пробы к фотометрированию, которая состоит из двух последовательных стадий:

– осаждение органических соединений с помощью сульфата цинка ($ZnSO_4$) и гидроксида бария ($Ba(OH)_2$) и дальнейшего центрифугирования (таким образом достигается обесцвечивание раствора, а также устраняется мешающее влияние органических веществ);

– экстрагирование молекулярного йода из супернатанта с помощью хлороформа с последующим переводом йода в йодат-ионы хлорной водой;

Затем производят окрашивание раствора реактивом для получения данных об оптической плотности раствора:

– обработка полученного раствора йодидом калия (KI);

– спектрофотометрирование раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 400 нм.

Проведение исследования

В пробирку добавляют 2 мл образца мочи, 2 мл раствора гидроксида бария ($Ba(OH)_2$) с концентрацией 0,3 % и 5 мл раствора сульфата цинка ($ZnSO_4$) с концентрацией 5 %. Содержимое пробирки встряхивают, затем центрифугируют 4 минуты при 3000 об/мин. Супернатант сливают в отдельную пробирку.

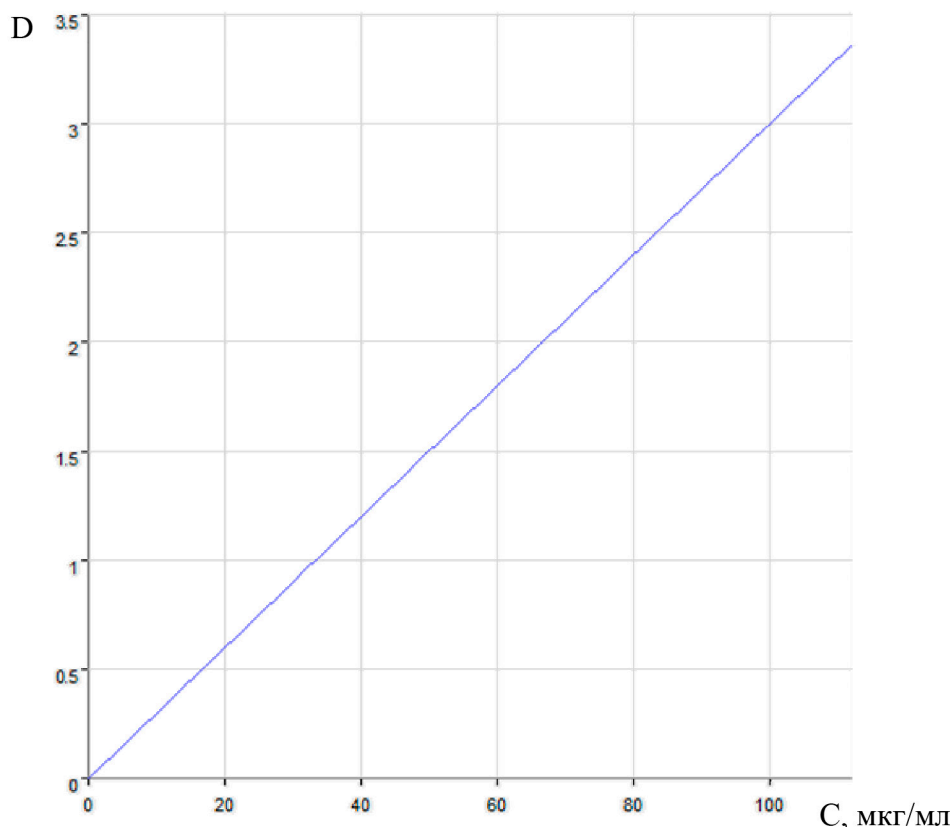
Осадок в пробирке после первого центрифугирования промывают 3 мл дистиллированной воды и центрифугируют 2 минуты при 3000 об/мин. Супернатант сливают в ту же пробирку. Затем приливают 8 мл хлороформа и встряхивают. Нижний хлороформный слой сливают в другую пробирку, куда добавляют 1 мл хлорной воды и 7 мл дистиллированной воды. После этого тщательно встряхивают.

Водную фазу переносят в термостойкие стаканчики и ставят на заранее подготовленную песчаную баню на 10 минут для удаления остатков хлора. Раствор охлаждают при комнатной температуре.

Раствор переносят в мерную колбу на 25 мл, добавляют 3 мл 1 н раствора йодида калия (KI), 4 мл 0,1 н раствора серной кислоты (H_2SO_4), доводят дистиллированной

водой до метки. Окрашенный раствор фотометрируют при длине волны 400 нм в кюветах толщиной 1 см по отношению к контрольной пробе – дистиллированной воде.

Затем строят калибровочный график, построение которого проводят аналогично пробам из стандартного раствора калия йодида с концентрацией $0,25 \text{ мкг/см}^3$, приведенным в таблице.



№ стандарта	Стандартный раствор KI с содержанием I_2 , $0,25 \text{ мкг/см}^3$	Дистиллированная вода, см^3	Серная кислота 0,1 н. р-р, см^3	Содержание I_2 , мкг	Концентрация I_2 , мкг/л	Значение оптической плотности (D)
0	0	21,0	4	0	0	0
1	0,1	20,9	4	0,025	1	0,03
2	0,2	20,8	4	0,05	2	0,06
3	0,4	20,6	4	0,10	4	0,125
4	0,6	20,4	4	0,15	6	0,175
5	0,8	20,2	4	0,20	8	0,24
6	1,0	20,0	4	0,25	10	0,30

Результаты исследования

При анализе 15 проб мочи жителей города Оренбург в возрасте от 19 до 72 лет были получены следующие значения оптической плотности.

жет наблюдаться пониженные/повышенные значения. При всех условиях можно сделать вывод об пограничном состоянии уровня йода между легким дефицитом и его отсутствием. Можно сделать вывод, что население получает достаточное количество

№ пробы	Оптическая плотность	№ пробы	Оптическая плотность	№ пробы	Оптическая плотность
1	3,089	6	3,312	11	2,994
2	2,874	7	3,004	12	3,344
3	3,009	8	3,058	13	3,117
4	2,417	9	2,980	14	2,775
5	3,065	10	3,041	15	3,095

По калибровочному графику находим значения концентраций исходных образцов:

йода, однако дополнительная профилактика дефицита добавлением в рацион богатой йо-

№ пробы	Концентрация йода, мкг/мл	№ пробы	Концентрация йода, мкг/мл	№ пробы	Концентрация йода, мкг/мл
1	102,3	6	110,4	11	99,8
2	95,8	7	100,1	12	111,4
3	100,3	8	101,9	13	103,9
4	80,6	9	99,3	14	92,5
5	102,2	10	101,4	15	103,2

Из-за неравномерного распределения уровня йода в моче обследуемых лучше оценивать медиану экскреции йода с мочой, а не среднее значение [5]. По следующему ряду значений определяем медиану:

80,6; 92,5; 95,8; 99,3; 99,8; 100,1; 100,3; 101,4; 101,9; 102,2; 102,3; 103,2; 103,9; 110,4; 111,4.

В данном ряду медианой служит число 101,4 мкг/л. По приведенным выше данным об критериях оценки уровня эндемии по степени экскреции йода с мочой можно сделать вывод об отсутствии йодного дефицита (101,4 мкг/л > 100 мкг/л). Однако у 5 человек из 15 (33,3% участников исследования) был отмечен сниженный уровень йода (< 100 мкг/л), у 2 человек значения превышают 110 мкг/л (13,33% участников), в то время как у 8 человек уровень микроэлемента колеблется в пределах 100–103 мкг/л (53,33% участников). Также необходимо учитывать ошибку, при учете которой мо-

дом пицей – морепродуктов (жирная морская рыба, морские водоросли), будет только приветствоваться.

Список литературы

1. Хинталь Т.В. Дефицит йода и йоддефицитные заболевания: актуальность проблемы профилактики и лечения в Российской Федерации // Эндокринология. – 2010. – № 1. – С. 25–28.
2. Платонова Н.М. Йодный дефицит: современное состояние проблемы // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2015. – Т. 1. – № 1. – С. 12–19.
3. Либис Т.Н. Состояние гормонального тиреоидного статуса и структура йоддефицитных заболеваний у детей в г. Оренбурге // Вестник ОГУ. 2006. № 5. С. 229–231.
4. Патент 2265847. Российская Федерация, МПК G01 N 33/52, G 01 N 33/84 Способ фотометрического определения йода в моче / Дорогова В.Б.; заявитель и патентообладатель Науч. центр мед. экологии Восточно-Сибирского науч. центра Сибирского отделения РАМН. – № 2003112518/15; заявл. 28.04.03; опубл. 10.12.05, Бюл. No 23 (II ч.). – 3 с.
5. Дедов И.И. Болезни органов эндокринной системы: Руководство для врачей / И.И. Дедов, М.И. Балаболкин, Е.И. Марова и др. – М.: Медицина, 2000. – 555 с.

УДК 612.8

СКЛОННОСТЬ К РИСКУ КАК КРИТЕРИЙ СПОРТИВНОГО ОТБОРА**Ларин Н.А., Мирошникова С.С.***ФГБОУ ВО «Волгоградская государственная академия физической культуры», Волгоград,
e-mail: nlarin18@mail.ru*

В современной спортивной психологии и психофизиологии одно из важнейших мест занимает проблема субъективного риска, сознательного рискованного поведения спортсменов. В статье ходе анализа различных подходов дается определение понятию риск, уточняются факторы, определяющие специфику спортивной деятельности и лежащие в основе рискованного поведения, а также рассматривается взаимосвязь склонности к риску и таких явлений как психическая и психофизиологическая адаптация и дезадаптация спортсмена. Обосновывается необходимость использования склонности к необоснованному риску в качестве критерия спортивного отбора. Авторами приводятся основные психофизиологические параметры и нейродинамические свойства, определяющие уровень адаптации спортсменов и выступающие в качестве критериев предрасположенности к выбору рискованной модели поведения. Приведены результаты апробации психологических и психофизиологических методик диагностики склонности к риску и импульсивности и их взаимосвязи с характеристиками нервных процессов. Исследование индивидуально-психологических особенностей испытуемых проводилось с помощью опросника А.Г. Шмелева (оценка склонности к риску) и опросника В.А. Лосенкова (оценка импульсивности), далее эти данные были соотнесены с результатами диагностики силы нервных процессов путем теппинг-теста Е.П. Ильина. В конце статьи даются рекомендации по использованию данной информации при подготовке спортсменов с учетом их индивидуальных особенностей.

Ключевые слова: спортивный риск, адаптивность, нейродинамические свойства спортсмена**RISK TOLERANCE AS A CRITERION IN SPORTS SELECTION****Larin N.A., Miroshnikova S.S.***Volgograd State Physical Education Academy, Volgograd, e-mail: nlarin18@mail.ru*

In modern sports psychology and psychophysiology one of the most important places is the problem of subjective risk, conscious risky behavior of athletes. In the article the analysis of different approaches defines the concept of risk, specifies the factors that determine the specifics of sports activities and underlying risky behavior, and considers the relationship of risk appetite and phenomena such as mental and psychophysiological adaptation and disadaptation of the athlete. The necessity of using the propensity to unreasonable risk as a criterion of sports selection is substantiated. The authors present the main psychophysiological parameters and neurodynamic properties that determine the level of adaptation of athletes and act as criteria for predisposition to the choice of risky behavior. Results of testing of psychological and psychophysiological methods of diagnostics of propensity to risk and impulsivity and their interrelation with characteristics of nervous processes are given. The study of individual psychological characteristics of the subjects was carried out with the help of the questionnaire of Shmelev (assessment of the propensity to risk) and the questionnaire of V. A. Losenkov (assessment of impulsiveness). these data were correlated with the results of the diagnosis of nerve processes by tapping test. At the end of the article provides recommendations on the use of this information in the preparation of athletes, taking into account their individual characteristics.

Keywords: sports risk, adaptability, neurodynamic properties of an athlete

Неотъемлемой частью жизни любого спортсмена является риск. Современные социальные тенденции в мире, не могут не отражаться на системе спортивной подготовки и объективно приводят к расширению рискованного пространства, что влечет за собой увеличение тех последствий, которые будут значимыми для самого спортсмена. В этой связи исследования риска как феномена, являющегося атрибутом спортивной деятельности, имеют неоспоримое теоретическое и прикладное значение.

Как отмечал в своем исследовании Б.А. Вяткин, М.С. Ткачева значимость феномена риска, объясняется рядом факторов, определяющими специфику спортивной деятельности. К ним можно отнести: установкой на достижение высоких и наивысших (рекордных) результатов; систематически-

ми интенсивными и даже максимальными физическими усилиями, необычными для повседневной жизни и деятельности; регулярными психическими напряжениями очень высокой степени, обусловленными экстремальными условиями, в которых проходят спортивные соревнования; высокой возбудимостью и достаточной устойчивостью эмоционально-волевых процессов, направленных как на вызов действий, так и на сдерживание их [1, 2].

Понятие «риск» является одним из важнейших в характеристике любой деятельности человека, в том числе и спортивной, в которой человек выступает как субъект принятия решений. В данном контексте риск понимается как действие, выполняемое в условиях выбора в ситуации неопределённости, когда существует опасность в случае

неудачи получить в качестве итога труда худший результат, чем до выбора [3, 4].

Если обратиться к категории «поведение», то его можно определить как целостную активность человека, направленную на удовлетворение биологических, физиологических, психологических и социальных потребностей [5, 6]. Согласно исследованиям многих авторов поведение человека следует рассматривать как интегральный показатель функции головного мозга и как следствие психофизиологической активности индивида [7–9].

В спортивной практике интенсивность риска и величина рискованных последствий возрастает, когда спорт воспринимается спортсменом как профессия или становится ею. При этом спортсмен может идти на риск неосознанно либо целенаправленно выбирать рискованную модель поведения. Выбирая ту или иную модель поведения, человек действует под влиянием инстинктов и разумной воли, выбирая оптимальное соотношение того и другого [10]. Именно в инстинктивном, неосознанном поведении возможно проявление «немотивированного риска». А когда включается разум, человек управляет своим поведением усилием воли [11, 12].

Адекватность действий является важным критерием адаптации в условиях риска, отсутствие которой может приводить к неблагоприятным последствиям, проявляющихся в снижении уровня психической и психофизиологической дезадаптации, что неизбежно проявляется в профессиональных ошибках и срывах, снижении работоспособности, быстрой истощаемости функциональных резервов организма, ухудшении здоровья [13]. В соответствии с этим встаёт вопрос об эффективности существующих критериев спортивного отбора, возникает необходимость учёта индивидуаль-

ных психофизиологических особенностей спортсменов, их возможностей, которые играют решающую роль в успешности их профессиональной карьеры [7].

Очевидно, что произвольная регуляция людей различна, имеются индивидуальные особенности, которые могут быть обусловлены состоянием эмоционально-мотивационной сферы индивида и психофизиологическими параметрами. К психологическим коррелятам риска относятся такие качества личности, как импульсивность, мотивационные установки на достижение успеха и низкий самоконтроль [14].

В ходе проведенного нами исследования оценивались особенности поведенческих реакций студентов в ситуациях, сопряжённых с процессом принятия решений в ситуациях неопределённости, требующих выбора рискованной модели поведения, а также импульсивность, как одного из показателей склонности к риску. Также в работе был изучен вопрос о возможных связях В работе изучен вопрос о возможных связях индивидуальных особенностей склонности к риску и импульсивности у лиц с разными типами силы нервных процессов.

Исследование индивидуально-психологических особенностей испытуемых проводилось с помощью следующих тестов: опросника А.Г. Шмелева (оценка склонности к риску) и опросника В.А. Лосенкова (оценка импульсивности). Результаты исследования позволяют выявить уровень сформированности стремления к риску.

В исследовании принимали участие 33 студента спортивного вуза, специализации легкая атлетика, спортивные игры, плавание и гребной спорт (возраст от 18 до 22 лет). По спортивному мастерству в выборке было 5 МС, 6 КМС, 10 человек имели I разряд, 2 человека II разряд.

Данные по диагностике «Склонность к риску» А.Г. Шмелева

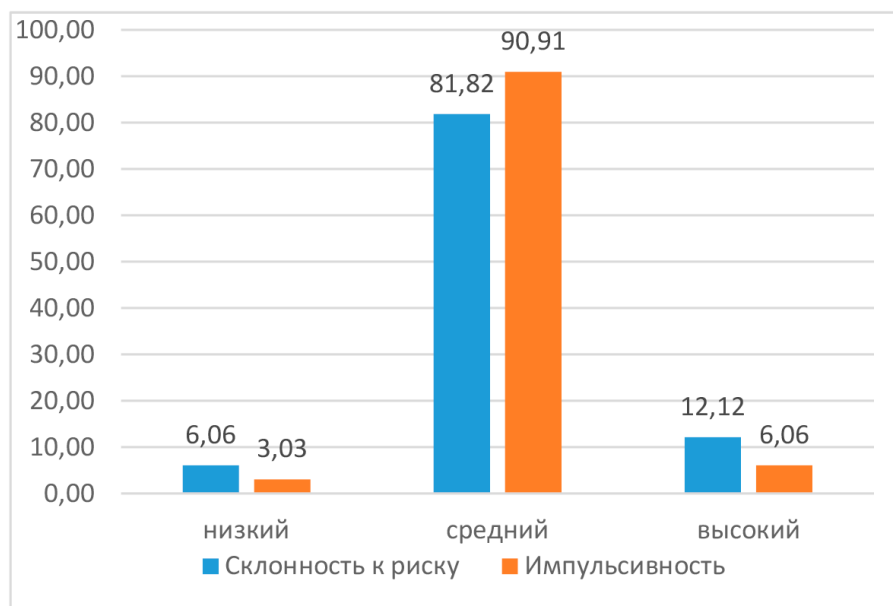
Уровень склонности к риску	Количество человек	Процент
низкий	2	6,06
средний	27	81,82
высокий	4	12,12

Данные по диагностике «Импульсивность» В.А. Лосенкова

Уровень импульсивности	Количество человек	Процент
низкий	1	3,03
средний	30	90,91
высокий	2	6,06

Таким образом мы видим, что высокие показатели импульсивности продемонстрировали лишь 2 человека, для них же склонность к риску была выше среднего уровня. Остальные обследуемые, у которых были высокие показатели склонности к риску имели показатели импульсивности на уровне средних значений, что может говорить о выборе им «обоснованного» риска в случае неопределенных ситуаций.

При соотнесении данных теппинг-теста с результатами диагностики склонности к риску выявлено, что из трех человек со слабым типом нервных процессов два человека имеют низкую склонность к риску и одну среднюю. Из четырех человек, имеющих высокую склонность к риску, один характеризуется сильным типом нервных процессов и три продемонстрировали сильно-средний тип нервных процессов.



Полученные данные были соотнесены с данными по диагностике силы нервных процессов путем теппинг-теста Е.П. Ильина. Сила нервных процессов является показателем работоспособности нервных клеток и нервной системы в целом. Сильная нервная система выдерживает большую по величине и длительности нагрузку, чем слабая. Использование теппинг-теста для определения силы нервной системы основано на определении динамики максимального темпа движения рук.

Полученные результаты свидетельствуют о корреляции таких характеристик личности как уровень импульсивности и склонности к рискованному поведению, выявленные же закономерности проявлений склонности к риску и характеристик нервной системы требуют дальнейшего многостороннего изучения. В целом полученные данные могут быть использованы при подготовке спортсменов с учетом их индивидуальных особенностей.

Тип нервной системы	Количество человек	Процент
Сильный тип нервной системы	2	6,06
Сильно-средний тип нервной системы	14	42,42
Средний тип нервной системы	9	27,27
Средне-слабый тип нервной системы	5	15,15
Слабый тип нервной системы	3	9,09

Список литературы

1. Вяткин Б.А. Роль темперамента в спортивной деятельности. – М.: ФиС, 1978. – 136 с.
2. Ткачева М.С. Психологические особенности рисков в спортивной деятельности // Ученые записки Педагогического института СГУ им. Н.Г. Чернышевского. Серия: Психология. Педагогика. – 2011. – № 2. – С. 55–61.
3. Ильин Е.П. Психология риска. – СПб.: Питер, 2012. – С. 17–37.
4. Lee J., Jeong J. Correlation of risk-taking propensity with cross-frequency phase-amplitude coupling in the resting EEG. *Clinical Neurophysiology*. – 2013. – V. 124. – № 11. – P. 2772–2180.
5. Смоляков Ю.Н. Интегральная оценка когнитивной функции по результатам спектрального анализа ЭЭГ // Системный анализ в медицине (САМ 2014): Материалы VIII международной научной конференции. Благовещенск: Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН. – 2014. – С. 102–105.
6. Rogasch N.C., Fitzgerald P.B. Assessing cortical network properties using NMS-EEG. *Human brain mapping*. – 2013. – T. 34. – № 7. – С. 1652–1669.
7. Миронова Ю.В. Физиологическое обеспечение эмоционального интеллекта у лиц, склонных к рискованному поведению: дис. ... канд. мед. наук. Волгоград, 2017. – 143 с.
8. Плотникова А.В., Кудрин Р.А., Ахундова Р.Е. Типологические особенности интеллекта и биоэлектрической активности головного мозга у лиц с разным хронотипом // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1 (53). – С. 58–61.
9. Хало П.В., Бородянский Ю.М. ЭЭГ-корреляты активации резервных возможностей организма // Известия ЮФУ. Технические науки. – 2014. – № 10 (159). – С. 24–33.
10. Шарок В.В. Особенности самоотношения и ценностно-смысловой сферы лиц, употребляющие наркотики // Сибирский психологический журнал. – 2015. – № 56. – С. 56–68.
11. Мирошникова С.С. Стимулирование осознанности выбора жизненной позиции подростка в процессе дидактической игры: дис. ... канд. пед. наук. Волгоград, 2005. – 150 с.
12. Шаболтас А.В. Риск и рискованное поведение как предмет психологических исследований // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 12: Психология. Социология. Педагогика. – 2014. – № 3. – С. 5–16.
13. Ширинская Н.Е., Гайнанова А.Р., Пухов И.А. Эмоциональный интеллект как сдерживающий фактор развития синдрома эмоционального выгорания // Личность, семья и общество: вопросы педагогики и психологии. – 2013. – № 35–2. – С. 92–98.
14. Москвин В.А., Шумова Н.С., Ковалевский А.Г. Индивидуальные особенности склонности к риску и импульсивности (на примере студентов спортивного вуза) // Теория и практика физической культуры. – 2012. – № 5. – С. 6–11.

