

МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ
МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ТОМ 17
2017 № 4

ISSN 1608-4101



МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 4

ТОМ 17

2017

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Северо-Западное отделение медицинских наук
Институт экспериментальной медицины
Балтийский медицинский образовательный центр**

Главный редактор:
академик РАН *Г. А. Софронов*

Заместитель главного редактора:
академик РАН *Н. А. Беляков*

Ответственный секретарь:
доктор биологических наук
профессор РАН *А. В. Дмитриев*



Журнал рекомендован ВАК для публикации материалов диссертаций

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., д. 71,
Северо-Западное отделение медицинских наук,
Редколлегия журнала «Медицинский академический журнал»
Тел.: (812) 234-68-57

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com

Журнал зарегистрирован Территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Министерства РФ по делам печати, телевидения и средств массовой коммуникации.
Свидетельство о регистрации ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

Редакционная коллегия

Э. К. Айламазян — академик РАН, Санкт-Петербург
С. Ф. Багненко — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Б. Васильев — профессор, Санкт-Петербург
В. Р. Вебер — академик РАН, Великий Новгород
Ю. В. Лобзин — академик РАН, Санкт-Петербург
В. И. Мазуров — академик РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Майстренко — академик РАН, Санкт-Петербург
А. О. Марьяндышев — член-корреспондент РАН, Архангельск
В. В. Рассохин — д.м.н., Санкт-Петербург
А. С. Симбирцев — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. Г. Софронов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. Н. Суворов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. А. Тотолян — академик РАН, Санкт-Петербург
Т. Н. Трофимова — профессор, Санкт-Петербург
Е. В. Шайдаков — профессор, Санкт-Петербург
Ю. А. Щербук — академик РАН, Санкт-Петербург
Ю. К. Янов — академик РАН, Санкт-Петербург
Янг Йонгхонг — иностранный член РАН, Китай

Редакционный совет

А. Г. Баиндурашвили — академик РАН, Санкт-Петербург
В. С. Баранов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
И. П. Дуданов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
С. А. Кетлинский — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Е. А. Корнева — академик РАН, Санкт-Петербург
С. В. Лобзин — профессор, Санкт-Петербург
М. М. Одинак — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Л. В. Поташов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. С. Сапронов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. А. Скоромец — академик РАН, Санкт-Петербург
П. И. Сидоров — академик РАН, Архангельск
С. А. Симбирцев — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Р. М. Тихилов — профессор, Санкт-Петербург
П. Д. Шабанов — профессор, Санкт-Петербург
А. В. Шабров — академик РАН, Санкт-Петербург
Е. В. Шляхто — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Х. Хавинсон — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Яицкий — академик РАН, Санкт-Петербург

MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

№ 4

Vol. 17

2017

THE OFFICIAL PUBLICATION OF THE NORTH-WEST BRANCH OF MEDICAL SCIENCES
SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

**North-West Branch of Medical Sciences
Institute of Experimental Medicine
Baltic Medical Educational Center**

Editor in Chief:

G. A. Sofronov

Full Member of the Russian Academy of Sciences

Deputy Editor in Chief:

N. A. Belyakov

Full Member of the Russian Academy of Sciences

Executive Secretary:

A. V. Dmitriev

Doctor of Biological Sciences,
professor of the Russian
Academy of Sciences



Address: 197022, St. Petersburg, Kamennooostrovskiy, 71,
North-West Branch of Medical Sciences,
Editorial board «Medical academic journal»
Tel.: (812) 234-68-57

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com

Editorial Board

E. K. Ailamazian, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. F. Bagnenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. B. Vasiliev, professor, St. Petersburg
V. R. Veber, full member of the Russian Academy of Sciences, Velikiy Novgorod
Yu. V. Lobzin, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. I. Mazurov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Maistrenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. O. Maryandyshev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. S. Simbirtsev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. G. Sofronov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. N. Suvorov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. A. Totolyan, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
T. N. Trofimova, professor, St. Petersburg
Ye. V. Shaidakov, professor, St. Petersburg
Yu. A. Scherbuk, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yu. K. Yanov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yang Yonghong, foreign member of the Russian Academy of Sciences, China

Editorial Council

A. G. Baidurashvili, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. S. Baranov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg.
I. P. Dudanov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. A. Ketlinskiy, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. A. Korneva, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. V. Lobzin, professor, St. Petersburg
M. M. Odinak, corresponding member of the Russian Academy Sciences, St. Petersburg
L. V. Potashov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. S. Sapronov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. A. Skoromets, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
P. I. Sidorov, full member of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk
S. A. Simbirtsev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
R. M. Tikhilov, professor, St. Petersburg
P. D. Shabanov, professor, St. Petersburg
A. V. Shabrov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. V. Shlyakhto, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. H. Khavinson, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Yaitsky, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

СОДЕРЖАНИЕ

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В ИЗУЧЕНИИ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ И ВОЕННО-ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ

К.И. Павлов, В.Н. Мухин, А.В. Сырцев, А.Н. Архимук, В.Н. Сысоев, М.И. Петренко 7

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СИНДРОМ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПЕРПЕРФУЗИИ ПОСЛЕ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРЭКТОМИИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Н.О. Васильченко, О.В. Рублева, О.П. Вербицкий, С.В. Ордынец, А.А. Шабонов, член-корреспондент РАН И.П. Дуданов 17

СИСТЕМНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА, ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ И НЕЙРОВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ РИТМА СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

М.Х. Курданова, И.А. Бесланеев, М.Х. Курданова, Л.М. Батырбекова, Х.А. Курданов 22

ПАРАМЕТРЫ ТОНКОЙ ПСИХОМОТОРИКИ КАК ИНДИКАТОРЫ САМООЦЕНОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ «Я-КОНЦЕПЦИИ» СУБЪЕКТА

О.А. Клиценко, О.В. Самороднов 30

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С КО-ИНФЕКЦИЕЙ: ТУБЕРКУЛЕЗ И ГЕПАТИТ С

Д.Н. Оськин, А.Н. Варнавский 38

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ МЕЛАТОНИНА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Э.Х. Османов, Д.Ю. Семенов, А.П. Богданов, Л.Е. Колоскова, М.И. Зайцева, А.В. Соколов, В.Б. Васильев 44

ХРОНИКА

АНАЛИЗ БЕЛКОВЫХ МАСС-СПЕКТРОВ И ПОЛНОГО ГЕНОМА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *L. FERMENTUM*

Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В., Иванова Т.П., Жирнов В.А. 49

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ С УРОВНЕМ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Власов А.А., Саликова С.П., Гриневич В.Б., Быстрова О.В., Осипов Г.А., Шперлинг М.И. 51

ОСОБЕННОСТИ МЕЖМИКРОБНЫХ ОТНОШЕНИЙ В МИКРОБИОТЕ ВЛАГАЛИЩА ИНФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН

Годвалов А.П., Карпунина Т.И., Гуцин М.О. 53

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ МЕТАБОЛОМА БАКТЕРИЙ И КУЛЬТУР ТКАНЕЙ

Демьянова Е.В., Моргуина А.С., Виноградова А.Ф., Чалисова Н.И., Вахитов Т.Я. 55

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЭНТЕРОКОККОВ, КАНДИД И ЛАКТОБАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ВАГИНАЛЬНОГО БИОТОПА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

Заславская М.И., Александрова Н.А. 57

МИКРОБИОМ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ильина Л.А., Иылдырым Е.А. 59

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ РУБЦА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ T-RFLP

Ильина Л.А., Лаптев Г.Ю., Лайшев К.А., Иылдырым Е.А., Филиппова В.А., Никонов И.Н., Новикова Н.И. 61

МИКРОБИОМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В СВЯЗИ С ИХ ЗДОРОВЬЕМ И ПРОДУКТИВНОСТЬЮ

Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А., Никонов И.Н. 62

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ

Мельников В.Г. 64

СОВМЕСТНОЕ ОБРАЗОВАНИЯ БИОФИЛЬМА *M. TUBERCULOSIS* И *BACILLUS SPP.* КАК МОДЕЛЬ МИКРОБИОТЫ НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ ТУБЕРКУЛЕЗА

Огарков О.Б., Бадлеева М.В., Белькова Н.Л., Адельшин Р.В., Цыренова Т.А. Синьков В.В., Хромова П.А., Костюнин К.Ю., Кошечев М.Е., Жданова С.Н. 67

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8P-A3 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ НА ПОЛИМЕРНЫХ ГЕТЕРОСЕТЧАТЫХ СОРБЕНТАХ

Рябинин Г.В. 69

МИКРОБИОТА ТОЛСТОЙ КИШКИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Соловьева И.В., Белова И.В., Точилина А.Г., Барболина С.Ф., Иванова Т.П., Жирнов В.А. 71

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ПЕРСИСТЕНЦИИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ БРОНХОВ КРЫС

Стадников А.А., Шевлюк Н.Н., Козлова А.Н. 73

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *L. HELVETICUS* D75 И *L. HELVETICUS* D76 И ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ СИНТЕЗА БАКТЕРИОЦИНОВ

Торопов В.А., Шалаева О.Н., Рощина Е.К., Вахитов Т.Я., Ситкин С.И. 75

ЮБИЛЕИ

..... 77

CONTENTS

ANALYTICAL REVIEW

HEART RATE VARIABILITY METHOD IN THE STUDY OF COGNITIVE FUNCTIONS AND MILITARY OCCUPATIONAL ADAPTATION <i>K.I. Pavlov, V.N. Mukhin, A.V. Syrtsev, A.N. Archimuk, V.N. Sysoev, M.I. Petrenko, N.G. Kuznetsov</i>	7
--	---

ORIGINAL ARTICLES

SYNDROME OF CEREBRAL HYPERPERFUSION AFTER THE CAROTID ENDARTERETOMY WITHIN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC BLOOD-STROKE <i>N.O.Vasilchenko, O.V.Rubleva, O.P.Verbitsky, S.V.Ordynets, A.A.Shabonov, correspondent member of the Russian Academy of Sciences I.P.Dudanov</i>	17
SYSTEM OF RELATIONSHIP OF THYROID STATUS, ENDOTHELIAL FUNCTION AND NEUROVEGETATIVE REGULATION OF HEART RHYTHM AT PATIENTS SUFFERING WITH ARTERIAL HYPERTENSION <i>M.H. Kurdanova, I.A. Beslanev, Md.H. Kurdanova, L.M. Batyrbekova, H.A. Kurdanov</i>	22
PARAMETERS OF THE THIN PSYCHOMOTOR SYSTEM AS INDICATORS OF SELF-ASSESSMENT MECHANISMS OF THE "SELF-CONCEPT" OF AN INDIVIDUAL <i>O.A. Klitsenko, O.V. Samorodnov</i>	30
FEATURES OF LABORATORY INDICATORS OF IRON METABOLISM IN PATIENTS WITH CO-INFECTION: TUBERCULOSIS AND HEPATITIS C <i>D.N. Oskin, A.N. Varnavsky</i>	38
METHOD OF STUDYING OF MELATONIN RECEPTORS IN THE MUCOSA OF STOMACH AND DUODENUM <i>Z.Kh. Osmanov, D.Yu. Semenov, A.P. Bogdanov, L.E. Koloscova, M.Ig. Zayitseva, A.V. Sokolov, V.B. Vasilyev</i>	44

CHRONICLE

ANALYSIS OF PROTEIN MASS-SPECTRA AND COMPLETE GENOME SEQUENCES OF PROBIOTIC STRAINS <i>L. FERMENTUM</i> <i>I.V. Belova., A.G. Tochilina, I.V. Solovyova., T.P. Ivanova, V.A. Zhirnov</i>	49
INTERRELATION OF CONTENT OF BIFIDOBACTERIAL MARKERS WITH THE LEVEL OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE BLOOD OF PATIENTS SUFFERING WITH CHRONIC CARDIAC FAILURE <i>A.A. Vlasov, S.P. Salikova., V.B. Grinevich, O.V. Bystrova., G.A. Osipov., M.I. Shperling</i>	51
PECULIARITIES OF INTERMICROBIAL RELATIONSHIPS IN THE VAGINAL MICROBIOTA OF INFERTILE WOMEN <i>A.P. Godovalov, T.I. Karpunina, M.O. Gushchin</i>	53
BIOLOGICAL FUNCTIONS OF BACTERIAL METABOLOME AND TISSUE CULTURES <i>Ye.V. Demyanova, A.S. Morugina, A.F. Vinogradova, N.I. Chalisova, T.Ya. Vakhitov</i>	55
RELATIONSHIPS OF ENTEROCOCCI, CANDIDAE AND LACTOBACILLI IN VAGINAL BIOTOPE OF THE WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE <i>M.I. Zaslavskaya, N.A. Aleksandrova</i>	57
MICROBIOME OF THE RUMEN OF THE RUMINANT ANIMALS <i>L.A. Ilyina, E.A. Yuyldyrym</i>	59
STUDY OF MICROBIOTA OF REINDEER'S RUMEN BY USING THE MOLECULAR-GENETIC METHOD T-RFLP <i>L.A. Ilyina, G.Yu. Laptev, K.A. Layshev, E.A. Yuyldyrym, V.A. Philippova, I.N. Nikonov, N.I. Novikova</i>	61
MICROBIOME OF FARM ANIMALS IN CONNECTION WITH THEIR HEALTH AND PRODUCTIVENESS <i>G.Yu. Laptev, L.A. Ilyina, I.N. Nikonov</i>	62
THE NEW GENERATION OF PROBIOTICS <i>V.G. Melnikov</i>	64
CO-FORMATIONS OF BIOFILMS <i>M. TUBERCULOSIS</i> AND <i>BACILLUS SPP.</i> AS A MODEL OF MICROBIOTA AT ADVANCED STAGES OF TUBERCULOSIS <i>O.B. Ogarkov, M.V. Badleeva, N.L. Belkova, R.V. Adelshin, T.A. Tsyrenova V.V. Sinkov., P.A. Khromova, K.Yu. Kostyunin, M.E. Koshcheyev, S.N. Zhdanova</i>	67
PREPARATION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES FROM THE CULTURE OF <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i> 8P-A3 BY USING THE CHROMATOGRAPHIC METHOD ON POLYMERIC HETERO-CELLULAR SORBENTS <i>G.V. Ryabinin</i>	69
MICROBIOTA OF LARGE BOWEL OF PATIENTS SUFFERING WITH TUBERCULOSIS WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE <i>I.V. Solovyova , I.V. Belova, A.G.Tochilina., S.F.Barbolina., T.P.Ivanova., V.A.Zhirnov</i>	71
STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF RELATIONSHIP BETWEEN PROCARIOTIC CELLS AND EUCELLS UNDER CONDITIONS OF PERSISTENCE OF <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> IN THE MUCOUS MEMBRANE OF RAT BRONCHI <i>A.A. Stadnikov, N.N. Shevlyuk, A.N. Kozlova</i>	73
WHOLE-GENOME SEQUENCING OF PROBIOTIC BACTERIA <i>L. HELVETICUS</i> D75 AND <i>L. HELVETICUS</i> D76 AND DETECTION OF GENETIC CLUSTERS OF BACTERIOCINS SYNTHESIS <i>V.A. Toropov, O.N. Shalaeva, Ye.K. Roshchina, T.Ya. Vakhitov, S.I. Sitkin</i>	75
JUBILEE	77

АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

УДК 618.29.30.51.33.37:616-003.96-07:614.8.026

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА В ИЗУЧЕНИИ
КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ И ВОЕННО-ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ
АДАПТАЦИИ¹К.И. Павлов, ²В.Н. Мухин, ¹А.В. Сыртцев, ¹А.Н. Архимук, ³В.Н. Сысоев, ¹М.И. Петренко¹Военно-морская академия им. Адмирала Флота Советского Союза Н.Г. Кузнецова,
Санкт-Петербург, Россия²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия³Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, РоссияHEART RATE VARIABILITY METHOD IN THE STUDY
OF COGNITIVE FUNCTIONS AND MILITARY OCCUPATIONAL
ADAPTATION¹K.I. Pavlov, ²V.N. Mukhin, ¹A.V. Syrtsev, ¹A.N. Archimuk, ³V.N. Sysoev, ¹M.I. Petrenko,¹N.G. Kuznetsov Naval Academy, St. Petersburg, Russia²Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia³S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2017 г.

Целью данной работы является теоретическое обоснование применения метода оценки вариабельности сердечного ритма (ВСР) в изучении механизмов когнитивных функций и состояния функциональных резервов индивида. В обзоре литературы представлены современные исследования отечественных и зарубежных авторов, в которых рассматриваются вопросы применения разных методов функциональной диагностики в профессиональном психологическом отборе, скрининге функционального состояния и изучении когнитивных функций у военнослужащих, специалистов силовых ведомств. Представлены описания физиологических механизмов функционального состояния и когнитивных функций в норме, при стрессе и при патологии. Проведен анализ исследований, посвященных изучению фрактальных, стохастических параметров вариабельности сердечного ритма. Обосновывается требование включения метода оценки ВСР в кросс-валидационные исследования.

Ключевые слова: профессиональный психологический отбор, когнитивные функции, функциональное состояние, военно-профессиональная адаптация, активация коры, вариабельность сердечного ритма.

The aim of our work is theoretical substantiation of application of the heart rate variability method (HRV) in the study of the mechanism of cognitive functions and status of functional reserves of an individual. In the overview of special literature contemporary studies carried out by native and foreign authors are presented where questions of application of various methods of functional diagnostics in the professional psychological selection, screening of the functional status and the study of cognitive functions among servicemen and specialists of the law enforcement agencies have been considered. Descriptions of physiological mechanisms of functional status and cognitive functions in the normal condition, during the stress, and in the condition of pathology are presented. The analysis of studies of fractal, stochastic parameters of HRV has been carried out. The requirement to include the method of evaluation of the HRV in cross-validation studies is determined.

Key words: professional psychological selection, cognitive functions, functional status, military-occupational adaptation, cortex activation, heart rate variability.

Согласно сложившимся к настоящему времени представлениям о психофизиологических механизмах, лежащих в основе деятельности человека [1], надлежащий уровень базовых процессов жизнеобеспечения поддерживается подсистемой адапта-

ционно-гомеостатической регуляции функциональной системы деятельности. Оценка особенностей этой подсистемы производится через измерения физиологических (психофизиологических) резервов — в основном с использованием приемов

Литература

1. Зараковский Г.М., Булка А.П., Сугоняев К.В. Психофизиологические механизмы, лежащие в основе деятельности // Основы военного профессионального психологического отбора: учебное пособие / утв. нач. Главного организационно-мобилизационного управления Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. М., 2005. С. 91–230. [Zarakovsky G.M., Bulka A.P., Sugonyaev K.V. Psychophysiological mechanisms underlying the activity, *Fundamentals of military professional psychological selection: training manual* / The main organizational-mobilization department of the General Staff of the Armed Forces of the Russian Federation. Moscow, 2005. P. 91–230.]
2. Sysoev V.N., Ganapolsky V.P., Myasnikov A.A., Blaginin A.A., Silnikov M.V., Shabanov P.D. Physiology of military labor: textbook. St. Petersburg: Lubavitch, 2011. 456 p.
3. Professional selection of ship specialists of the Navy for psycho-physiological and psychological indicators: methodical instructions. Moscow: Military Publishing, 1984. 36 p.
4. Шостак В.И., Зотов М.В. Взаимосвязь теоретических и практических аспектов военной психофизиологии // Психофизиология профессиональной деятельности человека. СПб.: Военно-медицинская академия, 2005. С. 76–77. [Shostak V.I., Zotov M.V. Interrelation of theoretical and practical aspects of military psychophysiology, *Psychophysiology of human professional activity*. St. Petersburg. Military-Medical Academy, 2005. P. 76–77.]
5. Чермянин С.В., Корзунин В.А., Сысоев В.Н., Васильков А.М. Обоснование роли и места профессионально-психологической экспертизы в системе психофизиологического обеспечения военнослужащих МО РФ // Психофизиология профессиональной деятельности человека. СПб.: Военно-медицинская академия, 2005. С. 71–75. [Chermyanin S.V., Korzunin V.A., Sysoev V.N., Vasilkov A.M. Substantiation of the role and place of professional psychological examination in the system of psycho-physiological support of servicemen of the Ministry of Defense of the Russian Federation, *Psychophysiology of human professional activity*. St. Petersburg. Military-Medical Academy, 2005. P. 71–75.]
6. Kozarenko O.P., Ponomareva I.P. Psychophysiological aspects of piloted flights to space // *Aviakosm Ekolog. Med.* 2008. Vol. 42, № 6. P. 84–91.
7. Bodrov V.A., Malkin V.B., Pokrovsky B.L., Shpachenko D.I. Psychological selection of pilots and cosmonauts // *Problems of space biology*. Vol. 48. М.: Nauka, 1984.
8. Машин В.А. Факторный анализ спектра сердечного ритма // Биофизика. 2011. Т. 56, № 2. С. 328–341. [Mashin V.A. Factor analysis of the spectrum of the secondary rhythm, *Biophysics*. 2011. Vol. 56, № 2. P. 328–341.]
9. Scerbo M.W., Freeman F.G., Mikulka P.J., Parasuraman R., Nocero F.D., Prinzel L.J. The efficacy of psychophysiological measures for implementing adaptive technology / NASA/TP-2001-211018. Hampton: NASA Langley Research Center, 2001.
10. Prinzel L.J. 3rd., Parasuraman R., Freeman F.G., Scerbo M.W., Mikulka P.J., Pope A.T. Three experiments examining the use of electroencephalogram, event-related potentials, and heart-rate variability for real-time human-centered adaptive automation design. NASA/TP-2003-212442. Hampton: NASA Langley Research Center, 2003.
11. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. М.: Наука, 1984. 236 с. [Bayevsky R.M., Kirillov O.I., Kletskin S.Z. *Mathematical analysis of heart rate changes under stress*. Moscow: Nauka, 1984. 236 p.]
12. Bayevsky R.M., Ivanov G.G., Chireikin L.V. Analysis of heart rate variability when using various electrocardiographic systems (methodological recommendations) // *Vestnik aritmologii*. 2001. N 24. P. 65–87.
13. Баевский Р.М. Анализ variability сердечного ритма: история и философия, теория и практика // Клиническая информатика и телемедицина. 2004. № 1. С. 54–64. [Bayevsky R.M. Analysis of heart rate variability: history and philosophy, theory and practice, *Clinical Informatics and Telemedicine*. 2004. № 1. P. 54–64.]
14. Мухин В.Н. Частотная структура variability сердечного ритма // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2008. № S2-23 (23). С. 492–493. [Mukhin V.N. Frequency structure of heart rate variability, *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2008. N S2–23 (23). P. 492–493.]
15. Gundel A., Drescher J., Spatenko Y.A., Polyakov V.V. Heart period and heart period variability during sleep on the MIR space station // *J. Sleep Res.* 1999. Vol. 8, N 1. P. 37–43.

16. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца. Опыт практического применения метода. Иваново, 2000. 200 с. [Mikhailov V.M. *The variability of the rhythm of the heart. Experience of practical application of the method.* Ivanovo, 2000. 200 p.]
17. Машин В.А. Зависимость показателей variability сердечного ритма от средних величин R-R интервалов // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2002. Т. 88, № 7. С. 851–855. [Mashin V.A. Dependence of heart rate variability indices on mean values of R-R intervals. *Sechenov's Fiziol. Journal.* 2002. Vol. 88, № 7. P. 851–855.]
18. Mukhin V.N. Frequency structure of heart rate variability. Статья в открытом архиве № 1005.0776v2 06.05.2010. <https://arxiv.org/abs/1005.0776v2>.
19. Каменская В.Г., Музалевская Н.И., Зверева С.В., Томанов Л.В. Изменение кардиоритма и его стохастических параметров у первоклассников с нормальным нервно-психическим развитием у детей с речевыми нарушениями в ситуации интеллектуальной деятельности // Журн. высшей нервной деятельности. 2002. Т. 52, № 2. С. 38–44. [Kamenskaya V.G., Muzalevskaya N.I., Zvereva S.V., Tomanov L.V. A change in cardiorythm and its stochastic parameters in first-graders with normal neuropsychic development in children with speech disorders in the situation of intellectual activity. *Higher nervous activity.* 2002. Vol. 52, № 2. P. 38–44.]
20. Kamath C. Analysis of heart rate variability signal during meditation using deterministic-chaotic quantifiers // J. Med. Engl. Technol. 2013. Vol. 37, № 7. P. 436–448.
21. Doret M., Spilka J., Chudbček V., Gonzalves P., Abry P. Fractal Analysis and Hurst Parameter for Intrapartum Fetal Heart Rate Variability Analysis: A Versatile Alternative to Frequency Bands and LF/HF Ratio // PLoS One. 2015. Vol. 10, № 8. doi: 10.1371/journal.pone.0136661.
22. Krstacic G., Parati G., Gamberger D., Castiglioni P., Krstacic A., Steiner R. Heart rate variability and nonlinear dynamic analysis in patients with stress-induced cardiomyopathy // Med. Biol. Engl. Comput. 2012. Vol. 50, № 10. P. 1037–1046.
23. Vorobyov K.P. Theoretical bases of the use of parameters of heart rate variability for the evaluation of the functional state of the organism // Genital pathology is pathological fiziologiya. 2011. Vol. 6, № 4. P. 5–17.
24. Баевский Р.М., Лучицкая Е.С., Фунтова И.И., Черникова А.Г. Исследования вегетативной регуляции кровообращения в условиях длительного космического полета // Физиология человека. 2013. Т. 39, № 5. С. 42–52. [Bayevsky R.M., Luchitskaya E.S., Funtova I.I., Chernikova A.G. Research of vegetative regulation of blood circulation in conditions of long space flight, *Human Physiology.* 2013. Vol. 39, № 5. P. 42–52.]
25. Бреус Т.К., Баевский Р.М., Фунтова И.И., Никулина Г.А., Алексеев Е.В., Черникова А.Г. Влияние возмущений геомагнитного поля на реакцию адаптивного стресса у космонавтов // Космические исследования. 2008. Т. 46, № 4. С. 348–383. [Breus T.K., Baevsky R.M., Funtova I.I., Nikulina G.A., Alekseev E.V., Chernikova A.G. Influence of Geomagnetic Field Perturbations on the Adaptive Stem Response in Astronauts. *Space Research.* 2008. Vol. 46, № 4. P. 348–383.]
26. Stoilova I., Yanev T. Analysis of heart rate variability during short-term space flight // C R Acad Bulg Sci. 1997. Vol. 50, № 7–8. P. 17–20.
27. Malliani A., Lombardi F., Pagani M. Power spectrum analysis of heart rate variability: a tool to explore neural regulatory mechanisms // Brit. Heart J. 1994. Vol. 71, № 1. P. 1–2.
28. Vandepuit S., Widjaja D., Aubert A.E., Van Huffel S. Adaptation of autonomic heart rate regulation in astronauts after spaceflight // Med. Sci. Monit. 2013. Vol. 19. P. 9–17.
29. Yamamoto N., Otsuka K., Kubo Y., Hayashi M., Mizuno K., Ohshima H., Mukai C. Effects of long-term microgravity exposure in space on circadian rhythms of heart rate variability // Chronobiol. Int. 2015. Vol. 32, № 3. P. 327–340.
30. Баевский Р.М., Берсенев Е.Ю., Орлов О.И., Ушаков И.Б., Черникова А.Г. Проблема оценки адаптационных возможностей человека в авиакосмической физиологии // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2012. Т. 98, № 1. С. 95–107. [Bayevsky R.M., Bersenev E.Yu., Orlov O.I., Ushakov I.B., Chernikova A.G. The problem of assessing the adaptive capabilities of man in aerospace physiology, *Sechenov's Russian Journal of Physiology.* 2012. Vol. 98, № 1. P. 95–107.]
31. Зипова О.М., Разсолов Н.А., Каблуква А.З., Лучицкая Е.С., Баевский Р.М. Донозологическая диагностика в системе врачебно-лётной экспертизы // Диагностика и лечение нарушений регуляции сердечно-сосудистой системы. М., 2009. С. 253–279. [Zipova O.M., Rassolov N.A., Kablukova A.Z.,

Luchitskaya Ye.S., Bayevsky R.M. Pre-nosological diagnosis in the medical-flight examination system, *Diagnosis and treatment of cardiovascular system disorders*. Moscow, 2009. P. 253–279.]

32. Pukhnyak D.V., Mingalev A.N. Assessment of the level of stress resistance of parachutists // *International Journal of Experimental Education*. 2011. № 3. P. 81–83.

33. Delgado-Moreno R., Robles-Pérez J.J., Clemente-Suárez V.J. Combat Stress Decreases Memory of Warfighters in Action // *J. Med. Syst.* 2017. Vol. 41, № 8. P. 124.

34. Minassian A., Maihofer A.X., Baker D.G., Nievergelt C.M., Geyer M.A., Risbrough V.B. Association of Predeployment Heart Rate Variability With Risk of Postdeployment Posttraumatic Stress Disorder in Active-Duty Marines // *JAMA Psychiatry*. 2015. Vol. 72, № 10. P. 979–986.

35. Shah A.J., Lampert R., Goldberg J., Veledar E., Bremner J.D., Vaccarino V. Posttraumatic stress disorder and impaired autonomic modulation in male twins // *Biol. Psychiatry*. 2013. Vol. 73, № 11. P. 1103–1110.

36. Bernardi L., Valle F., Coco M., Calciati A., Sleight P. Physical activity influences heart rate variability and very-low-frequency components in Holter electrocardiograms // *Cardiovasc Res*. 1996. Vol. 32. № 2. P. 234–237.

37. Tan G., Fink B., Dao T.K., Hebert R., Farmer L.S., Sanders A., Pastorek N., Gevirtz R. Associations among pain, PTSD, mTBI, and heart rate variability in veterans of Operation Enduring and Iraqi Freedom: a pilot study // *Pain Med*. 2009. Vol. 10, № 7. P. 1237–1245.

38. Ginsberg J.P., Berry M.E., Powell D.A. Cardiac coherence and posttraumatic stress disorder in combat veterans // *Altern Ther Health Med*. 2010. Vol. 16, № 4. P. 52–60.

39. Сидоренко Г.И., Комиссарова С.М. Оценка объективных критериев фаз стрессовой реакции при разных уровнях адаптации // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2008. Т. 7, № 1. С. 91–97. [Sidorenko G.I., Komissarova S.M. Evaluation of objective criteria for the phases of stress reaction at different levels of adaptation, *Cardiovascular therapy and prevention*. 2008. Vol. 7, № 1. P. 91–97.]

40. Gazzellini S., Dettori M., Amadori F., Paoli B., Napolitano A., Mancini F., Ottaviani C. Association between Attention and Heart Rate Fluctuations in Pathological Worriers // *Front Hum Neurosci*. 2016. Vol. 10. P. 648.

41. Sakaki M., Yoo H.J., Nga L., Lee T.H., Thayer J.F., Mather M. Heart rate variability is associated with amygdala functional connectivity with MPFC across younger and older adults // *Neuroimage*. 2016. Vol. 139. P. 44–52.

42. Umetani K., Singer D.H., McCraty R., Atkinson M. Twenty-four hour time domain heart rate variability and heart rate: relations to age and gender over nine decades // *J. Am. Coll Cardiol*. 1998. Vol. 31, № 3. P. 593–601.

43. McCraty R., Atkinson M., Tomasino D., Bradley R.T. The coherent heart: heart-brain interactions, psychophysiological coherence, and the emergence of system-wide order. Boulder Creek, CA: Institute of Heartmath, 2009. 300 p.

44. Critchley H.D., Corfield D.R., Chandler M.P., Mathias C.J., Dolan R.J. Cerebral correlates of autonomic cardiovascular arousal: a functional neuroimaging investigation in humans // *J. Physiol*. 2000. Vol. 523, N 1. P. 259–270.

45. McCraty R., Shaffer F. Heart Rate Variability: New Perspectives on Physiological Mechanisms, Assessment of Self-regulatory Capacity, and Health risk // *Glob. Adv. Health Med*. 2015. Vol. 4, № 1. P. 46–61.

46. Armour J.A., Ardell J.L. Peripheral autonomic neuronal interactions in cardiac regulation // *Neurocardiology*. New York: Oxford University Press, 1994. P. 219–244.

47. Kukanova B., Mravec B. Complex intracardiac nervous system // *Bratisl Lek Listy*. 2006. Vol. 107, № 3. P. 45–51.

48. Мухин В.Н., Яковлев Н.М. Связь вариабельности сердечного ритма с психической работоспособностью // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2011. Т. 97, № 8. С. 838–842. [Mukhin V.N., Yakovlev N.M. Association between level of intelligence and heart rate variability, *Sechenov's Russian Journal of Physiology*. 2011. Vol. 97, № 8. P. 838–842.]

49. Мухин В.Н., Яковлев Н.М., Клименко В.М. Связь вариабельности сердечного ритма с уровнем активации лобной коры // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2011. Т. 97, № 11. С. 1281–1288. [Mukhin V.N., Yakovlev N.M., Klimenko V.M. Association of heart rate variability and frontal cortex activation, *Sechenov's Russian Journal of Physiology*. 2011. Vol. 97, № 11. P. 1281–1288.]

50. *Мухин В.Н., Клименко В.М.* Состояние мобилизационной готовности и частотная структура variability сердечного ритма // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2009. Т. 95, № 4. С. 367–375. [Mukhin V.N., Klimenko V.M. Vobilisation condition and the frequency structure of the heart rhythm variability, *Sechenov's Russian Journal of Physiology*. 2009. Vol. 95, № 4. P. 367–375.]

51. *Mather M., Joo Yoo H., Clewett D.V., Lee T.H., Greening S.G., Ponzio A., Min J., Thayer J.F.* Higher locus coeruleus MRI contrast is associated with lower parasympathetic influence over heart rate variability // *Neuroimage*. 2017. Vol. 150. P. 329–335.

52. *Lacey B.C., Lacey J.I., Obrist P.A., Black A.H., Brener J., Dicara L.V.* Studies of heart rate and other bodily processes in sensorimotor behavior: Cardiovascular psychophysiology: current issues in response mechanisms, biofeedback, and methodology. Chicago: Aldine, 1974. P. 538–564.

53. *Wulke C., Velden M.* Revision of the baroreceptor hypothesis on the basis of the new cardiac cycle effect: Bond N.W., Siddle D.A.T. // *Psychobiology: issues and applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V, 1989. P. 371–379.

54. *Whitehurst L.N., Cellini N., McDevitt E.A., Duggan K.A., Mednick S.C.* Autonomic activity during sleep predicts memory consolidation in humans // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2016. Vol. 113, № 26. P. 7272–7277.

55. *Bär K.J., Herbsleb M., Schumann A., de la Cruz F., Gabriel H.W., Wagner G.* Hippocampal-Brainstem Connectivity Associated with Vagal Modulation after an Intense Exercise Intervention in Healthy Men // *Front Neurosci*. 2016. Vol. 10. P. 145.

56. *Luque-Casado A., Perales J.C., Cárdenas D., Sanabria D.* Heart rate variability and cognitive processing: The autonomic response to task demands // *Biol. Psychol*. 2016. Vol. 113. P. 83–90.

Поступила в редакцию: 25.09.2017 г.

Контакт: Павлов Константин Иванович, youngexp@yandex.ru

Сведения об авторах:

Павлов Константин Иванович — кандидат психологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела (профессионального психологического обеспечения), Военный учебно-научный центр Военно-морского флота Военно-морская академия им. Адмирала Флота Советского Союза Н.Г. Кузнецова, 197045, Санкт-Петербург, Ушаковская набережная, д. 17/1; e-mail: youngexp@yandex.ru;

Мухин Валерий Николаевич — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, Физиологический отдел им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: valery.mukhin@gmail.com;

Сырцев Алексей Витальевич — кандидат психологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела (профессионального психологического обеспечения), Военный учебно-научный центр Военно-морского флота Военно-морская академия им. Адмирала Флота Советского Союза Н.Г. Кузнецова, 197045, Санкт-Петербург, Ушаковская набережная, д. 17/1; e-mail: lazareth@yandex.ru;

Архимук Алексей Николаевич — кандидат педагогических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела (профессионального психологического обеспечения), Военный учебно-научный центр Военно-морского флота Военно-морская академия им. Адмирала Флота Советского Союза Н.Г. Кузнецова, 197045, Санкт-Петербург, Ушаковская набережная, д. 17/1; e-mail: arhimuk@mail.ru;

Сысоев Владимир Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой военной психофизиологии ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова», 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева д. 6; e-mail: vnsiy@mail.ru;

Петренко Максим Иванович — начальник научно-исследовательского отдела (профессионального психологического обеспечения), Военный учебно-научный центр Военно-морского флота Военно-морская академия им. Адмирала Флота Советского Союза Н.Г. Кузнецова, 197045, Санкт-Петербург, Ушаковская набережная, д. 17/1; e-mail: nioprovuncvmf@mail.ru.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.831.005.4:616.133.3

**СИНДРОМ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ГИПЕРПЕРФУЗИИ
ПОСЛЕ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРЭКТОМИИ
В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА**

²Н.О. Васильченко, ²О.В. Рублева, ²О.П. Вербицкий, ²С.В. Ордынец, ¹А.А. Шабонов,
^{1,2} член-корреспондент РАН И.П. Дуданов

¹Петрозаводский государственный университет, г. Петрозаводск, Россия

²Городская Мариинская больница, Санкт-Петербург, Россия

**SYNDROME OF CEREBRAL HYPERPERFUSION
AFTER THE CAROTID ENDARTERETOMY
WITHIN THE ACUTE PERIOD OF ISCHEMIC BLOOD-STROKE**

²N.O.Vasilchenko, ²O.V.Rubleva, ²O.P.Verbitsky, ²S.V.Ordynets, ¹A.A.Shabonov,
^{1,2}correspondent member of the Russian Academy of Sciences I.P.Dudanov

¹Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia

²Mariinskaya city hospital, Saint Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2017 г.

Цель исследования: изучить особенности клинической картины у пациентов, переносящих синдром церебральной гиперфузии после каротидной эндартерэктомии, проведенной в остром периоде ишемического инсульта. **Материалы и методы исследования.** С апреля 2016 по апрель 2017 г. проведено 183 реконструктивных операции на сонных артериях при двустороннем их поражении. У 161 (87,9%) пациента каротидная эндартерэктомия проведена в остром периоде ишемического инсульта или ТИА. Синдром церебральной гиперперфузии имел место у 6 (3,7%) пациентов — 4 мужчин и 2 женщин. Средний возраст пациентов — 62,4 года. Средний показатель NIHSS до операции — 4,8 балла, средний показатель Рэнкина — 3,2, средний показатель Ривермид — 5,8 балла. Все пациенты этой группы были оперированы в остром периоде ишемического инсульта, все они страдали гипертонической болезнью. У 4 пациентов было двустороннее стенозирующее поражение внутренних сонных артерий более 90% просвета. **Заключение.** Контроль артериального давления и своевременная коррекция с помощью гипотензивных препаратов позволяли в большинстве случаев предотвратить наиболее тяжелые формы гиперперфузионного синдрома.

Ключевые слова: острый ишемический инсульт, стенозы сонных артерий, каротидная эндартерэктомия, синдром церебральной гиперперфузии.

To izuchenit features of a clinical picture at the patients transferring a syndrome of a cerebral giperfuziya after the carotid endarterektomiya which is carried out in the sharp period of an ischemic stroke. From April 2016 till April 2017 in general 183 reparative operations on carotid arteries were carried out for double-sided affect of arteries. For 161 patients (87.9% of cases) the carotid endarterectomy was carried out within the acute period of ischemic blood stroke or transient ischemic attack. The syndrome of cerebral hyperperfusion took place at 6 patients (3.7% of cases), from this at 4 men and 2 women. The average age of patients is 62.4 years old. The average value of NIHSS prior to the operation amounted to 4.8 points, the average Rankin value amounted to 3.2 points, the average Rivermid value amounted to 5.8 points. All patients of this group were operated within the acute period of ischemic blood-stroke; they all suffered with hypertensive disease. 4 patients had double-sided constrictive affect of internal carotid arteries where 90% of the lumen was affected. Control of arterial tension and timely correction by using antihypertensive drugs made it possible to prevent the most severe forms of hyperperfusion syndrome in the most cases.

Key words: acute ischemic blood-stroke, stenosis of carotid arteries, carotid endarterectomy, syndrome of cerebral hyperperfusion

Введение. В настоящее время хирургическая реваскуляризация головного мозга при стенозирующих поражениях брахоцефальных артерий занимает ведущее место в профилактике острых нарушений мозгового кровообращения. Синдром церебральной гиперперфузии (СЦГП) развивается после реваскуляризирующих операций на сонных артериях: каротидной эндартерэктомии (КЭАЭ) и стентирования сонной артерии — и является результатом комбинации различных патогенетических факторов, которые нарушают механизмы ауторегуляции мозгового кровообращения [1].

Преобладающее большинство исследований, посвященных СЦГП после реконструктивных операций на сонных артериях, проводится у пациентов с хронической недостаточностью мозгового кровообращения [2].

В клинической картине (СЦГП) после проведения (КЭАЭ) могут наблюдаться ипсилатеральная головная боль, психомоторное возбуждение, артериальная гипертензия, судорожные припадки, очаговая неврологическая симптоматика [3]. В большинстве случаев при нейровизуализации СЦГП проявляется отеком головного мозга на стороне вмешательства, паренхиматозным и/или субарахноидальным кровоизлиянием [4].

СЦГП в большинстве случаев проявляется у пациентов после реваскуляризации с повышенным более чем на 100% уровнем перфузии головного мозга по сравнению с исходным показателем. Наиболее значимым фактором риска СЦГП являются редуцированный цереброваскулярный резерв, двустороннее стенозирующее критическое поражение сонных артерий, а также ранее перенесенный ишемический инсульт, артериальная гипертензия в раннем послеоперационном периоде и гиперперфузия, длящаяся несколько часов после операции [5].

Патогенез в условиях длительно нарушенной ауторегуляции мозговой гемодинамики у пациентов с выраженными атеросклеротическими изменениями при значительном усилении артериального притока, наступившее на фоне дилатации микрососудистого русла, не происходит спазма артериол. Основой патогенеза СЦГП является нарушение ауторегуляции мозгового кровообращения вследствие длительно существующей исходной эндотелиальной дисфункции, которая вызывает образование свободных радикалов. В результате формируется зона гиперемии, которая является основой СЦГП.

Для своевременной диагностики названного осложнения применяются следующие методы

исследования: транскраниальная ультразвуковая доплерография, церебральная оксиметрия, перфузионные исследования — СКТ- и МР-перфузия и др.

СЦГП является грозным осложнением реперфузионных вмешательств на экстракраниальных сосудах головного мозга у пациентов, прооперированных в остром периоде ишемического инсульта. На сегодняшний день не существует единых стандартов по диагностике и определению рисков развития СЦГП. Выделение группы пациентов повышенного риска (больные с тяжелым двусторонним поражением сонных артерий, возраст более 75 лет, длительная и плохо контролируемая артериальная гипертензия) позволит сократить количество осложнений при более тонкой коррекции АД во время операции и в раннем послеоперационном периоде.

СЦГП требует незамедлительного лечения в связи с высоким риском развития выраженного отека головного мозга. Лечебная тактика основывается на регуляции артериального давления и ограничении увеличения церебральной перфузии. По результатам исследований разных авторов полное и быстрое восстановление происходит в легких случаях, но возможен и летальный исход, наблюдаемый с частотой от 30 до 60% [5, 6].

Большинство исследователей докладывают о частоте СЦГП после КЭАЭ — 0–3%: GALA under LA, 2008 — 7/1771 (0,4%), Suga и соавт. (2007) — 2/90 (2,2%), Eberle и соавт. (2010) — 5/821 (0,6%), Ogasawara и соавт., 2007 — 30/1596 (1,9%) [5–7]. По данным специалистов Научно-исследовательского института нейрохирургии имени акад. Н.Н. Бурденко РАН синдром церебральной гиперперфузии проявляется в виде транзиторных психических нарушений, цефалгического синдрома, пароксизмальной симптоматики, внутримозгового кровоизлияния, которое встречается у $12 \pm 5\%$ в раннем периоде после каротидной эндартерэктомии [8, 9].

Цель исследования: изучение особенностей клинической картины у пациентов, переносящих синдром церебральной гиперперфузии после каротидной эндартерэктомии, проведенной в остром периоде ишемического инсульта.

Материалы и методы исследования. С апреля 2016 по апрель 2017 гг. на базе нейрохирургического отделения СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница» проведено 183 реконструктивных операции на сонных артериях при двустороннем их поражении. Из них

Литература

1. De Rango P. Cerebral hypertension Syndrome: The Dark side of carotid endarterectomy // *Europ. Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2012. Vol. 43 (4). P. 377.
2. Бесарболиев А.В., Вишнякова М.В. (мл.), Вишнякова М.В., Казанчан П.О., Ларьков Р.Н., Загаров С.С. Применение методики МСКТ-перфузии для оценки кровоснабжения вещества головного мозга и анализа хирургического лечения пациентов с хронической ишемией // *Альманах клинической медицины*. 2014. № 31. С. 3–6. [Basarboliev A.V., Vishnyakova M.V.Jr., Vishnyakova M.V., Kazanchyan P.O., Lar'kov R.N., Zagarov S.S. MSCT perfusion in assessment of brain hemodynamics and in analysis of surgical treatment results in patients with chronic brain ischemia, *Almanac of Clinical Medicine*. 2014. № 31. P. 3–6.]
3. Van Mook W.N., Renneberg R.S., Schurink G.W. van Oostenbrugge R.J., Mess W.H., Hofman P.A., de Leeuw P.W. Cerebral hypertension syndrome // *Lancet Neurol*. 2005. Vol. 4. P. 877–888.
4. Вишнякова М.В. (мл.) Диагностика гиперперфузионного синдрома после реконструктивных операций на сонных артериях по данным компьютерной томографии // *Медицинская визуализация*. 2017. № 3. С. 20–31. [Vishnyakova M.V. MDCT in Imaging of Hyperperfusion Syndrome after Carotid Surgery, *Medical Visualization*. 2017. № 3. P. 20–31.]
5. Ogasawara K., Sakai N., Kuroiwa T., Hosoda K., Lihara K., Toyoda K., de Borst G.J., Lo T.H., Gaines P., Dorman P.J., Macdonald S., Lyrer P.A., Hendriks J.M., McCollum C., Nederkoorn P.J., Brown M.M. Intracranial hemorrhage associated with cerebral hyperperfusion syndrome following carotid endarterectomy and carotid artery stenting // *J. Neurosurgery*. 2007. Vol. 107. P. 1130–1136.
6. Ederle J., Dobson J., Featherstone R., Bonaty L., van der Worp H. et al. Carotid artery stenting compared with endarterectomy in patients with symptomatic carotid stenosis (International Carotid Stenting Study): an interim analysis of a randomized controlled trial // *Lancet*. 2010. Vol. 372. P. 2132–2142.
7. Suga Y., Ogasawara K., Saito H., Komoribayashi N., Kobayashi M., Inoue T., Otawara Y., Ogawa A. Preoperative cerebral hemodynamic impairment and reactive oxygen species produced during carotid endarterectomy correlate with development of postoperative cerebral hyperperfusion // *Stroke*. 2007. Vol. 38. P. 2712–2717.
8. Беляев А.Ю. Синдром церебральной гиперперфузии после каротидной эндартерэктомии: автореферат дис. ... канд. мед. наук. М., 2011. 26 с. [Beliaev A.Iu. *Syndrome of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy*. Thesis. Moscow, 2011. 26 p.]
9. Vivek B. Karla, Balaji Rao, Ajay Malhorta. Teaching neuroimages: Perfusion imaging of cerebral hyperperfusion syndrome following revascularization // *Neurology*. 2013. Vol. 81. P. 25–26.

Поступила в редакцию: 04.12.2017 г.

Контакт: Васильченко Наталья Олеговна, b16@zdrav.spb.ru

Сведения об авторах:

Васильченко Наталья Олеговна — кандидат медицинских наук, ординатор отделения острого инсульта СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», невролог; e-mail: b16@zdrav.spb.ru; тел.: +7 (905) 214-71-03;

Вербицкий Олег Петрович — СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, отделение нейрохирургии, нейрохирург; e-mail: resokvor@mail.ru; тел.: +7 (951) 652-42-58;

Дуданов Иван Петрович — доктор медицинских наук, профессор, чл.-корр. РАН, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», заведующий кафедрой общей и факультетской хирургии, руководитель Регионального сосудистого центра СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница»; e-mail: ipdudanov@gmail.com; тел.: +7 (921) 189-30-42;

Ордынец Станислав Витальевич — кандидат медицинских наук, докторант ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», ординатор отделения сердечно-сосудистой хирургии СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», сосудистый хирург; e-mail: ordynets.spb@mail.ru; тел.: +7 (921) 406-25-92;

Рублева Ольга Валерьевна — ординатор отделения острого инсульта СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», невролог; e-mail: b16@zdrav.spb.ru; тел.: +7 (911) 711-67-50;

Шабонов Абдулло Амириуратович — кандидат медицинских наук, докторант ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», сосудистый хирург; e-mail: dr.abdullo@mail.ru; тел.: +7 (911) 698-85-97.

УДК 616.12.-008.331.1+616.441-071.45:612.17

СИСТЕМНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА, ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ И НЕЙРОВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ РИТМА СЕРДЦА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

М.Х. Курданова, И.А. Бесланев, М.Х. Курданова, Л.М. Батырбекова, Х.А. Курданов
Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, г. Нальчик, Россия

SYSTEM OF RELATIONSHIP OF THYROID STATUS, ENDOTHELIAL FUNCTION AND NEUROVEGETATIVE REGULATION OF HEART RHYTHM AT PATIENTS SUFFERING WITH ARTERIAL HYPERTENSION

М.Х. Kurdanova, I.A. Beslaneev, M.Х. Kurdanova, L.M. Bатыrbekova, H.A. Kurdanov
Institute of biomedical problems of the Russian Academy of Sciences, Nalchik, Russia

© Коллектив авторов, 2017 г.

Введение. Нарушения синтеза тиреоидных гормонов (ТГ) и дисфункция эндотелия (ДЭ) оказывают существенное влияние на нейровегетативную регуляцию ритма сердца и гемодинамику у больных с артериальной гипертензией (АГ), основного фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Цель:* изучить особенности влияния ТГ, метаболитов оксида азота (NO) на показатели вариабельности ритма сердца и их взаимосвязи у здоровых лиц и больных АГ. *Материалы и методы исследования.* Обследованы 185 коренных жителей в высокогорных районах Приэльбрусья (2200–3100 м над уровнем моря): 115 больных АГ разной степени и 70 здоровых лиц. Всем обследованным пациентам проведено клиническое, инструментальное и биохимическое обследование, включающее: проведение и оценку вариабельности ритма сердца (ВРС), определение тиреоидных гормонов, тиреотропного гормона, стабильных метаболитов оксида азота в компонентах крови. *Результаты.* Полученные результаты систематизировались при помощи факторного анализа и уравнений множественной регрессии. Получены зависимости абсолютных и относительных значений показателей и индексов ВРС от концентрации ТГ и метаболитов NO в крови. Анализ наиболее значимых факторных признаков позволил показать, что метаболизм ТГ и NO тесно взаимосвязан с адаптационными возможностями организма как у здоровых лиц, так и у больных АГ, проживающих в высокогорье. *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о достоверно большем напряжении регуляторных систем ритма сердца и гемодинамики у больных АГ со снижением синтеза ТГ и уменьшением концентрации NO в крови.

Ключевые слова: тиреоидные гормоны, артериальная гипертензия, дисфункция эндотелия, вариабельность ритма сердца, жители высокогорья.

Disrupting the synthesis of thyroid hormones (TG) and endothelial dysfunction (ED) have a significant impact on neurovegetative regulation of heart rhythm and hemodynamic at patients suffering with arterial hypertension (AH), a major risk factor for cardiovascular diseases. *Objective:* to study the features of influence of TG, the metabolites of nitric oxide (NO) on the indices of heart rate variability and their relationship at healthy individuals and patients suffering with AH. *Materials and methods.* 185 indigenous people in the highlands of Elbrus region (2200 – 3100 m. above sea level) were surveyed: 115 patients suffering with arterial hypertension of different degrees and 70 healthy persons. All examined patients underwent clinical, instrumental and biochemical examinations, including conducting and evaluating heart rate variability (HRV), determination of thyroid hormones, thyroid stimulating hormone, and stable metabolites of nitric oxide in blood components. *Results.* The obtained results were systematized by means of factor analysis and multiple regression equations. Dependences of absolute and relative values of indicators and indices of HRV on the concentration of TG and NO metabolites in the blood were obtained. The analysis of the most significant factor signs has allowed to show that metabolism TG and NO is closely connected with the adaptation capabilities of the organism both at healthy persons and at hypertensive patients living in the highlands. *Conclusion.* The obtained data truly indicate the higher stress of regulatory systems of cardiac rhythm and hemodynamic in hypertensive patients with reduced TG synthesis and decrease in NO concentration in blood.

Key words: thyroid hormones, hypertension, endothelial dysfunction, heart rate variability, high altitude dwellers

Введение. Артериальная гипертензия (АГ) является основным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих ведущее место в структуре смертности, заболеваемости и инвалидизации населения многих стран мира [1]. Значимыми факторами развития, течения и прогноза АГ являются нарушения регуляций вегетативной нервной системы (ВНС).

Известно, что тиреоидные гормоны (ТГ) — трийодтиронин (Т3) и тетраiodтиронин — тироксин (Т4), как и NO, влияют на многие фундаментальные процессы в организме человека: на метаболизм белков, липидов, углеводов, рост, развитие и дифференцировку клеток. ТГ и оксид азота NO влияют на функции вегетативной (ВНС), сердечно-сосудистой, гормональной и многих других систем организма [2, 3]. ТГ оказывают прямое влияние на сердечно-сосудистую систему, регулируя экспрессию генов, кодирующих миозин, мембранные белки и ферменты. Неядерные эффекты ТГ оказывают влияние на сократимость миокарда и ОПСС, участвуют в терморегуляции, влияют на скорость поглощения тканями кислорода, синтез инсулина, увеличивают образование эритропоэтина, гемоглобина и многих других веществ [4].

Нарушение синтеза ТГ, развитие дисфункции эндотелия (ДЭ) со снижением продукции NO являются важными факторами течения АГ и развития ее осложнений. ТГ участвуют в реализации многих процессов, опосредованных NO, и на уровне клеточных структур и мембран клеток, и на ядерном уровне. Эффекты NO и ТГ могут как потенцировать, так и снижать взаимовлияние на физиологические и патологические процессы в органах и тканях и друг на друга [5].

С другой стороны, NO вносит существенный вклад в регуляцию тканевого и церебрального кровотока, функции ВНС и ЦНС, синаптическую, нейрональную, нейрогормональную активность и нейротрансмиссию и, следовательно, в регуляторные механизмы ВНС и ЦНС, ритма сердца и гемодинамики [6].

Исследование variability ритма сердца (ВРС) является общепризнанным методом неинвазивной оценки статуса ВНС и адаптационных возможностей организма в целом. ВРС отражает суммарное воздействие мгновенных изменений сердечного цикла, обусловленных дискретностью симпатической, парасимпатической, гуморальной регуляций и их взаимосвязями как между собой, так и с сегментарными (трофотропными) и надсегментарными (эрготропными) структурами ВНС и интегративными структурами ЦНС [7].

Одной из важных реакций адаптации к высокогорной гипоксии является снижение синтеза

ТТГ, ТГ и тканевой йодконцентрирующей функции, что вызывает снижение основного обмена и потребность тканей в кислороде.

В условиях умеренной гипоксии продукция NO увеличивается за счет: активации NO-синтаз, нитритредуктазной активности металлопротеинов и ферментов, эритроцитоза, депонирования NO, снижения элиминации NO и других адаптационных процессов [8, 9].

Цель исследования: изучить особенности влияния тиреоидных гормонов, тиреотропного гормона, метаболитов оксида азота (NO) на показатели variability ритма сердца и их взаимосвязи у здоровых лиц и больных артериальной гипертонией, проживающих в высокогорье.

Материалы и методы исследования. В высокогорных районах Приэльбрусья (2200–3400 м над уровнем моря), обследованы 185 коренных жителей:

- 1) 55 больных АГ 1 степени (20 мужчин и 25 женщин, возраст $49,3 \pm 2,8$ года), индекс массы тела (ИМТ) $24,7 \pm 0,5$ кг/м²;
- 2) 60 больных АГ 2 степени (26 мужчин и 34 женщин, возраст $55,2 \pm 2,7$ года), ИМТ $23,8 \pm 0,9$ кг/м²;
- 3) 70 здоровых лиц (37 мужчин и 33 женщин, возраст $46,7 \pm 3,3$ года), ИМТ $23,3 \pm 0,4$ кг/м², составили контрольную группу.

Все пациенты ознакомлены с методиками исследований, получено информированное согласие для дальнейшего их проведения.

Диагноз АГ и степень АД верифицировали на основании данных клинических, инструментальных, лабораторных и биохимических методов исследований. Стратификацию факторов риска и общего риска определяли в соответствии с рекомендациями Рабочей группы по лечению артериальной гипертонии Европейского общества гипертонии и Европейского общества кардиологов (ESH/ESC) 2013 г. [10].

Критерии исключения из исследования: больные АГ с уровнем САД ≥ 180 и ДАД ≥ 110 мм рт. ст.; пациенты с симптоматической гипертензией; с метаболическими и эндокринными заболеваниями; с нарушениями ритма и проводимости сердца; с выявленной стенокардией и/или постинфарктным кардиосклерозом в анамнезе; пациенты, принимающие лекарственные препараты, влияющие на концентрацию нитритов, нитратов и тиреоидных гормонов и уровни АД.

Всем пациентам было проведено общеклиническое, инструментальное и биохимическое обследование. Дополнительно проводились ультразвуковое исследование почек, щитовидной железы и осмотр сосудов глазного дна.

дит не только за счет нарушения синтеза NO, но и обусловлено ингибированием синтеза эндотелиального гиперполяризующего фактора [14, 15].

Заключение. Адекватное эндокринное обеспечение нейровегетативных процессов позволяет организму человека оптимально адаптироваться к меняющимся условиям среды, при этом тиреоидные гормоны и оксид азота обеспечивают важную роль в межсистемных механизмах поддержания гомеостаза в условиях высокогорной гипоксии.

Таким образом, в работе показаны взаимосвязь дисфункции щитовидной железы и дисфункции эндотелия у больных АГ. Полученные

результаты могут являться научной основой для дальнейшего изучения системных взаимосвязей между представленными системами с целью разработки индивидуальных лечебных и профилактических стратегий у больных АГ. Полученные результаты обосновывают необходимость включения в комплексное обследование больных АГ определение стабильных метаболитов NO, проведения реакции реактивной гиперемии для оценки функционального состояния эндотелия. Определение тиреоидных гормонов, ТТГ необходимо для обеспечения оптимального гормонального статуса у данной категории больных.

Литература

1. *A global brief on Hypertension* // World Health Day 2013. WHO/DCO/WHD 2013. Vol. 2. 39 p. www.who.int
2. *Bian K., Doursout M.F., Murad F.* Vascular system: Role of nitric oxide in cardiovascular diseases // *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2008. Vol. 10, № 4. P. 304–310. DOI: 10.1111/j.1751-7176.2008.06632.
3. *Gordan R., Gwathmey J.K., Xie L.H.* Autonomic and endocrine control of cardiovascular function. *World J Cardiol*. 2015. Vol. 7, N 4. P. 204–214. DOI: 10.4330/wjc.v7.i4.204
4. *Fliers E., Klieverik P., Kalsbeek L.A.* Novel neural pathways for metabolic effects of thyroid hormone // *Trends Endocrinol Metab*. 2010. Vol. 21, N 4. P. 230–236. DOI: 10.1016/j.tem.2009.11.008.
5. *Cappola A.R., Fried L.P., Arnold A.M., Danese M.D., Kuller L.H., Burke G.L., Tracy R.P., Ladenson P.W.* Thyroid status, cardiovascular risk, and mortality in older adults // *JAMA*. 2006. Vol. 295, № 9. P. 1033–1041.
6. *Бондарь Т.Н.* Тиреоидный статус организма и оксид азота // *Annals of Mechnikov's Institute*. 2008. № 3. С. 8–12. [Bondar' T.N. Tiroide status of the body and nitric oxide // *Annals of Mechnikov's Institute*. 2008. № 3. P. 8–12.]
7. *Thayer J.F., Yamamoto S.S., Brosschot J.F.* The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors // *Int. J. Cardiol*. 2010. Vol. 141. P. 122–131. DOI: 10.1016/j.ijcard.2009.09.543.
8. *Umbrello M., Dyson A., Feelisch M. Singer M.* The key role of nitric oxide in hypoxia: hypoxic vasodilatation and energy supply-demand matching // *Antioxid Redox Signal*. 2013. Vol. 19, № 14. P. 1690–1710. DOI:10.1089/ars.2012.4979.
9. *Crawford J.H., Isbell T.S., Huang Z., Shiva S., Chacko B.K., Schechter A.N., Darley-Usmar V.M., Kerby J.D., Lang J.D. Jr., Kraus D., Ho C., Gladwin M.T., Patel R.P.* Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood*. 2006. Vol. 107, № 2. P. 566–574. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2668.
10. *2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)* // *Journal of Hypertension*. 2013. Vol. 31, № 7. P. 1281–1357. DOI: 10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc.
11. *Баевский Р.М., Черникова А.Г.* К проблеме физиологической нормы: математическая модель функциональных состояний на основе анализа вариабельности сердечного ритма // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2002. Т. 36, № 6. С. 11–17. [Baevskij R.M., Chernikova A.G. To the problem of physiological norm: mathematical model of functional states because of the analysis of heart rate variability, *Aviakosmicheskaya i ehkologicheskaya medicina*. 2002. Vol. 36, № 6. P. 11–17.]
12. *Курьянова Е.В.* Вегетативная регуляция сердечного ритма: результаты и перспективы исследований. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2011. 139 с. [Kurjanova E.V. *Autonomic regulation of heart rate: results and prospects of research*. Astrakhan: Izdatelskiy dom «Astrakhanskiy universitet», 2011. 139 p.]
13. *Tsikas D.* Methods of quantitative analysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological liquids // *Free Radical Research*. 2005. Vol. 39, № 8. P. 797–815. DOI: 10.1080/10715760500053651.