УДК 573.22:57.08

ПРИМЕНЕНИЕ ОБЩЕЛАБОРАТОРНОГО ОБОРУДОВАНИЯ В ОБЩЕБИОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Лебедева Н.А., Бондарева А.А., Костина А.С., Панова А.С.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Волгоград, e-mail: post@volgmed.ru

В настоящее время все общебиологические научные исследования подкрепляются результатами лабораторных анализов. Именно работа в лаборатории позволяет изучить молекулярную структуру и биохимические процессы исследуемого объекта. Клиническая Лабораторная диагностика (лабораторная диагностика) представляет собой медицинскую диагностическую специальность, состоящую из совокупности исследований in vitro биоматериала организма, основанных на использовании гематологических, общеклинических, паразитарных, биохимических, иммунологических, серологических, молекулярно-биологических, бактериологических, генетических, цитологических, токсикологических, вирусологических методов, сопоставления результатов этих методов с клиническими данными и формулирования лабораторного заключения. Прогресс в области фундаментальных исследований и внедрение их результатов в практику предопределяет углубление содержания и расширение границ клинической лабораторной диагностики в будущем. Поэтому от полученных данных, зависит доказательность и обоснованность выдвинутой гипотезы. Современные исследования несут большое научное значение, потому что в наше время работа лабораторий достигла достаточного уровня, чтобы делать выводы о ранее недоступных в понимании структурах. Именно поэтому подбор правильного метода исследования и оборудования, а также понимание работы каждого прибора и его корректное применение являются актуальными на данный момент задачами.

Ключевые слова: лаборатория, научные исследования, общебиологическое исследование, оборудование, общелабораторное оборудование

APPLICATION OF PUBLICATING EQUIPMENT IN GENERAL BIOLOGICAL RESEARCH

Lebedeva N.A., Bondareva A.A., Kostina A.S., Panova A.S.

Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd,
e-mail: post@volgmed.ru

At present, all general biological research is supported by laboratory test results. It is the work in the laboratory that makes it possible to study the molecular structure and biochemical processes of the object under study. Clinical Laboratory Diagnostics (Laboratory Diagnostics) is a medical diagnostic specialty consisting of a set of in vitro studies of an organism's biomaterial based on the use of hematological, clinical, parasitic, biochemical, immunological, serological, molecular biological, bacteriological, genetic, cytological, toxicological, virological methods, comparing the results of these methods with clinical data and formulating laboratories Foot conclusion. Progress in the field of basic research and the introduction of their results into practice predetermines the deepening of the content and expansion of the boundaries of clinical laboratory diagnostics in the future. Therefore, the evidence and the validity of the hypothesis depends on the data obtained. Modern research has great scientific value, because in our time the work of laboratories has reached a sufficient level to draw conclusions about structures that were previously inaccessible in understanding. That is why the selection of the correct research method and equipment, as well as an understanding of the operation of each device and its correct application, are currently relevant tasks.

Keywords: laboratory, scientific research, general biological research, equipment, general laboratory equipment

Биологическое исследование – это деятельность, направленная на всестороннее изучение биологического объекта, процесса или явления, их структуры и связей, а также получение и внедрение в практику полезных для человека результатов [1].

Биология как наука имеет свои собственные методы познания. Метод – это способ, с помощью которого ученый получает те или иные знания. Каждая биологическая наука имеет собственные методы познания, которые могут быть универсальными или специфическими для каждой из них. Также эти методы могут быть специфично-биологическими или таковыми, которые имеют корни в других, смежных науках: химии, физики, географии и др.

Методы биологических исследований включают в себя:

Эмпирические методы заключаются в том, что объект опыта подвергается изменению условий его существования, а потом, учитываются полученные результаты. Эксперименты бывают двух видов в зависимости от их места проведения: лабораторные эксперименты и полевые эксперименты. Для проведения полевых экспериментов используются естественные условия, а для проведения лабораторных экспериментов, используется специальное лабораторное оборудование.

Описательные методы основываются на наблюдение, с последующим анализом и описанием феномена. Этот метод позво-

ляет выделить особенности биологических явлений и систем. Это один из самых древних методов.

Сравнительные методы подразумевают сравнение полученных фактов и явлений с другими фактами и явлениями. Сведения получают путем наблюдения. В последнее время стало популярно применять мониторинг. Мониторинг это постоянное наблюдение, которое позволяет собрать данные, на основе которых будет проводиться анализ, а потом прогнозирование.

Статистические методы также известны под названием математические методы, и используются для того, чтобы обработать данные числового характера, которые были получены в ходе эксперимента. Кроме этого, данный метод применяется для того, чтобы убедиться в достоверности определенных данных.

Моделирование это метод, который в последнее время принимает большие обороты и подразумевает работу с объектами путем представления их в моделях. То, что нельзя анализировать и изучать впоследствии эксперимента, то можно узнать путем моделирования. Частично используется не только обычное моделирование, а также математическое моделирование.

Исторические методы основываются на изучение предыдущих фактов, и позволяют определить существующие закономерности. Но так как не всегда один метод оказывается достаточно эффективным, принято эти методы совмещать для получения лучших результатов [2].

Виды лабораторий, их назначение

Существует множество различных лабораторий во многих отраслях человеческой деятельности. Они могут быть аналитические, диагностические и медицинские, производственные и технические, и многие другие с более узкой специализацией. Но в любой из таких лабораторий обязательно должны быть специальные средства, при помощи которых будут осуществляться исследования и проводиться опыты. Рассмотрим некоторые из них:

1. Бактериологическая лаборатория выполняет бактериологические, серологические, иммунологические и другие исследования.

2. В задачи вирусологической лаборатории входит диагностика вирусных болезней или производство вирусных препаратов (вакцин, диагностикумов, противовирусных иммунных сывороток и т.д.).

3. Паразитологическая лаборатория – подразделение санитарно-эпидемиологической станции, основные функции которого заключаются в проведении диагностиче-

ских исследований с целью выявления инвазий, а также санитарно-гельминтологических исследований окружающей среды.

4. Цитологическая лаборатория проводит цитологические исследования материала, полученного при биопсии. Она может входить в состав клинично-диагностической лаборатории или в виде централизованной цитологической лаборатории – в состав онкологического диспансера, крупной многопрофильной больницы.

5. Судебно-медицинская лаборатория предназначена в основном для получения объективных данных при исследовании трупов, биологических вещественных доказательств и при освидетельствовании живых лиц, для установления при-жизненности и давности повреждений, времени наступления смерти и т.д. В ней производится комплекс лабораторных исследований (морфологические, биохимические, иммунологические, серологические), спектральный анализ, рентгенологическое исследование.

6. Патологоанатомическая лаборатория – подразделение патологоанатомического отделения лечебно-профилактического учреждения, в котором производят макро- и микроскопические исследования секционного и биопсийного материала. Основные задачи медицинских лабораторий – установление причин и механизмов смерти больного, проведение диагностических пункционных и аспирационных биопсий органов и тканей.

7. Санитарно-гигиеническая лаборатория – подразделение СЭС, проводящее инструментальные и аппаратные исследования, необходимые для осуществления предупредительного и текущего санитарного надзора. В лаборатории производят инструментальные (аппаратные) исследования окружающей среды производственных, коммунальных и других объектов, расположенных на обслуживаемой СЭС территории. Исследования осуществляются по плану подразделений гигиенического отдела СЭС (гигиены труда, коммунальной гигиены, гигиены питания, гигиены детей и подростков и др.).

8. Радиоизотопная лаборатория (лаборатория радиоизотопной диагностики) – структурное подразделение лечебно-профилактического учреждения (при наличии в учреждении радиологического отделения создается в его составе). Медицинские лаборатории оснащаются диагностическим, защитным и контрольно-дозиметрическим оборудованием для проведения комплекса исследований, необходимых данному учреждению. Разрешение на работу (санитарный паспорт на работу с источниками ионизирующего излучения) дает СЭС [3].

Три базиса в оснащении общебиологической лаборатории

Работа по оснащению лаборатории должна полномасштабно проводиться сразу в трех взаимодополняющих направлениях, по трем самым важным векторам.

Таковыми базисами, держащими на себе работу всей лаборатории, являются: аппаратное оснащение, посуда и расходные материалы.

Согласно приказу министерства здравоохранения РФ № 380 от 25 декабря 1997г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации» для интенсификации процесса диагностики в лабораторной практике должны максимально использоваться готовые наборы реактивов и биоматериалов, автоматизированные приспособления для анализа и современные компьютерные системы управления, например, обработка результатов проводящихся исследований. В данном приказе, в специальном приложении, приводится примерный перечень приборов, оборудования, медицинского инструментария, которые необходимы для организации работы в клинично-диагностической лаборатории стандартного лечебно-профилактического учреждения. Это и аппарат для окраски цитологических образцов, и микроскопы, и вакуумные сушилки, и водяные бани, и встряхиватели, и гематологические анализаторы, и электрокоагулографы, и селективные биохимические автоанализаторы. Обязательно также наличие в лаборатории вытяжного шкафа [4].

Для проведения комплексного исследования лабораторию оснащают современным оборудованием и приборами. С их помощью осуществляют забор и готовят пробы, смешивают реагенты, хранят, фильтруют, измеряют, контролируют безопасность и проводят другие манипуляции.

Оборудование должно быть зарегистрировано в установленном законом порядке и отвечать нормативным стандартам.

Лабораторное оборудование

Лабораторное оборудование – это совокупность разнообразных инструментов, приборов и специальной мебели, которые используются сотрудниками, работающими в лабораториях. Лабораторное оборудование можно разделить на общелабораторное, измерительное, специализированное, испытательное и аналитическое [5].

Лаборатории снабжены рядом обязательных приборов и аппаратов.

1. Приборы для микроскопии: биологический иммерсионный микроскоп с дополнительными приспособлениями (осветитель, фазово-контрастное устройство, темнопольный конденсор и др.), люминесцентный микроскоп.

2. Термостаты и холодильники.

3. Приборы для приготовления питательных сред, растворов и т.д.: аппарат для получения дистиллированной воды (дистиллятор), технические и аналитические весы, pH-метры, аппаратура для фильтрации, водяные бани, центрифуги.

4. Набор инструментов для манипуляций с микробами: бактериологические петли, шпатели, иглы, пинцеты и др.

5. Лабораторная посуда: пробирки, колбы, чашки Петри, матрацы, флаконы, ампулы, пастеровские и градуированные пипетки и др., аппарат для изготовления ватно-марлевых пробок.

В лаборатории выделено место для окраски микроскопических препаратов, где находятся растворы специальных красителей, спирт, кислоты, фильтровальная бумага и др. Каждое рабочее место снабжено газовой горелкой или спиртовкой и емкостью с дезинфицирующим раствором. Для повседневной работы лаборатория должна располагать необходимыми питательными средами, химическими реактивами, диагностическими препаратами и другими материалами [5].

В крупных лабораториях имеются термостатные комнаты для массового выращивания микроорганизмов, постановки серологических реакций. Для выращивания, хранения культур, стерилизации лабораторной посуды и других целей используют следующую аппаратуру.

1. Термостат. Аппарат, в котором поддерживается постоянная температура. Оптимальная температура для размножения большинства патогенных микроорганизмов 37 °С. Термостаты бывают воздушными и водяными.

2. Микроанаэроустат. Аппарат для выращивания микроорганизмов в анаэробных условиях.

3. CO₂-инкубатор. Аппарат для создания постоянной температуры и атмосферы определенного газового состава. Предназначен для культивирования микроорганизмов, требовательных к газовому составу атмосферы.

4. Холодильники. Используют в микробиологических лабораториях для хранения культур микроорганизмов, питательных сред, крови, вакцин, сывороток и прочих биологически активных препаратов при температуре около 4°С. Для хранения

препаратов при температуре ниже 0°C применяют низкотемпературные холодильники, в которых поддерживается температура –20°C или –75°C.

5. Центрифуги. Применяют для осаждения микроорганизмов, эритроцитов и других клеток, для разделения неоднородных жидкостей (эмульсии, суспензии). В лабораториях используют центрифуги с различными режимами работы.

6. Сушильно-стерилизационный шкаф (печь Пастера). Предназначен для сушовой стерилизации стеклянной лабораторной посуды и других жаростойких материалов.

7. Стерилизатор паровой (автоклав). Предназначен для стерилизации перегретым водяным паром (под давлением). В микробиологических лабораториях используют автоклавы разных моделей (вертикальные, горизонтальные, стационарные, переносные).

Заключение

Современная медицина невозможна без лабораторной диагностики. Качественная диагностика помогает врачу в постановке верного диагноза и назначения эффективного лечения. Современная лабораторная диагностика позволяет решать вопросы врачей разных специальностей и направлений медицины. При этом своевременное и качественное выполнение медицинских

анализов позволяет не только максимально точно поставить диагноз, но и отслеживать эффективность проводимого лечения. В то же время лабораторная диагностика является одной из наиболее быстро развивающихся отраслей медицинской науки – создание и внедрение нового оборудования, разработка новых методик выполнения исследований, спектр возможных тестов – все это прогрессирует с каждым днем [5].

Аналитический прогресс научной дисциплины, направленной на изучение состава и свойств биологических материалов из организма человека – *in vitro* диагностики, – обеспечил ей, по существу, прорыв на передовые позиции в лечебно-диагностическом процессе, что изменило меру ответственности этой сферы клинической медицины.

Список литературы

1. Долгова В.В. Клиническая лабораторная диагностика: руководство / В.В. Долгова. Т. 1, 2012. – 928 с.
2. Медицинские лабораторные технологии: Справочник / под ред. проф. А.И. Карпищенко. Т. 1. – СПб.: Интермедика, 2012. – 472 с.
3. Скворцова, Р.Г. Современные подходы к организации клиничко-диагностической лаборатории / Р.Г. Скворцова; Сибирский медицинский журнал – 2013. – 18 с.
4. Централизация клинических лабораторных исследований: Методические рекомендации / А.А. Кишкун; М.А. Годков; Сибирский медицинский журнал, 2013. – 25 с.
5. Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 976 с.: ил.

УДК 577:616:001

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Магомедов Д.М., Кан А.Е., Павлов В.М., Ососков В.С.

*ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Волгоград, e-mail: dzabrailmagomedov354@gmail.com*

В настоящее время в клинической лабораторной диагностике широко используются современные биохимические и иммунохимические методы. С целью совершенствования и ускорения проведения исследований применяются полуавто- и автоанализаторы, а так же большое количество лабораторно-диагностических наборов и тест-систем. Биохимический анализатор – это прибор для биохимических исследований различных веществ: электролитов, ферментов, гормонов и прочее. Он способен определить концентрацию и наличие этих веществ практически в любых видах биологического материала. Биохимический анализатор обеспечивает выполнение различных тестов и анализов: от срочных до традиционных клинико-биохимических. Данные аппараты делят на автоматические и полуавтоматические. Автоматические выполняют большой спектр операций: отбор материалов и реагентов, их смешивание и нагрев, анализ, обработка и печать полученной информации, автоматическое промывание прибора. Исследования с использованием биохимических анализаторов являются более быстрыми и точными по сравнению с ручными методами. К ценным достоинствам современных анализаторов относится высокий уровень стандартизации процесса, постоянство количества и химического состава расходных материалов. Применение идентичных реагентов и реактивов способствует сопоставимости результатов, полученных в разное время в разных лабораториях. В данной статье раскрывается актуальность использования современных биохимических анализаторов и основные принципы их работы.

Ключевые слова: биохимические анализаторы, клиническая диагностика, автоматический биохимический анализатор, спектрофотометры

MODERN APPROACHES IN CLINICAL AND BIOCHEMICAL RESEARCH

Magamedov D.M., Kan A.E., Pavlov V.M., Ososkov V.S.

*Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd,
e-mail: post@volgmed.ru*

At present, modern biochemical and immunochemical methods are widely used in clinical laboratory diagnostics. In order to improve and accelerate research, semi-auto and auto-analyzers are used, as well as a large number of laboratory diagnostic kits and test systems. A biochemical analyzer is a device for biochemical studies of various substances: electrolytes, enzymes, hormones, and so on. He is able to determine the concentration and presence of these substances in virtually any kind of biological material. The biochemical analyzer provides performance of various tests and analyzes: from urgent to traditional clinical and biochemical. These devices are divided into automatic and semi-automatic. Automatic perform a wide range of operations: the selection of materials and reagents, their mixing and heating, analysis, processing and printing of the received information, automatic washing of the device. Studies using biochemical analyzers are faster and more accurate than manual methods. The valuable advantages of modern analyzers include a high level of process standardization, consistency in the quantity and chemical composition of consumables. The use of identical reagents and reagents contributes to the comparability of the results obtained at different times in different laboratories. This article reveals the relevance of the use of modern biochemical analyzers and the basic principles of their work.

Keywords: biochemical analyzers, clinical diagnostics, automatic biochemical analyzer, spectrophotometers

Биохимические анализаторы являются важным и необходимым шагом в развитии современных клинико-биохимических исследований. Диагностические исследования, проводимые с непосредственным участием лаборанта, могут значительно отклоняться от действительности из-за неизбежных ошибок при работе с большим числом образцов. Исследования с использованием анализаторов отличаются от стандартных ручных методов высокой надёжностью, большей точностью, экономичностью и эффективностью, что обеспечивает возможность быстрой постановки правильного диагноза [1].

Первым толчком к развитию биохимических анализаторов послужило создание фо-

тометров и спектрофотометров с контролируемой температурой кюветы. Это позволило осуществить на практике принцип кинетического исследования субстратов и ферментов. В дальнейшем в устройства была заложена электронная функция автоматического перевода регистрируемых значений в показатели концентрации или активности. Исключение из процесса оператора позволило проводить исследования в режимах:

- фиксированного времени (измерение результата через определенный интервал времени после начала реакции);
- кинетики (ряд измерений с определенным интервалом времени и расчетом активности фермента по средней величине изменения абсорбции за этот интервал времени);

- дифференциальном (расчет концентрации по разности абсорбции опытного и контрольного образцов);

- бихроматическом (расчет концентрации по разности абсорбции, измеренной на двух длинах волн).

Важную роль играет качество исполнения самого анализатора, неразрывно связанное как со стоимостью прибора, так и его обслуживания. Анализаторы «закрытого» типа имеют наиболее высокую точность измерения, но только при использовании в них предписанных производителем реагентов. Анализаторы «открытой» системы предоставляют возможность использования реагентов любых производителей, но при этом, ни изготовитель анализатора, ни изготовитель реагентов не дает гарантий получения корректных результатов для каждого конкретного варианта совмещения анализатора и реагентов.

Биохимический анализатор может обеспечивать выполнение различных тестов и анализов: от срочных до традиционных клинико-биохимических. Данные аппараты делят на автоматические, полуавтоматические и спектрофотометры. Автоматические выполняют большой спектр операций: отбор материалов и реагентов, их смешивание и нагрев, анализ, обработку и печать полученной информации, автоматическое промывание прибора. На полуавтоматических анализаторах процесс подготовки анализируемых веществ оператор производит вручную, что крайне неудобно для крупных лабораторий. Для более быстрой и удобной работы системы биохимические анализаторы могут быть оснащены: автоматическими манипуляторами, центрифугами для пробирок, специальным программным обеспечением для обработки результатов пациентов.

Полуавтоматические биохимические анализаторы осуществляют автоматическую калибровку, выдают запрос о необходимости добавления последующей пробы. Вычисление результатов исследования происходит по выбранному оператором алгоритму и отображается на дисплее прибора. В некоторых модификациях приборов предусмотрены дополнительные опции, позволяющие производить сравнения результатов и определить их соответствие по бланку, изменению оптической плотности или значению. Возможно несколько вариантов предоставления информации: в электронном виде (вывод результатов на экране монитора либо сохранение на записывающем устройстве), печать на бумаге. При использовании полуавтоматического анализатора лаборанту необходимо самостоятельно приготовить пробу и подготовить реагент. Полуавтомати-

ческий биохимический анализатор используется в «малых» лабораториях с производительностью до 200 тестов/час.

Автоматические биохимические анализаторы требуют крайне малого участия оператора. Оператор подбирает профиль работы прибора по аналогии с порядком установления параметров и количеством анализируемых проб. Контроль оператора нужен только на фазе программирования тестов и при определении «профиля» (регламента последовательности определения тех или иных параметров) и числа анализируемых проб. Все остальные действия по подготовке пробы осуществляются в автоматическом режиме. Основными качествами всех автоматических биохимических анализаторов являются: большая пропускная способность, малый (в сравнении с мануальными методиками и определением на полуавтоматических анализаторах) расход реагента, автоматическая подача и смешивание реагентов (в наиболее современных системах блок для хранения реагентов охлаждается). Большое количество автоматических систем оборудованы программным обеспечением, позволяющим оценивать точность результатов, кроме того, при получении неточного результата они позволяют повторить анализ с другим разведением пробы. Практически во всех приборах этого класса управление осуществляется при помощи внешнего компьютера или аналогичного современным компьютерным системам встроенного процессора [1, 2].

По работе с реагентами полностью автоматизированные анализаторы принято делить на так называемые «открытые» и «закрытые» системы.

Закрытый тип анализаторов предполагает применение ограниченного числа реагентов, предусмотренных разработчиком. В систему изначально добавлены контрольные и калибровочные данные, а информация о применяемых реагентах в данном конкретном исследовании заносится в прибор посредством считывания штрих-кода с их упаковки. Ограниченность выбора реагентов является минусом данного анализатора. Как правило, заявленные производителем реагенты достаточно дорогостоящие, заменить их более дешевыми аналогами нельзя, так как это может привести к некорректной работе самого анализатора. К плюсам анализатора данного типа можно отнести стабильность результатов калибрования.

Открытый тип анализаторов предполагает возможность применения реагентов практически любого производителя благодаря встроенному набору светофильтров для выполнения наиболее распространен-

ных методик анализа. В целом работа систем открытого и закрытого типа одинакова. Стоит отметить, что не все системы открытого типа полностью похожи. Каждый производитель разрабатывает свои уникальные механизмы – блоки реагентов, блоки анализируемых образцов и т. д.

В основу работы лабораторного анализатора положен спектрофотометрический метод – изучение биологических жидкостей с помощью химических реакций и спектральных измерений. Точность, объективность анализов в сочетании с высокой производительностью – основные достоинства этого метода.

Автоматические биохимические анализаторы проводят весь процесс работы без вмешательства лаборанта: дозировку проб и реагентов; фотометрию, выведение данных на монитор компьютера и их перенесение на бумагу; промыв системы тоже происходит автоматически [2].

Из этого следует, что автоматические биохимические анализаторы выгодно отличаются от остальных типов: своей производительностью до 800 тестов/час; скоростью замера и обработки результатов: время одного замера составляет от 3 до 30 сек; минимальным расходом реагентов; точностью результатов.

Плюсы использования автоматического биохимического анализатора:

1. Требуют минимального участия оператора. Оператор выбирает профиль работы прибора в соответствии с порядком определения параметров и количеством анализируемых проб. Все остальные действия по подготовке пробы осуществляются в автоматическом режиме.

2. Высокая производительность, быстрота в обработке проб и результатов анализов.

3. Экономическая выгодность и быстрая окупаемость за счет минимального потребления реагентов, исследуемых материалов, электроэнергии за счёт автоматического смешивания, подачи реагентов и промывки системы.

4. Управление автоматическим биохимическим анализатором осуществляется посредством самого современного компьютерного оборудования, которое в зависимости от модели может являться неотъемлемой частью прибора, либо анализатор имеет возможность подключения к внешнему мощному компьютеру. Программное обеспечение адаптировано под работу с операционными системами Windows и DOS [3].

Методы спектрофотометрии основаны на том, что своими, характерными только для него, спектральными свойствами, об-

ладает каждое вещество. Спектрофотометр – прибор, предназначенный для измерения отношений двух потоков оптического излучения, один из которых – поток, падающий на исследуемый образец, другой – поток, испытавший то или иное взаимодействие с образцом. Позволяет производить измерения для различных длин волн оптического излучения, соответственно в результате измерений получается спектр отношений потоков. Обычно используется для измерения спектров пропускания или спектров отражения излучения. Спектрофотометры, предусмотрены на регистрацию величины оптической плотности и производящие элементарные математические операции с полученными величинами, которые, в свою очередь, подразделяются на одно- и многоканальные системы. Между собой они отличаются по наличию (или отсутствию) ряда вспомогательных возможностей, таких как термостатирование пробы, автоматический вычет бланка, вывод результатов на дисплей или на печатную ленту и так далее. Приготовление реагентов, смешивание и внесение образцов, порядок очередности тестов для всех этих анализаторов проводится врачом-лаборантом вручную, поэтому используемые в этом случае методики называют «ручными» или «мануальными». С помощью спектрофотометра определяют состав и наличие примесей в различных жидкостях, таких как медицинские растворы, вода, продукты нефтяной и химической промышленности, продукция лакокрасочного производства [1, 4].

Все методы биохимического анализа имеют чёткие правила, выполнение которых позволяет определить правильный диагноз и увеличить производительность, что немаловажно. К ним относится правило минимального объема проб, которое позволяет повысить экономичность биохимического анализатора в целом. Кроме того, существует такой нюанс работы рассматриваемых приборов, как минимальный шаг дозирования, который также способен оказывать серьезное влияние на расход реагентов, а значит и экономическую эффективность анализатора. Более точная (с меньшим шагом) дозировка реагентов и образцов позволяет выдержать заданный регламент анализа, используя меньшее количество препаратов. В автоматизированных анализаторах присутствует проточная кювета, исключившая ошибки, связанные с постановкой кюветы в измерительный модуль и ее термостатированием, и позволяющей экономнее расходовать реактивы, поскольку при толщине поглощающего слоя 1 см объем кюветы составляет не более 100 мкл.

С учетом объемов подводящих трубок и необходимости несколько раз менять реакционную смесь в кювете до начала измерения объем раствора, требуемый для проведения измерений, составляет 0,5–1,0 мл [4].

Принцип действия биохимического анализатора – с двух сторон отверстия находятся два независимых друг от друга электрода, когда клетка проходит через апертуру, появляется электрический импульс, регистрируемый специальным датчиком. Для установления степени концентрации тестируемых клеток через апертуру прогоняют через канал нужный объем пробы и производят подсчет образованных при этом импульсов. В некоторых случаях при подсчете импульсов осуществляется сбой и устройство выдает ошибочный результат. Это происходит, например, когда в одно и то же время в апертуре находится сразу две клетки. В этом случае анализатор фиксирует их как один электрический импульс. Чтобы не совершить подобной ошибки, делают разведение тестируемой пробы при помощи изотонического раствора определенной концентрации. Это позволяет достигнуть присутствия в канале устройства в нужный момент только одной клетки. Тем не менее, при недостаточном перемешивании дозы крови перед тестированием ошибка не исключается даже при верном разведении пробы. Данные анализа, выдаются в виде цифровых значений и дополнительного графического изображения.

Практически все современные анализаторы могут проводить исследования по конечной точке, а также регистрировать динамику фермент-субстратного взаимодействия, точно определять другие параметры, используя изначально заложенные или составленные в ходе исследования калибровочные кривые [5].

Помимо этого, некоторые модели анализирующих устройств открытого типа также оборудованы сканером штрих-кода, что позволяет таким же образом считывать информацию об используемых реагентах.

Таким образом, биохимический анализатор остается наиболее востребованной и неотъемлемой частью не только современной клиники, но экспериментальной биологической лаборатории.

Вывод: биохимические анализаторы абсолютно необходимы при проведении клинической диагностики, поскольку эффективность их работы в разы превышает эффективность диагностики, проводимой вручную. Стоит отметить такие моменты, как качество самих анализаторов, которое может значительно варьировать, связанную с качеством оборудования стоимость и необходимость правильного обслуживания аппаратуры. Эти критерии выступают как ограничители, препятствующие распространению как высококачественных анализаторов, так и аппаратуры такого рода в принципе. Опыт применения типовых анализаторов для лабораторий показал, что их введение имеет положительное значение, но зачастую эффективность оказывается ниже необходимого. Следовательно, выбор анализатора должен производиться с учётом специфики самого медицинского или исследовательского учреждения, а также условий, влияющих на его работу.

Список литературы

1. Скворцова Р.Г. Современные подходы к организации клиничко-диагностической лаборатории // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – № 6. – С. 170–174.
2. Судakov И.А., Сахабиева Э.В. Биохимический анализатор как инструмент современной медицинской диагностики // Аллея науки. – 2018. – № 6(22). – С. 396–399.
3. Майорова К.В., Газизов Р.А. Принцип выбора биохимического анализатора для клинической лаборатории // Динамика взаимоотношений различных областей науки в современных условиях. – Уфа: Общество с ограниченной ответственностью «ОМЕГА САЙНС», 2017. – С. 44–47.
4. Sadiqov R.V. The value of immunological and biochemical analyses in carrying out medical and biology researches // Anzabjandan Medical Journal. – 2012. – № 2. – С. 155–158.
5. Spasov A.A., Bugaeva L.I., Bukatin M.V., Kuzubova E.A., Rebrova D.N. The influence of a new antioxidative preparation on the reproductive function of male-rats // European Journal of Natural History. – 2007. – № 1. – С. 115–116.

УДК 599.515:612.428

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОАРХИТЕКТониКИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ БРЫЖЕЙКИ СЕРОГО КИТА (*ESCHRICHTIUS ROBUSTUS*)

¹Романова А.В., ²Букина Л.А., ¹Созонов В.М., ¹Сунцова Н.А.

¹ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров,
e-mail: romanova-anastasia2@yandex.ru;

²ФГБОУ ВО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия», Киров

Несмотря на достаточную распространённость серого кита, научная литература не содержит исчерпывающей информации по особенностям строения его иммунной системы, когда как достаточно значимые проявления действия факторов окружающей среды фиксируются именно в структурах лимфатической системы. Благодаря развитию иммуногистохимических методов исследований, позволяющих на ультраструктурном уровне оценить строение и функции органов и тканей, стало возможным провести цитологическое исследование лимфатических узлов брыжейки серого кита, что и является целью работы. Материалами для исследования послужили лимфатические узлы брыжейки серого кита, которые по общепринятой методике были зафиксированы, на их основе выполнены срезы микротомом, проведено окрашивание. С помощью окулярной сеткой по методу случайного шага, а также методов вариационной статистики изучены срезы брыжеечных лимфатических узлов с описанием морфометрических особенностей их структур. Произведен подсчет основных видов клеток, составляющих различные области лимфатического узла, такие как в герминативный центр и корковое вещество, приведено обоснование их распространения. На основании проведенного исследования клеточный состав лимфатических узлов брыжейки представлен лимфоцитами, иммунобластами, плазмобластами, зрелыми плазмочитами, макрофагами, ретикулярными и митотически делящимися клетками.

Ключевые слова: брыжеечные лимфатические узлы, клетки лимфоидного ряда, серый кит

FEATURES OF CYTOARCHITECTONICS OF LYMPH NODES OF MESENTERY *ESCHRICHTIUS ROBUSTUS*

¹Romanova A.V., ²Bukina L.A., ¹Sozonov V.M., ¹Suntsova N.A.

¹Kirov State Medical University, Kirov, e-mail: romanova-anastasia2@yandex.ru;

²Vyatka State Agricultural Academy, Kirov

Despite the sufficient prevalence of the gray whale, the scientific literature does not contain comprehensive information on the peculiarities of the structure of its immune system, when as a sufficiently significant manifestations of the action of environmental factors are recorded in the structures of the lymphatic system. Thanks to the development of immunohistochemical methods of research, allowing to evaluate the structure and functions of organs and tissues at the ultrastructural level, it became possible to conduct a cytological study of the lymph nodes of the mesentery of the gray whale, which is the purpose of the work. The materials for the study were the lymph nodes of the mesentery of the gray whale, which according to the conventional method were fixed, on their basis, sections of the microtome were made, staining was carried out. Using the ocular grid by the method of random step, as well as methods of variation statistics, sections of mesenteric lymph nodes with the description of morphometric features of their structures were studied. The calculation of the main types of cells that make up different areas of the lymph node, such as in the germinative center and the cortical substance, the rationale for their distribution. Based on the study, the cellular composition of the lymph nodes of the mesentery is represented by lymphocytes, immunoblasts, plasmoblasts, Mature plasmocytes, macrophages, reticular and mitotically dividing cells.

Keywords: mesenteric lymph nodes, lymphoid cells, gray whale

Серый кит, или калифорнийский кит (*Eschrichtius robustus*) – морское млекопитающее подотряда усатых китов. Единственный вид семейства серых китов (*Eschrichtiidae*). Ареал распространения популяции серых китов охватывает субтропические, умеренные и холодные воды. К настоящему времени, благодаря развитию иммуногистохимических методов исследований, позволяющих на ультраструктурном уровне оценить строение и функции лимфатических узлов, лимфология приобрела значительные масштабы, так как произошло заметное увеличение количества поступающих сведений. Но несмотря на достаточную распространённость данного

животного, научная литература не содержит исчерпывающей информации по особенностям цитоархитектоники лимфатических узлов брыжейки кишечника. Лимфатические узлы брыжейки принимают участие в механизмах иммунной защиты. Они являются своеобразным маркером состояния здоровья, отражают действие экзогенных факторов на иммунную систему пищеварительного тракта животного. В течение всей жизни живые организмы подвергаются самым разнообразным влияниям окружающей среды, среди которых далеко не каждое воздействие способствует нормальному физиологическому функционированию организма [1, с. 62]. В составе лимфоидных образова-

ний функционируют иммунокомпетентные клетки, участвующие в общих и местных иммунных реакциях, образуя единую иммунную систему [2, с. 17]. В анализируемой общедоступной литературе не обнаружены сведения о клеточном составе лимфатических узлов брыжейки, что и привело нас к изучению данной проблемы.

Целью работы является изучение цитоархитектоники лимфатических узлов у серого кита

Материалами для исследования послужили лимфатические узлы брыжейки серого кита. Для гистологического исследования фиксировали брыжеечные лимфатические узлы в 10%-м нейтральном формалине. Биоматериал по общепринятой методике заливали в парафин. На микротоме изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином Гарриса с докраской эозином. Подсчет клеточно-

го состава по морфофункциональным зонам – в корковом веществе и герминативном центре производили под микроскопом Микромед-2, с помощью окулярной сеткой по методу случайного шага. Идентификацию учтенных в работе клеток проводили согласно методу Г.С. Катинас с соавт. [3, с. 51]. Полученные в работе цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с помощью программы «Биостатистика» [4, с. 27].

Брыжеечные лимфатические узлы являются структурными элементами лимфатической системы организма, они расположены непосредственно в брыжейке кишечного отдела, между листками брюшной полости. На срезах брыжеечных лимфатических узлов выражен соединительнотканый каркас. Капсула лимфатического узла плотная, ее толщина достигает $1075,0 \pm 17,2$ мкм (рис. 1).

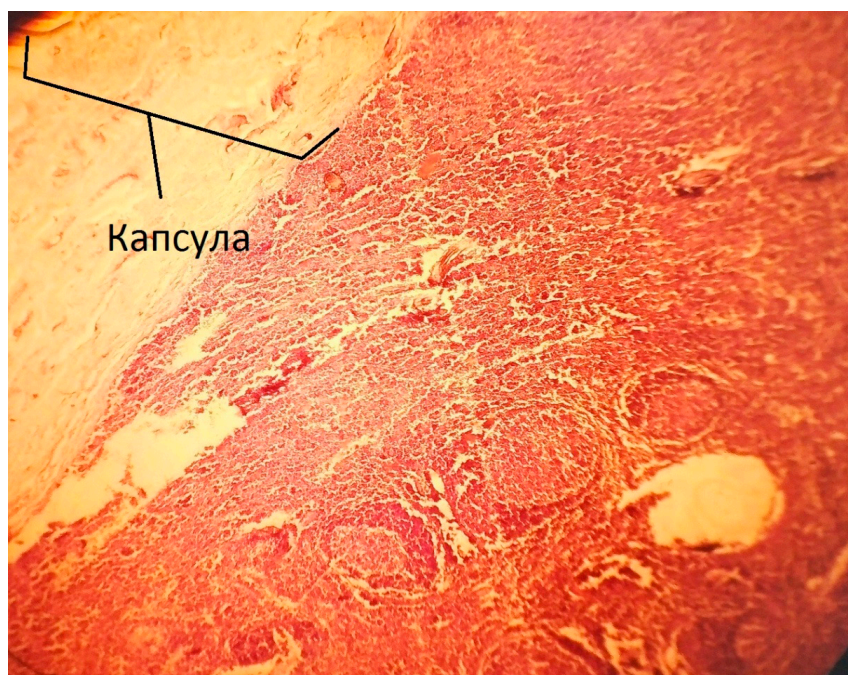


Рис. 1. Коровое вещество брыжеечного лимфатического узла серого кита (ув. 40 X, ок. 10).
Окраска гематоксилин – эозин

Трабекулы выражены незначительно. Отсутствует четкое разделение между зонами лимфатического узла. Соотношение коркового и мозгового вещества 3:1. Лимфоидные фолликулы в лимфатическом узле располагаются хаотично, при анализе определенных структуры и последовательности расположения не замечены (рис. 2).

ского узла варьирует от 53 до 69 фолликулов. Размеры самых крупных фолликулов достигают $650,0 \pm 28,3$ х $750,0 \pm 24,1$ мкм. Размеры самых мелких фолликулов составляют $100,0 \pm 25,4$ х $125 \pm 21,8$ мкм. В основном, все лимфоидные фолликулы вторичные, то есть имеют герминативный центр.

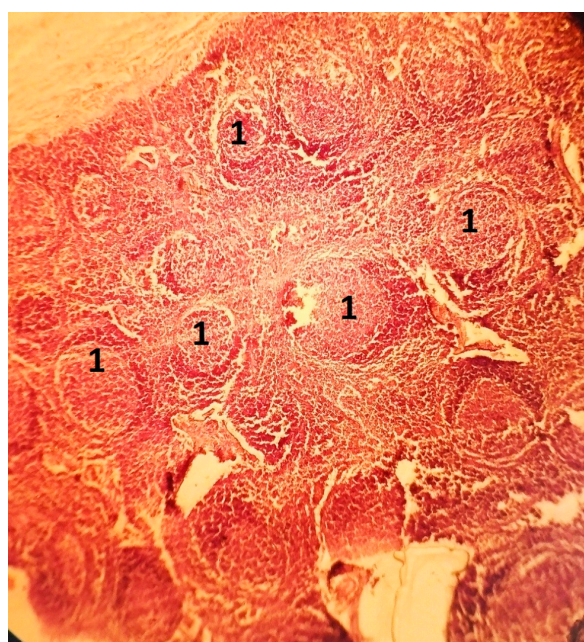


Рис. 2. Лимфоидные узелки брыжеечного лимфатического узла серого кита (ув. 40 X, ок. 10).
Окраска гематоксилин эозин: 1 – Вторичные лимфоидные узелки

Лимфоидные фолликулы представляют собой скопление лимфоидной ткани. На его уровне происходит первичное распознавание, а также дифференцировка В-клеток зародышевого центра [5, с. 166]. Количество на одном срезе лимфатиче-

Обнаружено небольшое количество первичных маленьких лимфоидных узелков количеством до 4 штук.

Количественное содержание клеток герминативного центра и коркового вещества представлены в таблице.

Клеточный состав герминативного центра и коркового вещества

Наименование клеток	Герминативный центр	Корковое вещество
Лимфоциты	$85,2 \pm 0,8 \%$	$93,3 \pm 0,4 \%$
Ретикулярные клетки	$1,0 \pm 0,7 \%$	$2,2 \pm 1,2 \%$
Иммунобласты	$2,2 \pm 0,5 \%$	$1,8 \pm 0,3 \%$
Плазмобласты	$3,0 \pm 1,3 \%$	$2,0 \pm 0,9 \%$
Плазмоциты	$0,4 \pm 0,2 \%$	$0,1 \pm 0,2 \%$
Митотически делящиеся клетки	$6,6 \pm 1,1 \%$	$2,6 \pm 1,3 \%$

Основными клетками лимфоидного ряда в герминативном центре и корковом веществе лимфатических узлов брыжейки являются лимфоциты, составляющие $85,2 \pm 0,8\%$ и $93,3 \pm 0,4\%$ соответственно. При световой микроскопии они видны в виде округлых темноокрашенных клеток. Лимфоциты – главные клетки иммунной системы, обеспечивают гуморальный иммунитет (выработка антител), клеточный иммунитет (контактное взаимодействие с клетками-жертвами), а также регулируют деятельность клеток других типов. Кроме лимфоцитов встречаются в меньшей степени ретикулярные клетки, иммунобласты, плазмобласты, плазмциты, макрофаги, митотически делящиеся клетки. Количество ретикулярных клеток больше в корковом веществе, оно составляет $2,2 \pm 1,2\%$, а в герминативном центре только $1,0 \pm 0,7\%$. Вероятно, это объясняется такой функцией ретикулярных клеток, как участие в образовании стромы органов иммунной системы. При световой микроскопии они видны в виде вытянутых клеток с длинными отростками. Иммунобласты составляют $2,2 \pm 0,5\%$ в герминативном центре и $1,8 \pm 0,3\%$ в корковом веществе. Это активно делящиеся клетки лимфоидного ряда, из которых образуются плазмциты или активные Т-лимфоциты. При световой микроскопии – клетки большого размера (самые крупные клетки лимфоидного ряда), со светлоокрашенной цитоплазмой, ядро бледнее, чем у лимфоцитов. Плазмобласты также преобладают в герминативном центре и составляют $3,0 \pm 1,3\%$, когда как в корковом веществе $2,0 \pm 0,9\%$. Ядро несколько меньше, чем у иммунобласта, и в подавляющем большинстве случаев располагается эксцентрично. Плазмобласты являются предшественниками плазмцитов при дифференцировке В-лимфоцитов. Количество зрелых плазмцитов незначительно, и составляет в герминативном центре $0,4 \pm 0,2\%$, а в корковом веществе $0,1 \pm 0,2\%$. Зрелые плазматические клетки круглой или овальной формы, имеют маленькие размеры. Плазмциты – основные клетки, продуцирующие антитела в организме. Являются конечным этапом развития В-лимфоцита. Митотически делящиеся клетки, в основном, преобладают в герминативном центре и составляют $6,6 \pm 1,1\%$, в корковом же веществе их количество составило $2,6 \pm 1,3\%$. Макрофаги встречаются непостоянно, их общее количество составило $1,6 \pm 0,8\%$. Макрофаги образуются из моноцитов и являются главными структурами фагоцитоза – процесса захвата и переваривания чужеродных веществ или патогенных возбудителей, угрожающих нормальной жизнедеятельности организма животного. Регулируют механизмы специфического адаптивного иммунитета посред-

ством моноцитарно-макрофагальной системы, продуцируют цитокины.