14. *Козловский В.И.* Механизмы регуляции коронарного кровотока, опосредованной эндотелиальными сосудорасширяющими факторами: монография. Гродно: ГрГМУ, 2011. 216 с. [Kozlovskij V.I. *Mechanisms of regulation of coronary blood flow mediated endothelial vasodilator factors: monograph.* Grodno: GrGMU, 2011. 216 p.]

15. *Feletou M., Vanhoutte P.M.* Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts // *Ann. Med.* 2007. Vol. 39. P. 495–516. DOI: 10.1080/07853890701491000.

Поступила в редакцию: 08.12.2017 г.

Контакт: *Бесланев Ильяс Амалиевич, ibisl@yandex.ru*

Сведения об авторах:

Курданова Марьям Хусейновна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела клинической медицины и физиологии, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 360051, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Шогенцукова, д. 40;

Бесланев Ильяс Амалиевич — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом физиологии и патологии высокогорья, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 360051, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Шогенцукова, д. 40; e-mail: *ibisl@yandex.ru*;

Курданова Мадина Хусейновна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела клинической медицины и физиологии, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 360051, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Шогенцукова, д. 40;

Батырбекова Луиза Магомедовна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, зам. директора по науке, заведующая отделом клинической медицины и физиологии, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 360051, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Шогенцукова, д. 40;

Курданов Хусейн Абукаевич — доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, директор, Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, 360051, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, ул. Шогенцукова, д. 40.

УДК 159.923.2: 159.955.4

ПАРАМЕТРЫ ТОНКОЙ ПСИХОМОТОРИКИ КАК ИНДИКАТОРЫ САМООЦЕНОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ «Я-КОНЦЕПЦИИ» СУБЪЕКТА

*О.А. Клиценко, О.В. Самороднов*Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия
Санкт-Петербургский государственный экономический университет, Россия

PARAMETERS OF THE THIN PSYCHOMOTOR SYSTEM AS INDICATORS OF SELF-ASSESSMENT MECHANISMS OF THE "SELF-CONCEPT" OF AN INDIVIDUAL

*O.A. Klitsenko, O.V. Samorodnov*North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia
St. Petersburg State Economic University, St. Petersburg, Russia© *О.А. Клиценко, О.В. Самороднов, 2017 г.*

Цель исследования: показать интегративную взаимозависимость особенностей «Я-концепции» (в звене «самооценка») у активных спортсменов-шахматистов — от механизмов тонкой психомоторики — как наиболее чувствительного механизма нейронального реагирования на изменение ситуации. *Материалы и методы исследования.* Методом сравнения самооценок спортсменов по параметрам спортивной борьбы: «степень собственной эмоциональной реактивности», «степень уверенности в своих решениях», «умение предвидеть действия соперника» и другим с экспертными оценками по тем же параметрам у тех же спортсменов выявлялись случаи совпадений и несовпадений этих оценок, что позволяло выявить «слабое звено» в системе самооценок своих профессиональных качеств, затем методами математической статистики определялись корреляции таких совпадений с психомоторным статусом и типологическими особенностями спортсмена. *Результатом* проведенной работы явилось выявление «слабого звена» в системе самооценок своих профессиональных качеств, а целенаправленное воздействие на эти «слабые звенья» методом медитативной психокоррекции привело к выводу о безусловной оправданности таких интегральных методов в большом спорте.

Ключевые слова: «Я-концепция»; самооценка; экспертная оценка; корреляционная связь; типологический статус спортсмена; психомоторный статус; теория функциональных систем; «слабое звено» самоконтроля и саморегуляции; медитативная саморегуляция.

Purpose: to show integrative interdependence of features of "Self-concept" (in a link "self-assessment") at active athletes-chess players — on the mechanisms of a thin psychomotor system — as most sensitive mechanism of neuronal response to change of a situation. By means of the method of comparison of self-assessments of athletes in such parameters of sport contest like "degree of own emotional reactivity", "degree of confidence in the own decisions", "ability to expect actions of the rival" and others with expert estimates in accordance with the same parameters at the same athletes cases of coincidence (or discrepancies) of these estimates came to light; this allowed to reveal "a weak link" in system of self-assessments of the professional qualities of athletes, then correlations of such coincidence to the psychomotor status and typological features of the athlete were defined by methods of mathematical statistics. The result of the carried-out work was identification of a "weak link" in system of self-assessments of the professional qualities, and the purposeful influence on these "weak links" by method of «meditative psychological correction» led to a conclusion about unconditional correctness of such integrated methods in world-class sports.

Key words: self-concept; self-assessment; expert estimation; correlation relationship; typological status of the athlete; psychomotor status; theory of functional systems; "weak link" of self-control and self — regulation; meditative self-egulation.

Введение. Индивид формирует представления о себе и понимание своих сильных и слабых сторон деятельности не прямо и непосредственно, но лишь с учетом мнений значимых других из той же социальной группы или при помощи обобщенной точки зрения своей социальной группы как целого [1]. Образ, возникающий у значимого другого, так или иначе оказывает на человека влияние, но укорениться в развивающейся «Я-концепции» он может только при условии его стабильности и согласованности с существующей у субъекта перцептивной схемой [2, 3]. Одобрение значимого другого создает у субъекта позитивный образ Я, в то время как постоянное негативное мнение о нем способствует возникновению у него неблагоприятной о себе оценки. В любом случае созданный образ становится главным источником психологического опыта, необходимого для формирования «Я-концепции» [4, с. 227; 5, 6]. Для подготовки профессионалов в различных сферах социальной деятельности, в том числе тренеров-преподавателей, все сказанное крайне важно, так как требования успешной деятельности непосредственно связаны со зрелостью «Я-концепции» таких специалистов.

Цель данного исследования заключалась в выявлении и анализе связей параметров тонкой психомоторики с самооценочными характеристиками личности, относящимися к показателям «Я-концепции».

Материалы и методы исследования. Наши экспериментальные данные представлены на модели интеллектуальных видов единоборств (шахматы) — где самооценка, как и оценка себя со стороны спортсменов-коллег, спортсменов-соперников, — является важнейшим эталоном акцептора результата действия (П.К. Анохин) и порой является определяющим фактором в исходе спортивного результата, как и всей спортивной карьеры в целом. Различные уровни саморегуляции и жизнеобеспечения спортсмена интегративно обеспечивают тот или иной психофункциональный оптимум (мы понимаем под этим термином стабильное, повторяющееся психофизиологическое, нейропсихологическое, психомоторное состояние субъекта), не только в процессе непосредственной спортивной борьбы, но и личности в целом [7, 8].

К числу оформленных субневротических, доболезненных реакций у шахматистов можно отнести реакцию «гиперсубъективности». Характеризуется она снижением объективной оценки ситуации» [9]. В ситуациях допущения грубых промахов или решающих ошибок мастер заявляет, что виноваты посторонние шумы, вмешатель-

ства, неудобная одежда, неудачно скомпонованный график соревнований или даже лишняя чашка кофе, которую он выпил накануне соревнования. И никогда в качестве причин не называется объективно худшая позиция на шахматной доске, сложившаяся к моменту решающей ошибки, или неудовлетворительная спортивная форма субъекта деятельности [10]. Важно при этом провести диагностические исследования, чтобы вовремя проинформировать субъекта деятельности о возможных искажениях сознания в ситуациях стресса или перенапряжения анализаторных систем; найти его «слабое звено» и подсказать, что следует делать в ситуациях приближения разбалансированности регуляторных механизмов.

В процессе многолетних исследований была замечена прямая связь самооценочных характеристик личности с параметрами тонкой психомоторики, являющимися очень чувствительными «индикаторами» в плане отражения психофункционального состояния спортсмена [11, 12], однако не было ясно, какие характеристики «Я-концепции» «обслуживаются» тем или иным психомоторным «представительством». Исследование данного феномена было проведено в группе шахматистов (перворазрядники и кандидаты в мастера; выборка составляла 36 человек).

Из наиболее важных параметров «Я-концепции» выбраны следующие:

- «Степень эмоциональной возбудимости, реактивности на необычное развитие события»;
- «Самооценка своего поведения во время турнира»;
- «Уровень работоспособности в процессе турнирной борьбы»;
- «Уверенность в себе, в правомерности своих решений»;
- «Умение распределять время в процессе шахматного поединка»;
- «Оценка позиции — степень адекватности»;
- «Умение предвидеть ответы соперника в шахматном плане»;
- «Умение предвидеть поведение соперника в процессе партии или турнира в целом».

В качестве психомоторных параметров, призванных быть «индикаторами» достаточной структурированности «Я-концепции» спортсменов, выбраны хорошо зарекомендовавшие себя методики из арсенала средств, применяемых чаще всего в спортивной психологии, и являющимися собой эталонное «представительство» самых различных уровней психофизиологического и нейропсихологического жизнеобеспечения [13, 16], представленные в табл. 1.

деятельности (а особенно в ситуации межличностного конфликта) психофункционального оптимума — необходимо обучать субъекта таких видов деятельности правилам и приемам медитативной саморегуляции (а также с учетом особенностей локуса контроля, фоновой личностной тревожности и других типологических и личностных особенностей испытуемых), что в многолетней практике нашего преподавания отмеченных навыков приводило к исключительно положительным результатам [15].

5. Выявленные числовые значения тонкой психомоторики могут быть важными диагностическими коррелятами возможных отклонений молодых

спортсменов по степени искажений самооценочных механизмов психофункционального оптимума.

6. Выявленные закономерности функционирования самооценочных механизмов рефлексивного управления на модели шахматного единоборства в условиях интеллектуально-коммуникативного стресса — диктует необходимость введения в учебный процесс вузов спецкурса по подготовке работников социальной сферы и многих других специальностей, так или иначе испытывающих на себе многочасовые перегрузки, навыкам саморегуляции и самоконтроля с целью поддержания индивидуального психофункционального оптимума.

Литература

1. Мокшанцев Р., Мокшанцева А. Я в социальном мире // Социальная психология: учебное пособие для вузов. Новосибирск: Инфра-М, 2001. 408 с. [Mokshantsev R., Mokshantsev A. I in the social world, *Social psychology: studies. A grant for higher education institutions*. Novosibirsk: Infra-M, 2001. 408 p.]
2. Баклушинский С.А., Белинская Е.П. Развитие представлений о понятии социальная идентичность // Этнос. Идентичность. Образование. Труды по социологии образования. 1998. Т. 4, № 6. С. 64–85. [Baklushinsky S.A., Belinskaya E.P. Development of ideas of concept social identity, *Ethnos. Identity. Education. Works on education sociology*. 1998. Vol. 4, № 6. P. 64–85.]
3. Друзинин В. Психология: учебник для гуманитарных вузов. СПб.: Питер, 2001. 656 с. [Druzhinin V. *Psikhologiya. The textbook for liberal arts colleges*. Saint Petersburg: Piter, 2001. 656 p.] http://www.gumer.info/bibliotek_Buks/Psihol/drugin/index.php/ Дата обращения 06.05.2017.
4. Бернс Р. Развитие Я-концепции и воспитание: пер. с англ. М.: Прогресс, 1986. [Burns R. *Development of the Ya-concept and the education: lane with English*. Moscow: Progress, 1986.] <http://psyberlink.flogiston.ru/internet/bits/burns0.htm>. Дата обращения 12.05.2017.
5. Свенцицкий А.Л. Я-концепция и самооценка // Социальная психология: учебник. М.: Проспект, 2005. С. 68–70. [Sventsitsky A.L. Ya-concept and self-assessment. *Social psychology: studies*. Moscow: Prospectus, 2005. P. 68–70.]
6. Эрикссон Э. Идентичность: юность и кризис: пер. с англ.; общ. ред. и предисл. А.В. Толстых. М.: Прогресс, 1996. 344 с. [Ericsson E. *Identity: youth and crisis: The lane with an English // General edition and preface A.V. Tolstykh*. Moscow: Progress, 1996. 344 p.]
7. Карл Роджерс и феноменологический подход, Я-концепция: «все-таки кто я?» [Karl Rogers and phenomenological approach, Ya-concept: «after all who I am?»] <http://www.rogers.psy4.ru/theory.htm>. Дата обращения 08.05.2017.
8. Самороднов О.В. Зависимость самоконтроля шахматистов от степени личностной тревожности // Методические и научные основы научно-технического творчества молодежи (НТТМ) физического вуза. СПб.: Изд-во ГДОИФК им. П.Ф. Лесгафта, 1994. С. 18–19. [Samorodnov O.V. Dependence of self-checking of chess players from degree of personal uneasiness, *Methodical and scientific bases of the scientific and technical creativity of youth (STCY) of sports higher education institution*. Saint Petersburg: Publishing house of GDOIFK of P.F. Lesgafta, 1994. P. 18–19.]
9. Вайзман Н.П. Беречь шахматистов! — М.: АПК и ППРО. 2006. 41 с. [Wiseman N. P. Berech of chess players! M.: Agrarian and industrial complex and PPRO. 2006. 41 p.]
10. Самороднов О.В. Локус контроля как фактор структурирования пейсмейкерного механизма саморегуляции // Актуальные проблемы психологии и педагогики // Материалы Всерос. науч. конф. с международным участием (Саратов, 19 мая 2011 г.). Саратов: СГСЭУ, 2011. С. 128–131. [Samorodnov O.V. Lokus of control as factor of structuring the peysmekerny mechanism of self-control // Actual problems of psychology and pedagogics, *Materials Vseros. nauchn. Konf. with the international participation*. (Saratov, on May 19, 2011). Saratov: SGSEU, 2011. P. 128–131.]

11. Ильин Е.П. Дифференциальная психофизиология физического воспитания и спорта — Л.: ЛГПИ им. А.И. Герцена, 1979. 83 с. [Ilyin E.P. *Differential psychophysiology of physical training and sport*. Leningrad: LGPI of A.I. Herzen, 1979. 83 p.]
12. Никандров Н.Н. Психомоторика. СПб.: Речь, 2004. 104 с. [Nikandrov N.N. *Psikhomotorik*. Saint Petersburg: Rech, 2004. 104 p.]
13. Мерлин В.С. Психология индивидуальности. М. — Воронеж: НПО «МОДЭК», 1996. 448 с. [Merlin V.S. *Psikhologiya of identity*. Moscow-Voronezh: NPO «MODEK», 1996. 448 p.]
14. Бранский В.П., Пожарский С.Д. Социальная синергетика и акмеология. СПб., Изд-во «Политехника». 2002. 476 с. [Bransky V.P., Pozharsky S.D. *Social synergetics and akmeology*. Saint Petersburg: Publishing house of «Politekhnik», 2002. 476 p.]
15. Самороднов О.В. Применение медитативной саморегуляции в шахматном спорте // Коррекция и управление функциональным состоянием в процессе трудовой деятельности. Караганда. Ин-т физиологии и гигиены труда НАН Республики Казахстан. 1993. С. 146. [Samorodnov O.V. Application of meditative self-control in chess sport, Correction and management of a functional state in the course of work, Karaganda. *Ying t of physiology and occupational health of NAN — the Republic of Kazakhstan*. 1993. P. 146.]
16. Самороднов О.В. Исследование локуса контроля с целью спортивного совершенствования шахматистов // Современные проблемы физкультурного образования учащейся молодежи. Уральск: Изд-во УГПИ им. А.С. Пушкина, 1993. С. 136–139. [Samorodnov O.V. Research of a locus of control for the purpose of sports improvement of chess players, *Modern problems of sports formation of the studying youth*. Uralsk: Publishing house of UGPI of A.S. Pushkin, 1993. P. 136–139.]

Поступила в редакцию: 17.05.2017 г.

Контакт: Клиценко Ольга Анатольевна, olkl@yandex.ru

Сведения об авторах:

Клиценко Ольга Анатольевна — кандидат биологических наук, доцент Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова; 191015, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41; e-mail: olkl@yandex.ru;

Самороднов Олег Вильгельмович — кандидат психологических наук, доцент Санкт-Петербургского государственного экономического университета; 191023, Санкт-Петербург, Садовая ул., д. 21; e-mail: samorodnovoleg@mail.ru.

УДК 616-002.5

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С КО-ИНФЕКЦИЕЙ: ТУБЕРКУЛЕЗ И ГЕПАТИТ С

¹Д.Н. Оськин, ²А.Н. Варнавский¹Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань, Россия²Рязанский государственный радиотехнический университет, г. Рязань, Россия

FEATURES OF LABORATORY INDICATORS OF IRON METABOLISM AT PATIENTS WITH CO-INFECTION: TUBERCULOSIS AND HEPATITIS C

¹D.N. Oskin, ²A.N. Varnavsky¹Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Ryazan, Russia²Ryazan State Radio Engineering University, Ryazan, Russia

© Д.Н. Оськин, А.Н. Варнавский, 2017 г.

Цель исследования: изучение обмена железа у пациентов с ко-инфекцией: туберкулез органов дыхания и хронический гепатит С. *Материалы и методы исследования.* Проведено простое рандомизированное исследование. Основную группу составили пациенты с хроническим вирусным гепатитом С и туберкулезом органов дыхания (n=71), контрольную группу — пациенты с туберкулезом органов дыхания (n=128). Определяли основные показатели гемограммы, обмена железа и острофазовые белки. Показатели в группах оценивали, используя непараметрический критерий Манна–Уитни. *Результаты и их обсуждение.* Среди пациентов в контрольной группе анемия была у 25% пациентов, в опытной группе — у 26,7%. В основной группе имело место статистически значимое различие среднего объема эритроцитов, более высокие значения ферритина, сывороточного железа и процент насыщения трансферрина железом. При хронических формах туберкулеза в контрольной группе уменьшалась концентрация гемоглобина, появлялся ретикулоцитоз, снижалась концентрация сывороточного железа и процент насыщения трансферрина железом. В опытной группе эти показатели сохранялись на высоком уровне. Различия групп были статистически значимы. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и туберкулезом органов дыхания обнаружено более частое развитие анемии хронической болезни с последующей тенденцией к перегрузке тканей железом. В то же время среди пациентов с хроническими формами туберкулеза и гепатитом анемии встречаются гораздо реже.

Ключевые слова: туберкулез, ко-инфекция, гепатит С, анемия, показатели гемограммы, обмен железа, перегрузка железом, ретикулоциты, сывороточное железо, ферритин.

The aim of the research was to study the metabolism of iron at patients with co-infection: tuberculosis of the respiratory organs and chronic hepatitis C. Simple randomized research. The main group consists of patients suffering with chronic viral hepatitis C and respiratory tuberculosis (n=71). The control group consists of patients with respiratory tuberculosis (n=128). The main indicators of hemogram, iron metabolism and acute phase proteins were defined. Indicators in the groups were assessed using the nonparametric Mann-Whitney test. Among the patients in the control group, anemia was detected at 25% of the patients. In the experimental group this rate amounted to 26.7%. In the main group, there was a statistically significant difference in the mean volume of erythrocytes, higher values of ferritin, serum iron, and value of saturation of transferrin with iron in per cents. In the case of chronic forms of tuberculosis in the control group, the concentration of hemoglobin decreased, reticulocytosis appeared, serum iron concentration and percentage of saturation of transferrin by iron decreased. In the experimental group, these indicators remained at a high level. The differences in the groups were statistically significant. At patients suffering with chronic viral hepatitis C and respiratory tuberculosis, a more frequent progression of anemia in chronic form of the disease was detected, followed by a tendency to overload the tissues with iron. At the same time, among patients with chronic forms of tuberculosis and hepatitis, muchless cases of anemia appear.

Key words: tuberculosis, co-infection, hepatitis C, anemia, hemogram parameters, iron metabolism, iron overload, reticulocytes, serum iron, ferritin.

Введение. Железо является жизненно необходимым элементом практически для всех возбудителей грибковых, бактериальных и вирусных инфекционных заболеваний, в том числе туберкулеза и вирусных гепатитов. Некоторые патогенные возбудители нуждаются в железе больше, чем другие микроорганизмы. И патогенные микробы, и организм человека имеют железосвязывающие протеины, основной функцией которых является связывание и мобилизация железа для нужд различных жизненно важных биохимических реакций и в депо. В свою очередь, в организме человека железосвязывающие протеины играют роль факторов неспецифической защиты от инфекций, поскольку в конкурентной борьбе с инфекционными сидерофорами связывают железо, тем самым ограничивая доступ к нему патогенных микроорганизмов. Конкурентная борьба за железо между организмом человека и патогенными микроорганизмами в некоторых ситуациях приобретает патологические черты [1, 2]. Избыточное накопление или наоборот обеднение запасов железа в организме человека зачастую приводит к неблагоприятным эффектам и не способствует излечению [3, 4].

Существуют исследования, направленные на повышение эффективности послеоперационного периода у больных туберкулезом за счет использования препаратов железа. Так, например, в работе [5] оценивали результаты предоперационного использования рекомбинантного человеческого эритропоэтина и сахара железа для профилактики послеоперационной анемии у больных туберкулезом.

Особое значение нарушение регуляции микроэлементов приобретает в случае развития микстинфекций, нередких в настоящее время. Одной из таких актуальных проблем является ко-инфекция вирусами гепатита пациентов с туберкулезом, в частности хронический вирусный гепатит С, встречающийся более чем у 10% этих больных [6]. Например, в работах [7–10] представлены результаты исследований, показывающий распространенность данной ко-инфекции в зарубежных странах, в тюрьмах, среди социально дезадаптированного населения.

В работе [11] изучали распространенность хронического вирусного гепатита С у пациентов с туберкулезом и влияние гепатита на проявления гепатотоксичности противотуберкулезной терапии. Сделан вывод о высокой распространенности ко-инфекции: туберкулеза и хронического вирусного гепатита С. Также было отмечено, что состояние пациентов с туберкулезом и гепатитом С, в первую очередь пожилых, с низким индексом массы тела и имеющих повышенные показатели транс-

аминаз, необходимо контролировать более тщательно, особенно в первые 1–2 месяца терапии.

Распространенность патологии печени и смертность во время противотуберкулезного лечения у пациентов с множественными инфекциями: ВИЧ, туберкулезом и вирусами гепатита исследовались в работе [12]. Авторы делают вывод о том, что ВИЧ и гепатит являются факторами риска развития гепатотоксичности и повышения смертности во время противотуберкулезной терапии.

В настоящее время существует мало работ, посвященных исследованию показателей обмена, в частности железа, у больных с ко-инфекцией: туберкулез органов дыхания и хронический гепатит.

Цель исследования: изучение обмена железа у пациентов с ко-инфекцией: туберкулез органов дыхания и хронический гепатит С и установление основных закономерностей (если они имеют место) нарушения обмена железа в организме пациентов с этой ко-инфекцией.

Материалы и методы исследования. Простое рандомизированное исследование выполнено на базе ГБУ РО РОКПТД. Основную группу составили пациенты с хроническим вирусным гепатитом С и туберкулезом органов дыхания (n=71). Контрольную группу составили пациенты с туберкулезом органов дыхания (n=128). Давность заболевания туберкулезом в обеих группах от 1 до 3 лет, распространенность и формы легочного туберкулеза были одинаковы, возраст от 21 до 52 лет (средний возраст 36,4 года), все обследуемые — мужчины, без сопутствующей патологии со стороны других органов и систем организма. Давность заболевания гепатитом от 1 до 5 лет, диагноз этого заболевания был подтвержден иммунологическими методами. Дополнительно внутри опытной и контрольной групп пациенты были разделены на больных с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания с минимальными клиническими проявлениями распространенностью 1–2 легочных сегмента (очаговый туберкулез), больных с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания с выраженными клиническими проявлениями распространенностью более 2 сегментов (инфильтративный туберкулез) и больных с хроническим туберкулезом органов дыхания распространенностью более 2 легочных сегментов (туберкулемы, фиброзно-кавернозный и цирротический туберкулез). Исследование выполнялось в течение 1–2 недель после поступления в стационар, до начала лечения туберкулеза. Лечение вирусного гепатита С на момент обследования пациентов также не проводилось. У пациентов обеих групп были выполнены оценка основных показателей гемограммы и обмена железа. Общий анализ крови проводили на гематологическом автоматиче-

ружены высокие показатели ферритина и сывороточного железа среди пациентов с ограниченными формами туберкулеза, что в отсутствие повышения других острофазовых показателей свидетельствует об исходной тенденции к перегрузке железом у этой категории больных. Также в опытной группе отсутствует тенденция увеличения количества больных с анемией у пациентов с хроническим туберкулезом. Случаи анемии в опытной группе встречались с одинаковой частотой, независимо от длительности и распространенности заболевания.

Таким образом в качестве практических рекомендаций необходимо отметить необходимость оценки лабораторных показателей гемограммы и обмена железа у пациентов с туберкулезом, особенно с сопутствующим гепатитом. Прослеживается потребность в коррекции недостатка железа и проведения гемостатической терапии в первую очередь у пациентов с хроническими формами туберкулеза и коррекции перегрузки железом у пациентов с туберкулезом и хроническим гепатитом С. При этом необходимо помнить, что при ко-инфекции перегрузка железом развивается уже в самом начале заболевания, поэтому относительно использования препаратов железа у этих категорий больных необходимо отметить, что при наличии анемии у больных с хроническим туберкулезом которая носит черты постгеморрагической вероятно показаны пероральные железосодержащие препараты, в то время как для лечения анемии при сопутствующем гепатите С препараты железа следует назначать с осторожностью вследствие перегрузки железом. Использование внутривенных препаратов железа вероятно не показано при этих заболеваниях вследствие высокого риска развития тяжелых побочных реакций у данной категории больных [15].

Заключение. Проведенное нами исследование позволяет говорить, что анемии при туберкулезе и при туберкулезе, сочетанном с хроническим вирусным гепатитом С, встречаются одинаково часто, у каждого четвертого пациента. Вместе с тем при туберкулезе, сочетанном с хроническим вирусным гепатитом С, наблюдается перегрузка организма железом, а ее появление и дальнейшее развитие не зависят от формы и длительности течения туберкулеза.

При туберкулезе без хронического вирусного гепатита С наблюдается клинический и лабораторный дефицит железа, который усугубляется по мере прогрессирования болезни, а причиной данных изменений, по-видимому, могут являться геморрагические осложнения туберкулеза. В связи с этим при туберкулезе и туберкулезе, сочетанном с хроническим вирусным гепатитом С, следует рекомендовать рутинный контроль гематологических показателей и показателей обмена железа для решения вопроса о назначении пероральных железосодержащих препаратов, либо, напротив, препаратов, корригирующих перегрузку железом.

Таким образом, наличие при туберкулезе в качестве ко-инфекции хронического вирусного гепатита С в целом не приводит к увеличению количества анемий среди пациентов, но изменяет характер анемии — реже ее причиной является дефицит железа. Кроме того, хронический вирусный гепатит С, является фактором, приводящим к перегрузке организма железом, и это не зависит от формы и длительности течения туберкулеза. При туберкулезе без хронического вирусного гепатита С наблюдается дефицит железа, наиболее выраженный в случаях хронического распространенного процесса, развивающийся, вероятно, вследствие геморрагических осложнений.

Литература

1. Миронов А.Ю., Леонов В.В. Железо, вирулентность и межмикробные взаимодействия условно-патогенных микроорганизмов // Успехи современной биологии. 2016. Т. 136, N 3. С. 301–310. [Mironov A.Yu., Leonov V.V. Iron, virulence and intermicrobial interactions of opportunistic microorganisms, *Advances in modern biology*. 2016. Vol. 136, № 3. P. 301–310.]
2. Николаев А.Н. Профилактика послеоперационной анемии у больных туберкулезом // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2014. № 2. С. 61–67. [Nikolaev A.N. Prevention of postoperative anemia in patients with tuberculosis, *Russian medico-biological bulletin name academician I.P. Pavlova*. 2014. № 2. P. 61–67.]
3. Инякова Н.В. Распространенность и методы коррекции нарушений обмена железа при туберкулезной инфекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии Росздрава. Рязань, 2011. 26 с. [Inyakova N.V. *Prevalence and methods of correction of iron metabolism disorders in tuberculosis infection*. Ryazan, 2011. 26 p.]
4. Натальский А.А., Тарасенко С.В., Песков О.Д. Проблема печеночной недостаточности в хирургии // Наука Молодых — Eruditio Juvenium. 2013. № 1. С. 59–71. [Natal'skii A.A., Tarasenko S.V., Peskov O.D. The problem of hepatic insufficiency in surgery // *Science of Young — Eruditio Juvenium*. 2013. № 1. P. 59–71.]

5. Николаев А.Н. Результаты использования рекомбинантного человеческого эритропоэтина и сахара железа для профилактики послеоперационной анемии у больных туберкулезом // *Земский врач*. 2015. № 1 (25). С. 37–41. [Nikolaev A.N. Results of the use of recombinant human erythropoietin and iron saccharate for the prevention of postoperative anemia in patients with tuberculosis, *Zemsky Doctor*. 2015. № 1 (25). P. 37–41.]