На основании проведенного исследования клеточный состав лимфатических узлов брыжейки представлен лимфоцитами, иммунобластами, плазмобластами, зрелыми плазмцитами, макрофагами, ретикулярными и митотически делящимися клетками. Проанализировав вышеизложенное, можно сделать следующие выводы: главными клетками лимфатических узлов брыжейки у серого кита являются лимфоциты. Их число колеблется от $85,2 \pm 0,8\%$ до $91,3 \pm 0,4\%$. Вторичными клетками по количеству являются митотически делящиеся клетки ($2,6 \pm 1,3 - 6,6 \pm 1,1\%$), причем большая их часть находится в герминативной зоне, а также ретикулоциты, которые преобладают в корковом веществе и достигают $2,2 \pm 1,2\%$. Иммунобласты ($1,8 \pm 0,3 - 2,2 \pm 0,5\%$), плазмобласты ($2 \pm 0,9 - 3 \pm 1,3\%$), зрелые плазматические клетки ($0,1 \pm 0,2 - 0,4 \pm 0,2\%$), макрофаги ($1,6 \pm 0,8\%$) немногочисленны и наиболее часто встречаются в герминативных центрах. Лимфатические фолликулы отвечают за местный иммунитет организма. В результате контактирования лимфоцитарных клеток с антигенами активируется антигензависимая пролиферация лимфоцитов, что и объясняет большое количество митотически делящихся клеток и переходных форм. Достаточно значимые проявления действия факторов окружающей среды фиксируются в структурах лимфатической системы, выполняющих дренажную, детоксикационную и иммунную функции. Одной из таких структур является лимфатический узел, дренирующий участки, наиболее часто контактирующие с факторами внешней среды. Значительные нагрузки испытывает иммунная система пищеварительного тракта, поэтому изучение морфогенеза ее структур является действительно значимой задачей.

Список литературы

1. Койгушская Г.П., Евтушенко В.М., Федосеева О.В. Брыжеечный лимфатический узел как маркер экзогенных факторов на иммунную систему пищеварительного тракта // ППМБПФВС. – 2008. – № 5. – С. 61–63.
2. Алаотс Я.В. О филогенетическом аспекте иммунитета // Сб. науч. тр. Эстонской с.х. академии. – 1983. – № 141. – С. 11–19.
3. Катинас Г.С., Ляшко О.Г., Баженова И.А. Динамика количества клеток лимфоидного ряда в паракортикальной зоне лимфатических узлов у мышей C57B // Временная и пространственная организация тканей. – Л.: Изд. 1-го Лен. мед. ин-та, 1981. – С. 47–54.
4. Стефанов С.Б. Ускоренный способ количественного сравнения морфологических признаков: методические рекомендации. Благовещенск: РИО Амурпрполиграфиздата, 1988. – 27 с.
5. Топтыгина А.П. Лимфоидный фолликул – территория иммунного ответа // Иммунология. – 2012. – № 3. – С. 162–168.

УДК 579.852.11, 579.861.2, 579.842.11, 579.61

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ЦИНКА НА РОСТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ, ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Русяева М.Л., Филончикова Е.С., Сизенцов Я.А.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург,
e-mail: rusyeva1998@mail.ru

Данная статья посвящена изучению вопроса влияния солей, в качестве катиона которых выступает эссенциальный элемент – цинк, на рост пробиотических, патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Рассматриваемый вопрос имеет важное значение в связи с все растущей проблемой антибиотикорезистентности микроорганизмов. Антибиотикорезистентность микроорганизмов – это устойчивость патогенных микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания к широкому спектру антибиотиков (бета-лактамы, макролиды, стероиды, тетрациклины, левомицетин, аминогликозиды, пептидные антибиотики, ванкомицин, полиены и антибиотики различного химического строения), т.е. происходит снижение их чувствительности к антибактериальным препаратам. Т.е. антибиотики начинают утрачивать свое практическое значение в борьбе с инфекционными агентами, что поднимает новый вопрос – какими еще средствами можно бороться с патогенными микроорганизмами, если антибиотики не действуют? Такими средствами могут выступать экстракты лекарственных растений (чистотел, дуб, ромашка, алоэ и др.), которые отчасти обладают антибактериальными свойствами или же – это металлы (медь, цинк), которые имеют высокий уровень бактерицидности. Данная проблема – резистентность микроорганизмов к антибиотическим препаратам – на текущий момент стоит также остро, как и раньше, потому что конкретного решения вопроса нет, а количество случаев заболеваний все возрастает.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, патогенные микроорганизмы, соли цинка

STUDYING THE EFFECTS OF ZINC SALTS ON THE GROWTH OF PROBIOTIC, PATHOGENIC AND CONDITIONALLY-PATHOGENIC STRAINS OF MICROORGANISMS

Rusyaeva M.L., Filonchikova E.S., Sizentsov Y.A.

Orenburg State University, Orenburg, e-mail: rusyeva1998@mail.ru

This article is devoted to the study of the effect of salts, as a cation of which is an essential element – zinc, on the growth of probiotic, pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms. The question under consideration is important in connection with the growing problem of the antibiotic resistance of microorganisms. Antibiotic resistance of microorganisms – is resistance of pathogenic microorganisms causing infectious diseases in a wide range of antibiotics (beta-lactams, macrolides, steroids, tetracyclines, chloramphenicol, aminoglycosides, peptide antibiotics, vancomycin, polyenes and antibiotics of different chemical structure), i.e. there is a decrease in their sensitivity to antibacterial drugs. Those antibiotics are beginning to lose their practical value in the fight against infectious agents, which raises a new question – what other means can pathogenic microorganisms fight if antibiotics do not work? Such means can be extracts of medicinal plants (celandine, oak, chamomile, aloe, etc.), which partly have antibacterial properties or they are metals (copper, zinc), which have a high level of bactericidal activity. This problem – the resistance of microorganisms to antibiotic drugs – is currently as acute as before, because there is no concrete solution to the issue, and the number of cases of diseases is increasing.

Keywords: antibiotic resistance, pathogenic microorganisms, zinc salts

Антибиотикорезистентность – устойчивость возбудителей различных инфекционных заболеваний к широкому спектру антибиотиков, т.е. происходит снижение чувствительности патогенной микрофлоры к антибактериальным препаратам. Данная проблема является глобальной для всего человечества. И с каждым днем становится все более сложно бороться с окружающими, и населяющими нас микроорганизмами. Все это связано с такими общеизвестными фактами, как то, что в последние десятилетия не было создано ни одной новой молекулы антибиотиков; фармацевтические предприятия не заинтересованы в разработках дру-

гих антибиотиков; а также, использование антибиотиков не по назначению – т.е. когда люди сами себе прописывают препараты не зная причину своего недуга и т.д. [1]

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам может быть двух типов: природная и приобретенная. Приобретенная устойчивость заключается чаще всего в синтезе ферментов, которые изменяют или инактивируют антибактериальные средства (бета-лактамазы, ацетилтрансферазы и др.). Отсутствие у микроорганизма мишени, на которую непосредственно влияет антибиотик, выражает его природную устойчивость. Наиболее быстро вырабатывают устойчи-

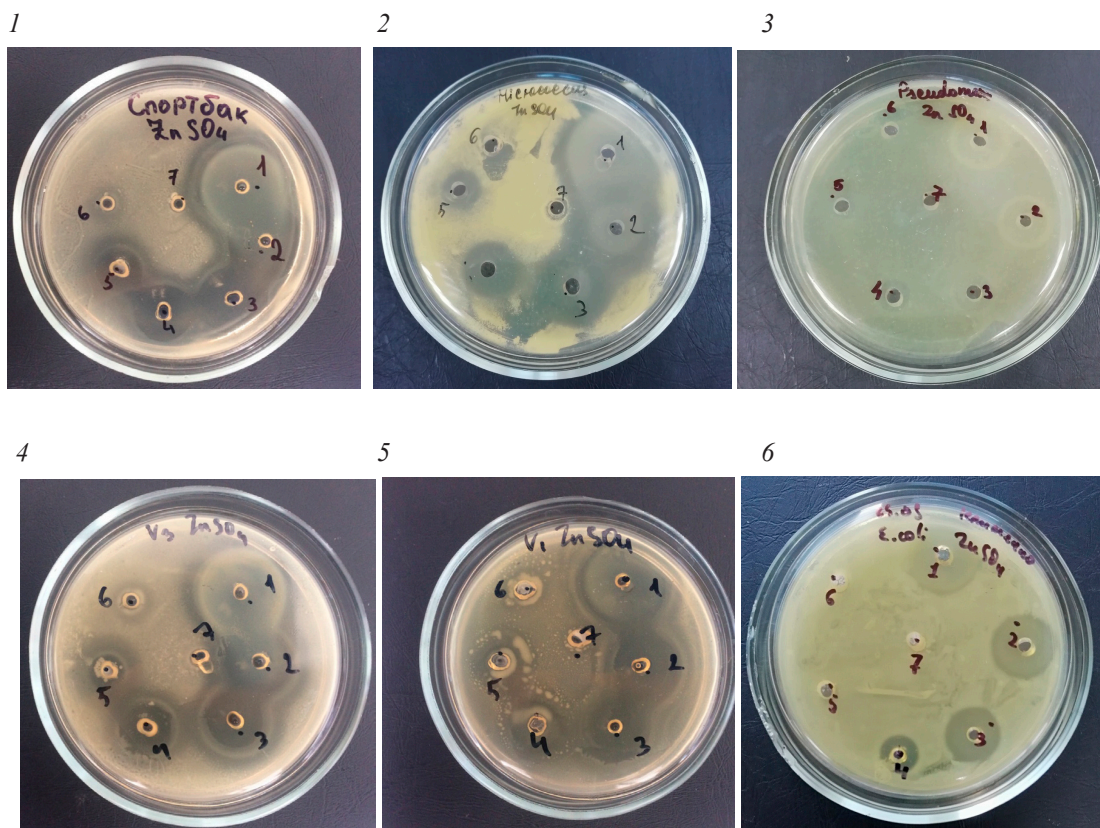
вость к используемым в настоящее время антибиотикам стафилококки, пневмококки и т.д. [2].

В связи с растущей проблемой антибиотикорезистентности многие ученые и исследователи пытаются разработать другие эффективные средства отличные от антибиотиков, которые бы имели аналогичное или даже превышающее их бактерицидное действие. В качестве таких средств могут быть использованы экстракты лекарственных растений, металлы и другое. Но, например, многие лекарственные растения обладающие хорошими ранозаживляющими, затягивающими свойствами, не имеют выраженного бактерицидного действия, что не может быть использовано для прекращения развития патогенных микроорганизмов в ране. А цинковая мазь, в состав которой входит только оксид цинка и вазелин, обладает помимо адсорбирующего, подсушивающего действия, еще и антисептическое. Т.е. использование эссенциальных элементов в составе антимикробных препаратов для предотвращения развития инфекции является открытой областью, которую необходимо тщательно изучить [2–3].

Таким образом, все эти средства – антибиотики, экстракты лекарственных растений, эссенциальные металлы – использующиеся по отдельности сейчас, могут быть применены для создания высокоэффективного бактерицидного, ранозаживляющего препарата путем совмещения их действий.

В следствие этого, целью нашего исследования является изучение бактерицидного действия солей, в состав которых в качестве катиона выступает эссенциальный элемент – цинк, по отношению к пробиотическим, патогенным и условно-патогенным штаммам микроорганизмов (рисунок).

В качестве объектов исследования были использованы такие штаммы микроорганизмов, как четыре пробиотических препарата на основе бактерий рода *Bacillus*: Споробактерин (*B. subtilis* 534), Ветом 1.1 (*B. subtilis* 10641), Ветом 3 (*B. amyloliquefaciens* 10642), Ветом 4 (*B. amyloliquefaciens* 10643), условно-патогенные микроорганизмы: *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, а также патогенный штамм: *Pseudomonas aeruginosa*. В качестве бактерицидных факторов в работе использовались сульфат цинка ($ZnSO_4$), нитрат цинка ($Zn(NO_3)_2$) и ацетат цинка ($Zn(CH_3COO)_2$).



Влияние $ZnSO_4$ на рост исследуемых микроорганизмов:
1 – *B. subtilis* 534; 2 – *M. luteus*; 3 – *P. aeruginosa*; 4 – *B. amyloliquefaciens* 10642;
5 – *B. subtilis* 10641; 6 – *E. coli*

Для оценки биотоксичности солей цинка использовали метод агаровых лунок, выбор данного метода объясняется тем, что он позволяет не только качественно, но и количественно оценить влияние химических соединений на рост анализируемых микроорганизмов [4].

Методика выполнения заключается в следующем: изучаемый микроорганизм высевали сплошным «газоном» на поверхность агаровой пластинки (1,5% МПА) в чашке Петри. После этого, пробочным сверлом (диаметр 5 мм) вырезали агаровые блочки, при этом на одной чашке Петри можно разместить до 7 агаровых лунок в которые в последующем вносили исследуемые концентрации веществ для оценки их ингибирующего и субингибирующего эффекта. Чашки помещали в термостат на 24 часа при температуре 37°C. После инкубирования производили визуальную оценку действия исследуемого металла на рост популяции. Отсутствие зон подавления роста свидетельствовало о отсутствии

влияния либо соли в целом (как правило данное явление отмечалось у солей с низки уровнем диссоциации), либо определенной концентрации. В том случае если исследуемое вещество обладало высокой бактерицидной активностью в отношении исследуемого микроорганизма регистрировали значительные зоны подавления роста вокруг лунки [5].

Данные, представленные на рисунке, показывают, что высокие концентрации катионов цинка оказывают выраженный бактерицидный эффект как в отношении пробиотических штаммов, так и в отношении патогенных и условно-патогенных штаммов микроорганизмов. Т.е. наблюдается прямая зависимость между концентрацией химического вещества и зоной подавления роста микроорганизма, по мере снижения концентрации уменьшается диаметр зоны подавления вплоть до ее отсутствия. Обобщенные данные по изучению влияния солей цинка на исследуемые микроорганизмы представлены в таблице.

Оценка влияния солей цинка на рост исследуемых микроорганизмов

Исследуемые микроорганизмы	ZnSO ₄ , мг/мл						
	1148	574	287	143,5	71,75	35,875	17,9375
<i>B. subtilis</i> 534	27,4 ± 0,6782	22,6 ± 0,6782	21 ± 0,5477	17 ± 1,3038	11,2 ± 2,8178	7,4 ± 2,1587	–
<i>B. subtilis</i> 10641	31,6 ± 0,6782	21,6 ± 1,7204	17,6 ± 1,9899	22,8 ± 1,3928	16,8 ± 4,2356	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	34 ± 1,1402	23,8 ± 1,3565	19 ± 1,1402	17,2 ± 0,6633	12,2 ± 0,6633	9,4 ± 1,1225	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	34,6 ± 2,9257	31,4 ± 2,9086	29,2 ± 2,8531	25,8 ± 3,2156	19,4 ± 4,9558	20,4 ± 5,1245	12,6 ± 3,7762
<i>S. aureus</i>	30,8 ± 0,3742	27 ± 0,3162	23,2 ± 0,7348	18 ± 0,5477	14 ± 0,8366	9,4 ± 0,7483	–
<i>E. coli</i>	23 ± 0,5477	20,6 ± 0,4	17,6 ± 0,6782	13,4 ± 0,7483	6,2 ± 2,6344	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	22,8 ± 0,8602	18,4 ± 0,5099	13 ± 0,5477	10 ± 0,3162	8,6 ± 0,2450	–	–
<i>M. luteus</i>	38,2 ± 1,2806	32,6 ± 0,87178	28 ± 1,3038	19 ± 0,7072	13 ± 0,5477	–	–
	Zn (CH ₃ COO) ₂ , мг/мл						
	812	406	203	101,5	50,75	25,375	12,6875
<i>B. subtilis</i> 534	26 ± 1,4142	23,8 ± 1,1136	22 ± 1,0955	16,8 ± 0,6633	12,6 ± 0,6782	12,4 ± 1,4353	–
<i>B. subtilis</i> 10641	29,6 ± 0,2449	23,4 ± 1,2249	17,2 ± 2,1307	15,2 ± 5,5533	–	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	29,8 ± 0,8	23,2 ± 0,5831	21 ± 0,7071	16,2 ± 0,5831	13 ± 0,8944	12,6 ± 0,8124	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	32,4 ± 1,7493	30,6 ± 0,8718	29 ± 0,8367	26,8 ± 1,0198	19,8 ± 5,0139	13,2 ± 5,4718	10 ± 4,0866
<i>S. aureus</i>	27,8 ± 0,2	23,4 ± 0,8178	19,2 ± 0,9695	12 ± 0,3162	7 ± 0,3162	–	–
<i>E. coli</i>	21,2 ± 0,7348	18,4 ± 0,8124	14,4 ± 0,5099	7,8 ± 2,1071	–	–	–

Окончание табл.

	Zn (CH ₃ COO) ₂ , мг/мл						
	812	406	203	101,5	50,75	25,375	12,6875
<i>P. aeruginosa</i>	16,2 ± 0,5831	12,8 ± 0,3742	10,6 ± 0,5099	7,4 ± 1,8601	–	–	–
<i>M. luteus</i>	32,8 ± 0,8602	30,8 ± 0,7350	24 ± 0,4472	17,6 ± 1,2083	11,4 ± 1,0296	–	–
	Zn(NO ₃) ₂ , мг/мл						
	1188	594	297	148,5	74,25	37,125	18,5625
<i>B. subtilis</i> 534	26,4 ± 1,6309	23,8 ± 1,3565	21 ± 0,6325	18 ± 0,3162	13 ± 0,8944	8,8 ± 2,2226	–
<i>B. subtilis</i> 10641	28,4 ± 0,9274	22 ± 1,0488	16,4 ± 0,4	25 ± 2,7928	14,6 ± 6,005	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	28,8 ± 0,5831	23,2 ± 0,2	19,4 ± 0,6782	16,2 ± 0,5831	13 ± 0,8944	12,6 ± 0,8124	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	34,6 ± 0,6782	25,2 ± 6,4141	29,2 ± 1,2	27,4 ± 1,7205	23,6 ± 0,8124	21 ± 0,6325	–
<i>S. aureus</i>	27,8 ± 0,6633	23,6 ± 0,9274	18,6 ± 0,6782	12,6 ± 1,6309	9,2 ± 0,8	5,4 ± 1,3638	–
<i>E. coli</i>	22,2 ± 0,4899	18,2 ± 0,8	17 ± 0,5477	9,4 ± 0,6782	4 ± 1,7029	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	20,8 ± 0,4899	15,8 ± 0,7348	12,2 ± 0,3742	10,6 ± 0,4	8,6 ± 0,2449	–	–
<i>M. luteus</i>	35,4 ± 0,5099	31,8 ± 0,4890	23,6 ± 0,6	18,4 ± 0,6782	14,2 ± 0,3742	–	–

При исследовании влияния анионных компонентов цинка на пробиотические, патогенные и условно-патогенные штаммы были получены следующие результаты. Исследования показывают о достаточно выраженном токсическом влиянии всех исследуемых солей цинка не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых микроорганизмов. Но следует отметить, что наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении микроорганизмов *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *M. luteus* обладает сульфат цинка, однако значения зон подавления роста, которого, незначительно превысили значения ацетата и нитрата цинка для изучаемых штаммов. Данная зависимость также наблюдается и в отношении пробиотических штаммов (*B. subtilis*, 534 *B. subtilis* 106,4 *B. amyloliquefaciens* 10642,1 *B. amyloliquefaciens* 10643)

Также было установлено, что в отношении нитрата, сульфата и ацетата цинка наиболее устойчивым оказался патогенный штамм *P. aeruginosa*.

Список литературы

1. Намазанова-Баранова Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л.С. Намазанова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – № 5. – С. 341 – 354.
2. Ибрагимова Р.Р. Проблема антибиотикорезистентности в современном мире / Р.Р. Ибрагимова, П.А. Кузнецов // Международный студенческий форум 2017. Актуальные вопросы современной микробиологии и иммунологии. – <https://scienceforum.ru/2017/article/2017031534> (дата обращения: 12.04.2019).
3. Чичерина В.Р. Использование результатов по изучению токсичности катионов цинка на рост микроорганизмов в образовательном процессе / В.Р. Чичерина, О.П. Клименко, В.А. Сербова [и др.] // Университетский комплекс как региональный центр образования, науки и культуры материалы Всероссийской научно-методической конференции. Министрство образования и науки РФ, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет». – 2018. – С. 2855–2860.
4. Королькова Д.С. Определение минимальных подавляющих концентраций солей цинка на рост пробиотических штаммов бактерий рода *Bacillus* / Д.С. Королькова, М.Л. Русяева, И.В. Коробова // Международный студенческий вестник. – 2018. – № 4–3. – С. 411–414.
5. Морозова Н.В. Оценка резистентности пробиотических штаммов микроорганизмов к эссенциальным и токсичным тяжелым металлам / Н.В. Морозова, И.В. Коробова // Российский иммунологический журнал. – 2017. – Т.11(20). – № 3. – С. 427–428.

УДК 639.1

НАСЕЛЕНИЕ ПУШНЫХ ВИДОВ ОХОТНИЧЬИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА НАЧАЛО ОХОТНИЧЬИХ СЕЗОНОВ 2017 И 2018 Г. ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛТЫ» УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ» (ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)

Рыков В.П., Суворова К.А., Козлова Н.Ю.

*Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, п. Молодежный
Иркутского района Иркутской области, e-mail: kbraudo@mail.ru*

Осеннюю плотность населения соболя можно считать близкой к средней как в охотничьем сезоне 2017–2018 гг., так и в сезоне 2018–2019 гг. Добыча в сезоне 2017–2018 гг. капканами с приманкой составила всего 27,3% от осенней численности. Это весьма номинальный показатель, причиной которого были промысловые условия. Аналогичные промысловые условия были осенью 2018 г. Притом к середине ноября был добыт всего один соболь. Изъятие белок промыслом составило осенью 2017 г. 44,7% от осенней численности. Это близкий к среднему значению по региону в годы достаточно интенсивного промысла показатель. Такая осенняя плотность населения указывает на средний уровень численности по белке. Осенью 2018 г. плотность населения белки была на территории базы непромысловой, за день охоты можно было добыть максимум 2 белки. Судя по результатам охоты и оставшейся на территории доли особей, охота на оба вида носила номинальный характер. Это предполагает, при относительно одинаковых прочих условиях, примерно такую же осеннюю численность особей соболя в 2019 году и гораздо большую, чем в охотничьем сезоне 2018–2019 г численность белки.

Ключевые слова: млекопитающие, условия обитания, численность, учеты, охотничий промысел

POPULATION OF FOOD SPECIES OF HUNTING MAMMALS AT THE BEGINNING OF HUNTING SEASONS 2017 AND 2018 TERRITORY OF THE EDUCATIONAL BASE «MOLTS» TRAINING AND EXPERIMENTAL HUNTING EDUCATIONAL BASED HUNTING ECONOMIC HUNTING GROWTH OF THE HOLDS OF TRAINING AND EXPERIENCED HUNTING TRAINING MOLTA

Rykov V.P., Suvorova K.A., Kozlova N.Y.

*Irkutsk State Agrarian University. A.A. Ezhevsky, Molodezhny, Irkutsk District,
e-mail: kbraudo@mail.ru*

The autumn population density of the sable can be considered close to the average both in the hunting season of 2017–2018 and in the season of 2018–2019. Production in the season 2017–2018, trapped with bait made up only 27.3% of the autumn number. This is a very nominal figure, the cause of which were fishing conditions. Similar fishing conditions were in the autumn of 2018. Moreover, by the middle of November only one sable was caught. In the fall of 2017, the harvest of protein by fishing amounted to 44.7% of the autumn population. This is close to the average value for the region in years of fairly intensive fishing. This autumn population density indicates the average level of protein. In the autumn of 2018, the population density of the squirrel was on the territory of a non-commercial base; a maximum of 2 squirrels could be obtained per day of hunting. Judging by the results of the hunt and the share of individuals remaining in the territory, the hunt for both species was nominal. This implies, with relatively similar other conditions, about the same autumn number of sable individuals in 2019 and much larger squirrel numbers than in the hunting season of 2018–2019.

Keywords: mammals, habitat conditions, abundance, counts, hunting

Отслеживание состояния численности охотничьих животных является неотъемлемой частью ведения охотничьего хозяйства. Это выполняется при учетах численности особей соответствующего вида. От численности зависят нормы изъятия особей при охоте, а иногда и возможности таковой. Всегда была и имеется возможность отслеживания состояния численности при ведении охотничьего промысла. Квалифицированные промысловые охотники постоянно держат численность и размещение особей в поле зрения. Это видно по встречам и признакам жизнедеятельности животных.

Среди способов учета численности способ частичного отлова и отстрела является в охотоведении, пожалуй, самым старейшим. Его принцип прост: сколько в определенных границах добыто, сколько осталось после промысла. В сумме это дает плотность населения на начало промысла, т.е. сразу после периода воспроизводства. Этот способ широко применялся при охотустройстве охотпромысловых хозяйств Сибири и Дальнего Востока проектно-изыскательской охотэкспедицией Главкоопушнины Центросоюза СССР в 1960–1980-е гг. [1]. Он давал неплохие, достаточно адекватные

Результаты учета способом частичной добычи содержит табл. 1.

ными и постоянными, добавлялось до 15 см снега за один снегопад. Эти снегопады по-

Таблица 1

Данные учета соболя частичным отловом в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-декабре 2017 и 2018 г.

Годы	Добыто	Осталось	Было на осень
2017	3	8	11
2018	1	11	12

Площадь учетной площади с использованием ГИСтехнологий определена равной 4300 га. В пересчете на 1000 га охотничьих угодий осеннее и оставшееся поголовье дало следующие результаты (табл. 2).

стоянно засыпали поставленные «в подрезку» капканы, а переставлять их не было возможностей и смысла. Было затруднено и передвижение охотников. Обычно промысловая нагрузка на территории по соболю

Таблица 2

Плотность населения соболя в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в 2017 и 2018 г. (особей на 1000 га)

Годы	Осенняя	Послепромысловая
2017	2,6	1,9
2018	2,8	2,6

Судя по данным табл. 2, осеннюю плотность населения соболя можно считать близкой к средней для Южного Предбайкалья как в охотничьем сезоне 2017–2018 гг., так и в сезоне 2018–2019 гг.

Добыча соболя с собакой (отстрел) осенью 2017 г. был практически невозможен из-за отсутствия до конца ноября достаточного снежного покрова. Использовался самоловный промысел соболя на постоянных путях. Добыча капканами с приманкой (табл. 1) составила всего 27,3 % от осенней численности. Это весьма номинальный показатель, причиной которого были промысловые условия. Аналогичные промысловые условия были осенью 2018 г. Притом к середине ноября был добыт всего один соболь.

Близкая к средней по региону в годы достаточно интенсивного промысла элиминация особей [7] объясняется аномальными метеоусловиями: долгим отсутствием снежного покрова, а затем частыми и обильными снегопадами. За счет этого снежный покров к концу декабря был уже в 2017 г. аномально глубоким и служил препятствием сложившемуся традиционному промыслу. Вместе с этим стал невозможным и промысел соболя постановкой капканов на сбежках под след «в подрезку». Снегопады были обиль-

бывает больше и достигала 10 особей с этой площади. Относительно высокая послепромысловая плотность населения послужила основой по крайней мере не низкой осенней плотности населения соболя в 2018 г. Это, конечно, за счет достаточно хороших кормовых и защитных свойств местообитаний. Кормность в прошлом промысловом сезоне была представлена обильной численностью полевых, наличием мышей, рябчиков, белок. Зайца-беляка на территории относительно не много, но соболь его интенсивно преследует. Это для него очень привлекательный в кормовом отношении объект. Поэтому к весне зайца становится еще меньше. Защитные условия формирует на территории базы значительная заваленность (с наличием дупел в валежинах) и достаточно большое количество дуплистых деревьев, а также наличие каменных россыпей. Все это способствует достаточному количеству убежищ для соболя. В целом кормовые и защитные условия на территории для соболя являются хорошими, что может способствовать высокой численности.

Кроме соболя способом частичного отстрела учитывались особи белки. Учетная площадь показана на рисунке (рис. 2).

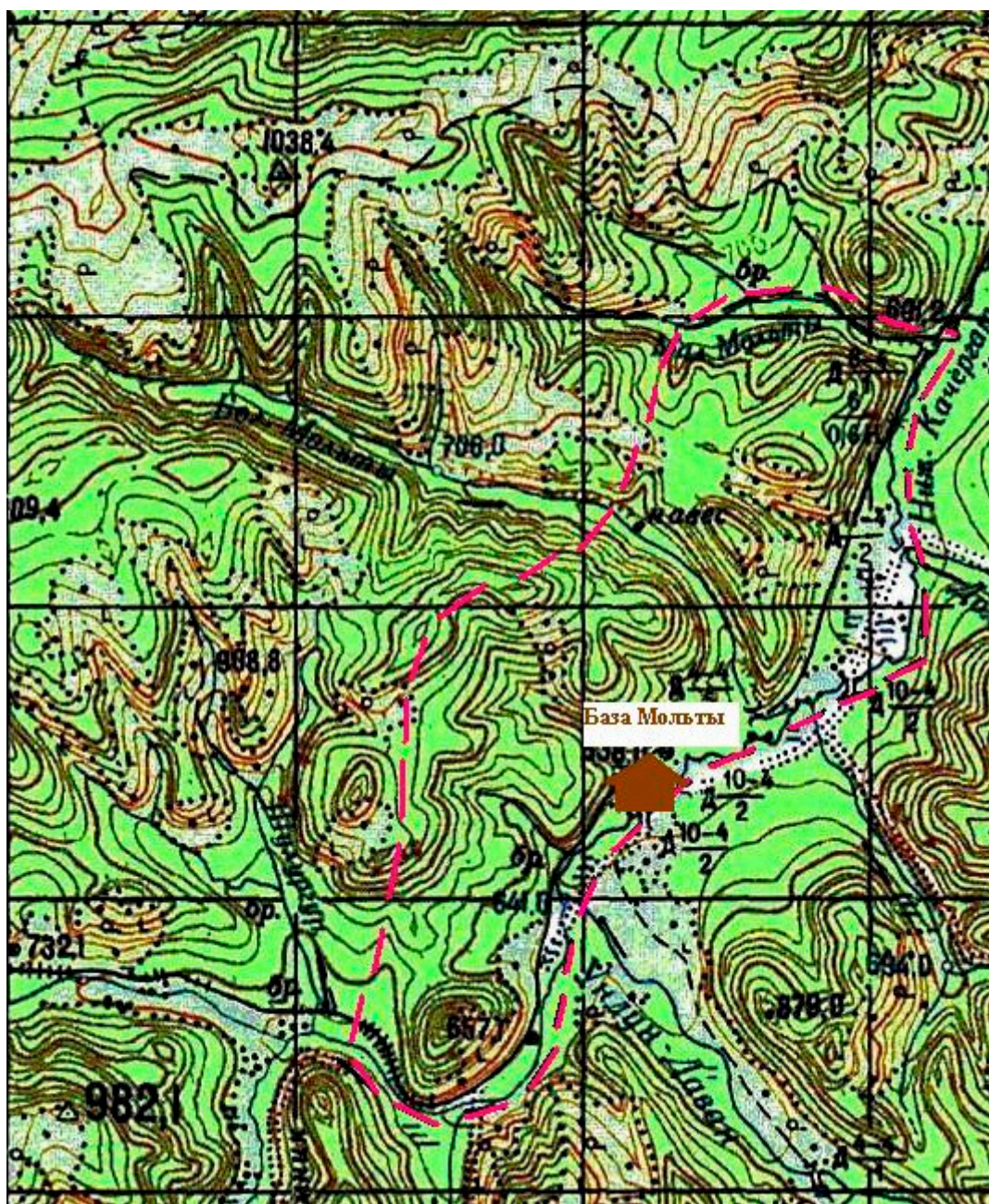


Рис. 2. Фрагмент карты-схемы с учетной площадью способом
частичного отстрела особей белки:

— — — — — граница учетной площади

Площадь пробы с использованием ГИС-технологии определена равной 930 га. Учетная площадь располагается в северо-восточной части территории базы, занимая бассейны левобережных притоков р. Нижний Кочергат (бассейны

р. Большая Мольта и Малая Мольта частично).

Результаты учета особей белки представлены в табл. 3. Применялся отстрел белок с собакой-лайкой и с использованием тропления по следам.

Таблица 3

Данные учета белки способом частичного отстрела в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-ноябре 2017 и 2018 г.

Годы	Добыто	Осталось	Численность на осень
2017	26	21	47
2018	2	1	3

Таблица 4

Осенняя и после промысловая плотность населения белки в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-ноябре 2017 и 2018 г., особей на 1000 га

Годы	Осенняя плотность населения	После промысловая плотность населения
2017	50,5	22,6
2018	3,2	1,1

Изъятие белок промыслом (табл. 3) составило в 2017 г. 44,7% от осенней численности. Это близкий к среднему значению по региону [8–10] в годы достаточно интенсивного промысла показатель. Несмотря на то, что шкурки белки в последние годы не пользуются большим спросом у заготовителей. В 2018 г. добыча белок на учетной площади была ничтожной (табл. 3).

Такая осенняя плотность населения как в 2017 г. (табл. 4) указывает на близкий к среднему уровень численности по белке. Осенью 2018 г. плотность населения белки была непромысловая (табл. 4), за день охоты можно было добыть максимум 2 белки, т.е. такая охота как промысел была безрезультативной.

Судя по результатам охоты и оставшейся на территории доли особей, охота на оба вида носила номинальный характер. Это предполагает, при относительно одинаковых прочих условиях, примерно такую же осеннюю численность особей соболя в 2019 году и значительно большую численность особей белки.

Список литературы

1. Леонтьев Д.Ф. Ландшафтно-видовой подход к оценке размещения промысловых животных юга Восточной Сибири: автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Красноярск, 2009. – 32 с.
2. Леонтьев Д.Ф. Закономерности пространственного размещения промысловых млекопитающих юга Восточной Сибири // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 2. – С. 109–114.
3. Леонтьев Д.Ф. Геоэкологический аспект популяций промысловых млекопитающих Байкальского региона // Вестник развития науки и образования. – 2007. – № 1. – С. 10–17.
4. Леонтьев Д.Ф. Местообитания промысловых млекопитающих: аспект выделения разнотеррасных территорий // Научное обозрение. Биологические науки. – № 3. – 2016. – С. 51–64.
5. Коли Г. Анализ популяций позвоночных. – М.: Изд-во «Мир», 1979. – 362 с.
6. Леонтьев Д.Ф. Структурирование территории и точность учета численности промысловых животных // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 8. – С. 76–79.
7. Павлов Б.К. Управление популяциями охотничьих животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 144 с.
8. Немченко Л.С. Элиминирующее влияние разных типов промысла на структуру и численность популяции белки: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1981. – 22 с.
9. Павлов Б.К., Смышляев М.И. Производительность угодий и промысел белки в Восточной Сибири // Естественная производительность охотничьих угодий в СССР. Ч.2. – Киров, 1969. – С. 140–144.
10. Павлов Б.К. Динамика структуры эксплуатируемой популяции белок горных лесов юга Восточной Сибири: автореф. ... канд. биол. наук. Свердловск, 1978. – 29 с.

УДК 639.1

НАСЕЛЕНИЕ БОРОВОЙ ДИЧИ НА ОСЕНЬ 2018 Г. ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛЬТЫ» УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ» (ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)

Суворова К.А., Козлова Н.Ю., Енин Э.В., Швырев А.Д.

*Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, п. Молодежный
Иркутского района Иркутской области, e-mail: kbraudo@mail.ru*

Отслеживание состояния численности охотничьих животных необходимо для ведения рационального охотничьего хозяйства. От численности животных зависят нормы изъятия особей при охоте, иногда и сама возможность охоты. Среди способов учета численности способ частичного отлова и отстрела в охотоведении является, пожалуй, самым старейшим. Его принцип прост: сколько в определенных границах добыто, сколько осталось после промысла. В сумме это дает численность на начало промысла (осень). Во время добычи животных нами выявлен объем промысла и число оставшихся особей, плотность населения животных на конец периода воспроизводства и послепромысловая. По рябчику (*Bonasia bonasia*) осенью 2017 г. добыта доля от осеннего поголовья 23,7%, осенью 2018 г. – 25,8%. Плотность населения на осень 2017 г. составила по рябчику 63,4, на осень 2018 г. – 66,7 на 1000 га охотничьих угодий. Послепромысловая плотность населения составила в 2017 г. по рябчику – 48,4, а в 2018 г. – 49,5 особей на 1000 га охотничьих угодий. Судя по результатам охоты и оставшейся на территории доли особей, охота на оба вида носила номинальный характер.

Ключевые слова: птицы, условия обитания, численность, учеты, охотничий промысел

POPULATION OF THE BORING DOG ON THE AUTUMN 2018 THE TERRITORY OF THE TRAINING BASE «MOLTS» OF THE EDUCATIONAL-EXPERIENCED HUNTING ECONOMY «HOLOUT» (SOUTHERN BAYCALE)

Suvorova K.A., Kozlova N.Y., Enin E.V., Shvyrev A.D.

Irkutsk State Agrarian University A.A. Ezhevsky, Molodezhny, Irkutsk District, e-mail: kbraudo@mail.ru

Tracking the state of the number of game animals is necessary for maintaining a sustainable hunting economy. From the number of animals depend on the rate of withdrawal of individuals during hunting, and sometimes the very possibility of hunting. Among the methods of counting the number of methods of partial capture and shooting in hunting is perhaps the oldest. Its principle is simple: how many mined within certain limits, how much is left after fishing. In sum, this gives the number at the beginning of the fishery (autumn). During the extraction of animals, we identified the volume of the fishery and the number of individuals remaining, the population density of animals at the end of the reproduction period and post-harvest. In the grouse (*Bonasia bonasia*) in autumn 2017, the share of the autumn livestock was 23.7%, in the autumn of 2018 – 25.8%. Population density in autumn 2017 amounted to 63.4 on hazel grouses, and in autumn 2018 – 66.7 per 1000 hectares of hunting grounds. In 2017, the post-field population density amounted to 48.4 grouse, and in 2018, 49.5 individuals per 1000 hectares of hunting grounds. Judging by the results of the hunt and the share of individuals remaining in the territory, the hunt for both species was nominal.

Keywords: birds, habitat conditions, number, counts, hunting

Отслеживание состояния численности охотничьих животных является неотъемлемой частью ведения охотничьего хозяйства как рационального использования охотничьих ресурсов [1]. Это является его непременным условием, гарантией исключения перепромысла. От численности зависят нормы изъятия особей при охоте, а иногда возможности охоты как таковой. Грамотные охотники всегда заинтересованы в сохранении биоразнообразия охотничьих ресурсов и каждого конкретного охотничьего вида. Поэтому, всегда была, и имеется возможность отслеживания состояния численности при ведении охотничьего промысла. Есть и соответствующие приемы. По боровой дичи это отслеживание встреч, следов, лунок, издаваемых звуков. Все это в совокупности позволяет определить число особей.

Среди способов учета численности способ частичного отлова и отстрела в охотове-

дении является, пожалуй, самым старейшим. Его принцип прост: сколько в определенных границах добыто, сколько осталось после промысла. В сумме это дает плотность населения на осень, начало промысла, т.е. после периода воспроизводства. Этот способ широко применялся при охотустройстве охотпромысловых хозяйств Сибири и Дальнего Востока проектно изыскательской охотэкспедицией Главкооппушнины Центросоюза СССР в 1960–1980-е гг. [2]. Он давал неплохие, достаточно адекватные результаты за счет прежде всего возможностей получения больших объемов выборок и перекрытия учетами весьма значительной площади угодий охотничьих хозяйств. Как правило, всегда больше 5% общей площади хозяйства, что с учетом равномерности покрытия территории учетными площадями могло удовлетворять требованиям к организации выборочного обследования. Наличие в про-

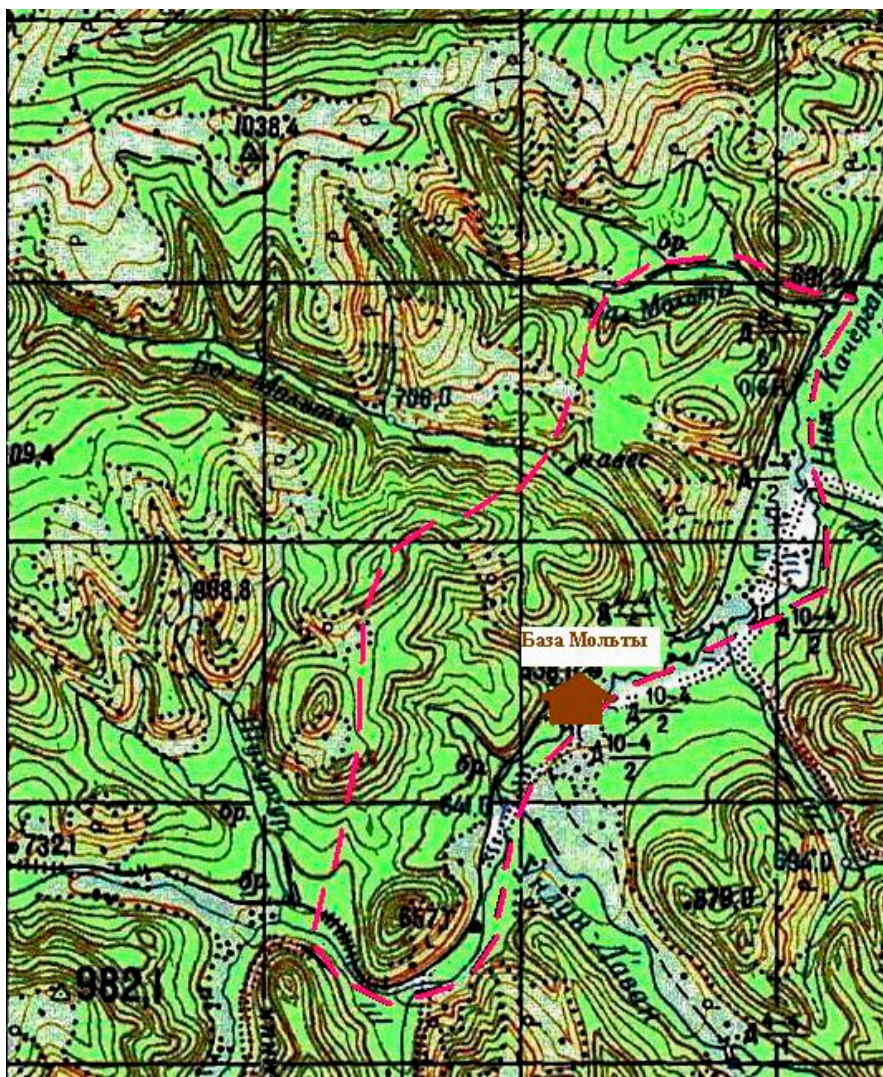
мысловых хозяйствах контингента квалифицированных штатных промысловых охотников позволяло получать вполне адекватные данные.