6. Иванов А.К., Сакра А.А., Нечаев В.В., Малашенков Е.А., Назаров В.Ю., Шевырева Е.В. Сочетание туберкулеза и вирусных гепатитов: старые и новые проблемы // *Профилактическая и клиническая медицина*. 2013. № 3 (48). С. 78–81. [Ivanov A.K., Sacra A.A., Nechaev V.V., Malashenko E.A., Nazarov V.Y., Shevyreva E.V. The combination of tuberculosis and viral hepatitis: old and new problems, *Prophylactic and Clinical Medicine*. 2013. №. 3 (48). P. 78–81.]

7. Oliveira Uehara de S.N., Emori Ch.T., Perez R.M., Mendes-Correa M.C.J., de Souza Paiva Ferreira A., de Castro Amaral Feldner A.C., Silva A.E., Filho R.J., de Souza E. Silva I.S., Ferraz M.L. High incidence of tuberculosis in patients treated for hepatitis C chronic infection // *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2016. Vol. 20, Issue 2. P. 205–209.

8. Beijer U., Wolf A., Fazel S. Prevalence of tuberculosis, hepatitis C virus, and HIV in homeless people: a systematic review and meta-analysis // *The Lancet Infectious Diseases*. 2012. Vol. 12, Issue 11. P. 859–870.

9. Matthews Ph.C., Geretti A.M., Goulder Ph.J.R., Klenerman P. Epidemiology and impact of HIV coinfection with Hepatitis B and Hepatitis C viruses in Sub-Saharan Africa // *Journal of Clinical Virology*. 2014. Vol. 61, Issue 1. P. 20–33.

10. Kamarulzaman A., Reid S.E., Schwitters A., Wiessing L., El-Bassel N., Dolan K., Moazen B., Wirtz A.L., Verster A., Altice F.L. Prevention of transmission of HIV, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and tuberculosis in prisoners // *The Lancet*. 2016. Vol. 388, Issue 10049. P. 1115–1126.

11. Agha M.A., El-Mahalawy I.I., Seleem H.M., Helwa M.A. Prevalence of hepatitis C virus in patients with tuberculosis and its impact in the incidence of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity // *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2015. Vol. 64, Issue 1. P. 91–96.

12. Mo P., Zhu Qi, Teter C., Yang R., Deng L., Yan Y., Chen J., Zeng J., Gui X. Prevalence, drug-induced hepatotoxicity, and mortality among patients multi-infected with HIV, tuberculosis, and hepatitis virus // *International Journal of Infectious Diseases*. 2014. Vol. 28. P. 95–100.

13. ВОЗ. Концентрация гемоглобина для диагностики анемии и оценки ее тяжести. Женева, Всемирная организация здравоохранения, 2011. Имеется по адресу: http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_ru.pdf WHO. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. World Health Organization, 2011. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85839/3/WHO_NMH_NHD_MNM_11.1_eng.pdf

14. Munoz M., Garcia-Erce J.A., Remacha A.F. Disorders of iron metabolism. Part II: iron deficiency and iron overload // *J. Clin. Pathol*. 2011. Vol. 64. P. 287–296.

15. Rampton D., Folkersen J., Fishbane S. et al. Hypersensitivity reactions to intravenous iron: guidance for risk minimization and management // *Haematologica [Internet]*. 2014. Vol. 99. P. 1671–1676. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25420283>.

Поступила в редакцию: 13.10.2017 г.

Контакт: Оськин Дмитрий Николаевич, doctor.oskin@yandex.ru

Сведения об авторах:

Оськин Дмитрий Николаевич — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры фтизиатрии с курсом лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9; тел.: +7 (920) 638-40-64; e-mail: doctor.oskin@yandex.ru;

Варнавский Александр Николаевич — кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры автоматизации информационных и технологических процессов ФГБОУ ВО «Рязанский государственный радиотехнический университет», 390005, г. Рязань, ул. Гагарина, д. 59/1; тел.: +7 (920) 963-82-50; e-mail: varnavsky_alex@rambler.ru.

УДК 616.33-002.44

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ МЕЛАТОНИНА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

¹Э.Х. Османов, ¹Д.Ю. Семенов, ¹А.П. Богданов, ²Л.Е. Колоскова, ¹М.И. Зайцева, ^{3,4}А.В. Соколов,
^{3,4}В.Б. Васильев

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург, Россия

²ООО «Мед Лаб СПб», Санкт-Петербург, Россия

³Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

METHOD OF STUDYING OF MELATONIN RECEPTORS IN THE MUCOSA OF STOMACH AND DUODENUM

¹Z.Kh. Osmanov, ¹D.Yu. Semenov, ¹A.P. Bogdanov, ²L.E. Koloscova, ¹M.Ig. Zaytseva, ^{3,4}A.V. Sokolov,
^{3,4}V.B. Vasilyev

¹Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

²ООО «MedLabSpb», St. Petersburg, Russia

³Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

⁴St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2017 г.

Согласно современным представлениям, язвенная болезнь является полиэтиологичным заболеванием. Основная роль в патогенезе несомненно принадлежит инфекционному фактору и стрессовой нагрузке, испытываемой организмом в целом. Тяжесть течения болезни, в свою очередь, обусловлена нейрогенно-генетическими факторами и особенностями работы местных систем регуляции, немаловажное значение в которых отводится мелатонину. В данной работе особое внимание уделено мелатонину, который воздействует на слизистую оболочку двенадцатиперстной кишки паракринно — путем активации своих рецепторов, расположенных на мембранах и ядрах энтероцитов. Присутствие рецепторов мелатонина (MT1 и MT2) в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки пациентов с язвенной болезнью и в контрольной группе определялось методом проточной флуороцитометрии. Статистический анализ результатов исследования выявил значимые отличия соотношения рецепторов мелатонина (MT1/MT2) у пациентов с осложненными формами заболевания по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: язвенная болезнь; мелатонин; рецепторы мелатонина; метод проточной флуороцитометрии.

According to current concepts, peptic ulcer disease is a polyetiological malady. No doubt that the leading role in the pathogenesis belongs to infectious factors and the stress load experienced by an organism as a whole. Besides, the severity of the disease also depends on neurogenic and genetic factors and functional peculiarities of regulating systems in organs/tissues, in which melatonin plays a role of major importance. This article is dedicated to melatonin which affects the mucous membrane of the duodenum in the way of paracrine activity, by means of activation of its receptors located in membranes and cells of enterocytes. The presence of receptors of melatonin (MT1 and MT2) in the mucosa of stomach and duodenum of patients suffering with ulcer disease and in the control group was evaluated by means of flow fluorocytometry method. The statistical analysis of results of the study exposed significant differences of the ratio of melatonin receptors (MT1/MT2) at patients suffering with complicated forms of the disease compared to patients of the control group.

Key words: ulcer disease, melatonin, receptors of melatonin, flow cytometry.

Введение. Несмотря на снижение заболеваемости язвенной болезнью за последние 12 лет вдвое, уровень смертности остается неизменным. При-

чинами летальных исходов остаются по-прежнему осложненные формы течения язвенной болезни, включающие перфорацию язвы и кровотечение [1].

Gorchakova M.V. Results of dynamic assessment of melatonin receptor expression in lymphocytes in acute mild and severe pancreatitis, *Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova*. 2014. Vol. 173, № 1. P. 044–046.]

16. Семенов Д.Ю., Васильев В.Б., Зуева Е.Е., Тоноян А.Г., Шапкина Л.Г., Горчакова М.В., Соколов А.В. Исследование экспрессии рецепторов мелатонина в лимфоцитах и клетках поджелудочной железы в условиях экспериментального острого панкреатита // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. 2012. Т. XIX, № 4. С. 50–52. [Semenov D.Yu., Vasiliev V.B., Zueva E.E., Tonoyan A.G., Shapkina L.G., Gorchakova M.V., Sokolov A.V. Expression of melatonin receptors on lymphocytes and pancreas cells during experimental (model) acute pancreatitis, *The Scientific Notes of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University*. 2012. Vol. XIX, № 4. P. 50–52.]

17. Семенов Д.Ю., Тоноян А.Г., Степнов И.А., Горчакова М.В., Шапкина Л.Г. Значение мелатонина и его рецепторов в патогенезе острого панкреатита // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. 2009. Т. 168, № 3. С. 107–110. [Semenov D.Yu., Tonoyan A.G., Stepnov I.A., Gorchakova M.V., Shapkina L.G. The role of melatonin and its receptors in the pathogenesis of acute pancreatitis, *Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova*. 2009. Vol. 168, № 3. P. 107–110.]

18. Тоноян А.Г., Степнов И.А., Шапкина Л.Г. Новый фактор прогноза тяжести острого панкреатита. // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. 2009. Т. XVI, № 3. С. 43–44. [Tonoyan A.G., Stepnov I.A., Shapkina L.G. A new factor of acute pancreatitis severity prognosis, *The Scientific Notes of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University*. 2009. Vol. XVI, № 3. P. 43–44.]

19. Тоноян А.Г., Степнов И.А., Шапкина Л.Г., Волчков Г.В., Гриценко Д.Н. Разработка нового критерия прогноза тяжести острого панкреатита // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. 2009. Т. XVI, № 4. С. 87 [Tonoyan A.G., Stepnov I.A., Shapkina L.G., Volchikov G.V., Gricenko D.N. Development of new criteria for prediction of severity of acute pancreatitis, *The Scientific Notes of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University*. 2009. Vol. XVI, № 4. P. 87.]

Поступила в редакцию: 19.10.2017 г.

Контакт: Богданов Антон Павлович, anton_bogdanov@mail.ru

Сведения об авторах:

Османов Зейнур Худдусович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии общей с клиникой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8; тел.: 329-03-33; e-mail: zhosmanov@mail.ru;

Семенов Дмитрий Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии общей с клиникой Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8; тел.: 329-03-33;

Богданов Антон Павлович — врач-эндоскопист Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8; тел.: 329-03-33; e-mail: anton_bogdanov@mail.ru;

Колоскова Людмила Евгеньевна — заведующая клинико-диагностической лабораторией, ООО «Мед.ЛабСПб», 191167, Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, д. 71, лит. А, пом. 4-Н; e-mail: ludmila.koloskova@list.ru;

Зайцева Маргарита Игоревна — врач-хирург Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, клиника общей хирургии, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6/8; тел.: 329-03-33; e-mail: zaytseva-m@mail.ru;

Соколов Алексей Викторович — доктор биологических наук, профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9, заведующий лабораторией биохимической генетики отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: biochemsokolov@gmail.com;

Васильев Вадим Борисович — доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий Санкт-Петербургского государственного университета, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9, руководитель отдела молекулярной генетики ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12.

ХРОНИКА

АНАЛИЗ БЕЛКОВЫХ МАСС-СПЕКТРОВ И ПОЛНОГО ГЕНОМА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *L. FERMENTUM*

И.В. Белова, А.Г. Точилина, И.В. Соловьева, Т.П. Иванова., В.А. Жирнов

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, 603950, ул. Малая Ямская, д. 71, e-mail: lab-lb@yandex.ru

ANALYSIS OF PROTEIN MASS-SPECTRA AND COMPLETE GENOME SEQUENCES OF PROBIOTIC STRAINS *L. FERMENTUM*

I.V. Belova., A.G. Tochilina, I.V. Solovyova., T.P. Ivanova, V.A. Zhirnov

Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology in the name of academician I.N. Blokhina, Nizhny Novgorod, 603950, Malaya Yamskaya str., house 71, e-mail: lab-lb@yandex.ru

Фенотипическая характеристика штамма, применяемая ранее для идентификации, паспортизации и типирования пробиотических бактерий, в настоящее время уже не является достаточной для установления таксономического положения изучаемого организма и его свойств. Современные нормативные документы регламентируют полифазный подход к изучению штаммов, то есть применение для их характеристики целого комплекса фенотипических и молекулярно-генетических методов. В данной работе представлены результаты идентификации и изучения свойств двух пробиотических штаммов: *L. fermentum* 90ТС-4 и *L. fermentum* 39 — с использованием современных биохимических тест-систем, MALDI-TOF масс-спектрометрии и полногеномного секвенирования.

Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью времяпролетного MALDI масс-спектрометра Autoflex (Bruker Daltonics, Германия), оснащенного

модифицированным твердотельным лазером. Внешнюю калибровку проводили с использованием бактериального тест-стандарта (Bruker Daltonics, Германия), в качестве матрицы применяли α -циано-4-гидроксикоричную кислоту (α -СНСА). Расширенное изучение биохимических свойств штаммов было проведено с использованием стрипов API 50 CHL (Biomerieux, Франция). Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina), сборка геномов и биоинформационный анализ осуществлялись с использованием программного обеспечения «CLC Bio Assembly» и геномного сервера RAST (<http://rast.nmpdr.org>).

На первом этапе работы микроорганизмы были идентифицированы с использованием масс-спектрометрии, при этом было подтверждено их таксономическое положение и получены индивидуальные белковые масс-спектры (рисунок).

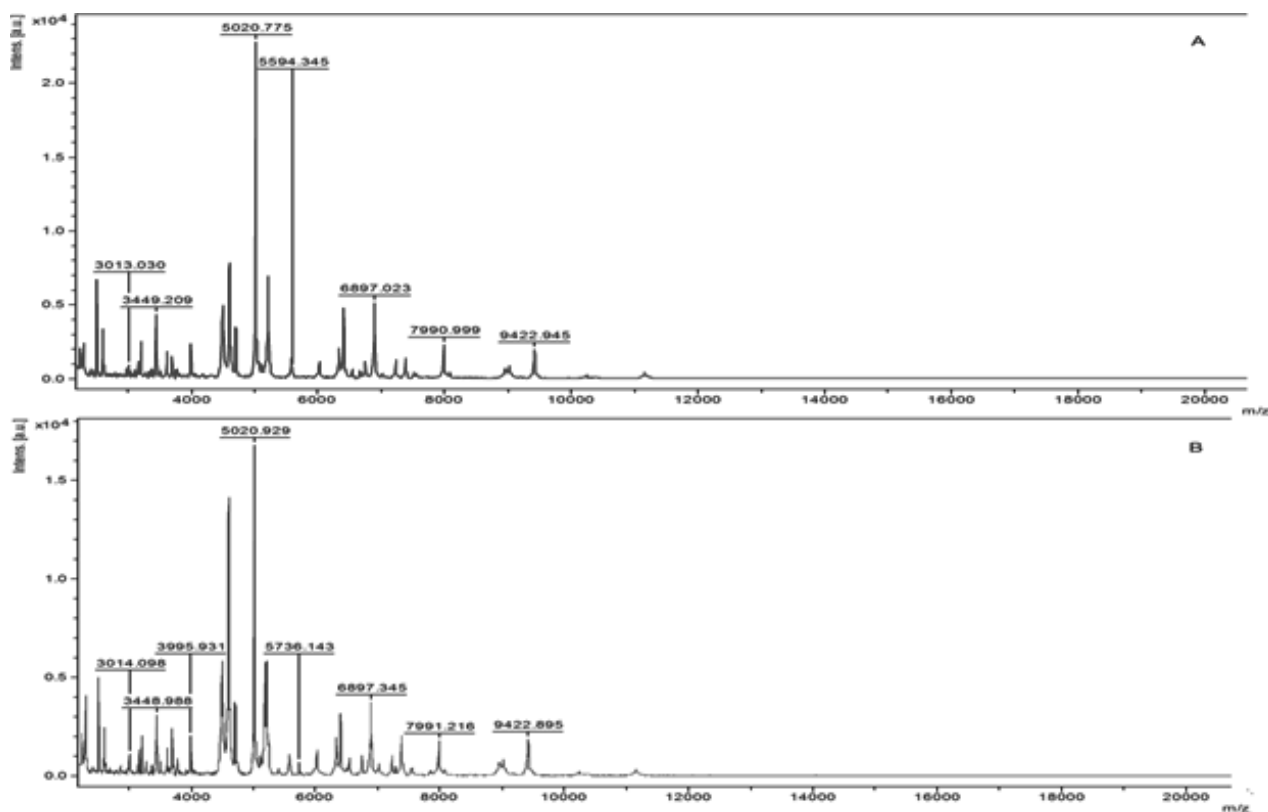


Рисунок. Белковые масс-спектры штаммов *L. fermentum* 90 ТС-4 (а) и *L. fermentum* 39 (б) при использовании α -СНСА матрицы

Были выявлены штаммоспецифичные белковые пики: для штамма *L. fermentum* 90 ТС-4 — 2206, 2237, 2275, 2602, 2633, 2988, 3375, 4535, 4549, 4564, 4640, 4651, 4979, 5051, 5167, 5179, 5594, 6358, 6369, 6399, 6436, 6858 m/z, а для штамма *L. fermentum* 39 — 2623, 3009, 3272, 4464, 4531, 4537, 4545, 4637, 4643, 4655, 4698, 4723, 4731, 5149, 6013, 6853, 7023, 7400 m/z.

Затем были изучены биохимические профили штаммов: *L. fermentum* 39 биохимически более активный, имеет типичный для данного вида биохимический профиль и обладает способностью к гидролизу ацетилглюкозамина и арбутина, причем гидролизовать ацетилглюкозамин способны лишь 6% штаммов данного вида, а гидролиз арбутина виду *L. fermentum* не свойственен. По данной причине эти отличия могут рассматриваться как «метка» штамма *L. fermentum* 39. *L. fermentum* 90 ТС-4 напротив, имеет редуцированный биохимический профиль и не способен ферментировать ряд сахаров, в том числе рибозу и сахарозу, хотя способностью к их утилизации обладают 86–100% штаммов этого вида.

Далее было выполнено полногеномное секвенирование штаммов, установлены основные характеристики их геномов. Анализ полногеномных последовательностей позволил выявить структурные особенности, не позволяющие штамму *L. fermentum* 90 ТС-4 утилизировать отдельные сахара: отсутствие системы транспорта сахарозы PTS_{ScrA}, отсутствие высокоаффинной пермеазы транспорта рибозы RbsD, отсутствие PTS_{Trc} и других генов метаболизма трегалозы, а также оперона, ответственного за метаболизм арабинозы. Эти особенности является результатом эволюционной редукции генома микроорганизма, имеющего ограниченный ареал обитания — организма человека. В геноме *L. fermentum* 39 присутствуют все перечисленные детерминанты, а способность к гидролизу арбутина может быть связана с наличием специфичной транспортной системы.

С использованием RAST и программных продуктов ResFinder 2.0 и PathogenFinder (<http://cge.cbs.dtu.dk/services/>) установлено, что геномы

штаммов не несут детерминант, кодирующих токсины и суперантигены, свободны от генов патогенности и интегрированных плазмид.

Согласно полученным ранее данным штаммы устойчивы к гентамицину, цефотаксиму, ципрофлоксацину, фуразолидону, эритромицину, тетрациклину, ванкомицину и сульфаниламидам [1]. В связи с этим проведена работа по изучению детерминант резистентности в их геномах. Были обнаружены гены бета-лактамаз класса C (цефалоспоринаяз), однако при использовании сервера для аннотации геномов BASys (<https://www.basys.ca>) эти гены были реклассифицированы как пенициллин-связывающие белки. Детерминант антибиотикорезистентности трансмиссивного типа в геномах изучаемых микроорганизмов не выявлено, однако показано присутствие генов молекулярных эффлюксных помп семейств MATE и MFS, которые могут обуславливать устойчивость бактерий к целому ряду антимикробных препаратов разных групп [2].

С использованием программы CRISPRFinder изучены особенности CRISPR-кассет обоих штаммов и установлено, что по структурной организации они относятся к I-типу. Уникальные последовательности этого региона также можно рассматривать в качестве «меток» штаммов.

В геномах обоих штаммов обнаружены детерминанты, кодирующие отдельные структурные единицы и ферменты фагов, у штамма *L. fermentum* 90 ТС-4 — в составе генома обнаружено 9 соответствующих детерминант, а у *L. fermentum* 39 — 11. То есть в геномах содержатся фаги в латентном состоянии (профаги), что характерно для большинства прокариот [3].

Таким образом, в результате проведенной работы пробиотические штаммы изучены с использованием комплекса высокотехнологичных методов, проанализированы масс-спектры белков штаммов, определены штаммоспецифичные белковые пики. Установлены особенности биохимических свойств штаммов и структурные особенности их геномов. Показано, что геномы штаммов не содержат генов патогенности, вирулентности и интегрированных плазмид, а антибиотикорезистентность носит нетрансмиссивный характер.

Литература

1. Соловьева И.В., Точилина А.Г., Белова И.В., Ефимов Е.И., Новикова Н.А., Иванова Т.П. Конструирование иммобилизованной формы жидкого пробиотика // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. 2012. № 2, Ч. 3. С. 86–93. [Soloveva I.V., Tochilina A.G., Belova I.V., Efimov E.I., Novikova N.A., Ivanova T.P. Development immobilized liquid form of a probiotic // *Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod*. 2012. № 2, Pt. 3. P. 86–93].
2. Piddock L.J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria // *Clin. Microbiol. Rev.* 2006. Vol. 19, № 2. P. 382–402.
3. Равин Н.В., Шестаков С.В. Геном прокариот // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 4/2. С. 972–984. [Ravin N.V., Shestakov S.V. The genome of prokaryotes // *Russian Journal of Genetics: applied research*. 2013, T. 17, № 4/2. P. 972–984].

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ С УРОВНЕМ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

¹А.А. Власов, ¹С.П. Саликова, ¹В.Б. Гриневич, ²О.В. Быстрова, ²Г.А. Осипов, ¹М.И. Шперлинг

¹Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044,
ул. Академика Лебедева, д. 6

²Международный Аналитический Центр ИОХ РАН, Москва, 119991, Ленинский проспект, д. 47

INTERRELATION OF CONTENT OF BIFIDOBACTERIAL MARKERS WITH THE LEVEL OF OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE BLOOD OF PATIENTS SUFFERING WITH CHRONIC CARDIAC FAILURE

¹A.A. Vlasov, ¹S.P. Salikova., ¹V.B. Grinevich, ²O.V. Bystrova., ²G.A. Osipov., ¹M.I. Shperling

¹Military Medical Academy in the name of S. M. Kirov, Saint Petersburg, 194044, Akademika Lebedeva str., house 6

²International Analytical Center of N. D. Zelinskii Institute of Organic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991, Leninsky Prospekt, house 47

Введение. В последние годы установлено наличие у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) значимых изменений состава кишечной микробиоты. Показана связь тяжести состояния пациентов и выраженности дисбиоза кишечника. Ключевая роль во взаимном влиянии кишечного биотопа и макроорганизма в условиях развития ХСН отводится активации грамотрицательной микрофлоры и транслокации компонентов микробных тел, в частности липополисахарида, в кровотока [1]. В некоторых исследованиях указывается на угнетение пула кишечных бифидобактерий (КБ) при ХСН [2]. Результаты недавно опубликованных работ позволяют сделать предположение, что одним из механизмов влияния КБ на течение ХСН является их участие в обмене полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), положительные эффекты которых на обмен липидов, инотропную функцию сердца, электрическую стабильность кардиомиоцитов, артериальное давление, клинические исходы больных хорошо известны [3]. Имеются данные, свидетельствующие о возможном участии КБ в метаболизме ПНЖК [4]. Однако на сегодняшний день вопрос о роли КБ в обмене ПНЖК у больных ХСН остается открытым.

Цель исследования: изучить взаимосвязь содержания эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой (ДГК) кислот, величины ω -3 индекса (ω -3И) с уровнем маркеров КБ в крови больных ХСН.

Материалы и методы. Для анализа 59 проб периферической венозной крови боль-

ных ХСН разных стадий использовался газовый хроматограф масс-спектрометр Маэстро-2 («Интерлаб», Россия). Рассчитывали ω -3И как отношение суммы ДГК и ЭПК к сумме всех определявшихся жирных кислот, выраженное в процентах [3]. Количество КБ в пристеночном слое тонкой кишки вычисляли методом масс-спектрометрии микробных маркеров [5], регистрируя содержание специфического олеинового альдегида в крови и учитывая суперпозицию маркеров микробного сообщества в целом. Результаты представляли в виде среднего значения \pm стандартная ошибка ($M \pm s$). Полученные данные обрабатывались с помощью программы Microsoft Office Excel. Взаимосвязи между параметрами устанавливали по величине коэффициента корреляции (r), при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. У пациентов с ХСН отмечались низкие уровни ЭПК и ДГК ($0,18 \pm 0,22$ ммоль/мл и $0,59 \pm 0,41$ ммоль/мл соответственно). ω -3И также колебался в диапазоне низких значений от 0,33 до 5,16 %, в среднем составляя $2,05 \pm 1,17\%$. В сравнении с референсными значениями метода у больных с ХСН наблюдался более чем двукратный дефицит КБ ($1623 \pm 869 \times 10^5$ кл/г при норме $5067 \pm 182 \times 10^5$ кл/г). При изучении взаимосвязи расчетного содержания КБ в пристеночном слое тощей кишки и показателей обмена ПНЖК нами выявлены достоверные ($p < 0,001$) средней силы корреляционные связи: $r = 0,55$ для ω -3И, $r = 0,42$ для ЭПК, $r = 0,64$ для ДГК (рисунки).

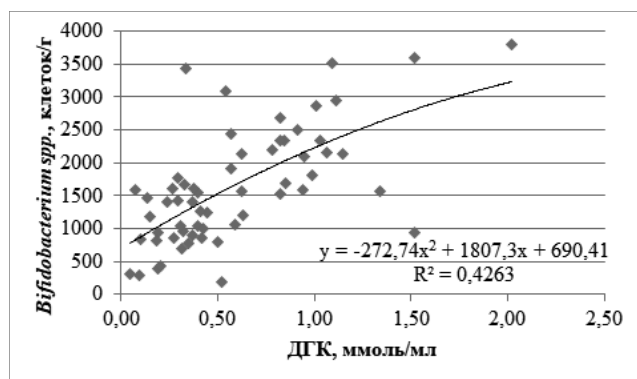


Рисунок. Полиномиальная функция взаимосвязи бифидобактерий в пристеночном слое тощей кишки и ДГК в крови больных ХСН

Обсуждение. В настоящем исследовании показано, что у больных ХСН наблюдается значимый дефицит ω -3 ПНЖК при одновременном существенном снижении уровня КБ, что согласуется с литературными данными. Обобщенное снижение ω -3 ПНЖК и маркеров КБ может быть обусловлено нарушением процессов всасывания жирных кислот в тонкой кишке, изменением ее проницаемости для макромолекул на фоне застойного полнокровия слизистой оболочки, снижением энзиматической активности химуса в связи с дистрофическими изменениями органов желудочно-кишечного тракта, уменьшением доли жиров, поступающих в кровоток, минуя печень, через лимфатическую систему, вследствие замедления тока лимфы. Установленная взаимосвязь

может указывать как на участие КБ в метаболизме ПНЖК в организме человека в целом, так и на влияние ПНЖК на рост КБ. В пользу первого свидетельствуют данные А.А. Hennessy и соавт. (2012), установивших, что бифидобактерии способны преобразовывать линолеовую и линоленовую кислоты в α -линоленовую кислоту [4] с последующим превращением, под действием эндогенных десатураз, в ЭПК и ДПК. Этот факт подтверждается исследованием R. Wall и соавт. (2010), в котором *in vivo* продемонстрировано увеличение содержания ДПК и ЭПК в сыворотке и тканях при введении в рацион экспериментальных животных совместно с α -линоленовой кислотой штаммов бифидобактерий [6]. В исследовании E. Patterson и соавт. (2014), напротив, описано увеличение представленности популяции КБ параллельно повышению ЭПК и ДГК в тканях мышей, получавших рыбий жир, в сравнении с другими диетами [7].

Заключение. Полученные факты позволяют предположить, что у больных ХСН КБ способны модифицировать обмен ПНЖК, которые, в свою очередь, могут выполнять регуляторную функцию в отношении компонентов кишечного микробиома. Выявленная взаимосвязь между уровнем КБ и показателями обмена ПНЖК может характеризовать дополнительные механизмы влияния микробно-тканевого комплекса кишечника на течение ХСН и являться важной терапевтической мишенью.

Литература

1. Pasini E., Aquilani R., Testa C., Baiardi P., Angioletti S., Boschi F., Verri M., Dioguardi F. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure // JACC Heart Fail. 2016. Vol. 4, № 3. P. 220–227.
2. Власов А.А., Саликова С.П., Гриневиц В.Б., Осипов Г.А., Быстрова О.В., Халютин Д.А. Динамика эндотоксемии и микроэкологического статуса крыс на фоне применения рифаксимина в условиях экспериментальной сердечной недостаточности // Мед. акад. журн. 2017. Т. 17, № 1. С. 88–94. [Vlasov A.A., Salikova S.P., Grinevich V.B., Osipov G.A., Bystrova O.V., Halyutin D.A. Effect of rifaximin administration on endotoxemia and microecological status of rats with experimental heart failure // Med. acad. jour. 2017. Vol. 17, № 1. P. 88–94].
3. Harris W.S., Schacky C. The Omega-3 Index: a new risk factor for death from coronary heart disease? // Preventive Medicine. 2004. № 39. P. 212–220.
4. Hennessy A.A., Barrett E., Paul Ross R., Fitzgerald G.F., Devery R., Stanton C. The production of conjugated α -linolenic, γ -linolenic and stearidonic acids by strains of bifidobacteria and propionibacteria // Lipids. 2012. Vol. 47, № 3. P. 313–327.
5. Платонова А.Г., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Кириллова Н.В., Родионов Г.Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микробных жирных кислот в биологических жидкостях человека и их клиническая значимость // Клин. лаб. диагностика. 2015. Т. 60, № 12. С. 46–55. [Platonova A.G., Osipov G.A., Boiko N.B., Kirillova N.V., Rodionov G.G. The chromatography-mass spectrometry analysis of microbial fatty acids in human biological fluids and their clinical significance // J. Russ. Clin. Lab. diagnostics. 2015. Vol. 60, № 12. P. 46–55].
6. Wall R., Ross R.P., Shanahan F., O'Mahony L., Kiely B., Quigley E., Dinan T.G., Fitzgerald G., Stanton C. Impact of administered bifidobacterium on murine host fatty acid composition // Lipids. 2010. Vol. 45, № 5. P. 429–436.
7. Patterson E., O' Doherty R.M., Murphy E.F., Wall R., O' Sullivan O., Nilaweera K., Fitzgerald G.F., Cotter P.D., Ross R.P., Stanton C. Impact of dietary fatty acids on metabolic activity and host intestinal microbiota composition in C57BL/6J mice // Br. J. Nutr. 2014. Vol. 111, № 11. P. 1905–1917.