Нами при прохождении учебной практики по технологии добывания охотничьих животных студентами третьего курса нашего института выполнены учеты способом частичного отстрела на примере рябчика, который является обычным на территории видом и объектом охоты. Территориально учетная площадка, где проводились работы, может быть отнесена лишь к субоптимальным местообитаниям этих видов, как и по соболю [3–5], жертвами которого объекты нашего наблюдения часто являются. Это наряду с мышевидными грызунами с относительно высокой численностью представленными этой осенью на территории. Средние по качеству уголья для рябчи-

ка объясняются относительно не большой долей темнохвойных лесов на территории и в целом ягодников в живых напочвенных покровах лесов. По глухарю средняя по качеству оценка местообитаний объясняется теми же причинами и на состояние численности оказывает влияние еще сокращение доли лесов в возрасте естественной спелости и климаксных.

Выделение разноразселенных территорий исключительно методически важное условие при проведении учетных работ [6, 7]. В будущем это позволит пропорционально выделенным разноразселенным территориям проводить выборочные учеты. Тем самым исключить при экстраполяции данных ошибку учета за счет диспропорции выборки, могущей быть весьма значительной.

Учетная площадь показана на рисунке (рисунок).



Карта-схема с учетной площадью учета способом частичного отстрела:

— — — — — граница учетной площади

Учетная площадь с использованием ГИС-технологии определена равной 930 га. Она располагается на северо-восточной части территории базы, занимая бассейны левобережных притоков р. Нижний Кочергат (бассейны р. Большая Мольта и Малая Мольта, и тот и другой частично). Притом в учетную площадь вошла полоса левобережья р. Нижний Кочергат шириной до 2-х км и протяженностью около 5 км (рис). Эта полоса была плотно обследована при учетах.

Результаты учета особей рябчика представлены в табл. 1. Условия охоты были вполне обычными, птицы отстреливались «с подхода» при выпугивании. Естественно, что при повторных (последующих) встречах расстояние до места взлета увеличивалось, а шансы добычи уменьшались.

Наряду с таким учетом по рябчику, в октябре-ноябре 2018 г. по глухарю (*Tetrao urogallus*) использовался способ пробной ленты. На маршрутах учитывалось число встреченных птиц и расстояние до места их взлета. Рассчитанное среднее расстояние до места взлета дало ширину полуленты, удвоенное – ее ширину, а число встреченных птиц ее заселение глухарем. Этот учет дал плотность населения глухаря на осень в 4,3 особи на 1000 га охотничьих угодий. Такая плотность населения по глухарю относится к категории низкой, не выдерживающей никакого сравнения с предельно высокими плотностями населения этого вида [8, 9].

Тетерев-косач (*Lyrurus tetrix* L., 1758) в бассейне р. Нижний Кочергат не отмеча-

Таблица 1

Данные учета рябчика способом частичного отстрела в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-ноябре 2017 и 2018 г. на учетной площади.

Годы	Добыто	Осталось	Было на осень
2017	14	45	59
2018	16	46	62

Изъятие рябчиков от осеннего поголовья составило в 2017 г. 23,7%, их отстрел в 2018 г. определен равным 25,8%. Нельзя не отметить, что это относительно небольшая элиминация осеннего поголовья промыслом, в менее удаленных от населенных пунктов угодьях доля отстрелянных бывает значительно больше: вплоть до практически полного уничтожения.

В пересчете на площадь установлены следующие результаты плотности населения рябчика на 1000 га охотничьих угодий, которые представлены в табл. 2.

ется, как и куропатка (*Perdix daurica* Pallas, 1811), которая свойственна склону Приморского хребта к Байкалу, с большой площадью остепненных участков на крутых склонах. Все это в совокупности предоставляет возможности для обитания этого вида за пределами бассейна р. Нижний Кочергат.

Выявленная осенняя плотность населения указывает на близкий к среднему уровень численности по рябчику и на низкую численность глухаря, причины которой не совсем понятны, но скорее всего связаны с возрастной структурой леса, как след-

Таблица 2

Осенняя и послепромысловая плотность населения рябчика в охотничьих угодьях учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-ноябре 2017 и 2018 г., особей на 1000 га.

Годы	Осенняя	Послепромысловая
2017	63,4	48,4
2018	66,7	49,5

ствием промышленных рубок в бассейне р. Нижний Кочергат. Промышленные рубки ведутся на территории базы «Мольты» начиная с 1940-х гг. Поэтому большинство лесов на территории являются, хотя и преимущественно хвойными, но все же вторичными с возрастом преимущественно в 70–80 лет. В них значительна доля березовых и осиновых лесов. На остепненных участках встречаются пни того времени. Это указывает на то, что рубки способствовали выраженности остепнения южных склонов. В настоящее время, с учетом принадлежности территории к бассейну озера Байкал, рубки могут вестись лишь как выборочные, в форме разработки лесных горельников, ветровалов и проч.

Судя по результатам охоты и оставшейся на территории доли особей, охота на оба вида носила номинальный характер как осенью 2017, так и осенью 2018 г. Это предполагает то, что при относительно одинаковых прочих условиях, прежде всего кормовых, проявляющихся в урожайности ягодных растений, примерно такую же осеннюю численность особей в 2019 году.

Список литературы

1. Павлов Б.К. Управление популяциями охотничьих животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 144 с.
2. Леонтьев Д.Ф. Ландшафтно-видовой подход к оценке размещения промысловых животных юга Восточной Сибири: дис. ... докт. биол. наук. – Красноярск, 2009. – 369 с.
3. Леонтьев Д.Ф. Закономерности пространственного размещения промысловых млекопитающих юга Восточной Сибири // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 2. – С. 109–114.
4. Леонтьев Д.Ф. Геоэкологический аспект популяций промысловых млекопитающих Байкальского региона // Вестник развития науки и образования. – 2007. – № 1. – С. 10–17.
5. Леонтьев Д.Ф. Местообитания промысловых млекопитающих: аспект выделения разнотерриторий // Научное обозрение. Биологические науки. – 2016. – № 3. – С. 51–64.
6. Коли Г. Анализ популяций позвоночных. – М.: Изд-во «Мир», 1979. – 362 с.
7. Леонтьев Д.Ф. Структурирование территории и точность учета численности промысловых животных // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 8. – С. 76–79.
8. Данилов Д.Н. Охотничьи угодья СССР. – М.: Центрсоюз, 1960. – 284 с.
9. Данилов Д.Н., Русанов Я.С., Рыковский А.С., Солдаткин Е.И., Юргенсон П.Б. Основы охотустройства. – М.: Лесная промышленность, 1966. – 332 с.

УДК 639.1

**НАСЕЛЕНИЕ КОПЫТНЫХ И КРУПНЫХ ХИЩНИКОВ НА ОСЕНЬ 2018 Г.
ТЕРРИТОРИИ УЧЕБНОЙ БАЗЫ «МОЛЬТЫ»
УЧЕБНО-ОПЫТНОГО ОХОТНИЧЬЕГО ХОЗЯЙСТВА «ГОЛОУСТНОЕ»
(ЮЖНОЕ ПРЕДБАЙКАЛЬЕ)**

Суворова К.А., Рыков В.П., Козлова Н.Ю.

*Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, п. Молодежный
Иркутского района Иркутской области, e-mail: kbraudo@mail.ru*

Дана характеристика населению диких копытных животных и крупных хищников территории. Приведены сведения по видовому составу крупных охотничьих животных территории. Выполнены учеты численности кабарги и изюбря. Состояние численности кабарги оценено как низкое, состояние численности изюбря оценено как среднее. В количественном выражении это составило 4,2 на 1000 га охотничьих угодий по кабарге и 2,3 на 1000 га угодий по изюбрю. Население косули по декабрь включительно представлено на территории лишь местными особями. По причине очень низкой высоты снежного покрова обычная сезонная миграция косули с Онежской возвышенности не произошла, но она ожидаема на перспективу, после углубления снежного покрова по возвышенным местоположениям. В наблюдаемом охотничьем сезоне, как и в целом по хозяйству, отмечается высокая численность волка, пониженная в сравнении с предыдущим сезоном численность рыси. Хотя ситуация с рысью может измениться в связи с сезонной сменой стадий косули и изюбря, резкого увеличения их численности, которая вне всякого сомнения произойдет. Судя по остаткам трапез, их встречам, волки активно и результативно преследуют копытных.

Ключевые слова: копытные млекопитающие, условия обитания, численность, учеты, охотничий промысел

**POPULATION OF HUNDRED AND LARGE PREDATORS FOR THE AUTUMN
2018 TERRITORY OF THE EDUCATIONAL BASE «MOLTS» EDUCATIONAL
AND EXPERIMENTAL HUNTING ECONOMY «HOLOUSTNOJE» (SOUTH
PREDBAYKALJE)**

Suvorova K.A., Rykov V.P., Kozlova N.Y.

*Irkutsk State Agrarian University, Molodezhny, Irkutsk District, Irkutsk Region A.A. Ezhevsky,
e-mail: kbraudo@mail.ru*

The characteristic is given to the population of wild hoofed animals and large predators the territory. Performed surveys of number musk deer and red deer. The state of number musk deer is assessed as low, the state of number red deer is as average. In quantitative terms, it was 4.2 per 1000 hectares of hunting land for musk deer and 2.3 per 1000 hectares of land for red deer. The population of roe deer is until December inclusively represented in the territory only by local individuals. Due to the very low snow cover, the usual seasonal migration of roe deer from the Onot Upland did not occur, but it is expected in the future, after the snow cover has deepened in elevated locations. In the observed hunting season, there a high number of wolves, a lower number of lynx compared to the previous season. Wolves actively and effectively pursue.

Keywords: hoofed mammals, habitat conditions, abundance, counts, hunting ungulates

Отслеживание заселенности и состояния численности охотничьих животных является неотъемлемой частью ведения охотничьего хозяйства [1], гарантией исключения перепромысла, и гарантией результативности охоты. Численность особей отслеживается при учетах особей соответствующего вида животных. От численности зависят возможности изъятия особей при охоте, ее результативность как производственного процесса или рекреации, а иногда и сама возможность охоты как таковой. Всегда была и имеется возможность отслеживания состояния численности при ведении охотничьего промысла. Квалифицированные промысловые охотники и егеря могут держать численность и размещение особей в поле зрения, что

по крупным промысловым млекопитающим является особенно необходимым, т.к. они заселяют местообитания с относительно низкими плотностями населения. Размещение и численность отслеживаются по признакам жизнедеятельности животных: следам, экскрементам (фекальным кучкам копытных, лежкам, рогочесам, мочеточкам, запаховым меткам и проч.), поедям копытных и остаткам трапез крупных хищников. Для всего этого необходимо знать особенности территориального поведения животных, которые очень помогают в идентификации животных определенного вида.

Среди способов учета численности способ частичного отлова и отстрела является в охотоведении, пожалуй, самым старейшим. Его принцип прост: сколько

в определенных границах добыто, сколько осталось после промысла. В сумме это дает плотность населения на начало промысла, т.е. после периода воспроизводства, до изъятия части особей. Естественно, способ может учитывать и подкочевку животных на территорию. Только в таком случае экстраполяция полученной на пробах средней плотности населения должна осуществляться и на территорию, с которой животные подошли. Притом при невысоких плотностях населения, в особенности крупных млекопитающих, сам частичный отстрел (отлов) вовсе необязателен, т. к. с составом поголовья на учетной площади все бывает достаточно ясно и без него.

Итак, при относительно небольших плотностях населения (как в Восточной Сибири), судя по наличию признаков жизнедеятельности, есть возможность достаточно точно определить в очерченных границах число обитающих особей на конец периода воспроизводства, т.е. на осень. Этот способ широко применялся при охотустройстве крупных охотпромысловых хозяйств Сибири и Дальнего Востока (коопзверопромхозов) проектно-изыскательской охотэкспедицией Главкооппушнины Центросоюза СССР в 1960–1980-е гг. [2]. Он вместе с данными других учетов давал неплохие, достаточно адекватные результаты за счет прежде всего возможностей получения больших объемов выборок и перекрытия учетами весьма значительной площади угодий охотничьих хозяйств (обычно всегда более 5%), что вполне удовлетворяло статистическим требованиям.

На учебной практике по технологии добывания животных с 21 октября по 16 ноября 2018 г. и в след за ней (вплоть до конца декабря этого года) выполнены учеты этим способом на примере видов, представленных на территории и население которых можно отнести к очерченным границам учетной площади (рис). Итоги такого учета были подведены в конце декабря 2018 г. В соответствии с ландшафтно-видовой

концепцией охотничьей таксации [2], территориально учетная площадь, где проводились работы, может быть отнесена к оптимальным (наилучшим) местообитаниям косули, изюбря, рыси, волка и субоптимальным местообитаниям кабарги, лося и медведя [3, 4, 5].

Выделение в местообитаниях разнотеленных территорий является наиважнейшим требованием при проведении учетных работ [1, 7, 8]. Это позволяет в последствии пропорционально им организовать выборочные учеты, исключить при последующей экстраполяции ошибку за счет диспропорции выборки. Эта ошибка может быть очень значительной.

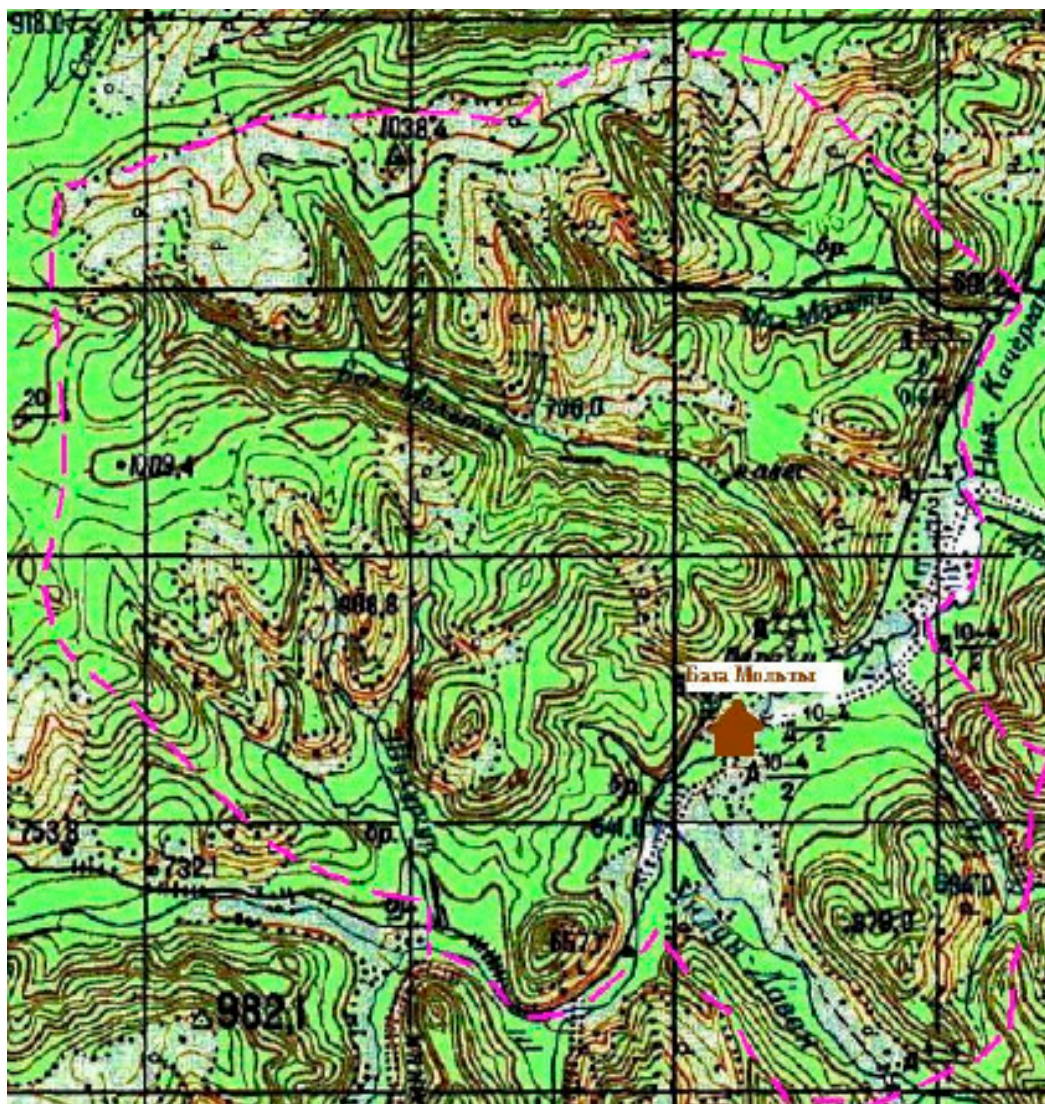
Учетная площадь представлена на рисунке.

Достаточно четко соотносить с очерченными границами можно было лишь население кабарги и изюбря. Сведения о них содержит таблица. Определенная с использованием ГИСтехнологии учетная площадь, занимает 4300 га. В пересчете на площадь определенное нами поголовье дало следующие результаты (таблица).

Данные учета кабарги и изюбря на учетной площади территории учебной охотничьей базы «Мольты» в октябре-декабре 2018 г.

Судя по полученным результатам, плотность населения изюбря можно, пожалуй, отнести к не менее чем средней для Южного Предбайкалья. Плотность населения кабарги на территории более чем скромная для региона, тем более в сравнении с другими регионами, на пример с местообитаниями этого вида по Восточному Саяну. Кабарга на территории учебно-опытного хозяйства «Голоустное», как и в других местах, ведет достаточно оседлый образ жизни. Никаких особых изменений численности на протяжении зимы не произойдет, хотя следовая активность обычно увеличивается в декабре связи с гоном.

Вид	Число особей на площади	Плотность населения
Изюбрь	10	2,3
Кабарга	18	4,2



Фрагмент карты-схемы с учетной площадью на территории базы «Мольты»:

— — — — — граница учетной площади

Высказаться достаточно точно о заселенности учетной площади косулей не представляется возможным. Судя по местному поголовью, речь может вестись о плотности населения более десятка особей на 1000 га охотничьих угодий. На протяжении зимы будет, по мере увеличения снежного покрова на Онотской возвышенности, увеличение поголовья за счет подкочевки из более высоких местоположений с глубоким снегом. Во всяком случае, заселенность территории, относящейся к наилучшим местообитаниям [2], достигает предельных для региона величин [9], т. е. более 20 особей на 1000 га охотничьих угодий. Это объясняется наличием очень хороших кормовых и защитных

условий. Кормовых – за счет остепненных участков на хорошо освещаемых солнцем и прогреваемых склонах. Их существование, наряду с более глубокими причинами, связано с промышленными рубками 1940-х-1950-х гг. Оставшиеся пни на этих склонах видны до сих пор. Защитные условия формирует на территории базы прежде всего рельеф, а также значительная завалежность.

Следы лося были отмечены лишь в верховьях р. Большая Мольтя, возле водораздела с р. Средний Кочергат.

Возле высоты у южной оконечности учетной площади (рис.) в середине ноября были отмечены следы четырех волков:

семейной пары и двух прибылых. При этом молодые отмечены при волчице, а самец – в активном поиске, видимо, для осуществления нагонов на них. Это указывает на обучающее поведение взрослых волков. Еще один волк отмечался 17 декабря этого года ближе к п. Нижний Кочергат. Нельзя не отметить, что, по сообщениям охотников и охотоведов, в 2018 отмечается небывало большая численность волка на территории охотхозяйства «Голоустное». К настоящему времени на территории хозяйства добыто уже 8 волков и это, видимо, еще не предел. Рысь (одна особь) отмечена в бассейне р. Каменистка, за пределами учетной площади. В ночь с 16 на 17 декабря из долины р. Нижний Кочергат (в среднем течении) на правобережье его бассейна поднялись 2 рыси. Следы медведя по первому обильному снегопаду в начале октября отмечены в верховьях р. Ундун-Даван, тоже за пределами учетной площади, видимо, перед залеганием в берлогу. Позапрошлой осенью, судя по следам в конце октября, этот зверь пересек бассейн р. Каменистка (правобережный приток р. Нижний Кочергат) в ее низовьях в сторону р. Ундун-Даван. Скорее всего, зверь двигался к месту залегания в берлогу.

Подводя итоги отмеченному, нельзя не сказать о том, что при относительно невысокой численности копытных на текущий момент на территории учебной охотничьей базы «Мольты» отмечается более высокая в сравнении с предыдущими годами числен-

ность волка. Это может сказаться на поголовье копытных к осени 2019 г.