ОСОБЕННОСТИ МЕЖМИКРОБНЫХ ОТНОШЕНИЙ В МИКРОБИОТЕ ВЛАГАЛИЩА ИНФЕРТИЛЬНЫХ ЖЕНЩИН

А.П. Годовалов, Т.И. Карпунина, М.О. Гушчин

Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера,
614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 26, e-mail: AGodovalov@gmail.com

PECULIARITIES OF INTERMICROBIAL RELATIONSHIPS IN THE VAGINAL MICROBIOTA OF INFERTILE WOMEN

A.P. Godovalov, T.I. Karpunina, M.O. Gushchin

Perm State Medical University in the name of academician E.A. Vagner,
614000, city of Perm, Petropavlovskaya str., house 26, e-mail: AGodovalov@gmail.com

Введение. Женский организм в условиях физиологической нормы контактирует с большим количеством микроорганизмов, при этом сформировавшаяся за счет облигатных представителей, прежде всего молочнокислых бактерий, защитная биопленка обеспечивает колонизационную защиту слизистых покровов вагинального биотопа [1]. Формирование дисбаланса в системе макроорганизм—микробиота влагалища может приводить к развитию бактериального вагиноза, с которым, в свою очередь, связывают повышение частоты воспалительных заболеваний органов малого таза, невынашивание беременности, неудачные попытки применения вспомогательных репродуктивных технологий, увеличение риска заражения заболеваниями, передаваемыми половым путем, а также существенное снижение качества жизни женщины [2].

Цель исследования: оценить изменения взаимоотношений микрофлоры вагинального биотопа при бесплодии.

Материалы и методы. Проведено бактериологическое обследование 345 женщин с бесплодием. Материал для исследования мерно собирали с заднего свода влагалища с помощью ложки Фолькмана. Для анализа исследуемых образцов готовили десятикратные разведения исходного материала и использовали традиционные методы [3].

Для оценки долевого участия разных видов микроорганизмов в структуре микробиоты использовали коэффициент постоянства вида, который рассчитывали по формуле: $C = p \cdot 100 / P$, где p — число наблюдений с регистрацией изучаемого вида, P — общее число наблюдений. Известно, что при $C > 50\%$ микроорганизмы считаются постоянными, при C от 25 до 50% — добавочными и при $C < 25\%$ — случайными [4]. Для определения количественного выражения взаимодействия между членами микробиоценоза использовали коэффициент сходства Жаккара,

рассчитываемый по формуле: $q = c / (a + b - c) \times 100$, где a — число наблюдений с видом a , b — число наблюдений с видом b , c — число наблюдений, содержащих оба вида. При $q < 30\%$ в биотопе преобладают антагонистические связи, при q от 30 до 70% бактерии способны к сосуществованию, а их экологическая общность велика, при $q > 70\%$ возможно только совместное существование бактерий [4, 5].

Характер взаимоотношений между двумя видами в составе микробиоты определяли по отношению $P:C$, где P — вероятное число наблюдений, в которых два случайно попавших вида существуют совместно, а C — число наблюдений, содержащих оба вида. При $P > C$ оба вида исключают друг друга, при $P = C$ — виды могут распределяться случайно и при $P < C$ виды склонны к совместному обитанию [5].

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенных исследований установлено, что нормальная микрофлора, состоящая из представителей родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, обнаружена у 100 и 99% женщин соответственно. Однако лишь в 52 и 83,6% случаев количество микроорганизмов было в пределах возрастной нормы. Среди аэробных микроорганизмов преобладали стафилококки — 65,1%, в том числе *S. epidermitis* — 29,7%, *S. aureus* — 15,3%, *S. haemolyticus* — 8,3%, *S. saprophyticus* — 7%, *S. hyicus* — 7% и *S. intermedius* — 5,4%. *Enterococcus* spp. изолированы у 15,7% женщин. В 10,7% проб присутствовали бактерии рода *Streptococcus* (в том числе 68,4% — *S. agalactiae*). *Escherichia coli* обнаружена в вагинальном биотопе 27,5% женщин (нетипичные варианты — 7,5%). В группе анаэробных микроорганизмов имели преимущественное распространение бактерии рода *Peptostreptococcus* (53,7%) и *Peptococcus* (45,6%). *Bacteroides* spp. выделен в 28,5% случаев. В 27,9% проб изолированы *Fusobacterium* spp., а *Eubacterium* spp. — в 25,8%. *Propionibacterium* spp. выделен в 26,9% случаев.

Встречаемость дрожжеподобных грибов рода *Candida* составила 20,1%, среди них 55% штаммов были представлены *C. albicans*.

В подавляющем большинстве случаев микроорганизмы входили в состав многокомпонентных сообществ. Так, 2–3 вида микроорганизмов обнаружены в 12,2% случаев, 4–6 — в 48,7%, 7–9 — в 23,2%, а 10 и более — в 15,9%. Характер взаимоотношений между основными членами микробного сообщества в вагинальном биотопе женщин с бесплодием следует признать антагонистическим. Явление мутуализма было характерно только между представителями семейств *Lactobacillus* и *Peptostreptococcus*, которые встречались исключительно в ассоциациях друг с другом. Значимую экологическую общность с этими микроорганизмами имели типичные варианты *E. coli*, взаимоотношения которых можно характеризовать как синергичные. Аналогичный экологический синергизм выявлен для *S. epidermidis* и лактобактерий. Несмотря на преобладание микробного антагонизма в микробиоте влагалища, представители семейства *Lactobacillus* «допускают» присутствие *E. coli*, *Enterobacter* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. agalactiae*, *Enterococcus* spp. и *C. albicans*. Подобная ситуация может быть обусловлена как негативным влиянием условно патогенных микроорганизмов (УПМ) на лактобактерии, численность и функциональная активность которых заметно снижаются, так и уменьшением чувствительности ассоциантов к биоцидным факторам лактобактерий при совместном существовании. При анализе ассоциативного микросимбиоза вагины у жен-

щин с репродуктивными проблемами выявлены некоторые особенности межмикробных взаимоотношений. Так, *S. aureus* и ряд представителей семейства *Enterobacteriaceae* способны к совместному обитанию даже при обнаружении расчетным путем, либо *in vitro* антагонистического характера связей между ними. С другой стороны, *S. haemolyticus* и *S. agalactiae* создают в биотопе условия, исключающие существование всех вариантов *E. coli* и *Enterobacter* spp., более того, *S. haemolyticus* снижает «качество жизни» дрожжеподобных грибов рода *Candida* и энтерококков.

Таким образом, проведенные исследования показали снижение численности основного представителя нормобиоты — *Lactobacillus* — в вагинальном биотопе у половины субфертильных женщин. Подобные изменения ассоциированы с наличием таких УПМ, как коагулазоотрицательные стафилококки, *E. coli* и энтерококки. При этом сохраняющийся в целом антагонистический характер отношений между облигатными и транзитными представителями нормофлоры допускает сосуществование двух и более микробов-антагонистов. Выявленные у инфертильных женщин изменения микроэкологии влагалища свидетельствуют о существующем у них риске избыточной колонизации вагинального биотопа УПМ, что напрямую либо опосредовано становится одной из возможных причин репродуктивных неудач.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №16-44-590429, №17_44_590404 и Администрации Пермского края.

Литература

1. Lamont R.F., Sobel J.D., Akins R.A., Hassan S.S., Chaiworapongsa T., Kusanovic J.P., Romero R. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques // Br. J. Obstet. Gynaecol. 2011. Vol. 118 (5). P. 533–549.
2. Мавзютов А.Р., Бондаренко К.Р., Бондаренко В.М. Бактериальный вагиноз: этиопатогенетические аспекты // Журн. микробиол. 2007. № 6. С. 93–100. [Mavzyutov A.R., Bondarenko K.R., Bondarenko V.M. Bacterial vaginosis: etiopathogenetic aspects // J. Microbiol. 2007. № 6. P. 93–100].
3. Годовалов А.П., Карпунина Н.С., Карпунина Т.И. Микробиота кишечника и влагалища женщин со вторичным бесплодием и заболеваниями желудочно-кишечного тракта // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. 2016. № 6 (130). С. 109–113. [Godovalov A.P., Karpunina N.S., Karpunina T.I. Gut and vaginal microbiota in female with reproductive disorders associated with gastrointestinal disturbance // Experim. clin. gastroenterol. 2016. № 6 (130). P. 109–113].
4. Захарова Е.А., Азизов И.С. Микроэкологическая характеристика кишечного микробиоценоза часто болеющих детей // Журн. микробиол. 2012. № 2. С. 63–68. [Zakharova E.A., Azizov I.S. Microecological characteristics of intestinal microbiocenosis of frequently ill children // J. Microbiol. 2012. № 2. P. 63–68].
5. Bern C., Martines J. The magnitude of the global problem of diarrheal disease // Vale J. Biol. Med. 1988. Vol. 51. P. 505–512.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ МЕТАБОЛОМА БАКТЕРИЙ И КУЛЬТУР ТКАНЕЙ

¹Е.В. Демьянова, ¹А.С. Моругина, ¹А.Ф. Виноградова, ²Н.И. Чалисова, ¹Т.Я. Вахитов

¹Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, 197110, Санкт-Петербург, Пудожская ул., д. 7

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6, lenna_22@mail.ru

BIOLOGICAL FUNCTIONS OF BACTERIAL METABOLOME AND TISSUE CULTURES

¹Ye.V. Demyanova, ¹A.S. Morugina, ¹A.F. Vinogradova, ²N.I. Chalisova, ¹T.Ya. Vakhitov

¹State Research Institute of Highly Pure Biopreparations of the Federal Medico-Biological Agency of Russia, 197110, Saint Petersburg, Pudozhskaya str., house 7

²Institute of Physiology in the name of I.P. Pavlov of the Russian Academy of Sciences, 199034, Saint Petersburg, Makarova embankment, house 6, lenna_22@mail.ru

Введение. В процессе жизнедеятельности бактерии, населяющие макроорганизм, а также те, которые попадают в него извне, выделяют в окружающую среду различные низкомолекулярные метаболиты. До недавнего времени предполагалось, что выделение низкомолекулярных метаболитов является следствием их перепроизводства клетками. Однако в последние годы возрастает количество публикаций о многообразии биологических функций, которые выполняют метаболиты в бактериальных сообществах, например подавление/активация экспрессии генов патогенности, повышение антагонистической активности, образование биопленок; а также во взаимодействии микробиота—макроорганизм; метаболиты являются источником питания клеток кишечного эпителия, участвуют в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома [1–4].

Цель исследования. С помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газовой хроматографии — масс-спектрометрии (ГХ-МС) — проанализировать состав низкомолекулярных метаболитов, выделяемых в среду пробиотическими культурами и условно-патогенными штаммами, а также эукариотической культурой клеток яичников китайского хомячка, и исследовать действие найденных метаболитов на пролиферативную активность клеток в органотипических культурах тканей крысы.

Материалы и методы. В работе использовали пробиотические штаммы бактерий: *Escherichia coli* М-17, *Bifidobacterium bifidum* 1, *Lactobacillus plantarum* 8Р-А3; условно-патогенные: *E. coli* O75, *E. coli* №14, *Salmonella enteritidis* var. *Issatchenko*, и штамм *E. coli* VL613, применяющийся в сельском хозяйстве для повышения привеса у поросят. Культуры энтеробактерий выращивали на среде М-9 в колбах на качалке. Культивирование *L.*

plantarum осуществляли на среде Блаурокка и на среде МРС-1, *B. bifidum* 1 — на среде МРС-1.

В экспериментах использовали три модельные культуры клеток яичников китайского хомячка (СНО). Линии клеток были получены на основе родительской линии СНО-К1, линия 1 — продуцент моноклональных антител, линии 2 и 3 — продуценты гликопротеионов. Суспензионные культуры клеток СНО выращивали в бессывороточной среде в колбах Эрленмейера и биореакторе Celligen BLU New Brunswick («Erpendorf», Германия) в течение 7 сут.

Анализ состава карбоновых кислот проводили методом ВЭЖХ на колонке Supelcogel H (Sigma-Aldrich). Для анализа аминокислот использовали метод ВЭЖХ их дабильных производных на колонке Luna 5u C18(2) (Phenomenex). ГХ-МС осуществляли на приборе GCMS-QP2010 Plus на колонке Ultra-2.

Биологическую активность метаболитов определяли по способности влиять на пролиферацию органотипических культур тканей (селезенки, печени, поджелудочной железы, почек) крыс линии Вистар в концентрации 0,05 нг/мл. Для инкубации эксплантатов использовали культуральную среду следующего состава: 35% — раствор Хенкса, 35% — среда «Игла», 25% — сыворотка крови плодов коровы с добавлением глюкозы (60 мг%), инсулина (0,5 ед/мл), гентамицина (100 ед/мл) (рН 7,2). Эксплантаты в чашках Петри культивировали в CO₂-инкубаторе при 36,8 °С. Рост эксплантатов ткани в органотипической культуре исследовали прижизненно с помощью фазово-контрастного микроскопа через 3 сут после начала культивирования. Для визуализации эксплантатов использовали микротеленасадку для микроскопа (серия 10, МТН-13, Россия). Количественную оценку роста эксплантатов осуществляли с помощью пакета программ PhotoM 1.2.

Результаты и их обсуждение. Все штаммы *E. coli* выделяли уксусную и муравьиную кислоты, *E. coli* М-17, *E. coli* № 14 и *E. coli* O75 выделяли молочную кислоту и *E. coli* VL 613 — янтарную.

С помощью ВЭЖХ во внеклеточной среде энтеробактерий было идентифицировано 17 аминокислот. Отличительной чертой пробиотического штамма *E. coli* М-17 являлось выделение в среду метионина, а также повышенное выделение глицина, аланина, валина, цистеина и тирозина. Условно-патогенный штамм *E. coli* O75 выделял наибольшее количество гистидина, лизина и треонина, а концентрация серина для него была минимальной. Для штамма №14 было характерно повышенное выделение глутаминовой кислоты, остальных аминокислот он выделял меньше других бактерий. ГХ-МС анализ среды позволил идентифицировать более 20 соединений, например, глутаровую, валериановую, окси-3-метилвалериановую и гликолевую кислоты, β-аланин, 4-оксибензойную, 2-изопропилаблочную и цитрамалевую кислоты. В результате ВЭЖХ анализа пула карбоновых кислот (КК) *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3 были идентифицированы уксусная, молочная и лимонная кислоты. Концентрация КК во внеклеточной среде была выше, чем у энтеробактерий, в 10–80 раз.

Все три линии клеток СНО выделяли в среду молочную, янтарную и муравьиную кислоты, их количество различалось для каждой линии. Линии СНО выделяли как заменимые, так и незаменимые аминокислоты: аланин, глицин, аргинин, треонин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, метионин, пролин, триптофан, гидроксипролин, серин, изолейцин, валин, фенилаланин и лейцин. 1-я линия выделяла молочную, янтарную кислоты; 2-я линия — только молочную кислоту; 3-я линия — молочную и янтарную. С помощью ГХ-МС в наибольших количествах в среде были обнаружены пироглутаминовая кислота (1,28 мМ), яблочная кислота (0,78 мМ), 5-оксииндол-3-пропионовая кислота (0,49 мМ), аминомалоновая кислота (0,45 мМ), треоновая кислота (0,38 мМ), 2-оксиизовалериановая кислота (0,37 мМ).

Обнаруженные метаболиты по-разному действовали на пролиферативную активность органотипических культур тканей. Стимулирующим действием на все ткани обладала глутаровая кислота; изовалериановая, пропионовая и янтарная стимулировали пролиферацию только тканей селезенки и печени, не влияя при этом на культуры почки и поджелудочной железы. Капроновая кислота, одна из карбоновых кислот, производимых симбиотической микробиотой человека (например, *Megasphaera sp.* [5]), достоверно стимулировала развитие эксплантатов селезенки, но ингибировала пролиферацию клеток печени. Гамма-аминомасляная и валериановая кислоты стимулировали пролиферацию селезенки и печени, не влияли на клетки ткани почки, но значительно ингибировали пролиферацию поджелудочной железы. Достоверное положительное действие на эту ткань оказывали только масляная кислота. 2-Оксиизовалериановая кислота, обнаруженная в большом количестве в среде культивирования клеток СНО, ингибировала культуры селезенки, оказывала отрицательное, хот и статистически недостоверное, действие на культуру поджелудочной железы. Ее изомер, 2-окси-2-метилмасляная (2-окси-2-метилбутановая) кислота, при этом не проявила какой-либо статистически значимой активности. Последняя оказалась единственным веществом среди алифатических соединений, у которого не было обнаружено какой-либо биологической активности. 2-Кетомасляная кислота, так же как и 2-оксиизовалериановая, ингибировала пролиферацию клеток селезенки и поджелудочной железы.

Заключение. Исследуемые в данной работе микроорганизмы выделяли в среду культивирования различные низкомолекулярные карбоновые кислоты, аминокислоты, спирты. Их состав был штаммоспецифическим. Аналогично прокариотическим микроорганизмам, эукариотические культуры в процессе роста выделяли схожий спектр метаболитов.

Анализ биологической активности идентифицированных метаболитов показал, что практически все метаболиты микроорганизмов и модельных эукариотических культур способны влиять на пролиферативную активность клеток той или иной ткани.

Литература

1. Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Вахитов Т.Я. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника // Альманах клинической медицины. 2015. № 40. С. 12–34. [Sitkin S.I., Tkachenko E.I., Vakhitov T.Ya. Filometabolic core of intestinal microbiota // *Almanac of Clinical Medicine*. 2015. № 40. P. 12–34].
2. De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Goncalves D., Vinera J., Zitoun C., Duchamp A., Backhed F., Mithieux G. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits // *Cell*. 2014. Vol. 156, № 1-2. P. 84–96.
3. Wieland A., Frank D.N., Harnke B., Bambha K. Systematic review: microbial dysbiosis and nonalcoholic fatty liver disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2015. Vol. 24. P. 1051–1063.
4. Kasubuchi M., Hasegawa S., Hiramatsu T., Ichimura A., Kimura I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation // *Nutrients*. 2015. Vol. 7, № 4. P. 2839–2849.
5. Jeon B.S., Choi O., Um Y., Sang B.I. Production of medium-chain carboxylic acids by *Megasphaera sp.* MH with supplemental electron acceptors // *Biotechnol. Biofuels*. 2016. Vol. 9. doi: 10.1186/s13068-016-0549-3.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЭНТЕРОКОККОВ, КАНДИД И ЛАКТОБАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ВАГИНАЛЬНОГО БИОТОПА У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

М.И. Заславская, Н.А. Александрова

Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, 603093, Нижний Новгород, ул. Родионова, д. 198, e-mail: maya_zaslav@rambler.ru

RELATIONSHIPS OF ENTEROCOCCI, CANDIDAE AND LACTOBACILLI IN VAGINAL BIOTOPE OF THE WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE

M.I. Zaslavskaya, N.A. Aleksandrova

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, 603093, Nizhny Novgorod, Rodionova str., house 198, e-mail: maya_zaslav@rambler.ru

Одной из проблем современной медицины является широкая распространенность оппортунистических инфекций, вызываемых грибами рода *Candida*, в особенности вагинального кандидоза [1, 2]. Колонизация слизистых оболочек является обязательным этапом развития кандидозной инфекции [3], на реализацию которого могут влиять различные факторы, в том числе представители микробиоты. В вагинальном микробиоценозе доминирующей группой являются лактобактерии [4]. Достаточно часто среди представителей факультативной микробиоты мочеполовой системы человека обнаруживаются энтерококки, обладающие выраженной антимикробной активностью [5].

В работе изучено влияние концентрации *Enterococcus spp.* и *Lactobacillus spp.* в вагинальной полости у женщин репродуктивного возраста на уровень контаминации биотопа представителями рода *Candida*.

Для анализа взаимоотношений энтерококков и лактобактерий с кандидами в системах *in vivo* были проведены исследования вагинального содержимого у женщин детородного возраста с дисбиозом влагалища разной этиологии. Вагинальное содержимое (10^{-1} мл в ЗФР) женщин (18–35 лет) засеивали на среды Сабуро (0,1 мл) и энтерококкагар (0,05 мл) «сплошным газоном», а также на жидкую среду MRS (0,5 мл из

разведений 10^{-3} , 10^{-5} нативного материала) для определения титра лактобактерий. Посевы инкубировали (48 ч, 37° С), подсчитывали количество колоний кандид и энтерококков и вычисляли титр микроорганизмов в 1 мл нативного материала. Для оценки титра лактобактерий из осадка бульонных культур готовили мазки, которые окрашивали по методу Грама. Проанализированы результаты микробиологического исследования 552 женщин, у которых во влагалище присутствовала микробиота в одном из вариантов: а) кандиды, лактобактерии; б) энтерококки, лактобактерии; в) кандиды, энтерококки, лактобактерии. Статистическую обработку проводили по общепринятой методике. Взаимосвязь параметров оценивали методом корреляционного анализа, определяя коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). Силу корреляционной связи определяли по значению r_s : ниже 0,3 — слабая, от 0,3 до 0,7 — средняя и от 0,7 до 1,0 — сильная.

Анализ данных показал, что с увеличением количества энтерококков во влагалище концентрация кандид в исследуемом материале снижалась (таблица). При статистической обработке было установлено наличие обратной зависимости при средней силе корреляционной связи ($r_s = -0,66$) между интравагинальными популяциями энтерококков и кандид.

Таблица

Процент встречаемости кандид в вагинальном содержимом обследованных женщин при различных титрах энтерококков, $M \pm m$

Титр энтерококков	Титр кандид			
	отсутствие кандид	до 10^4 КОЕ/мл («норма»)	10^4 – 10^5 КОЕ/мл	10^6 КОЕ/мл и выше
Отсутствие энтерококков		52,2±1,3%	39,0±1,9%	8,8±0,5%
До 10^3 КОЕ/мл	78,8±2,8%	13,5±1,1%	7,69±0,02%	0
Свыше 10^3 КОЕ/мл	89,2±3,1%	5,92±0,7%	4,88±0,19%	0

Так, при отсутствии энтерококков в содержимом влагалища у 52,2% пациенток были выделены кандиды в концентрации, не превышающей нормальную (10^4 КОЕ/мл), у 47,8% — число кандид было выше нормы. При обнаружении в вагинальном содержимом энтерококков в концентрации до 10^3 КОЕ/мл (норма) у 78,8% женщин кандиды отсутствовали, в 13,5% случаев число

микроспоров не превышало 10^4 КОЕ/мл, и только у 7,69% пациентов кандиды превышали норму. С другой стороны, при повышении количества энтерококков свыше 10^3 КОЕ/мл у 89,2% женщин кандиды отсутствовали, у 5,92% пациенток концентрация кандид не превышала норму, и лишь в 4,88% случаев число кандид было выше нормы (см. табл. 1). Это означает, что энтерококки про-

являют выраженный антагонизм в отношении кандид в вагинальном биотопе у женщин репродуктивного возраста: повышение титра *Enterococcus spp.* сопровождается снижением титра *Candida spp.* в биотопе.

Отдельно проанализированы взаимоотношения кандидат и энтерококков с *Lactobacillus spp.* в вагинальном биотопе. Исследованы группы женщин, содержащие следующие титры лактобактерий в вагинальном содержимом: $<10^5$, 10^3-10^5 и $>10^5$ КОЕ/мл (норма). Анализ данных показал отсутствие существенной корреляционной связи между титром лактобактерий и количеством кандидат в вагинальном содержимом: ($r_s=0,16$). Титр лактобактерий также не оказывал существенного влияния на количество энтерококков в биотопе ($r_s=0,25$). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии выраженных антагонистических взаимоотношений между лактобактериями и факультативными представителями вагинального биоценоза: кандидами и энтерококками — у женщин репродуктивного возраста. Известно, что вагинальный кандидоз имеет, как правило, хроническое рецидивирующее течение [6]. Способность микромицетов к клинически значимой персистенции на уровне слизистых оболочек является отражением взаимодействия кандидат не только с факторами местного иммунитета, но и с представителями биоценоза.

Доминирующей микрофлорой влагалища у женщин являются лактобациллы [4, 7], и ряд авторов указывают на способность этих бактерий подавлять рост кандидат *in vitro* [8, 9]. В то же время известно, что при хронической рецидивирующей форме вагинального кандидоза общее число лактобацилл может сохраняться [10]. Более того, элиминация лактобацилл из вагинальной полости не обязательно ведет к увеличению количества кандидат и развитию кандидоза [10]. Это говорит о том, что лактобациллы не всегда способны сдерживать чрезмерный рост кандидат на слизистых оболочках, что хорошо согласуется с полученными нами данными.

Бактерии рода *Enterococcus* являются представителями факультативной микробиоты мочеполовой системы и обладают выраженной антимикробной активностью [5]. Так, имеются данные о том, что секретируемые продукты энтерококков способны подавлять рост кандидат *in vitro* [11, 12]. Результаты наших экспериментов *in vivo* доказывают, что энтерококки способны реализовать свой высокий фунгицидный потенциал также и на уровне вагинального биотопа. Таким образом, между энтерококками и кандидами существуют выраженные антагонистические взаимоотношения, которые проявляются на уровне вагинального биотопа у женщин детородного возраста. В то же время титр лактобактерий в вагинальном содержимом принципиально не влияет на количество энтерококков и кандидат в биоценозе.

Литература

1. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. 2-е изд. М.: БИНОМ, 2008. 480 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. *Gribovyye infektsii. Rukovodstvo dlja vrachej*. 2nd ed. Moscow: BINOM, 2008. 480 p.]
2. De Darnardis F., Arancia S., Sandini S., Graziani S., Norelli S.O. Studies of Immune Responses in *Candida vaginitis* // *Pathogens*. 2015. Vol. 4 (4). P. 697–707.
3. Mayer F.L., Wilson D., Hube D. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms // *Virulence*. 2013. Vol. 4 (2). P. 19–128.
4. Бондаренко К.Р., Озолина Л.А., Бондаренко В.М., Шпирко В.О. Особенности влагалищной микроэко системы в период гестации (обзор литературы) // *Вестник РГМУ*. 2014. № 4. С. 6–11. [Bondarenko K.R., Ozolinja L.A., Bondarenko V.M., Shporko V.O. Osobennosti vlagalitchnoy microecosystemy v period gestatsii (review) // *Vestnik RGMU*. 2014. № 4. 6–11 p.]
5. Ермоленко Е.И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы. Обзор литературы // *Вестник С.-Петербург. ун-та*. 2009. Сер. 11, Медицина. № 3, С. 184–201. [Ermolenko E.I. Bacteriotsiny enterokokkov: problemy i perspektivy. Review // *Vestnik St. Peterb. Univ.* 2009. Ser. 11, Medicina. № 3, 184–201 p.]
6. Matheson A., Mazza D. Recurrent vulvovaginal candidiasis: A review of guideline recommendations // *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 2017. Vol. 57 (2). P. 139–145.
7. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р., Анкирская А.С. Вагинальная микроэко система влагалища в норме и при патологии // *Гинекология*. 2009. Т. 11, № 3. С. 9–11. [Prilepskaia V.N., Bairamova G.R., Ankirskaja A.S. Vaginalnaya microsystema v norme i pri patologii // *Ginecologiya*. 2009. Vol. 11, № 3. P. 9–11].
8. Sharma A., Srivastava S. Anti-Candida activity of spent culture filtrate of *Lactobacillus plantarum* strain LR/14 // *J. Mycol. Med.* 2014. Vol. 24 (2). P. 25–34.
9. Coman M.M., Verdenelli M.C., Cecchini C., Silvi S., Orpianesi C., Caspani M., Mondello F., Cresci A. In vitro evaluation on HeLa cells of protective mechanisms of probiotic lactobacilli against *Candida* clinical isolates // *J. Appl. Microbiol.* 2015. Vol. 119 (5). P. 1383–1390.
10. Крупейченко В.В., Барановская Е.И. Микрофлора влагалища у беременных больных вульвовагинальным кандидозом // *Охрана материнства и детства*. 2009. № 2 (14). С. 93–95. [Krupeichenko V.V., Baranovskaja E.I. Microflora vlagalitchsha u beremennyh bolnyh vulvovaginalnym candidosom // *Ohrana materinstva i detstva*. 2009. № 2 (14). P. 93–95].
11. Сычева М.В., Вальшева И.В. Скрининг антагонистической активности и детерминант вирулентности у фекальных штаммов энтерококков // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2012. Т. 4, № 36-1. С. 236–239. [Sychova M.V., Valysheva I.V. Skriniring antagonistsicheskoi aktivnosti i determinant virulentnosti u fekalnyh shtamov enterokokkov // *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2012. Vol. 4, № 36-1. P. 236–239].
12. Graham C.E., Cruz M.R., Garsin D.A., Lorenz M.C. *Enterococcus faecalis* bacteriocin EntV inhibits hyphal morphogenesis, biofilm formation, and virulence of *Candida albicans* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017. Vol. 114 (17). P. 4507–4512.

МИКРОБИОМ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Л.А. Ильина, Е.А. Ёылдырым

Общество с ограниченной ответственностью «БИОТРОФ», 196602, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н, e-mail: georg-laptev@rambler.ru

MICROBIOME OF THE RUMEN OF THE RUMINANT ANIMALS

L.A. Ilyina, E.A. Yuylдырым

„BIOTROF“ Limited Liability Company, 196602, city of Saint Petersburg, city of Pushkin, Malinovskaya str., house 8, letter A, office 7-N, e-mail: georg-laptev@rambler.ru

Введение. Рубец жвачных животных является одной из наиболее сложных симбиотических экосистем, которая содержит высокое количество строго анаэробных бактерий, грибов, архей, простейших. Микроорганизмы за счет деятельности собственных энзиматических систем обеспечивают организм хозяина питательными веществами (ЛЖК, белком и др.), которые животное получить из растительных кормов самостоятельно не способно [1–3].

Изучение данной микробной экосистемы в последние годы приобрело важное фундаментальное и практическое значение в связи с ухудшением здоровья коров, в том числе поражением конечностей, нарушением обмена веществ, заболеванием органов воспроизводства, пищеварения, маститами. Ряд исследователей связывают учащение случаев развития данных заболеваний с изменениями направленной на повышение удоев системы кормления, связанной с заменой грубых кормов богатыми энергией концентратами.

В связи с этим в 2007 г. Г.Ю. Лаптевым в компании ООО «БИОТРОФ» была создана молекулярно-генетическая лаборатория, где начаты исследования микробиома рубца КРС.

Материалы и методы исследований. Исследование микробиоты рубца КРС проводили на основе комплексного подхода с использованием методов ПЦР в реальном времени, T-RFLP-анализа и NGS-секвенирования.

Результаты и их обсуждение. В результате исследований описан таксономический состав микрофлоры рубца более 320 коров и 180 телят из регионов России. Установлено присутствие в микробиоме рубца более 200 фило типов бактерий, архей и грибов, в том числе некультивируемых, доля которых достигала 70%.

У клинически здоровых животных в рубце доминировали грибы-хитридиомицеты класса *Neocallimastigales* (основные инициаторы колонизации лигноцеллюлозных материалов бактериями), метаногенные археи (классов *Methanomicrobia*, *Methanobacteria*, *Methanococci*), бактерии —

амилолитики филума *Bacteroidetes* и целлюлозолитики — сем. *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Clostridiaceae*, *Eubacteriaceae* и др., лактат-утилизирующие бактерии сем. *Veillonellaceae*, ферментирующие ряд кислот, включая молочную. Небольшой была доля лактобактерий — продуцентов молочной кислоты, снижающей уровень рН в рубце.

Среднее количество грибов-хитридиомицетов у клинически здоровых коров составляло 5×10^6 , архей — $3,2 \times 10^8$, бактерий — 7×10^9 экв. геном/мл.

Вопреки традиционным представлениям в рубце выявлено высокое количество факультативно анаэробных бактерий сем. *Bacillaceae*, *Pseudomonadaceae*, актиномицетов филума *Actinobacteria*, ряд представителей которого вызывают актиномикозы. Интересным и новым стало то, что в рубце выявлялись возбудители различных заболеваний, включая энтеробактерии, фузобактерии, стафилококки и кампилобактерии, микоплазмы, пептококки и другие, что свидетельствует об их постоянном присутствии в рубцовой экосистеме клинически здоровых животных.

На основе результатов молекулярно-генетических исследований создана база данных качественного и количественного состава микроорганизмов рубца КРС, в том числе бактерий, архей и грибов. Установлены статистически значимые различия микробиоты рубца КРС в связи с кормлением, возрастом, уровнем продуктивности, состоянием здоровья и физиологическим статусом.

Впервые в мире установлены детальные особенности суточных колебаний микроорганизмов в рубце КРС, которые выявлены во всех компонентах микробного сообщества и взаимосвязаны с процессами рубцовой ферментации.

Показано, что в процессе роста и развития пищеварительной системы животных происходит смена доминирующих таксономических групп — бактерий, архей и грибов.

Результаты сравнения микробиома рубца КРС при различных типах кормления (концентратном,

малоконцентратном и объемистом) позволили определить микроорганизмы, характерные для уровней грубых и концентрированных кормов рациона. На основе анализа физиологических показателей пищеварения (летучих жирных кислот, аммиака, рН) проведено физиологическое обоснование связи между содержанием микроорганизмов в экосистеме рубца и процессами пищеварения и обмена веществ животных.

Определены закономерности между микробиомом рубца в зависимости от уровня продуктивности дойных коров. Показатели продуктивности у коров связаны с содержанием ряда представителей микробиома рубца. Снижение продуктивности у коров было связано с повышением уровня лактобактерий и ряда патогенов, включая фузобактерии, вызывающие у КРС лактатный ацидоз с поражением ряда внутренних органов, включая печень.

Получены доказательства связи между составом микробиома рубца и состоянием здоровья животных. Анализ рубцовой микрофлоры больных и выбракованных коров с низким уровнем продуктивности, симптомами маститов, гастроэнтеритов, проблемами воспроизводства, конечностей показал существенные нарушения микробиома в рубце. По сравнению с клинически здоровыми животными, в рубце у больных и выбракованных коров количество грибов-хитридиомицетов было ниже в среднем в 33 раза, метаногенных архей — в среднем в 3,3 раза. Существенно снижена доля целлюлозолитиков, лактат-утилизирующих бактерий и повышена — амилолитиков, лактобактерий, фузобактерий и р да патогенов.

Впервые состав микробиома рубца был изучен в связи с микробиомами различных биотопов организма КРС, включая смывы с вымени,

молоко, соскобы с копыт, выделения из репродуктивных органов. Доказано, что содержание в исследованных пробах патогенов было связано с их количеством в рубце. Также обнаружена прямая достоверная связь между уровнем стафилококков в рубце и соматических клеток в молоке ($r=0,89$).

Полученные закономерности состава микробиома, связанные с кормлением, возрастом, уровнем продуктивности, состоянием здоровья и физиологическим статусом позволили впервые установить уровень содержания в рубце содержания полезной, нежелательной и условно-патогенной микробиоты, характерные для определенного физиологического состояния животного.

Установлена возможность регуляции микробиомов рубца с оптимизацией показателей рубцового пищеварения на основе интродукции в рубец штаммов микроорганизмов. Раскрыты детальные закономерности изменений микробиома рубца в зависимости от процессов рубцовой ферментации при интродукции в рубец пробиотических штаммов микроорганизмов.

Заключение. Таким образом, результаты показали перспективу молекулярно-генетических методов исследований микробиоты рубца для выявления статистически значимых различий, связанных с кормлением, возрастом, уровнем продуктивности, состоянием здоровья и физиологическим статусом животных, и указывают на возможности направленной коррекции микробиологического сообщества рубца, способствующие повышению продуктивного потенциала и улучшению здоровья КРС.

Литература

1. Тараканов Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. М.: Научный мир, 2006. 188 с. [Tarakanov B.V. *Metody issledovaniya mikroflory pishchevaritel'nogo trakta sel'skhozyaistvennyh zhivotnyh i pticy*. М.: Nauchnyj mir, 2006. 188 p.]
2. Fernando S.C., Purvis H.T., Najar F.Z., Sukharnikov L.O., Krehbiel C.R., Nagaraja T.G., Roe B.A., DeSilval U. Rumen Microbial Population Dynamics during Adaptation to a High-Grain Diet // *Applied and Environmental Microbiology*. 2010. Vol. 76. P. 7482–7490.
3. Hungate R.E. *The Rumen and its Microbes*. New York: Academic Press, 1966.

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ РУБЦА СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ T-RFLP

Л.А. Ильина, Г.Ю. Лаптев, К.А. Лайшев., Е.А. Ыылдырым, В.А. Филиппова, И.Н. Никонов, Н.И. Новикова
Общество с ограниченной ответственностью «БИОТРОФ+», 196602, г. Санкт-Петербург,
г. Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н., e-mail: ilina@biotrof.ru

STUDY OF MICROBIOTA OF REINDEER'S RUMEN BY USING THE MOLECULAR-GENETIC METHOD T-RFLP

L.A. Ilyina, G.Yu. Laptev, K.A. Layshev, E.A. Yuylдырым, V.A. Philippova, I.N. Nikonov, N.I. Novikova
„BIOTROF“ Limited Liability Company, 196602, city of Saint Petersburg, city of Pushkin,
Malinovskaya str., house 8, letter A, office 7-N, e-mail: ilina@biotrof.ru

Введение. Оленеводство играет ведущую роль для Арктических регионов России как в качестве продовольственной базы, так и в качестве источника шкурной, пантовой и эндокринно-ферментной продукции. Большое значение в жизнедеятельности северных оленей имеют микроорганизмы-симбионты рубца, так как усвоение растительных кормов происходит, как и у других жвачных, посредством синтезируемых ими ферментов [1–2].

Наиболее информативными методами изучения микробного сообщества рубца жвачных являются молекулярно-генетические, которые направлены на изучение структуры микробиома (NCS-секвенирование и T-RFLP-анализ) [3].

В данном отношении микробиоценоз рубца северного оленя *Rangifer tarandus tarandus* является на сегодняшний день наименее изученным среди жвачных животных. Единичные публикации встречаются по микробиоценозу рубца северных оленей, обитающих на территории Норвегии [4].

Материалы и методы. Отбор образцов содержимого рубца проводили у взрослых особей возрастом 3–6 лет в Мурманской области в летний период. Исследование микробиоты рубца проводили с применением молекулярно-генетических методов в компании ООО «БИОТРОФ+». Состав бактериального сообщества анализировали с применением метода T-RFLP (*Terminal restriction fragment length polymorphism*) [3].

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что определенная часть выявленных фрагментов ДНК (47 фило-типов) не соответствует известным бактериям и по результатам анализа была отнесена к группе некультивируемых («uncultured bacterium»). Процентное содержание таких микроорганизмов в сумме составило $51,88 \pm 7,69\%$. Ранее исследователями было показано, что содержание некультивируемых микроорганизмов в рубце северных оленей *Norwegian reindeer* (*Rangifer tarandus tarandus* — европейский северный олень) существенно выше, чем у крупного рогатого скота и газелей Томпсона [1].

Среди идентифицированных таксонов в составе микробиоценоза содержимого рубца северных оленей

доминировали представители филума *Firmicutes* ($37,9 \pm 7,07\%$), главным образом, семейств *Lachnospiraceae* ($12,10 \pm 2,7\%$) и *Clostridiaceae* ($9,41 \pm 2,17\%$). В меньшей концентрации выявлены бактерии филумов *Bacteroidetes* ($4,95 \pm 3,98\%$), *Actinobacteria* ($4,39 \pm 2,04\%$) и *Proteobacteria* ($4,11 \pm 0,32\%$). Всего у северных оленей в содержимом рубца идентифицировано присутствие 16 бактериальных семейств, чаще среди которых встречаются представители *Clostridiaceae* ($8,58 \pm 1,97\%$), *Paenibacillaceae* ($5,86 \pm 1,15\%$) и *Lactobacillaceae* ($3,21 \pm 1,63\%$).

Полученные результаты в целом согласуются с сообщениями исследователей для *Rangifer tarandus tarandus* (*Norwegian reindeer*) [5] и свидетельствуют о том, что микрофлора рубца северных оленей является весьма эффективной в ферментации клетчатки и белка кормов, что позволяет животным выживать в специфических условиях питания, характерных для их среды обитания.

Интересно, что в рубце северных оленей детектировано присутствие бактерий, которые традиционно относятся к возбудителям различных инфекционных процессов, включая представителей семейств *Enterobacteriaceae* ($2,79 \pm 0,37\%$), *Burkholderiaceae* ($1,07 \pm 0,15\%$), *Legionellaceae* ($0,26 \pm 0,24\%$), филума *Fusobacteria* ($0,6 \pm 0,24\%$), несмотря на отсутствие клинических проявлений заболеваний у исследуемых животных.

Заключение. Итак, по результатам T-RFLP-анализа содержимого рубца северных оленей выявлено, что доминирующими представителями бактериального сообщества были некультивируемые таксоны и бактерии с целлюло- и сахаролитическими свойствами семейств *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Eubacteriaceae* и филума *Bacteroidetes*.

В перспективе применение T-RFLP-анализа может установить взаимосвязи между составом и структурой микробного сообщества рубца северного оленя и его кормовым рационом. Этот метод может быть также использован для идентификации бактериальных возбудителей болезней оленей.

Сведения о специфических микроорганизмах в рубцовом содержимом северных оленей могут быть использованы при разработке кормовых добавок,

оценке качества кормления и в качестве индикатора экологической ситуации в ареале обитания животных.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда для реализации науч-

ного проекта №17-76-20026 «Микробиоценоз рубца *Rangifer tarandus* Арктических регионов России как фундаментальная основа получения перспективных биотехнологий для сельскохозяйственных животных».

Литература

1. Hungate R.E. The Rumen and its Microbes. New York: Academic Press, 1966.
2. Тараканов Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. М.: Научный мир, 2006. 188 с. [Tarakanov B.V. *Metody issledovaniya mikroflory pishchevaritel'nogo trakta sel'skohozyajstvennykh zhivotnykh i pticy*. М.: Nauchnyj mir, 2006. 188 p.].
3. Брюханов А.Л., Рыбак К.В., Нетрусов А.И. Молекулярная биология. М.: Изд-во МГУ, 2012. 474 с. [Bryuhanov A.L., Rybak K.V., Netrusov A.I. *Molekulyarnaya biologiya*. М.: Izd-vo MGU, 2012. 474 p.].
4. Zielińska S., Kidawa D., Stempniewicz L., Łoś M., Łoś J.M. New Insights into the Microbiota of the Svalbard Reindeer *Rangifer tarandus platyrhynchus* // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 170.
5. Sundset M.A., Rørsteng K.E., Cann I.K.O., Mathiesen S.D., Mackie R.I. Novel rumen bacterial diversity in two geographically separated sub-species of reindeer. *Microbial. Ecol.* 2007. Vol. 54. P. 424–438.

МИКРОБИОМ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В СВЯЗИ С ИХ ЗДОРОВЬЕМ И ПРОДУКТИВНОСТЬЮ

Г.Ю. Лаптев, Л.А. Ильина, И.Н. Никонов

Общество с ограниченной ответственностью «БИОТРОФ»,
196602, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н.
e-mail: georg-laptev@rambler.ru

MICROBIOME OF FARM ANIMALS IN CONNECTION WITH THEIR HEALTH AND PRODUCTIVENESS

G.Yu. Laptev, L.A. Ilyina, I.N. Nikonov

„BIOTROF“ Limited Liability Company 196602, city of Saint Petersburg, city of Pushkin,
Malinovskaya str., house 8, letter A, office 7-N, e-mail: ilina@biotrof.ru

Введение. Известно, что состояние здоровья и продуктивность сельскохозяйственных животных имеют тесную связь с микробиотой их организма [1, 2]. В связи с этим не вызывает сомнений важность изучения экологии микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт и другие биотопы организма сельскохозяйственных животных и птиц, поскольку это является основой для понимания многих физиологических процессов.

Основные сведения о составе и функциях микробиоты сельскохозяйственных животных описаны на основе традиционных методов культивирования микроорганизмов на искусственных питательных средах, имеющих ряд ограничений и вследствие этого не позволяющих детально оценить состав микробиома и его зависимость от различных факторов [3].

Материалы и методы. На основе современных молекулярно-генетических методов T-RFLP, NGS-секвенирование и ПЦР в реальном времени проведена серия исследований, которые позволили получить

доказательства связи микробиомов сельскохозяйственных животных и птиц с их здоровьем и продуктивностью, а также с составом микробиоценозов кормов, экосистем животноводческих комплексов.

Изучен таксономический состав микробиома около 3000 особей различных сельскохозяйственно-значимых животных, включая крупный рогатый скот, зебувидный скот, свиней, северного оленя, коз, овец, норок, кур, перепелов и др.

Результаты исследования. В микробиоме сельскохозяйственных животных выявлено присутствие более широкого спектра микроорганизмов, чем считалось ранее на основе традиционных представлений. Так, по результатам T-RFLP-анализа, состав микробиома рубца КРС включал свыше 200 флотипов бактерий, архей и грибов, в том числе некультивируемых, ЖКТ птицы — свыше 180, свиней — свыше 150.

Показано, что применение молекулярно-генетических методов позволяет фиксировать детальные

изменения в микробиоме сельскохозяйственных животных на уровне филотипов под действием таких факторов, как рацион, возраст, состояние здоровья.

Полученные сведения о составе микроорганизмов и их количестве у сельскохозяйственных животных и птицы в различные стадии онтогенеза позволили углубить имеющиеся сведения и по-новому взглянуть на структуру и функции микробиомов по сравнению с существующими представлениями, описанными на основании классических методов исследований.

При изучении микробиоценоза рубца и других микробиоэкосистем обнаружено большое количество неидентифицированных микроорганизмов, к числу которых исследователи относят никогда ранее не культивируемые вследствие отсутствия подходящих методов виды либо перешедшие в некультивируемое состояние микроорганизмы.

Интересным и новым стало то, что в ЖКТ клинически здоровых животных в значительном количестве выявлялись возбудители различных заболеваний: энтеробактерии, фузобактерии, стафилококки и кампилобактерии, микоплазмы, пептококки и другие, что свидетельствует об их постоянном присутствии в пищеварительной экосистеме клинически здоровых животных, не вызывая при этом заболеваний.

Так, интересные результаты получены при анализе микробиомов пищеварительной системы птицы, хориоаллантоисной оболочки (ХАО), желточных мешков в эмбриогенезе на различных стадиях инкубации. В отличие от классических представлений в пробах обнаружено богатое таксономическое разнообразие бактерий, доминирующими среди которых были представители семейства *Enterobacteriaceae* (преимущественно *Escherichia coli*), представители класса *Clostridia*, филума *Bacteroidetes*, порядков *Negativicutes*, *Actinomycetales*, *Bifidobacteriales*. Интересно отметить присутствие ряда возбудителей опасных заболеваний

животных — бактерий родов *Burkholderia*, *Campylobacteriaceae*, *Salmonella*, *Klebsiella*, порядка *Rickettsiales* и др. [4]. Это позволяет предположить, что выявляемые в эмбриональный период микроорганизмы являются стартовой основой микробиоты птицы и оказывают влияние на ее здоровье и иммунитет. В настоящее время проводятся исследования формирования структуры микробиотопа ЖКТ эмбриона путем вертикальной передачи с помощью бактериальной транслокации от несушки и через поры в оболочке яйца.

Результаты исследований позволили детализировать функциональную связь различных филотипов бактерий, архей, грибов с физиологическими процессами у различных животных на основе анализа их связи с показателями пищеварения. Проведенные исследования раскрывают метаболические особенности и взаимодействия микроорганизмов, в том числе некультивируемых таксонов бактерий, архей, грибов, между собой и с организмом животного-хозяина.

Так, на примере птицы показано, что ряд молочнокислых бактерий, которые традиционно относятся к представителям нормофлоры кишечника, оказывает негативное влияние на доступность аминокислот, что, вероятно, связано с особенностями метаболизма бактерий, использующих аминокислоты, обедняя организм хозяина.

Детектированы микроорганизмы, связанные с продуктивностью различных сельскохозяйственных животных (рисунок). К примеру, снижение продуктивности у коров было связано с нарушением микробиома рубца: повышением уровня лактобактерий и ряда патогенов, включая фузобактерии — возбудители некробактериозов КРС, поражающих слизистые оболочки, внутренние органы, в том числе печень. У птиц отмечена отрицательная связь между продуктивностью и содержанием в слепых отростках ЖКТ ряда патогенов, включая актиномицеты, энтеробактерии, пастереллы, фузобактерии.

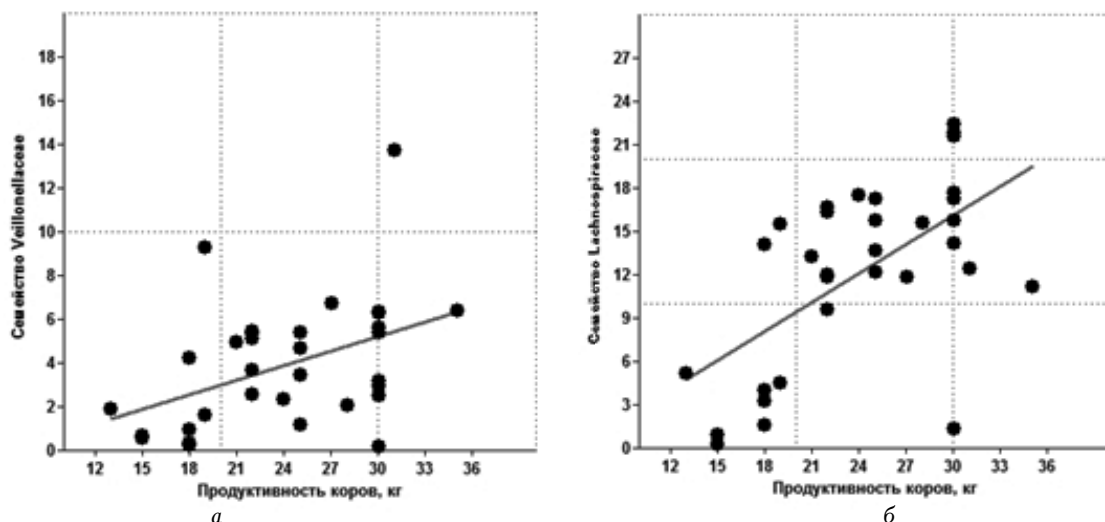


Рисунок. Связь между уровнем молочной продуктивности коров (кг/сут) и количеством микроорганизмов в рубце коров в период раздоя: а — лактат-утилизирующих бактерий; б — целлюлозолитических бактерий — лакноспир

В микробиомах сельскохозяйственных животных выявлены статистически значимые различия, связанные со здоровьем организма-хозяина. Так, доказано, что в рубцовой микрофлоре больных и выбракованных коров с низким уровнем продуктивности, симптомами маститов, гастроэнтеритов, проблемами воспроизводства, конечностей количество грибов-хитридиомицетов было ниже в среднем в 3,3 раза, метаногенных архей — в среднем в 3,3 раза, существенно снижена доля целлюлозолитиков, лактат-утилизирующих бактерий и повышена — амилитиков, лактобактерий,

фузобактерий и ряда патогенов. При этом оказалось, что количество патогенных микроорганизмов в различных биотопах организма КРС, включая смывы с вымени, молоко, соскобы с копыт, выделения из репродуктивных органов, коррелировало с их содержанием в микробиоте рубца.

Таким образом, результаты молекулярно-генетических исследований позволили детально оценить микробиомы сельскохозяйственных животных и птицы, выявить статистически значимые различия в составе микробиот, связанные со здоровьем и продуктивностью.

Литература

1. Nocek J. E. Bovine acidosis: implications on laminitis // J. Dairy Sci. 1997. Vol. 80. P. 1005–1028.
2. Stanley D., Hughes R.J., Moore R.J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. Vol. 98. P. 4301–4310.
3. Тараканов Б.В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы. М.: Научный мир, 2006. 188 с. [Tarakanov B.V. *Metody issledovaniya mikroflory pishchevaritel'nogo trakta sel'skhozoyajstvennykh zhivotnykh i pticy*. М.: Nauchnyj mir, 2006. 188 p.].
3. Ильина Л.А., Йылдырым Е.А., Никонов И.Н., Филиппова В.А., Лаптев Г.Ю., Новикова Н.И., Грозина А.А., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Егоров И.А., Фисинин В.И. Метагеномный пейзаж желудочно-кишечного тракта куриных эмбрионов с использованием метода T-RFLP // Доклады Академии наук. 2016. Т. 466, № 4. С. 482. [Il'ina L.A., Jyldyrym E.A., Nikonov I.N., Filippova V.A., Laptev G.Yu., Novikova N.I., Grozina A.A., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Egorov I.A., Fisinin V.I. Metagenomnyj pejzazh zheludochno-kishechnogo trakta kurinyh ehmbriionov s ispol'zovaniem metoda T-RFLP // *Doklady Akademii nauk*. 2016. Vol. 466, № 4. P. 482].

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ

В.Г. Мельников

Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского,
125212, Москва, ул. А. Макарова, д. 10, e-mail: goutch@mail.ru

THE NEW GENERATION OF PROBIOTICS

V.G. Melnikov

Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology in the name of G.N. Gabrichevsky,
125212, Moscow, A. Makariva str., house 10, e-mail: goutch@mail.ru

На рынке имеется огромное количество продуктов функционального питания, фармпрепаратов, предназначенных для восстановления нарушенного биоценоза кишечника и содержащих живые полезные микроорганизмы — пробиотики. Пробиотики получают с помощью культивирования на питательных средах, методом, разработанным микробиологами еще в XIX веке. Однако в последние годы установлено, что бактерии, выросшие естественным образом в природе, в значительной мере отличаются по свойствам от культур, полученных в «классических» лабораторных условиях. В природе бактерии

растут, образуя биопленку. Биопленка — это резистентное к химическим и биологическим факторам сообщество микроорганизмов, формирующееся на поверхности объектов внешней среды и тканей живых организмов, состоящее из микробных клеток и межклеточного слизистого матрикса. Предполагают, что биопленка является единым многоклеточным организмом со свойственным ему циклом развития. Научные исследования в мире в основном посвящены биопленкам патогенных бактерий, поскольку они участвуют в развитии инфекционной патологии человека и животных. Учитывая, что по-

лезные для здоровья человека микроорганизмы в природе также растут в виде биопленки, нами была предпринята попытка получить *in vitro* биопленку пробиотического штамма *Lactobacillus plantarum* 8-РА-3 и оценить возможность ее использования для восстановления нарушенной антибиотиками нормальной лактофлоры кишечника у мышей [1]. В литературе описано немало способов получения биопленок, однако все они малопроизводительны и технологически неэффективны. Нами впервые была использована с этой целью технология твердофазного культивирования. При культивировании *L. plantarum* 8-РА-3 на твердой фазе — пшеничных отрубях, пропитанных средой МРС, через 48 часов наблюдалось образование биопленки. Высушивание биопленки на воздухе приводило к уменьшению высеваемости бактерий с 10^9 КОЕ/г до менее чем 10^4 КОЕ/г. Однако флюоресцентная микроскопия препаратов из высушенной биопленки, окрашенных с помощью Live/Dead Kit, показала, что более 40% некультивируемых бактерий были метаболически активными, то есть, жизнеспособными. В результате содержания мышей на рационе с введением в комбикорм сухой массы отрубей с биопленкой *L. plantarum* в количестве 0,05%, отмечалось быстрое восстановление в толстой кишке животных нормального уровня лактобацилл, ингибированного интрагастральным введением антибиотика амикацина. Спустя 5 дней после окончания скармливания биопленки пробиотика, из фекалий мышей был выделен штамм, генетически идентичный штамму *L. plantarum* 8-РА-3. Полученные данные свидетельствуют о том, что этот штамм, при выращивании его в виде биопленки на отрубях и последующем высушивании биомассы, переходит в некультивируемое состояние, но не теряет при этом жизнеспособности и биологической активности. Некультивируемые (покоящиеся) формы в биопленке *L. plantarum* могут эффективно преодолевать желудочно-кишечный барьер, а затем восстанавливать культивируемость и другие биологические функции, способствуя нормализации резидентной микрофлоры, нарушенной под влиянием антибиотиков. Механизмы этого феномена не ясны, и их предстоит в дальнейшем изучать. Тем не менее результаты наших исследований свидетельствуют о перспективности использования биопленок для создания пробиотических препаратов и продуктов функционального питания нового поколения.

Немалый интерес представляет вопрос о безопасности применения бактерий в виде биопленки. В пользу отсутствия негативного влияния биопленки пробиотика на здоровье свидетельствуют несколько фактов. Во-первых, вся резидентная микробиота человека и животных представляет

собой биопленку. Во-вторых, выращивание биопленки лактобацилл на поверхности клеток HeLa не приводит к нарушению жизнедеятельности этих клеток [2]. В-третьих, традиционное японское блюдо Natto (в Мьянме оно носит название Pеpоke, в Корее — Chungkukjang и Doenjang, в Китае — Sufu или Fugu, в Таиланде — Thua nao), то есть соевые бобы, ферментированные бациллами, которое жители Юго-Восточной Азии употребляют в пищу на протяжении сотен лет, содержит, согласно нашим собственным данным, культуру ферментирующих бактерий в виде биопленки. В-четвертых, наши исследования на животных (мыши, собаки, птицы, рыбы) и людях-добровольцах показывают, что бактерии, выращенные в виде биопленки, не только не оказывают вредного воздействия на здоровье, но и в значительной степени укрепляют его.

Исследованиями последних лет установлено [3], что биопленка лактобацилл обладает значительно более выраженными пробиотическими (антимикробными, иммуномодулирующими, противовоспалительными) свойствами, чем их планктонная форма. Olsen и соавт. (2016) наглядно продемонстрировали преимущества биопленки пробиотика при лечении некротизирующего энтероколита. Это заболевание является основной причиной смертности у недоношенных новорожденных. Главной причиной его развития считают нарушение микробиоты кишечника вследствие длительного пребывания недоношенных младенцев в стационаре, антибиотикотерапии и т.д. Авторы показали [4], что биопленка лактобацилл, сформированная на поверхности частиц сефадекса G-25, значительно превосходила планктонную форму по способности выживать в кислой среде желудка, колонизовать слизистую оболочку кишечника и снижать проницаемость кишечной стенки. При этом даже однократного применения биопленки пробиотика было достаточно, чтобы защитить новорожденных крыс от развития экспериментального некротизирующего энтероколита или его осложнений. Планктонная форма пробиотика была значительно менее эффективной.

Особое внимание привлекают работы по изучению механизмов действия пробиотиков, поскольку они могут способствовать повышению эффективности использования полезных бактерий в клинике. Недавно исследователи из Калифорнийского университета [5] опубликовали статью о том, что бактерии, которые часто рассматриваются как примитивные одноклеточные существа, в состоянии биопленки представляют собой достаточно сложную многоклеточную систему, способную к саморегуляции с помощью электрохимических импульсов, наподобие тех, которые возникают в мозге человека. Dr. Suel, возглавлявший этот исследователь-

ский проект, сказал: «В основе всех наших чувств, поведения и интеллекта лежат электрические сигналы в мозге, опосредованные ионными каналами. Мы обнаружили, что бактерии используют аналогичный способ связи и передачи информации на значительные, по сравнению с размером микробной клетки, расстояния. Большая часть нашего понимания механизмов передачи сигнала в мозге основана на структурных исследованиях бактериальных ионных каналов, но то, как сами бактерии используют эти ионные каналы, оставалось загадкой, пока мы не предприняли попыток изучить передачу сигнала в микробных сообществах — биопленках, состоящих из миллионов плотно упакованных бактериальных клеток».

Интерес ученых к изучению этих сигналов вырос из предыдущего исследования [6], которое показало, что биопленки способны разрешать социальные конфликты в бактериальном сообществе. Когда биопленка *Bacillus subtilis* разрасталась, голодающие клетки, расположенные в ее сердцевине и не имевшие прямого доступа к питательному субстрату, посылали сигналы периферическим клеткам. Последние прекращали свой рост для того, чтобы обеспечить поступление питательных веществ в центральную часть биопленки. Показано, что данный сигнал был ничем иным, как электрохимическим импульсом, опосредованным ионами калия, выделявшимися из клетки через ионные каналы и приводившими к деполяризации мембраны соседней клетки. То есть передача сигнала в микробной биопленке происходила при помощи механизма, свойственного нервной ткани и определяющего распространение импульса вдоль аксона. Авторы также обнаружили [7], что упомянутые выше электрические сигналы не только координировали поведение составляющих биопленку *B. subtilis* клеток, но и были способны распространяться за ее пределы, изменяя мембранный потенциал бактерий другого вида — *Pseudomonas aeruginosa*, находившихся за пределами биопленки, и влиять на направление их движения. Псевдомонады подчинялись импульсам, которые генерировались биопленкой *B. subtilis*, и двигались в ее направлении, встраиваясь в биопленку.