Список литературы

1. Павлов Б.К. Управление популяциями охотничьих животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 144 с.
2. Леонтьев Д.Ф. Ландшафтно-видовой подход к оценке размещения промысловых животных юга Восточной Сибири: автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Красноярск, 2009. – 32 с.
3. Леонтьев Д.Ф. Использование экологической интерпретации ландшафтной карты в охотничьем хозяйстве Сибири // Известия Иркутской государственной экономической академии (Байкальский государственный университет экономики и права). – 2006. – № 1(46). – С. 43–46.
4. Леонтьев Д.Ф. Закономерности пространственного размещения промысловых млекопитающих юга Восточной Сибири // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 2. – С. 109–114.
5. Леонтьев Д.Ф. Геоэкологический аспект популяций промысловых млекопитающих Байкальского региона // Вестник развития науки и образования. – 2007. – № 1. – С. 10–17.
6. Коли Г. Анализ популяций позвоночных. – М.: Изд-во «Мир», 1979. – 362 с.
7. Леонтьев Д.Ф. Структурирование территории и точность учета численности промысловых животных // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2009. – № 8. – С. 76–79.
8. Леонтьев Д.Ф. Местообитания промысловых млекопитающих: аспект выделения разноразселенных территорий // Научное обозрение. Биологические науки. – 2016. – № 3. – С. 51–64.
9. Смирнов М.Н. Крупные промысловые млекопитающие Южной Сибири (история формирования видовой состава, ресурсы, экологические основы использования и охраны): дис. ... докт. биол. наук в форме научн. доклада. – М., 1994. – 68 с.

УДК 612.172.4:611.1

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНОСОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ

Сухова А.П., Хмара К.В., Васенко Е.А., Жерихова Я.Н.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград, e-mail: suhova1231997@mail.ru

Сердечнососудистая патология традиционно уже много десятилетий является ведущей причиной смертности во всем мире. В связи с этим исследования в области биологии сердечнососудистой системы являются приоритетными, так как позволяют вскрывать тонкие механизмы патогенеза патологии сердца и сосудов, выявлять причинные факторы нарушения их функции, а также разрабатывать новые подходы к оценке их функционирования в физиологических и патологических условиях. Перспективным направлением является разработка новых инструментальных технологий для более точной и быстрой диагностики функции сердца и сосудов с учетом различных параметров (пол, возраст, интоксикация и т.д.). Помимо классических способов оценки функционального состояния сердечнососудистой системы – электрокардиографии и неинвазивной оценки артериального давления в сосудах, разработаны и широко применяются как в кардиологической практике, так и в экспериментальной биологии, методы инвазивной оценки артериального давления, методы оценки величины сердечного выброса, оксиметрии, а также аппаратные системы для комплексного исследования различных параметров деятельности сердца и сосудов.

Ключевые слова: оценка функционального состояния сердечнососудистой системы, электрокардиография, артериальное давление, оценка сердечного выброса, оксиметрия

MODERN APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL STATE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN CLINICAL MEDICINE AND EXPERIMENTAL BIOLOGY

Sukhova A.P., Khmara K.V., Vasenko E.A., Zherikhova Y.N.

Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd, e-mail: suhova1231997@mail.ru

Cardiovascular pathology has traditionally been the leading cause of death worldwide for decades. In this regard, research in the biology of the cardiovascular system is a priority, as it allows revealing the subtle mechanisms of pathogenesis of the pathology of the heart and blood vessels, identifying the causal factors of impaired function, as well as developing new approaches to assessing their functioning under physiological and pathological conditions. A promising direction is the development of new instrumental technologies for more accurate and rapid diagnosis of cardiac and vascular function, taking into account various parameters (gender, age, intoxication, etc.). In addition to the classical methods of assessing the functional state of the cardiovascular system – electrocardiography and non-invasive assessment of blood pressure in vessels, methods for assessing the amount of cardiac output, oximetry, as well as methods of invasive assessment of blood pressure have been developed and are widely used in cardiology hardware systems for a comprehensive study of various parameters of the activity of the heart and blood vessels.

Keywords: evaluation of the functional state of the cardiovascular system, electrocardiography, blood pressure, cardiac output, oximetry

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире: ни по какой другой причине ежегодно не умирает столько людей, сколько от ССЗ. По оценкам, в 2017 году от ССЗ умерло более 18 миллионов человек, что составило 1/3 всех случаев смерти в мире. Схожая картина наблюдается и в России, где главной причиной смерти россиян, так же являются ССЗ – почти половина (47% на 2017 год) летальных исходов [1,2]. Все это обуславливает приоритетность исследований в области патологии сердечнососудистой системы, и в частности ее функционального состояния, не только в России, но и во всем мире.

Перспективным направлением в оценке состояния сердечнососудистой системы яв-

ляется разработка новых инструментальных технологий для более точной и быстрой диагностики функции сердца и сосудов с учетом различных параметров (пол, возраст, интоксикация и т.д.) [3–6].

Традиционно к базовому инструментальному методу оценки сердечнососудистой системы как в кардиологической клинике, так и в экспериментальной биологии, является электрокардиография (ЭКГ) – объективный метод регистрации разности потенциалов работающего сердца [7]. Электрокардиограмма – графическое отображение снятых с поверхности тела разности потенциалов, возникающих в результате его работы, путем регистрации усредненных всех векторов потенциалов действия, возникающих в определенный момент времени работы

сердца. В настоящее время ЭКГ относится к числу эталонных методов исследования сердца. Международным эталоном является регистрация ЭКГ в 12 общепринятых отведениях: три стандартных (I, II, III), три однополюстных усиленных от конечностей (aVL, aVR, aVF) и шести грудных усиленных однополюстных отведений Вильсона (V1 – V6). При необходимости используются отведения Неба (Д, А, J). Спинные отведения (V7, V8, V9), Франка (X, Y, Z), отведения Эванса (R0), Линка, Льюиса, CS, пищеводные, внутриполостные отведения. ЭКГ проводится с помощью специального прибора – электрокардиографа, который имеет различные модификации, разное количество каналов для исследования, способы обработки и фиксирования полученных результатов, а также различные методики, в которых он применяется (чреспищеводная электрокардиография, векторкардиография, суточное Холтеровское мониторирование и т.д.).

ЭКГ является «скрининговым», первым инструментальным исследованием сердечной патологии. При этом можно выявить признаки ишемии миокарда, как свежие, так и ранее перенесенные инфаркты. Своеобразная картина имеется при нарушении ритма, отмечаются признаки артериальной гипертензии, сердечной недостаточности.

Другим важным показателем состояния сердечнососудистой системы является величина кровяного давления в сосудах – артериального давления (АД). Существуют инвазивный и неинвазивный методы исследования кровяного давления [8].

Инвазивный метод позволяет непрерывно следить за состоянием пациента с нестабильным давлением, наблюдать за динамикой работы сердца и сосудистой системы, а также определять эффективность проводимой терапии. Чаще всего инвазивное измерение применяется во время: искусственной вентиляции лёгких, кардиохирургических операций, кардиогенного шока, диагностики кислотно-основного и газового состава крови в артериях. Кроме этого, нередко такой метод применяется в родильных домах для контроля состояния недоношенных малышей.

Процедура измерения проводится под местным наркозом. Необходимость его заключается в обезболивании той части тела, где будет установлен катетер, который соединён с датчиками при помощи трубок. По этим трубкам запускается специальная жидкость, предотвращающая свёртыванию крови и обеспечивающая передачу колебаний к датчику. Чтобы показатели были точными, датчик устанавливается обязательно

на уровне сердца. После того как датчик получает колебания кровяного напора, происходит преобразование их в электрические сигналы, которые впоследствии передаются компьютеру и выводятся на монитор. С помощью инвазивного метода измерение давления происходит непрерывно, а данные отражаются на мониторе. Кроме того, существует несколько особенностей, которые необходимо учитывать: Во время измерения важно, чтобы пациент находился под постоянным присмотром специалиста. Специальная жидкость, протекающая по трубкам, и катетер должны меняться 1 раз в 24 часа. Чаще всего для трубок применяется физиологический раствор, но если у пациента из-за него повышается АД, то может быть использована глюкоза. При смене катетера важно следить, чтобы в артерию не попал воздух. Если во время измерения образуются сгустки крови, их необходимо обязательно удалять, так как существует риск развития опасных осложнений.

Неинвазивный метод измерения кровяного давления – аускультативный метод. Аускультативный метод измерения артериального давления был изобретен в 1905 году русским хирургом Н.С. Коротковым. В настоящее время, согласно приказу Минздрава РФ метод Короткова считается основным способом измерения АД (артериального давления). Кроме того, Всемирная организация здравоохранения приняла методику как референтный способ неинвазивного определения АД. Типичным прибором для измерения давления по методу Короткова является механический тонометр с фонендоскопом. Существуют также ртутные и электронные тонометры, использующие аускультативный метод, но они не получили широкого распространения, поэтому рассмотрим процедуру с использованием классического прибора. В основе аускультативного метода измерений артериального давления лежит процесс выслушивания звука пульсации (тонов Короткова) пережатой артерии. Для этого перед началом процедуры на плечо пациента надевается и плотно фиксируется манжета тонометра. Важно, чтобы манжета покрывала участок артерии, находящийся на 2–3 сантиметра выше локтевой ямки. При помощи интенсивного сдавливания груши тонометра в манжету накачивается воздух. Нагнетание прекращается ориентировочно на 30 мм. рт. ст. выше уровня систолического давления, когда пульсация артерии полностью перестает прослушиваться. В этот момент давление в манжете прибора достаточно высокое, и полностью перекрывает кровоток. Специалист, проводящий измерения, прислоняет голову сте-

тоскопа к сгибу локтя, туда, где проходит лучевая артерия, и внимательно выслушивает тоны, синхронные с сердцебиением. Первый тон Короткова проявляется, когда давление падает до уровня, равного систолическому или верхнему давлению. Кровь в этот момент проходит рывками по сдавленной манжете артерии (пульсация). Затем воздух в манжете начинает спускаться, давление падает, и оно перестает создавать ограничения кровотоку. Тоны приглушаются, пока не исчезают окончательно, что характерно для диастолического или нижнего давления.

Измерение сердечного выброса. В клинической практике сердечный выброс (СВ) можно оценить измерением импеданса грудной клетки или более обычным и надежным методом разведения индикатора.

В своей простейшей форме первичную основу определения СВ по методу Фика (Fick) можно объяснить следующим образом: количество любого маркера, содержащегося в статическом объеме, представляет собой произведение этого объема и концентрации.

В классическом варианте в качестве индикатора использовался краситель, поддающийся обнаружению спектрофотометрическим методом (например, индигоцианин или «кардиогрин»), который связывается с плазменным белком.

В динамической системе, в которую непрерывно добавляется и из которой непрерывно выводится маркер, скорость выведения маркера равна произведению скорости потока и разности концентраций на входе и выходе области выведения.

В равновесном состоянии никакого повышения или снижения маркера не происходит.

Например, если артериальный кислород потребляется организмом и пополняется с той же скоростью легкими, VO_2 — это произведение СВ и разности концентраций O_2 между артериальной и смешанной венозной (легочной артериальной) кровью.

Поэтому, если скорость потребления O_2 известна или легко оценивается, определив содержание O_2 в артериальной и смешанной венозной (взятой из легочной артерии) крови, можно вычислить скорость потока (сердечный выброс).

Однако в нестабильных условиях результаты этих вычислений могут быть совершенно ошибочными.

Термодиллюционный метод. Подобный же принцип применяется для определения СВ термодиллюцией, при которой введенный и разведенный тепловой маркер является тепловым дефицитом и скорость его исчезно-

вения за счет разбавления теплой венозной кровью является показателем скорости кровотока.

Хотя все введенные в легочную артерию катетеры позволяют получить пробу смешанной венозной крови для определения по методу Фика (Fick), возможности термодиллюции обеспечивают более удобное, повторяющееся и точное измерение кровотока.

Чувствительный малоинерционный термистор, прикрепленный к концу катетера, под влиянием колебаний температуры непрерывно изменяет электрическое сопротивление, реагируя на тепловые изменения в крови легочной артерии.

Как дополнительное преимущество термистор обеспечивает высоконадежное, непрерывное считывание внутренней температуры тела.

Когда порция холодной жидкости поступает в правое предсердие, она смешивается с теплой венозной кровью, возвращающейся с периферии.

Правый желудочек перемешивает и гомогенизирует две жидкости, и термистор регистрирует динамическую температурную кривую, образующуюся, когда смесь промывает проксимальную часть легочной артерии.

При должном внимании к методу получения данных термодиллюционный метод оценки СВ дает информацию, хорошо сопоставимую с результатами, полученными в стабильном состоянии методом Фика (Fick) и разведением красителя.

Оксиметрия — это метод измерения концентрации кислорода в крови. Мониторинг концентрации кислорода в крови позволяет не только диагностировать некоторые заболевания, но и предотвратить их возникновение, составить программу лечения, профилактики и реабилитации.

Оксиметрия выполняется с помощью оксиметра, фотоэлектрического устройства, специально предназначенного для этой цели. Для исследования применяется специальный датчик, который крепится к ногтевой фаланге пальца или на другом участке тела с незначительной толщиной (стопа новорожденного, мочка уха), а также на поясе пациента. В медицинских учреждениях применяются стационарные модели. Существует также инвазивный метод измерения уровня концентрации кислорода в крови. В основе инвазивного метода лежит использование пробы крови в лабораторных условиях. Этот метод более точный, но не может применяться для непрерывного мониторинга.

Оксиметры, которые наиболее часто используются сегодня, называются пульсоксиметрами.

симетры, потому что они реагируют только на пульсацию, например, в области пульсирующих капилляров зоны тестирования.

Пульсометр пропускает луч красного и инфракрасного света через русло пульсирующего капилляра, фиксируя меру насыщения крови кислородом. Оксиметр работает по принципу, основанному на том, что кровь, насыщенная кислородом, имеет более яркий красный цвет, чем венозная кровь, для которой характерен сине-фиолетовый цвет. Прежде всего, пульсоксиметр измеряет интенсивность и оттенки красного, представленные в фракции крови с кислородом и без кислорода. Пульсоксиметр обнаруживает пульс, а затем вычитает интенсивность цвета, когда пульс отсутствует. Эта информация отображается на электронном экране в виде процента насыщения кислородом в крови.

На сегодняшний день существует множество различных приборов и тест-систем для проведения вышеописанных методов. Важным аспектом для создания диагностической аппаратуры являются высокий функционал, высокочувствительность, точность и мобильность. На рынке медицинских приборов представлены следующие тест-системы и приборы:

Системы КД Mikro-Tip. В данной базовой системе присутствует главная особенность – высоконадежное измерение сигналов давления при беспрецедентной точности. При работе с этой системой мы можем получить точное разрешение сигнала, большой выбор катетеров Миллара Mikro-Tip. При помощи функций LabChart (Циклические Измерения, Арифметика и Блокнот Данных) можно записать и показать в реальном времени параметры КД. К ним относятся: систолическое, диастолическое и среднее кровяное давление, а также ЧСС. В LabChart при помощи анализа предсердных и желудочковых колебаний можно получить анализ модуля кровяного давления.

ЭКГ и частота сердечных сокращений. ЭКГ происходит при помощи биоусилителей ADInstruments, предназначенных для работы с человеком, следовательно, они обеспечивают полную изоляцию, чтобы гарантировать безопасность. Биоусилитель FE132 предназначен для записи одиночного канала ЭКГ. Благодаря Двухканальному биоусилителю FE135 или Восьмиканальному биоусилителю ML138 можно записывать большое количество каналов ЭКГ. Суще-

ствует способ получения многоканального ЭКГ – запись двух стандартных отведений ЭКГ двухканальным биоусилителем, а при помощи LabChart произвести расчет оставшихся четырех. Двухканальный Биоусилитель/Стимулятор ML408 имеет в себе стимулятор, подходящий для человека, а также двухканальный усилитель, предназначенный для проведения точных электрохимических стимуляции испытуемых. ADInstruments включает в себя 8-канальный GT205/F и 16-канальный GT201/F биоусилители.

Измерение кровотока можно провести при помощи Допплеровского флуометра для крови IN191. Существуют MPT-совместимые поверхностные лазерные Допплеровские зонды, подходящие для измерения перфузии крови кожи, тканей и мозга. Для того чтобы определить сердечный выброс при помощи метода термодилуции используют приставку для сердечного выброса ML313C со сверхбыстрой термопарой T-типа MLT1402.

Список литературы

1. Бадин Ю.В. Эпоха-АГ 1998–2017 гг.: Динамика распространённости, информированности об артериальной гипертонии, охвате терапией и эффективного контроля артериального давления в европейской части РФ / Ю.В. Бадин, И.В. Фомин, Ю.Н. Беленков [и др.] // Кардиология. – 2019. – № Т. 59. № 1S. – С. 34–42.
2. Букатин М.В., Никитин С.А., Лямкина Е.А., Никулина А.А. Эпидемиологическая ситуация по распространённости заболеваний с артериальной гипертензией среди детей и подростков Волгоградской области // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 10. – С. 51.
3. Сливина Л.П., Букатин М.В., Молодцова И.А., Калинин Е.И., Кузнецова О.Ю. Состояние здоровья детей и подростков: экологическая детерминанта // Качество жизни населения и экология. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2015. – С. 34–50.
4. Стрюк Р.И. Ранние маркеры сердечно-сосудистого риска у женщин с наследственной отягощённостью по сердечно-сосудистым заболеваниям / Р.И. Стрюк, Я.В. Брыткова, С.А. Бернс [и др.] // Кардиология. – 2018. – Т. 58; № 6. – С. 51–60.
5. Максимов С.А., Цыганкова Д.П. Популяционный риск развития ишемической болезни сердца в зависимости от объёма потребления алкоголя населением (Исследование эссе-РФ в Кемеровской области) // Кардиология. – 2019. – Т. 59; № 1. – С. 62–68.
6. Букатин М.В., Кузубова Е.А., Бугаева Л.И. Изучение профиля функционально-поведенческой токсичности препарата бемитил // Современные наукоемкие технологии. – 2007. – № 11. – С. 68.
7. Вилковский Ф.А. Клиническая ЭКГ с основами фармакотерапии: нормальная ЭКГ, ЭКГ при ОКС // Врач скорой помощи. – 2016. – № 1. – С. 67–70.
8. Акинин В.В. Исследование и разработка способов измерения и мониторинга артериального давления: автореф. дис. ... канд. тех. наук: 05.11.17. – Пенза, 2016. – 22 с.

УДК 504.3.054

УГОЛЬНЫЙ РАЗРЕЗ «КАНГАЛАССКИЙ» КАК ИСТОЧНИК ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА (ЦЕНТРАЛЬНАЯ ЯКУТИЯ)

Егорова З.Н.

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Якутск,
e-mail: 95egorova_zoya@mail.ru

В статье представлен анализ загрязнения атмосферного воздуха пылегазовыми выбросами на объектах открытой разработки месторождений полезных ископаемых и мероприятия по их снижению на примере Кангаласского бурогоугольного месторождения (Центральная Якутия). «Разрез Кангаласский» – одно из старейших угледобывающих предприятий Республики Саха (Якутия). При открытой разработке угольных месторождений происходит значительное загрязнение атмосферы пылегазовыми выбросами. Пылевые выделения зависят от многих факторов, основными из которых являются пылеобразующая способность угольных пластов и вмещающих горных пород, микроклимат в районе ведения работ (температура и влажность воздуха, скорость движения воздушного потока), способ разработки месторождения, технология ведения горных работ и т.д. Таким образом влияние горных работ на природную среду не ограничивается границами горного отвода. Пылегазовое облако, образующееся при буровзрывных работах и при транспортировании горной массы может распространиться на значительные расстояния. Загрязнение атмосферы наносит существенный ущерб качеству окружающей среды и оказывает негативное влияние на здоровье работников и на население, проживающих вблизи. Чтобы этого не допустить необходимы мероприятия по предотвращению или сокращению процессов данного производства.

Ключевые слова: угольный разрез, атмосферный воздух, пылегазовые выбросы

KANGALASSKY COAL MINE AS A SOURCE OF AIR POLLUTION (CENTRAL YAKUTIA)

Egorova Z.N.

North-Eastern Federal University in Yakutsk (NEFU), Yakutsk, e-mail: 95egorova_zoya@mail.ru

The analysis of pollution of air by pulverized coal and gas emission on objects of opencast mining of mineral deposits and actions for their drop on the example of the Kangalassky brown-coal field (the Central Yakutia) is presented in article. «The Kangalassky coal mine» – one of the oldest coal-mining enterprises of the Republic of Sakha (Yakutia). At open-cast mining of coal fields there is the considerable air pollution by pulverized coal and gas emission. Dust emitting depends on many factors, the ability of producing pulverized coal of coal layers and the containing rocks formation, microclimate around conducting works (temperature and air moisture, speed of the movement of air flow), mining mode, technology of conducting mining operations etc. Thus influence of mining operations on the environment isn't limited to borders of mountain branch. The cloud from dust and gas, which is formed during the drilling-and-blasting works and at transportation of mountain weight, can extend to the considerable distances. Air pollution causes essential damage to quality of a surrounding medium and has negative impact on health of the workers and on the population living close. That actions for prevention or reduction of processes of this production are necessary not to allow it.

Keywords: coal mine, air, pulverized coal and gas emission

«Разрез Кангаласский» – одно из старейших угледобывающих предприятий Республики Саха (Якутия) разрабатывает Кангаласское бурогоугольное месторождение (Ленский бассейн) в сложных природно-климатических и горнотехнических условиях Крайнего Севера и расположено в 45 км. к северу от г. Якутска. Рядом с разрезом имеется поселок Кангалассы. Как и по всей Якутии на этом участке повсеместно распространена устойчивая многолетняя мерзлая порода, мощность которой составляет более 400 метров. Климат района резко-континентальный с продолжительной зимой (до 7 месяцев) и коротким, но жарким летом. Режим работы разреза делится на 2 этапа: первый на добыче (сентябрь-апрель) – второй на вскрыше (апрель-август).

При открытой разработке угольных месторождений происходит значительное загрязнение атмосферы пылегазовыми выбросами. Загрязнение атмосферы наносит существенный ущерб качеству окружающей среды и оказывает негативное влияние на здоровье работников и на население, проживающих вблизи.

Влияние горных работ на природную среду не ограничивается границами горного отвода. Пылегазовое облако, образующееся при буровзрывных работах и при транспортировании горной массы может распространиться на значительные расстояния. Например, при открытой разработке угля 40–50% пыли образуется при взрывных работах, 20–25% выделяется при погрузке отбитой горной массы и 25–40% при транспортировке

по внутрикарьерным дорогам. От 5–15 % (при транспортировке) до 70–75 % (массовые взрывы) пыли выносятся за пределы карьера. Составляющие смеси при этом, осаждаясь и накапливаясь в почвенно-растительном покрове за длительное время, изменяют его химический состав. Продукты разрушения и дезинтеграции горных пород попадают и на поверхность водных объектов. Весенними тальми водами, накопившийся за зимний период осадок мельчайших частиц с горных предприятий, привносится в речную сеть и вносит свое отрицательное влияние на изменение геохимического состава воды и донных осадков [1].

Пылевыведение зависит от многих факторов, основными из которых являются пылеобразующая способность угольных пластов и вмещающих горных пород, микроклимат в районе ведения работ (температура и влажность воздуха, скорость движения воздушного потока), способ разработки месторождения, технология ведения горных работ, применяемая техника, ее оснащение пылеулавливающими и пылеподавляющими устройствами, принятая схема проветривания горных выработок, эффективность мероприятий по борьбе с пылью и т.д. [2, с. 25].

Угольный разрез «Кангаласский» принадлежит месторождениям, где содержание свободного SiO_2 во вмещающих породах достигает 30–40 % и превышает допустимую норму по селикзоопасности. В элементном составе взвешенной угольной пыли обнаруживаются компоненты, которые могут отрицательно воздействовать на организм человека (Be, V, Cr, Ba, Pb и др.). Угольная

пыль может быть причиной распространения профессиональных заболеваний (органов дыхания, кожи, подкожной клетчатки и пищеварения). Кроме того, угольная пыль имеет повышенную взрывоопасность (IV группа) [3, с. 157].

Источники загрязнения атмосферного воздуха разреза размещаются на следующих промплощадках:

1. Промплощадка разреза расположена в пос. Кангалассы по ул. Карла Маркса, 8. На территории площадки размещены: гараж, склады запчастей, РСХ, АБК. Выделение загрязняющих веществ будет происходить при выполнении сварочных работ, деревообработке, металлообработке, зарядке аккумуляторов, шиномонтажных работах, мойке деталей узлов и агрегатов, при работе автомашин и др. техники;

2. Склад угля расположен в 2 км от п. Кангалассы на берегу р. Лена. Выбросы загрязняющих веществ будут наблюдаться при складировании угля и сдувании с открытой поверхности;

3. Угольный разрез. На разрезе «Кангаласский» в настоящее время отрабатываются запасы первоочередного участка. Выбросы загрязняющих веществ на разрезе будут происходить при буровзрывных, погрузочных, вскрышных работах, транспортировке угля и вскрыши, отвалообразовании и сдувании с открытой поверхности отвала.

Перечень загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух источниками загрязнения угольного разреза представлены в таблице.

Загрязняющие вещества, выбрасываемые в атмосферный воздух источниками загрязнения угольного разреза

№	Наименование	Используемый критерий	Значение критерия, мг/м ³	Класс опасности
1	Азота диоксид	ПДК м/р	0,2	5
2	Азота оксид	ПДК м/р	0,4	3
3	Сажа	ПДК м/р	0,15	3
4	Ангидрид сернистый	ПДК м/р	0,50000	3
5	Углерод оксид	ПДК м/р	5,0	3
6	Бенз/а/пирен (3,4Бензпирен)	ПДК с/с	1,00Е-06	4
7	Формальдегид	ПДК м/р	0,03500	1
8	Керосин	ОБУВ	1,2	2
9	Взвешенные вещества	ПДК м/р	0,5	0
10	Пыль неорганическая: 70–20 % SiO_2	ПДК м/р	0,30000	3
11	Пыль неорганическая: до 20 % SiO_2	ПДК м/р	0,50000	3

Таким образом, при разработке угольных месторождений негативному воздействию подвергаются практически все составляющие экосистемы рельеф, атмосфера, поверхностные и подземные воды, почвенно-растительный покров, животный мир и, конечно же, человек. Чтобы этого не допустить необходимы мероприятия по предотвращению или сокращению процессов данного производства.

Для снижения выбросов загрязняющих веществ в атмосферу предприятием используется и предлагаются такие мероприятия:

1. Применение экскаваторов с электродвигателями, отпуск угля непосредственно в машины потребителей (без промежуточного склада) также ведет к значительному уменьшению выбросов загрязняющих веществ в атмосферу;

2. При взрывных работах предусматриваются следующие мероприятия по пылеподавлению:

- взрывание угольного массива в режиме рыхления на встряхивание;

- применение короткозамедленного взрывания, при котором повышается интенсивность дробления, уменьшается нарушение сплошности массива вне зоны дробления, обеспечивается компактный развал горной массы и снижается сейсмическое действие взрыва, что в конечном итоге ведет к уменьшению расхода ВВ и уменьшению выбросов загрязняющих веществ в атмосферу;

- применение гидрогелевой забойки уменьшает выброс пыли на 50 %, выброс газов на 85 %;

3. При эксплуатации машин и механизмов предусматривается:

- обеспечение качественного технического обслуживания машин и механизмов для поддержания эффективного сжигания топлива, контроль содержания вредных веществ в отработанных газах;

- использование сортов топлива, удовлетворяющих требованиям ГОСТ;

- регулировка топливной аппаратуры ДВС.

4. Применение экскаваторов с электродвигателями, отпуск угля непосредственно в машины потребителей (без промежуточного склада) также ведет к значительному уменьшению выбросов загрязняющих веществ в атмосферу;

5. На этапе эксплуатации для минимизации негативного воздействия на атмосферный воздух разрабатывается проект нормативов предельно допустимых выбросов (ПДВ). На основании данного проекта выдается разрешение на выброс вредных (загрязняющих) веществ в атмосферный воздух.

Тем не менее разработка Кангаласского месторождения сопровождается большими объемами пылевых выбросов и приводит к характерным изменениям химического состава снежного покрова в поле техногенного воздействия. Снеговой покров является исключительно благоприятным объектом при изучении загрязнения природной среды. Обладая высокой сорбционной способностью снег способен захватывать во время снегопада существенную часть продуктов техногенеза и откладывать их на поверхность земли. В снеговом покрове аккумулируется также пыль, оседающая в периоды между снегопадами. Наблюдаются следующие закономерности: возрастает объем твердой фазы в снежном покрове, величина минерализации и градиент изменения концентраций большинства компонентов уменьшаются с удалением от карьера. Геохимическое поле, создаваемое разработкой месторождения, охватывает всю территорию карьера и поселка и тянется к югу по направлению преобладающих ветров [4, с. 17].

Итак уровень запыленности воздуха в карьерах на всех технологических процессах зимой значительно выше летних показателей [2, с. 26], что доказывает, как указано выше пылеобразующая способность угольных пластов зависит от температуры месторождения. Так как добыча угля производится в основном в зимний период и пылеподавление в разрезе и на отвалах происходит естественным путем за счет снега. Что является недостаточно эффективным методом. Поэтому в условиях севера для пылеподавления искусственным снегом рекомендуем применять снегогенераторные установки, разработанные ИГДС СО РАН, основным достоинством которого является работоспособность при очень низких температурах (до -45 °С). Так же исследованиями установлено, что на угольных карьерах Севера может быть рекомендовано применение сухой уборки пыли с полотна автодороги, покрытие его искусственным снегом, орошение подогретым водным раствором ПАВ, обработка полотна дороги отработанными маслами [5].

Список литературы

1. Мишина В.В. Проблемы открытой добычи угля и пути их решения в г. Нерюнгри [Электронный ресурс]. – URL: <http://econf.rae.ru/article/5727> (дата обращения: 29.01.2019).
2. Иванов В.В. Экологические аспекты разработки угольных месторождений Северо-Востока России / Под ред. Ю.В. Шумилова. – М.: ООО «Недра-Бизнесцентр», 2007. – 116 с.
3. Угольная база России. Том V. Книга 2. Угольные бассейны и месторождения Дальнего Востока России (Республика Саха, Северо-Восток, о. Сахалин, п-ов Камчатка). – М.: ЗАО «Геоинформмарк», 1999. – 638 с.
4. Оценка влияния Кангаласского угольного комплекса на окружающую среду: Препринт. – Якутск: изд. ЯНЦ СО СССР, 1992 – 40 с.
5. Осодоев М.Т. Борьба с пылью на угольных разрезах Якутии. – Якутск: изд. ЯФ СО АН СССР, 1987. – 116 с.

УДК 504.03

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ – ВАЖНЕЙШИЕ ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОСТИ

Лузгина В.А., Шишелова Т.И.

ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск,
e-mail: varya.luzgina@mail.ru

В статье приводятся основополагающие условия комфортной среды для настоящих и будущих поколений, выделяются основные проблемы Иркутской области и предлагаются методы их решения. Хозяйственное освоение ресурсов области происходит в крупных масштабах, порою нерационально, с заметным нарушением природных комплексов, ухудшением экологических условий. При этом возникают нежелательные явления и процессы, которые принимают необратимый характер. Утвержденная в 2017 году «Государственная стратегия устойчивого развития Российской Федерации», призывает к необходимости перехода России к устойчивому развитию основным направлением которого является оздоровление окружающей среды и экологизация экономического развития, гармония мирового сообщества с природой. Для этого необходимо внедрять новые технологии для решения экологических проблем и проведения просветительной и воспитательной деятельности. В ряде случаев на предприятиях имеются большие затраты энергии и не соблюдаются экологические требования. В особенности это касается предприятий строительной индустрии, металлургии, нефтепереработки и других. Данная черта характерна и для предприятий Иркутской области. Такие показатели необходимо оставить в прошлом. Ресурсы нужно беречь, а для этого необходим комплекс мероприятий: создание законодательной базы, разработка нормативов, контроль их исполнения.

Ключевые слова: комфортная среда, Хартия Земли, экологическая культура, водоохранная зона, сохранение природы

ENVIRONMENTAL ISSUES –THE MAJOR ISSUES OF THE DAY

Louzguina V.A., Shishelova T.I.

Irkutsk National Research Technical University, Irkutsk, e-mail: varya.luzgina@mail.ru

The article presents the basic conditions of a comfortable environment for present and future generations, highlights the main problems of the Irkutsk region and suggests methods of their solution. Economic development of the region's resources occurs on a large scale, sometimes irrational, with a noticeable violation of natural complexes, worsening environmental conditions. Thus there are undesirable phenomena and processes which take irreversible character. The state strategy for sustainable development of the Russian Federation, approved in 2017, calls for Russia's transition to sustainable development, the main direction of which is the improvement of the environment and the greening of economic development, the harmony of the world community with nature. To do this, it is necessary to introduce new technologies to solve environmental problems and conduct educational and educational activities. In some cases, enterprises have high energy costs and do not comply with environmental requirements. In particular, this applies to the construction industry, metallurgy, oil refining and others. This feature is typical for enterprises of the Irkutsk region. Such indicators should be left in the past. Resources need to be protected, and this requires a set of measures: the creation of a legislative framework, the development of standards, monitoring their implementation.

Keywords: comfortable environment, earth Charter, ecological culture, water protection zone, nature conservation

Условия жизни будущих поколений зависят от нас, и для их улучшения нам необходимо создать комфортную среду обитания. В связи с этим, в процессе шестилетнего обсуждения в 1994–2000 гг. была создана так называемая Хартия Земли. Хартия Земли – документ, в котором описаны принципы и ценности устойчивого и мирного глобального общества в XXI в. Она направлена на пробуждение в людях чувства взаимозависимости всего живого сообщества и будущих поколений. Наша страна пока находится в процессе внедрения принципов устойчивого развития, позаимствованных как у ведущих развитых, так и у многих развивающихся стран. Долгосрочная стратегия устойчивого развития в России до сих пор отсутствует, но за последние пять лет отдельные принципы устойчивого развития

все чаще используются в законодательных актах и постановлениях Правительства.

Иркутская область является одним из крупнейших промышленных центров. Здесь построены и введены в эксплуатацию крупные ресурсоемкие предприятия-гиганты: это Иркутский и Братский алюминиевые заводы. Братский (рис. 1) и Усть-Илимский лесопромышленные комплексы, Ангарская нефтехимическая компания, Усольехимпром, Саянскхимпласт, Байкальский целлюлозно-бумажный комбинат (рис. 2) и другие. Мощности очистных сооружений большинства предприятий, как правило, не соответствуют производственным, работают сами предприятия неэффективно, часто выходят из строя, повторяют аварийные выбросы. Низкий технологический уровень, износ оборудования еще более усиливает отрица-

тельное влияние предприятий на окружающую среду. Не отвечает мировому стандарту высокий удельный показатель по выбросам и сбросам вредных веществ на единицу выпускаемой продукции. В связи с этим разработка ресурсосберегающих технологий и их использование в промышленности является актуальной задачей.

В Иркутском национальном исследовательском техническом университете эти задачи решаются планомерно. Проведенный преподавателями и студентами Института архитектуры, строительства и дизайна информативный поиск научных исследований показал, что в институте ведутся научные разработки с использованием энергосбе-



Рис. 1. Усть-Илимский лесопромышленный комплекс [1]



Рис. 2. Байкальский целлюлозно-бумажный комбинат [2]

регающих технологий, одним из направлений которых является реконструкция ранее построенных объектов путем снижения тепловых потерь и эффективности функционирования систем универсального теплоснабжения, а также оптимизации систем управления отопления и применения новых материалов [3]. Снижение тепловых потерь через ограждающую конструкцию является важной задачей экономии тепловой энергии, расходуемой на отопление зданий. Использование термоэлектрических устройств также способствует снижению энергетических затрат [4]. Дополнительно студентами факультета Института архитектуры, строительства и дизайна были выполнены проекты по повышению эффективности производства и использования энергии в условиях Сибири, результаты данных исследований освещены в материалах конференций [5].

Правительство Иркутской области во главе с губернатором предлагает следующие методы борьбы с предприятиями, наносящими вред окружающей среде и экологии в целом: ужесточить и использовать контроль над компаниями, загрязняющими окружающую среду, внедрить применение альтернативных источников энергии, использование солнечных батарей, водородного топлива и других сберегающих технологий, которые позволят уменьшить выброс токсичных соединений в атмосферу. Целевые федеральные программы направлены

на то, чтобы экологические проблемы Иркутской области, связанные с утилизацией и хранением производственных и бытовых отходов, решались планомерно и максимально эффективно. В этих программах активно участвуют не только крупнейшие компании России, но и высшие учебные заведения страны, в том числе Иркутский национальный исследовательский технический университет. Студенты принимали участие в различных программах по очищению окружающей среды: в экомарафоне «360 минут ради Байкала», цель которого – защита озера и уборка мусора с берегов, в форуме «Байкал», где рассматривали фитотехнологии для очистки сточных вод.

Иркутский полигон бытовых отходов (а попросту городская свалка) превратился в средневековый город (рис. 4). Поражает фантазия и трудолюбие людей, сотворивших такое чудо. На городском полигоне твердо-бытовых отходов теперь и вовсе не протолкнуться: люди едут сюда не только избавиться от мусора, но и посмотреть на новую городскую достопримечательность, которую уже окрестили «музеем на свалке». Все экспонаты этого музея сделаны из подручных средств, то есть из обычного мусора: старых стиральных машин, обрезков дерева, листов металла, деталей автомобилей, кусков фанеры. Все, что должно было найти здесь вечный приют, обрело новую жизнь благодаря творческому подходу сотрудников полигона.



Рис. 4. Полигон бытовых отходов [6]

Повсеместное освоение новых природных территорий для развития городской инфраструктуры оборачивается катастрофой для флоры и фауны. Всероссийское общество охраны природы обеспокоено строительством торгового центра на месте одного из болот «Птичьей гавани». По мнению председателя Президиума областного совета общества, засыпка недопустима, так как болота имеют особо важное значение для Иркутска. Участок на ул. Тракторной площадью 25,9 га был предоставлен компании «Новая земля» в мае 2015 г. Предприятие должно было построить торгово-развлекательный центр. В январе 2018 г. разрешение на ввод в эксплуатацию первой очереди строительства получило ООО «Лазурь».

Река Ушаковка, протекающая в Иркутской области по территории Иркутского района, ранее была полноводной судоход-

ной водной артерией. В 1892 г. по архивным данным ширина реки составляла от 80 до 100 м. С 1928 по 1953 г. рядом с устьем реки находился гидропорт Иркутска – ключевой гидроаэропорт Сибири (рис. 5). В 2012 г. была проведена плановая проверка, в ходе которой было выявлено 29 нарушений соблюдения природоохранного законодательства при осуществлении хозяйственной деятельности в водоохранной зоне реки Ушаковки в пределах Иркутска и Иркутского района. По результатам лабораторных анализов воды и стоков наблюдается загрязнение реки нефтепродуктами и биологическое потребление кислорода относительно предельно допустимых концентраций для водоема рыбохозяйственного значения (рис. 6). Выявлены самовольные занятия территории водоохранной зоны под кафе и жилищные застройки.



Рис. 5. Гидропорт Иркутска [7]



Рис. 6. Река Ушаковка, настоящее время [8]

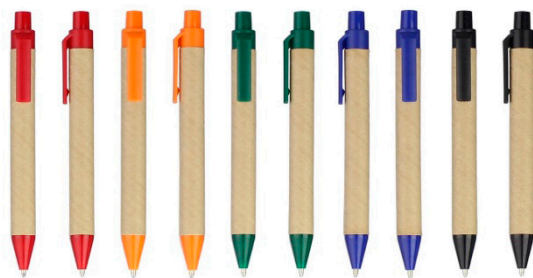


Рис. 7. Экологически безопасные ручки [9]



Рис. 8. Принтер [10]

В качестве решения экологических проблем проект Sprout, компания Lejoys, Eco-Pens выпускают продукцию, совершенно не вредящую природе, такие как: «Живые» карандаши, в которых вместо ластика находится небольшая капсула, где находятся семена растений и небольшое количество удобрений. После использования такие карандаши можно попросту посадить. Существуют не только карандаши, но и ручки, которые изготовлены не из привычного нам пластика, а из переработанных или полностью экологических материалов (рис. 7). Также разработан экологический принтер – в качестве чернил использует кофейную гущу (рис. 8).

Таким образом, вредя природе, мы сами загоняем себя в ловушку. Загрязнение окружающей среды представляет собой масштабную мировую проблему, решить которую возможно лишь при активном участии каждого, кто называет планету Земля своим домом, иначе экологическая катастрофа неминуема.

Список литературы

1. Ilm24.ru [Электронный ресурс]. – URL: https://ilm24.ru/gallery/lpk/Ust-Ilmiskiy_LPK_1379.jpg (08.02.2019).

2. Visualrian.ru [Электронный ресурс]. – URL: http://visualrian.ru/images/old_preview/142/67/1426721_preview.jpg (05.12.2018).

3. Шелехов И.Ю., Смирнов Е.И., Иноземцев В.П. Перспективы применения термоэлектрических генераторов в ЖКХ // Научное обозрение. – 2016. – № 13. – С. 85–88.

4. Шелехов И.Ю., Смирнов Е.И., Рупосов В.Л., Шишелова Т.И. Опыт использования термоэлектрических генераторов // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11–5. – С. 919–923.

5. Безопасность – 2018 // Проблемы экологической и промышленной безопасности современного мира: материалы докл. XXIII Всерос. студ. науч.-практ. конф. с междунар. уч. (г. Иркутск, 24–27 апреля 2018 г.). Иркутск, 2018. – 332 с.

6. Irk.ru [Электронный ресурс]. – URL: https://static.irk.ru/media/img/site/gallery/14281/4965f0ad-eeef0-4862-b39a-f07533de7965.jpg_1920x1300_x-False_q85.jpg (08.02.2019).

7. Википедия [Электронный ресурс]. – URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Иркутский_гидропорт#/media/File:Irkutsk_hydroport.jpg (05.12.2018).

8. Snews.ru [Электронный ресурс]. – URL: http://snews.ru/sites/default/files/bereg_ushakovki.jpg (08.02.2019).

9. Ae01.alicdn.com [Электронный ресурс]. – URL: <https://ae01.alicdn.com/kf/HTB1j5RKKFXXXXbnXFX-q6xXFXXXX/Lot-50pcs-Eco-paper-pen-plastic-clip-green-concept-environmental-friendly-ballpoint-pen-wholesale-customized-promotion.jpg> (08.02.2019).

10. Materialicious.com [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.materialicious.com/2014/12/riti-coffee-printer-the-eco-friendly-inking-solution.html> (08.02.2019).