Нами проведено исследование, которое указывает на возможность существования в многоклеточных

микробных сообществах иного способа передачи сигнала, — такого же, как между аксонами нервных клеток [8]. Штамм *Corynebacterium diphtheriae* культивировали на мембране Millipore 0,45 мкм в проточной системе. При этом все метаболиты бактерий, в том числе регуляторные молекулы, запускающие процесс размножения микробной популяции, удалялись с током жидкости, и бактерии постоянно находились в свежей питательной среде. Вопреки ожиданиям, в таких условиях культура продолжала размножаться. Делящиеся клетки значительно увеличивались в размерах и между ними образовывались многочисленные контакты-перемычки. В результате формировалась сетевидная структура, напоминающая синцитий (рисунок). По-видимому, в отсутствие внеклеточных регуляторных молекул включается альтернативный механизм коммуникации, при котором жизнедеятельность развивающейся культуры регулируется, в основном, через межклеточные контакты. В основе этого явления может лежать неизвестный прежде у бактерий способ передачи импульса, аналогичный синаптическому — с помощью молекул-нейромедиаторов.

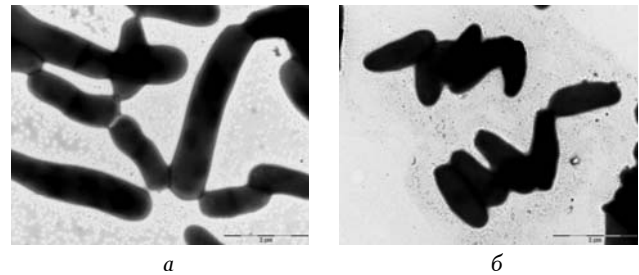


Рисунок. Культура *C. diphtheriae*: а — выращенная на мембране; б — выращенная в обычных условиях

Таким образом, биопленки имеют неоспоримые преимущества перед широко распространенными «планктонными» препаратами пробиотиков. Биопленки пробиотиков безвредны, устойчивы к факторам внешней среды, эффективно колонизируют слизистые оболочки, успешно конкурируют с патогенами, взаимодействуют с иммунокомпетентными клетками и, возможно, с периферической нервной системой макроорганизма. Междисциплинарные исследования на стыке молекулярной микробиологии и нейробиологии позволят раскрыть важные механизмы влияния биопленок пробиотиков на макроорганизм и vice versa.

Литература

1. Ushakova N., Abramov V., Khlebnikov V., Semenov A., Kuznetsov B., Kozlova A., Nifatov A., Sakulin V., Kosarev I., Vasilenko R., Sukhacheva M., Melnikov V. Properties of the Probiotic Strain *Lactobacillus plantarum* 8-RA-3 Grown in a Biofilm by Solid Substrate Cultivation Method // Probiotics Antimicrob Proteins. 2012. Vol. 4, № 3. P. 180–186.
2. Abramov V., Khlebnikov V., Kosarev I., Bairamova G., Vasilenko R., Suzina N., Machulin A., Sakulin V., Kulikova N., Vasilenko N., Karlyshev A., Uversky V., Chikindas M., Melnikov V. Probiotic Properties of *Lactobacillus crispatus* 2029: Homeostatic Interaction with Cervicovaginal Epithelial Cells and Antagonistic Activity to Genitourinary Pathogens // Probiotics Antimicrob Proteins. 2014. Vol. 6, № 3–4. P. 165–176.

3. Aoudia N., Rieu A., Briandet R., Deschamps J., Chluba J., Jego G., Garrido C., Guzzo J. Biofilms of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum*: Effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties // *Food Microbiol.* 2016. Vol. 53. Pt A. P. 51–59.

4. Olson J., Rager T., Navarro J., Mashburn-Warren L., Goodman S., Besner G. Harvesting the benefits of biofilms: A novel probiotic delivery system for the prevention of necrotizing enterocolitis // *J. Pediatr. Surg.* 2016. Vol. 51, № 6. P. 936–941.

5. Prindle A., Liu J., Asally M., Ly S., Garcia-Ojalvo J., Suel G.M. Ion channels enable electrical communication in bacterial communities // *Nature.* 2015. Vol. 527. P. 59–63.

6. Liu J., Prindle A., Humphries J., Gabalda-Sagarra M., Asally M., Lee D.Y., Ly S., Garcia-Ojalvo J., Suel G.M. Metabolic co-dependence gives rise to collective oscillations within biofilms // *Nature.* 2015. Vol. 523, № 7562. P. 550–554.

7. Humphries J., Xiong L., Liu J., Prindle A., Yuan F., Arjes H.A., Tsimring L., Suel G.M. Species-Independent Attraction to Biofilms through Electrical Signaling // *Cell.* 2017. Vol. 168. № 1. P. 200–209.

8. Melnikov V.G. Microbial immatures // Abstract book of The XIII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, Sapporo, Japan, 2011, P-BA29-7. P. 248.

СОВМЕСТНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ БИОФИЛЬМА *M. TUBERCULOSIS* И *BACILLUS SPP.* КАК МОДЕЛЬ МИКРОБИОТЫ НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ ТУБЕРКУЛЕЗА

^{1,2,3} О.Б. Огарков, ⁴М.В. Бадлеева, ^{1,5}Н.Л. Белькова, ⁶Р.В. Адельшин, ⁷Т.А. Цыренова, ^{1,8}В.В. Синьков,
¹П.А. Хромова, ⁸К.Ю. Костюнин, ⁷М.Е. Кошечев., ¹С.Н. Жданова

¹Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, 664003 г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия, e-mail: obogarkov@yandex.ru

²Иркутский государственный университет, 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, Россия

³Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, 664049,
г. Иркутск, ул. Юбилейный микрорайон, 100к4, Россия

⁴Бурятский государственный университет, 670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Россия

⁵ФГБУН «Лимнологический институт» СО РАН, 664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, Россия

⁶Иркутский научно-исследовательский противочумный институт, 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия

⁷Иркутская областная клиническая туберкулезная больница, 664039, г. Иркутск, ул. Терешковой, 59, Россия

⁸Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр, 664047, г. Иркутск,
Байкальская ул., 109, Россия

Ключевые слова: биофильмы, *M. tuberculosis*, *Bacillus spp.*, *Brevibacillus spp.*

CO-FORMATIONS OF BIOFILMS *M. TUBERCULOSIS* AND *BACILLUS SPP.* AS A MODEL OF MICROBIOTA AT ADVANCED STAGES OF TUBERCULOSIS

^{1,2,3}O.B. Ogarkov, ⁴M.V. Badleeva, ^{1,5}N.L. Belkova, ⁶R.V. Adelshin, ⁷T.A. Tsyrenova ^{1,8}V.V. Sinkov.,

¹P.A. Khromova, ⁸K.Yu. Kostyunin, ⁷M.E. Koshcheyev, ¹S.N. Zhdanova.

¹Scientific Center of Problems of Family Health and Human Reproduction, 664003 city of Irkutsk, Timiryazeva str.,
16, Russia, e-mail: obogarkov@yandex.ru

²Irkutsk State University, 664003, city of Irkutsk, Karla Marksa str., Russia

³Irkutsk State Medical Graduate Academy, 664049, city of Irkutsk, Yubileyny Mikrorayon str., 100 building 4, Russia

⁴State University of the Republic of Buryatia, 670000, city of Ulan-Ude, Smolina str., 24a, Russia

⁵Federal Publicly Funded Institution of Science "Limnologic institute" of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 664033, city of Irkutsk, Ulan-Batorskaya str., 3, Russia

⁶Irkutsk Research Anti-Plague Institute, 664047, city of Irkutsk, Trilisser str., 78, Russia

⁷Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital, 664039, city of Irkutsk, Tereshkova str., 59, Russia

⁸Irkutsk Regional Clinical Consultation and Diagnostic Center, 664047, city of Irkutsk, Baykalskaya str., 109, Russia

Введение. Процесс образования биофильмов *in vivo* на поздних стадиях туберкулеза является важным фактором патогенеза инфекции [1]. По всей видимо-

сти, субстанция биофильмов *M.tuberculosis* (МБТ) во многом повторяет состав полимеров клеточной стенки и капсулы. К таким полимерам можно отне-

сти PDIM (phthiocerol/phthiodiolone dimycocerosate), PG (phenolic glycolipids) [2] и альфа-полиглутаматы [3]. Интересно, что альфа- и гамма-полиглутаматы являются биополимерами, широко встречающимися в капсулах и биофильмах других видов бактерий [3].

Цели и задачи: исследование механизмов образования биофильмов клиническими штаммами *M.tuberculosis*.

Материалы и методы. Штаммы МБТ были получены с твердой питательной среды Левенштейна–Йенсена. Среда Школьниковой готовилась согласно действующим рекомендациям (Приказ № 109), для получения биофильмов штаммы МБТ выращивали в 5 мл среды в стеклянных пробирках с добавлением до 10% инактивированной при 56° С сыворотки крови человека, согласно ранее описанной методике (Приказ № 558). Выделение геномной ДНК из биофильмов: экстракцию ДНК штаммов МБТ проводили из образцов, убитых прогреванием при 100° С в течение 30 мин. Для удаления ингибиторов ПЦР проводили предварительную обработку биофильмов протеиназой К и хлороформом. Фермент добавляли в количестве 2 ед. на образец в равном образцу объеме 0,5-кратного лизирующего буфера от набора ДНК-сорб-В («Интерлабсервис», Россия), интенсивно встряхивали и прогревали при 55° С в течение 30 мин. В дальнейшем к образцу добавляли равный объем хлороформа, перемешивали и центрифугировали. Полученный супернатант отбирали в чистый виал и выделяли ДНК набором ДНК-сорб-В («Интерлабсервис»), согласно протоколу производителя. ПЦР проводили в варианте с детекцией электрофорезом на термоциклерах фирмы БИС-М (Россия) или с детекцией в реальное время на амплификаторе LightCycler Nano (Roche). Олигонуклеотидные праймеры и зонды синтезированы НПФ «Синтол», также использовали реагенты для ПЦР компании «Интерлабсервис». Молекулярное клонирование ПЦР продуктов проводили с помощью набора Clon JETTM PCR Cloning Kit (Thermo Scientific, США). Секвенирование по Сэнгеру выполняли на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer 3500xL. Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИС) двух основных противотуберкулезных препаратов (ПТП) и 10 препаратов резерва проводили на планшетах Sensititre (Thermo Scientific, США).

Результаты. При исследовании процесса образования биофильмов на среде Школьниковой обнаружено отсутствие образования биофильмов у всех 100 клинических штаммов при наличии планктонного роста. Рост в виде биофильмов наблюдался только у 20 лабораторных штаммов МБТ, прошедших многочисленные пассажи на искусственных питательных средах. В то же время посев 150 образцов мокроты, стандартно обработанной NALC-NaOH, на «голодную» среду Школь-

никовой (без добавления сыворотки крови) в 63 случаях сопровождался ростом микрофлоры с образованием биофильмов. В 30,2% (19/63) случаев биофильмы содержали возбудитель туберкулеза. Методом ПЦР-РВ выделено 6 образцов, имеющих наибольшую концентрацию микобактериальной ДНК. Проведено молекулярное клонирование участка гена 16S РНК одной из шести биофильмов с последующим секвенированием клонов. Выявленная последовательность имела 99% гомологию с видом *Bacillus thermoamylovorans*. Из имеющихся образцов биофильмов с МБТ микробиологическими методами изолировано три штамма бацилл. Секвенирование гена 16S позволило идентифицировать выделенные штаммы, как *Bacillus licheniformis* (один штамм, более 99% гомологии) и *Brevibacillus spp.* (два штамма). Все три выделенных штамма были устойчивы к максимальным концентрациям изониазида, стрептомицина, этионамида и этамбутола. Штаммы *Brevibacillus spp.* были дополнительно устойчивы к ПАСК и канамицину. В модельном эксперименте при длительной совместной инкубации МБТ и *B. licheniformis* на «голодной» среде Школьниковой показано, что некоторые клинические штаммы *M. tuberculosis* способны успешно размножаться вместе со штаммом бациллы. Несмотря на то, что концентрация ДНК МБТ в биофильме, образованном бациллой *B. Licheniformis*, была значительно ниже, чем в жидкой среде, наблюдалось нарастание концентрации МБТ в биофильме и в жидкой фазе при выходе штамма *B. licheniformis* в лог-фазу роста.

Заключение. Обнаружение бацилл, считающихся сапрофитическими, продуцирующими биофильмы, при посеве мокроты от больных туберкулезом легких может изменить наше представление о безопасности бацилл, используемых в биотехнологии (*B. licheniformis* является биотехнологическим штаммом, источником протеаз и липаз). В то же время авторами постулируется гипотеза, предполагающая возможность кратковременной персистенции некоторых «сапрофитических» видов бацилл в казеозном содержимом очагов некроза на поздних стадиях туберкулеза легких при возникновении аэробных условий в очаге казеоза. Нельзя исключать, что МБТ, имеющие в составе клеточной стенки до 8% альфа-полиглутаматов, могут иметь определенное сродство и возможность размножаться в биофильмах бацилл, состоящих из гамма-полиглутамата. С учетом того, что выделенные бациллы имеют устойчивость к половине ПТП (по-видимому, конститутивную), обнаружение такого факта может значительно изменить наше представление о патогенезе поздних стадий туберкулеза легких в случае присоединения истинной бациллярной микрофлоры к образованию биофильмов *in vivo*, т.е. в кавернах или других крупных очагах туберкулезного поражения легких.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-00160 А.

Литература

1. Orme I.M. A new unifying theory of the pathogenesis of tuberculosis // Tuberculosis (Edinb.). 2014. Vol. 94 (1). P. 8–14.
2. Flentie K.N., Stallings C.L., Turk J., Minnaard A.J., Hsu F.-F. Characterization of phthiocerol and phthiodiolone dimycocerosate esters of *M. tuberculosis* by multiple-stage linear ion-trap MS // J. Lipid Res. 2016. Vol. 57. P. 142–155.

3. Barton L. Structural and Functional Relationships in Prokaryotes. New York: Springer, 2005. P. 202–210.
4. Приказ № 109 от 21 марта 2003 г. Министерства здравоохранения Российской Федерации «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». М., 2003. [Priказ № 109 ot 21 marta 2003 g. Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii «O sovershenstvovanii protivotuberkuleznyh meropriyatij v Rossijskoj Federacii». Moscow, 2003].
5. Приказ Минздрава СССР от 8 июня 1978 г. № 558 «Об унификации микробиологических методов исследования при туберкулезе». М., 1978. [Priказ Minzdrava SSSR ot 8 iyunya 1978 g. № 558 «Ob unifikacii mikrobiologicheskikh metodov issledovaniya pri tuberkuleze». Moscow, 1978.].

ПОЛУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ИЗ КУЛЬТУРЫ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8P-A3 ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ НА ПОЛИМЕРНЫХ ГЕТЕРОСЕТЧАТЫХ СОРБЕНТАХ

Г.В. Рябинин

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., д. 49, Россия
e-mail: georgij.ryabinin@mail.ru

PREPARATION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES FROM THE CULTURE OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 8P-A3 BY USING THE CHROMATOGRAPHIC METHOD ON POLYMERIC HETERO-CELLULAR SORBENT

G.V. Ryabinin

Saint Petersburg National Research Institute of Informational Technologies, Mechanics, and Optics, 197101, Saint Petersburg, Kronverksky prospekt, house 49, Russia e-mail: georgij.ryabinin@mail.ru

Введение. Развитие устойчивости патогенных бактерий к противомикробным препаратам, по данным Всемирной организации здравоохранения, одна из важнейших проблем современной медицины. В связи с этим актуальной задачей является поиск альтернативных антибиотиков для лечения бактериальных инфекций. Один из подходов к решению этой проблемы — получение антимикробных пептидов, продуцируемых пробиотическими молочнокислыми бактериями.

Для изучения свойств антимикробных пептидов необходимо разработать такой способ их выделения, при котором сохранялась бы нативная структура пептидов. В силу своей технологической гибкости наиболее широко применяемым методом выделения и очистки целевых бактериальных метаболитов в настоящее время становится жидкостная хроматография. Данный метод основан, с одной стороны, на применении сорбентов, селективно сорбирующих целевое биологически активное вещество, а с другой — на использовании термодинамически и кинетически выгодных режимов динамической сорбции.

Существующие стандартные схемы получения большинства целевых биологически активных веществ белковой природы из продуктов микробиологического синтеза предполагают многофазные процессы извлечения с применением токсичных растворителей и продолжительный цикл работы. В результате в процессе такого многостадийного выделения могут произойти не

только потери целевого вещества, но и деградация нативной структуры бактериоцинов.

Таким образом, необходимо разрабатывать новые способы выделения целевых веществ из многокомпонентных смесей. Основным требованием для таких процессов выделения является высокая селективность динамической сорбции целевых компонентов с помощью соответствующих хроматографических носителей.

Цель работы: разработка методики одностадийного хроматографического выделения низкомолекулярных бактериальных экзометаболитов на полимерных сорбентах.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи:** выбрать хроматографический носитель для сорбционного процесса в соответствии с физико-химическими свойствами целевых биологически активных веществ; экспериментально определить параметры для проведения одностадийного процесса высокоселективной сорбции, при котором сохранялась бы нативная структура бактерициноподобных субстанций.

Материалы и методы. Для изучения антимикробного действия низкомолекулярных пептидных соединений, синтезируемых пробиотическими молочнокислыми бактериями, нами был выбран промышленный штамм *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, входящий в состав препарата Лактобактерин (НПО «Биомед», Россия). Известно, что этот бактериоциногенный штамм проявляет антагонистическую активность в отношении широко-

го круга микроорганизмов [1]. Анализ генома штамма *L. plantarum* 8P-A3, проведенный в ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», показал наличие полного плантарицинового локуса размером примерно 20000 п.о., содержащего кодирующие последовательности двух бактериоцинов — плантарицинов EF и NC8 [2]. В экспериментальных микробиологических исследованиях использовались штаммы *L. plantarum* 8P-A3 и *Escherichia coli* ATCC 10798 из коллекции Отдела молекулярной микробиологии ФГБНУ «ИЭМ». Лактобациллы выращивали на среде МРС-1 («НИЦФ», Россия), энтеробактерии культивировали на среде LB (AMRESCO LLC, USA). Все бактериальные штаммы инкубировали в аэробных условиях при 37° С в течение 24 часов.

Хроматографическое выделение пептидных фракций супернатанта штамма *L. plantarum* 8P-A3 осуществляли при использовании полимерного гетеросетчатого сорбента БДМ-12 на основе метакриловой кислоты и диметакрилата этиленгликоля, синтезированного в Институте Высокомолекулярных соединений РАН [3]. Перед процессом хроматографии через колонку пропускали раствор 0,5 н. соляной кислоты, чтобы перевести сорбент в Н-форму. Все целевые биологически активные вещества связывались водородной формой сорбента при сорбции из кислых значений рН. Десорбцию осуществляли в ходе ступенчатого элюирования, последовательно промывая колонку растворами 0,2 н. ацетата аммония с рН 4,5; 6; 7; 8 и 10. Элюирование каждым раствором проводили до получения на выходе из колонки раствора с рН, равным рН исходного элюента. Скорость потока подвижной фазы составляла 1 мл/мин. После десорбции рН всех фракций доводили до 7,0, чтобы исключить ингибирующее воздействие кислоты и щелочи на индикаторную культуру.

Антимикробную активность полученных пептидных фракций по отношению к индикаторной культуре *E. coli* ATCC 10798 определяли турбидиметрическим методом путем измерения оптической плотности при $\lambda=600$ нм. Обладающую наибольшей способностью ингибировать рост индикаторной культуры фракцию пептидов (Р) выбрали для последующего анализа.

Для изучения влияния на рост индикаторной культуры в системе *in vitro* сконцентрированную в 100 раз выбранную активную фракцию пептидов (Р*) добавляли в жидкую питательную среду LB в количестве 0,1% и 0,2% от объема и наблюдали за скоростью роста энтеробактерий. Для сравнительного анализа степени ингибирующего действия экзометаболитов лактобацилл в питательную среду добавляли антибактериальное лекарственное средство ампициллин в концентрации 10 мг/л. Для доказательства пептидной природы антимикробной активности исследуемой фракции ее обрабатывали протеолитическим ферментом — трипсином.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента с помощью программы Mathcad 14. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На основании сравнительного анализа полученных нами данных установлено, что максимальной способностью ингибировать рост грамотрицательной энтеробактерии *E. coli* ATCC 10798 обладала пептидная фракция супернатанта пробиотического штамма *L. plantarum* 8P-A3, полученная при элюировании раствором ацетата аммония с рН 8,0.

Антибактериальное действие данной активной фракции, сконцентрированной в 100 раз и добавленной в количестве 0,2% от объема питательной среды LB, оказалось сопоставимо с действием ампициллина в концентрации 10 мг/л.

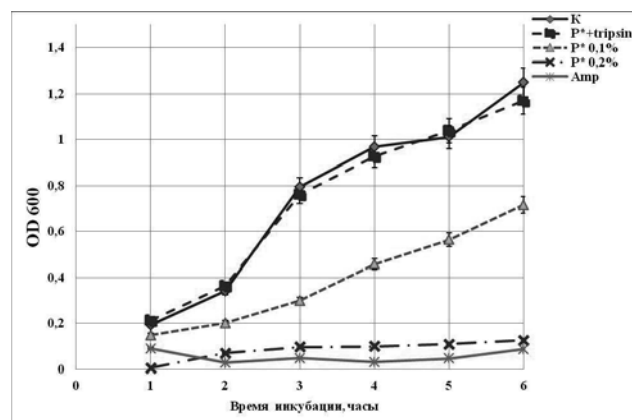


Рисунок. Антимикробное действие пептидной фракции, полученной из культуры *L. plantarum* 8P-A3, на рост *E. coli* ATCC 10798. К — контроль роста энтеробактерий на среде LB; P*+trypsin — фракция, обработанная трипсином; P* 0,1% — фракция в количестве 0,1% об.; P* 0,2% — фракция в количестве 0,2 % об.; Amp — ампициллин 10 мг/л.

Фракция, обработанная трипсином, не оказывала ингибирующего действия (рисунок). Этот факт подтверждает, что антимикробные вещества разложились за счет гидролиза пептидных связей.

Полученные результаты позволяют предположить, что антибактериальная активность пептидной фракции, полученной из супернатанта при элюировании раствором ацетата аммония с рН 8,0, обусловлена содержанием в данной фракции бактериоцинов лактобацилл, гены которых присутствуют в геноме исследуемого пробиотического штамма *L. plantarum* 8P-A3 [2]. В дальнейшем для подтверждения наличия плантарицинов EF и NC8 необходимо провести масс-спектрометрический анализ фракции.

Выводы. Разработанные нами физико-химические условия для проведения одностадийного хроматографического процесса позволяют выделять из многокомпонентной смеси целевые вещества белковой природы с сохранением их нативной структуры и, следовательно, антибактериальных свойств.

Описанный хроматографический метод выделения на полимерных гетеросетчатых сорбентах может использоваться также для получения антимикробных пептидов и других пробиотических штаммов молочнокислых бактерий.

Литература

1. Ermolenko E.I., Isakov V.A., Zhdan-Pushkina, S.K., Tets V.V. Quantitative characterization of antagonistic activity of lactobacilli // Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii. 2004. № 5. P. 94–98.
2. Tsapieva A., Duplik N., Suvorov A. Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 // Beneficial Microbes. 2011. № 2 (4). P. 255–261.
3. Pisarev O.A., Polyakova I.V. Regulation of sorption selectivity in preparative chromatography of biologically active substances on polymeric sorbents (Review) // Trends in chromatography. 2013. № 1. P. 2–45.

МИКРОБИОТА ТОЛСТОЙ КИШКИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

¹И.В. Соловьева, ¹И.В. Белова, ¹А.Г. Точилина, ²С.Ф. Барболина, ¹Т.П. Иванова, ¹В.А. Жирнов

¹Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71, e-mail: lab-lb@yandex.ru

²Нижегородская государственная медицинская академия, 603093, Нижний Новгород, ул. Родионова, д. 198, e-mail: svetlanabarbolina@yandex.ru

MICROBIOTA OF LARGE BOWEL OF PATIENTS SUFFERING WITH TUBERCULOSIS WITH MULTIPLE DRUG RESISTANCE

¹I.V. Solovyova, ¹I.V. Belova, ¹A.G. Tochilina., ²S.F. Barbolina., ¹T.P. Ivanova., ¹V.A. Zhirnov

¹Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology in the name of academician I.N. Blokhina, 603950, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya str., house 71, e-mail: lab-lb@yandex.ru

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, 603093, Nizhny Novgorod, Rodionova str., house 198, e-mail: svetlanabarbolina@yandex.ru

В последнее время все большее значение приобретают формы туберкулеза, обусловленные микобактериями, обладающими множественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам (МЛУ). Особенно настораживает рост лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis complex* (МБТ) у впервые выявленных больных [1]. При наличии МЛУ проводят более длительную терапию туберкулезной инфекции (от 18 мес и более) с использованием в интенсивной фазе лечения в течение минимум 6 мес не менее пяти противотуберкулезных препаратов [2]. При такой тактике лечения серьезной проблемой становится приверженность пациентов к проводимой терапии. Кроме того, почти у половины больных туберкулезом с МЛУ возникает необходимость временной или постоянной коррекции химиотерапии, или прерывания курса лечения из-за возникающего кожно-аллергического синдрома, метаболических нарушений, диспептических расстройств и дисбиозов, нейротоксических и гепатотоксических реакций больных. Прерывание курса противотуберкулезной терапии, в свою очередь, создает предпосылки к развитию широкой лекарственной устойчивости МБТ.

Многочисленные исследования предыдущих лет убедительно доказывают эффективность применения

разнообразных пробиотиков для снижения частоты побочных реакций при антибиотико- и химиотерапии туберкулеза [3]. Пробиотические препараты, пробиотические биологически активные добавки к пище и продукты питания, обогащенные пробиотиками, в данной ситуации выступают в качестве дополнения лечебного питания, одной из задач которого при туберкулезе являются повышение сопротивляемости организма к интоксикации и нормализация обмена веществ. Все вышеизложенное определило актуальность настоящего исследования, целью которого стало изучение микробиоты просвета толстой кишки больных туберкулезом легких, в том числе с МЛУ, для разработки алгоритма ее коррекции.

В ходе настоящей работы микрофлора просвета толстой кишки больных изучена стандартным бактериологическим методом двукратно. Видовую идентификацию микроорганизмов осуществляли с использованием MALDI масс-спектрометрии (масс-спектрометр Autoflex speed Bruker, программа BioTuner). Интерпретацию результатов анализов проводили с учетом ОСТа 91500.11.0004-2003. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса, критический уровень значимости

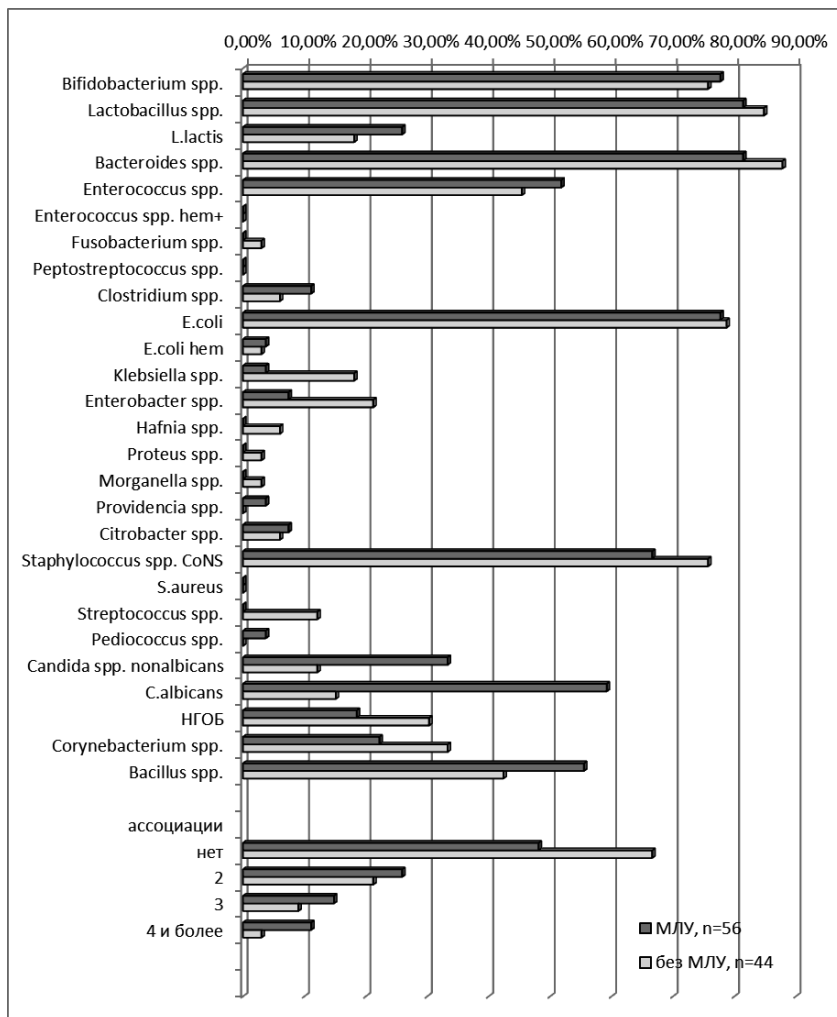


Рисунок. Частота выделения различных представителей микробного сообщества просвета толстой кишки

$p=0,05$. Из 120 обследованных пациентов у 100 выделялись *Mycobacterium tuberculosis complex*. Среди 100 пациентов с известными исходными данными теста на лекарственную чувствительность МЛУ выявлена в 56% случаев, в остальных случаях (44%) лекарственная чувствительность выделенных МБТ была сохранена. По критерию лекарственной устойчивости МБТ все пациенты были разделены на две группы, сопоставимые по полу, возрасту, тяжести и формам туберкулезного процесса.

Исследование микрофлоры кишечника больных показало, что в обеих группах обнаруживаются выраженные дисбиотические нарушения II и III степени: 77,7% — в группе больных с МЛУ и 75,7% у больных без МЛУ. У 23,4% пациентов бифидобактерии не выявлялись, а у 35% обследованных бифидобактерии обнаруживались в количествах менее 10^8 КОЕ/мл (ниже физиологической нормы).

Лактобациллы отсутствовали у 16,7% пациентов, у 31,7% определялись в количествах ниже 10^7 КОЕ/мл. Бактероиды обнаруживались у 85% пациентов, и только у 51,6% в пределах нормальных значений — 10^7 – 10^9 КОЕ/мл; *E. coli* выделялись у 78,3% больных, и у 53,3% в количестве 10^6 – 10^8 КОЕ/мл. Также следует отметить, что у больных с МЛУ туберкулезом видовое разнообразие и частота выделе-

ния УГМ были ниже, чем у пациентов без МЛУ. Исключение составляют *Candida spp.* (92,5% случаев, из них 59,2% — *C. albicans*), а также *Bacillus spp.* (55,5%), частота выделения которых была выше у пациентов с МЛУ. Также в группе ассоциации из 4 видов микроорганизмов обнаруживались в 11,1% случаев, т.е. чаще в 1,7 раза, чем у пациентов второй группы (рисунок). Такие изменения в составе микробиоты можно объяснить длительным массивным применением препаратов этиотропной химиотерапии.

В результате предварительного изучения антибиотикорезистентности лакто- и бифидобактерий, входящих в состав БАД к пище «ЛВ-комплекс Л», и устойчивости их к противотуберкулезным препаратам, а также с учетом фармакокинетики последних был предложен алгоритм включения пробиотика в комплекс базовой терапии.

Для изучения эффективности использования предложенного алгоритма проведено рандомизированное слепое плацебоконтролируемое исследование. К концу исследования у группы больных через 50 дней приема пробиотика отмечено восстановление состава микрофлоры ЖКТ до нормальных значений в 66,6% случаев, в 33,3% состав микрофлоры улучшился, отмечено снижение числа побочных реакций

в 1,4 раза, $p=0,05$. Достоверное снижение количества побочных реакций и более раннее купирование интоксикационного синдрома у пациентов, при-

нимавших пробиотик, повысило их приверженность к лечению и снизило количество дней пребывания больного в стационаре в среднем на 23,5%.

Литература

1. Crofton J., Chaulet P., Maher D. et al. Guidelines for the management of drug-resistant tuberculosis. Geneva: WHO, 1997. 49 p.
2. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в РФ: Приказ МЗ РФ от 21.03.2003 № 109. М., 2003. 347 с. [O sovershenstvovanii protivotuberkuleznh meropriyatii v RF: Prikaz MZ RF ot 21.03.2003 № 109. M., 2003. 347 p.]
3. Соловьева И.В., Соколова К.Я., Белова И.В., Репина Н.Б., Иванова Т.П., Точилина А.Г. Туберкулезная инфекция у детей: дополнение алгоритма лечения новым пробиотиком // Медицинский альманах. 2009. № 2 (7). С. 56–58. [Soloveva I.V., Sokolova K.Ya., Belova I.V., Repina N.B., Ivanova T.P., Tochilina A.G. Tuberkuleznaya infekciya u detei: dopolnenie algoritma lecheniya novim probiotikom // Medicinskii almanah. 2009. № 2 (7). P. 56–58].

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ПЕРСИСТЕНЦИИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ БРОНХОВ КРЫС

А.А. Стадников, Н.Н. Шевлюк, А.Н. Козлова

Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Оренбургская обл., Советская ул., д. 6, e-mail: Alexander.stadnikov@yandex.ru

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PECULIARITIES OF RELATIONSHIP BETWEEN PROCARIOTIC CELLS AND EUCELLS UNDER CONDITIONS OF PERSISTENCE OF *STAPHYLOCOCCUS* *AUREUS* IN THE MUCOUS MEMBRANE OF RAT BRONCHI

A.A. Stadnikov, N.N. Shevlyuk, A.N. Kozlova

Orenburg State Medical University, Orenburg, Orenburg region, Sovyetskaya str., house 6, e-mail: Alexander.stadnikov@yandex.ru

Введение. Вопросы ультраструктурных преобразований клеточных элементов организма-хозяина при их симбиотических взаимодействиях с персистирующими прокариотами постоянно находятся в сфере научных интересов биологов и врачей различных специальностей и широко обсуждаются в научной литературе [1–4]. Несмотря на это, многие аспекты этих перестроек до настоящего времени являются недостаточно исследованными, например, вопросы механизмов регуляции адаптивных и репаративных перестроек клеток макроорганизмов на фоне их симбиотических отношений с различными бактериальными патогенами [4], в том числе вопросы роли и значимости регуляторных систем организма-хозяина в регуляции взаимодействий про- и эукариотических организмов.

Цель исследования: анализ морфофункциональных реорганизаций клеточных структур слизистых оболочек бронхов крыс при их взаимодействиях со стафилококками с различными персистентными свойствами.

Материалы и методы. 48 белым беспородным крысам-самцам массой 180–230 г проведено экспериментальное инфицирование стафилококками. Экспериментальные животные были разделены на две группы. Животным первой группы (24 крысы) интратрахеально однократно вводили *Staphylococcus aureus* (штамм с антилактоферриновой активностью) в объеме 1 мл взвеси, содержащей 400 млн КОЕ/мл. Крысам второй группы (24 крысы) вводили интратрахеально *Staphylococcus aureus* (штамм без антилактофер-

риновой активности) в объеме 1 мл взвеси, содержащей 400 тыс. КОЕ/мл. Контролем служили 24 крысы, которым интратрахеально вводили по 1 мл изотонического раствора натрия хлорида. У животных экспериментальных и контрольной групп материал (слизистая оболочка внутригочных бронхов) для исследования брали на стадиях 1, 3, 6, 9 сут с начала эксперимента (по 6 животных на каждую стадию). Эвтаназию животных для взятия материала проводили под эфирным наркозом в утренние часы (в период от 9 до 10 часов).

Для световой микроскопии материал фиксировали в 12% водном растворе нейтрального формалина, спирт-формоле. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином, перйодатом калия и реактивом Шиффа по Мак-Манусу. Для электронномикроскопических исследований материал фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на S-колединовом буфере. Постфиксацию проводили в четырехокиси осмия. Материал дегидратировали в ацетоне и заливали в смесь эпона-812 и аралдита. Исследование ультратонких срезов (изготовленных на ультратоме LKB-5 (Швеция) проводили на электронном микроскопе ЭМВ 100АК (Украина). С использованием иммуноцитохимических методов выявляли экспрессию проапоптотического белка P53 и антиапоптотического белка bcl2. На гистологических срезах и электронограммах проводили морфометрию клеточных и тканевых структур, а также подсчитывали митотическую активность клеток исследованных тканей. Полученные цифровые показатели подвергали стандартной статистической обработке.

Результаты и их обсуждение. Анализ гистологических препаратов и электронограмм показал, что в слизистой оболочке бронхов у экспериментальных животных отмечаются явления персистенции стафилококков на всех стадиях эксперимента. Стафилококки регистрировались внутри клеток и в межклеточных пространствах. Внутриклеточная локализация стафилококков отмечалась в эпителиоцитах многорядного мерцательного эпителия, макрофагах, клетках фибробластического дифферона (преимущественно в дифференцированных фибробластах), эндотелиоцитах, гладких мышечных клетках. Стафилококки регистрировались в гиалоплазме, на мембранных компартаментах цитоплазмы, а также внутри них (например, внутри расширенных везикул эндоплазматической сети). Эти факты являются морфологическими эквивалентами процесса выживания микроорганизмов в компартаментах клетки-хозяина.

При этом на ультроструктурном уровне не было выявлено выраженных деструктивных изменений ядерных и цитоплазматических структур эукариот. Морфологические эквиваленты адаптивных и ре-

активных изменений этих клеток в ответ на персистенцию стафилококков выражались в увеличении объемов ядер, возрастании доли эухроматина в ядрах, повышении площади канальцев и везикул гранулярной и агранулярной эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, возрастании количества свободных рибосом в клетках. Вместе с тем в некоторых эпителиоцитах отмечалась активизация лизосом, которые лизируют часть внутриклеточно расположенных стафилококков. При этом в цитоплазме подобных клеток в большом количестве выявляются фагосомы и мультивезикулярные тельца.

Известно, что бактерии с антилактоферриновой активностью являются более устойчивыми к действию защитных механизмов организма-хозяина, лимитирующими реализацию репаративных гистогенезов [4–6]. Проведенный нами анализ пролиферативной активности клеточных структур слизистых оболочек бронхов (эпителиоциты, фибробласты, гистиоциты, эндотелиоциты) показал, что в условиях симбиотических взаимодействий про- и эукариотических клеток происходит значительное уменьшение пролиферативной активности выщепленных клеток. При этом при инфицировании организма стафилококками с антилактоферриновой активностью снижение пролиферативной активности более выражено (в 2–3 раза уменьшается митотический индекс по сравнению с теми животными, которым вводили микробы, не обладающие подобными персистентными свойствами).

На фоне адаптивных и реактивных изменений в эукариотических клетках, содержащих персистирующие бактериальные клетки, выявлены наиболее характерные структурные преобразования и в стафилококках. Прежде всего обращает на себя внимание усиление гетероморфности в популяциях стафилококков (по размерам, по рельефу клеточной поверхности, изменению формы нуклеоида и его электронной плотности). Некоторые стафилококки теряли электронноплотный нуклеоид и приобретали кольцевидную форму. В стафилококках обнаружено нарушение ультроструктурной организации мембранного комплекса, повреждение мембран. Наиболее выраженные морфофункциональные изменения исследуемых микроорганизмов отмечались при их локализации в цитоплазме эпителиоцитов слизистых оболочек бронхов.

Явление длительной персистенции прокариот в эукариотических клетках указывает на наличие механизмов самоорганизации в системе эукариотическая клетка—прокариотические клетки в процессе эндосимбиоза. Сегрегация в цитоплазме эукариотических клеток особых участков, которые оказываются наиболее благоприятными для длительной персистенции бактериальных агентов, очевидно не-

возможна без образования тесных пара- и аутокринных отношений между эу- и прокариотическими клетками. Вероятно, это является отражением того, что такой или подобный эндосимбиоз имел место и в процессе эволюции при возникновении

эукариотических клеток в результате длительного симбиотического сосуществования различных про- и эукариотических клеток, а также в процессе последующих филогенетических преобразований про- и эукариотических организмов.

Литература

1. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я. Бактерионосительство. Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 1996. 220 с. [Bukharin O.V., Usvyatsov B.Y. *Bacteriocarrier*. Ekaterinburg: Izd. UD RAS, 1996. 220 p.]
2. Козлова А.Н., Стадников А.А., Ковбык Л.В., Шевлюк Н.Н. Структурно-функциональная реорганизация стафилококков и воздухоносной системы при интратрахеальном введении патогена в эксперименте // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2003. № 4. С. 55–58. [Kozlova A.N., Stadnikov A.A., Kovbyk L.V., Shevlyuk N.N. Structural and functional reorganization of staphylococci and airway system with intratracheal introduction of the pathogen in the experiment // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2003. № 4. P. 55–58].
3. Стадников А.А., Чернова О.Л., Ковбык Л.В., Шевлюк Н.Н., Бухарин О.В. Роль гипоталамических нонапептидов во взаимодействии про- и эукариотических клеток // Вестник РАМН. 2000. № 2. С. 49–52. [Stadnikov A.A., Chernova O.L., Kovbyk L.V., Shevlyuk N.N., Bukharin O.V. The role of hypothalamic nonapeptides in the interaction of pro- and eukaryotic cells // *Vestnik RAMS*. 2000. № 2. P. 49–52].
4. Стадников А.А., Бухарин О.В. Гипоталамическая нейросекреция и структурно-функциональный гомеостаз про- и эукариот (морфологические основы реактивности, пластичности, регенерации). Оренбург: Изд-во ОрГМА, 2012. 296 с. [Stadnikov A.A., Bukharin O.V. *Hypothalamic neurosecretion and structural and functional homeostasis of pro- and eukaryotes (morphological basis of reactivity, plasticity, regeneration)*. Orenburg: Publishing house OrgMA, 2012. 296 p.]
5. Ammons M.C., Copiñ V. Mini-review: Lactoferrin: a bioinspired, anti-biofilm therapeutic // *Biofouling*. 2013. Vol. 29, № 4. P. 443–455.
6. Muscedere J., Maslove D., Boyd J.G., O'Callaghan N., Lamontagne F., Reynolds S., Albert M., Hall R., McGolrick D., Jiang X., Day A.G. Prevention of nosocomial infections in critically ill patients with lactoferrin (PREVAIL study): study protocol for a randomized controlled trial // *Trials*. 2016. Vol. 17, № 1. P. 474.

ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *L. HELVETICUS* D75 И *L. HELVETICUS* D76 И ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ СИНТЕЗА БАКТЕРИОЦИНОВ

В.А. Торопов, О.Н. Шалаева, Е.К. Рощина, Т.Я. Вахитов, С.И. Ситкин
Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов,
Санкт-Петербург, Корпусная ул., д. 28, лит. А, e-mail: vtoropov.92@mail.ru

WHOLE-GENOME SEQUENCING OF PROBIOTIC BACTERIA *L. HELVETICUS* D75 AND *L. HELVETICUS* D76 AND DETECTION OF GENETIC CLUSTERS OF BACTERIOCINS SYNTHESIS

V.A. Toropov, O.N. Shalaeva, Ye.K. Roshchina, T.Ya. Vakhitov, S.I. Sitkin
State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Korpusnaya str., house 28,
letter A, e-mail: vtoropov.92@mail.ru

В медицинской практике для профилактики и лечения заболеваний ЖКТ применяется множество различных пробиотических препаратов. Наиболее эффективными являются препараты, созданные на основе симбиотических ассоциаций

пробиотических бактерий [1]. Для создания новых и улучшения уже существующих симбиотических бактериальных препаратов необходима информация об устройстве геномов, метаболизме и уровне экспрессии генов бактерий, входящих в их состав.

Для получения полных нуклеотидных последовательностей геномов пробиотических штаммов *Lactobacillus helveticus* D75 и *Lactobacillus helveticus* D76, входящих в состав симбиотического пробиотического комплекса Витафлор®, было проведено полногеномное секвенирование по технологии SMRT PacBio RS II (лаборатория Macrogen, Республика Корея). Сборка геномов *de novo* осуществлялась по методу HGAP (программа SMRT Portal v. 2.3.0) [2].

Библиотеки прочтений для исследуемых штаммов состоят из 92790 прочтений для штамма *L. helveticus* D75 и 77334 прочтений для штамма *L. helveticus* D76. Значение N50 для библиотек прочтений соответствует 23 981 паре оснований (п.о.) и 18 990 п.о. для штаммов *L. helveticus* D75 и D76 соответственно. Протяженность собранных геномов составляет 2053066 п.о. (покрытие прочтениями $\times 422,69$) для штамма *L. helveticus* D75 и 2058319 п.о. (покрытие прочтениями $\times 375$) для штамма *L. helveticus* D76. В составе генома *L. helveticus* D75 обнаружено 2092 гена: 317 псевдогенов, 1693 белок-кодирующих гена, 15 генов рРНК, 64 гена тРНК и 3 других гена РНК. В составе генома *L. helveticus* D76 обнаружено 2097 генов: 321 псевдоген, 1694 белок-кодирующих гена, 15 генов рРНК, 64 гена тРНК и 3 других гена РНК.

В геномах штаммов *L. helveticus* D75 и D76 обнаружено по 3 генетических блока CRISPR-кассет. Данные генетические структуры повышают устойчивость исследуемых штаммов к бактериофагам. Большое количество псевдогенов связано со значительной редукцией геномов штаммов *L. helveticus* D75 и D76 в результате активного использования в биотехнологическом производстве, включающем рост на богатых питательных средах.

В ходе генетического анализа методами биоинформатики проведена точная видовая классификация штаммов D75 и D76, позволяющая отнести их к виду *L. helveticus*, а не к виду *L. acidophilus* как считалось ранее. При помощи анализа средней нуклеотидной идентичности (ANI) осуществлена генетическая классификация геномов исследуемых штаммов в базе данных National Center for Biotechnology Information

(NCBI) с последующим подтверждением полученных результатов в программе JSpecies. Для программы JSpecies в качестве референсных штаммов были выбраны штаммы *L. helveticus* DPC4571, *L. helveticus* R0052, *L. helveticus* CNRZ 32, *L. helveticus* H9, *L. helveticus* H10, *L. helveticus* CAUH18, *L. acidophilus* NCFM, *L. acidophilus* La-14, *L. acidophilus* ATCC 4356, *L. acidophilus* 4796, *L. acidophilus* CFH, *L. acidophilus* FSI4 и *L. acidophilus* WG-LB-IV.

Ранее у штаммов *L. helveticus* D75 и D76 микробиологическими и биохимическими методами была обнаружена специфическая антагонистическая активность против патогенных штаммов бактерий [3]. В настоящей работе обнаружен каскад генов синтеза бактериоцина гельветицина J, вносящих существенный вклад в проявление данного пробиотического свойства у штаммов *L. helveticus* D75 и D76.

Методом ПЦР в реальном времени показан индуцибельный характер синтеза гельветицина J у исследуемых штаммов. При культивировании штаммов *L. helveticus* D75 и D76 добавление в среду роста модельной смеси карбоновых кислот, их солей и аминокислот (препарат Актофлор-С®) приводит к усилению их антагонистической активности против патогенных тест-культур *Escherichia coli* O75 и *Salmonella enteritidis* 209. Одновременно с усилением антагонизма наблюдается увеличение экспрессии генов, принимающих участие в синтезе бактериоцина гельветицина J.

В результате исследования были получены полные нуклеотидные последовательности замкнутых кольцевых геномов штаммов *L. helveticus* D75 и D76 (идентификационные номера в базе данных NCBI — CP020029.1 и CP016827.1 соответственно). Установлена точная видовая принадлежность исследуемых штаммов к виду *L. helveticus*. Выявлен индуцибельный характер синтеза бактериоцина гельветицина J у штаммов *L. helveticus* D75 и D76.

На основании полученных данных выдвинуто предположение о том, что филогенетическое расхождение между двумя близкородственными бактериальными штаммами *L. helveticus* D75 и D76 произошло сравнительно недавно.

Литература

1. Flesch A.G., Poziomyck A.K., Damin D.C. The therapeutic use of symbiotics // ABCD Arq. Bras. Cir. Dig. 2014. Vol. 27 (3). P. 206–209.
2. Chin C.S., Alexander D.H., Marks P., Klammer A.A., Drake J., Heiner C., Clum A., Copeland A., Huddleston J., Eichler E.E., Turner S.W., Korlach J. Nonhybrid, finished microbial genome assemblies from long-read SMRT sequencing data // Nat. Methods. 2013. Vol. 10 (6). P. 563–569. doi: 10.1038/nmeth.2474.
3. Вахитов Т.Я., Вербицкая Н.Б., Добролеж О.В., Полевая Е.В., Кобатов А.И. Влияние метаболитов пробиотических и патогенных бактерий на антагонистическую активность *Lactobacillus acidophilus* Д№75 // Научный журнал КубГАУ. 2013. № 92 (08). С. 1–19. URL: <http://ej.kubagro.ru/2013/08/pdf/22.pdf>. [Vakhitov T.Y., Verbitskaya N.B., Dobrolez O.V., Polevaya E.V., Kobatov A.I. The effect of probiotic and pathogenic bacteria metabolites on antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* D№75 // Nauchnyy zhurnal KubGAU. 2013. № 92 (08). P. 1–19.]

ЮБИЛЕИ

Поздравление наших друзей

АКАДЕМИК РАН НИКОЛАЙ АНАТОЛЬЕВИЧ МАЙСТРЕНКО (к 70-летию со дня рождения)



23 декабря 2017 г. исполняется 70 лет известному хирургу и ученому, заведующему кафедрой факультетской хирургии имени С.П.Федорова Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова полковнику медицинской службы запаса заслуженному врачу РФ доктору медицинских наук, профессору, академику РАН Николаю Анатольевичу Майстренко.

Николай Анатольевич родился 23 декабря 1947 г. в городе Чкалов (ныне Оренбург) в семье учителей. После окончания средней школы в 1967 г. Николай Анатольевич поступил в Оренбургский государственный медицинский институт и после четвертого курса в 1971 г. перевелся на Военно-медицинский факультет Куйбышевского государственного медицинского института, который окончил с отличием в 1973 г. Получив распределение в Группу советских войск в Германии (ГДР), в течение трех лет служил в должностях начальника медицинского пункта мотострелкового полка и старшего ординатора отдельного медицинского батальона.

В 1976–1978 гг. Николай Анатольевич обучался в клинической ординатуре при кафедре хирургии усовершенствования врачей № 1 имени П.А. Куп-

риянова Военно-медицинской академии под руководством академика АМН СССР А.П. Колесова. После окончания ординатуры назначен старшим ординатором, а в 1982 г. — помощником начальника этой же клиники. В 1985 г. Н.А. Майстренко защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Клинико-эндоскопическая характеристика больных с транспилорическим пролапсом». Необходимо подчеркнуть, что клиника имени П.А. Куприянова была хорошо известна не только в Советском Союзе, но и далеко за его пределами. Многопрофильность клиники с очень широким диапазоном практических и научных направлений создавала уникальные условия для быстрого становления и развития молодых хирургов и ученых. Николай Анатольевич в полной мере впитал в себя основополагающие принципы и положения школы П.А. Куприянова и А.П. Колесова по проблемам абдоминальной, торакальной и сердечно-сосудистой хирургии. Кроме того, преподавание хирургии слушателям факультета руководящего медицинского состава требовало высокого методического уровня, хирургической грамотности и личного мастерства.

В 1986 г. Н.А. Майстренко назначен на должность преподавателя, а в 1989 г. — старшего пре-

подавателя кафедры хирургии усовершенствования врачей № 1. В этом же году Николай Анатольевич перешел на кафедру факультетской хирургии Военно-медицинской академии, где через год (1990) стал заместителем начальника кафедры. После защиты в 1991 г. докторской диссертации «Отдаленные результаты ваготомии и диспансеризация военнослужащих СА и ВМФ» назначен главным хирургом Западной группы войск и убывает для дальнейшего прохождения службы в город Вюнсдорф (ФРГ).

Работа на этом очень ответственном посту требовала незаурядных способностей руководителя, организатора, хирурга, ученого и офицера. Порядок, уровень и качество хирургической помощи в нескольких десятках отдельных медицинских батальонов, отдельных медицинских отрядов и госпиталей, включая Главный госпиталь группы войск, во многом определялись личностью главного хирурга. Ярко раскрыв свои многочисленные способности, лучшие качества и талант, полковник медицинской службы Н.А. Майстренко с честью выполнил свой служебный долг и достойно завершил галерею главных хирургов и историю хирургической службы Советских войск в Германии.

В 1994 г. Николай Анатольевич был избран по конкурсу начальником кафедры абдоминальной (с 2005 г. вновь факультетской) хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. В этом же году получил почетное звание «Заслуженный врач РФ», а в 1995 г. — ученое звание профессора. За большой вклад в отечественную хирургическую науку и хирургическую эндокринологию Н.А. Майстренко в 2005 г. был избран членом-корреспондентом, а в декабре 2011 г. — академиком Российской академии медицинских наук, с 2014 г. — действительный член Российской академии наук.

Академик РАН Н.А. Майстренко является разносторонним хирургом и одним из ведущих ученых страны в области организации специализированной хирургической помощи в условиях мирного и военного времени. Под его руководством значительно расширился диапазон научных исследований, выполняемых не только в условиях клиники, но и совместно с целым рядом научно-исследовательских и лечебных учреждений Санкт-Петербурга. Основными направлениями научной деятельности являются:

- организация хирургической помощи больным гастроэнтерологического профиля;
- изучение результатов органосохраняющих операций и абдоминальной хирургии;
- внедрение новых диагностических и лечебных технологий в хирургическую эндокринологию;
- хирургическое лечение хронического панкреатита;
- исследования в области патофизиологии пищеварительного тракта;
- изучение искусственного питания больных, находящихся в критическом состоянии;
- исследования в области герниологии, посвященные новым технологиям в лечении пациентов с наружными грыжами живота.

Академик Н.А. Майстренко — автор и соавтор более 600 научных работ, в том числе 20

монографий и руководств. Под его руководством защищено 11 докторских и 19 кандидатских диссертаций. По различным разделам эндокринной и абдоминальной хирургии издано 18 учебно-методических пособий, практикумов и лекций.

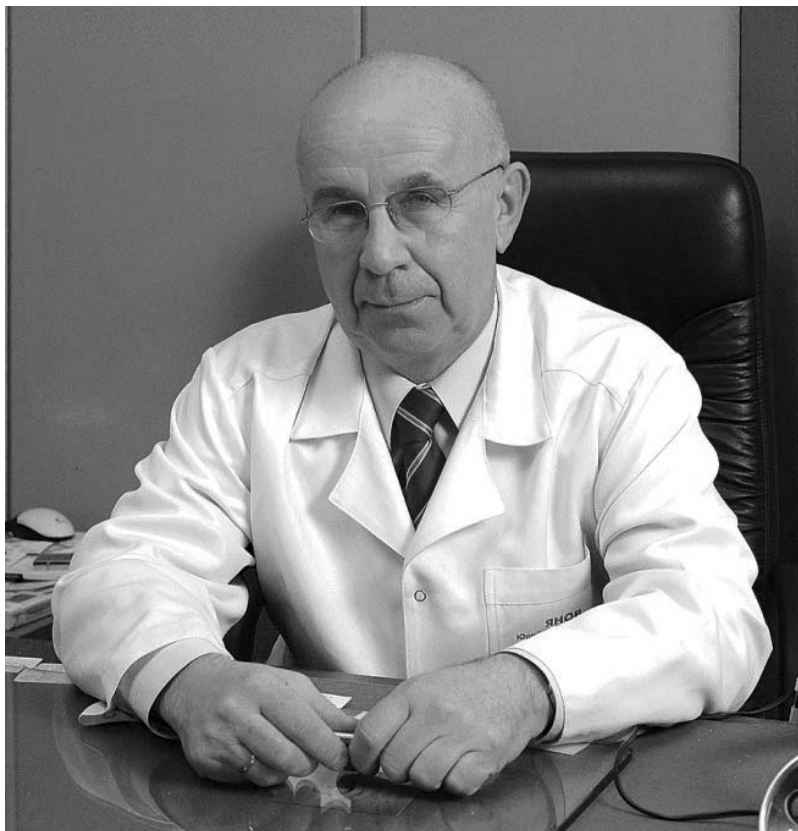
Он является членом Ученого и диссертационного советов Военно-медицинской академии и Российского научного центра радиологии и хирургических технологий федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, членом Президиума Российского медицинского общества и Правления обществ эндокринологов, эндоскопических хирургов, хирургов-гепатологов, ассоциации хирургов Санкт-Петербурга, членом Международной ассоциации хирургов, Европейской ассоциации эндоскопических хирургов, экспертом Российской академии наук и др. Входит в состав редколлегии и редсоветов ряда научных журналов: «Вестник хирургии имени И.И. Грекова», «Медицинский академический журнал», «Вестник Военно-медицинской академии», «Клиническая патофизиология», и др.

Н.А. Майстренко избран академиком Военно-медицинской академии, Академии военных наук, Академии медико-технических наук, Петровской академии наук и искусств. Николай Анатольевич является Почетным академиком Академии медицинских наук Беларуси, Почетным профессором Республиканского специализированного центра хирургии имени академика В. Вахидова, Почетным доктором Военно-медицинской академии, Почетным председателем Хирургического общества Пирогова. Является Лауреатом национальной премии лучшим врачам России «Призвание» и премии Правительства РФ. Награжден орденом Почета, орденом Пирогова, почетным знаком РАЕН «За заслуги» (1 степени) за личный вклад в отечественную хирургию, грамотой комитета Совета Федерации по обороне и безопасности за выдающийся вклад в развитие фундаментальной медицины, подготовку научных и педагогических кадров, верность боевым и войсковым традициям, а также награжден многими другими медалями и знаками отличия.

Николай Анатольевич Майстренко представляет собой пример того, как яркий ум, устремленность, трудолюбие и дисциплинированность обеспечивают достижение самых высоких целей, а любовь к медицине, лояльность к людям и доброта гарантируют большой человеческий и профессиональный успех в жизни. Николай Анатольевич пользуется большой любовью, глубоким уважением и высоким авторитетом коллектива кафедры и клиники, ВМА, хирургического и академического сообщества. Они сердечно поздравляют юбиляра и желают ему крепкого здоровья, личного счастья, крупных успехов в хирургической и научной деятельности на благо здоровья граждан России.

*П.Н. Ромащенко, Ал.А. Курьин,
В.С. Довганюк, В.В. Семенов,
Академическое сообщество России,
Ассоциация хирургов,
Редколлегия «Медицинского академического
журнала», «Вестника хирургии»,
коллеги и друзья*

АКАДЕМИК РАН ЮРИЙ КОНСТАНТИНОВИЧ ЯНОВ (к 70-летию со дня рождения)



18 декабря исполнилось 70 лет замечательному ученому, выдающемуся оториноларингологу, крупному организатору науки, заслуженному врачу РФ академику РАН Ю.К. Янову. Юрий Константинович родился 18 декабря 1947 г. в Оренбурге. В 1966 г. после окончания средней школы поступил в Военно-медицинскую академию, которую окончил в 1972 г., и до 1975 г. проходил службу в ракетных войсках стратегического назначения на должности начальника полкового медицинского пункта. В 1975 г. Ю.К. Янов зачислен в адъюнктуру на кафедру оториноларингологии Военно-медицинской академии. В 1979 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Влияние вестибулярных и оптокинетиических раздражителей на некоторые психофизиологические функции оператора».

С 1984 по 1985 г. Ю.К. Янов был направлен в зону боевых действий в Афганистане начальником оториноларингологического отделения центрального военного госпиталя. За успешную деятельность в боевых условиях был награжден именным боевым оружием, орденами и медалями.

По возвращении из Афганистана Ю.К. Янов возобновил работу на кафедре оториноларингологии академии в качестве преподавателя. В 1990 г.

он стал заместителем начальника кафедры, в 1991 г. ему присвоено ученое звание доцента. В 1995 г. Ю.К. Янов назначен на должность заместителя начальника Военно-медицинской академии по клинической работе. В 1997 г. указом Президента РФ ему присвоено воинское звание генерал-лейтенанта медицинской службы.

В 1996 г. Ю.К. Янову вручен диплом за научное открытие «Закономерность взаимодействия зрительной и вестибулярной афферентации при организации поисковых и следящих движений глаз и формировании зрительных ощущений». В 1997 г. Ю.К. Янов защитил докторскую диссертацию на тему «Патогенетические механизмы сенсорных и вегетативных реакций при раздражении вестибулярного рецептора», в 1998 г. получил ученое звание профессора.

После увольнения в 2000 г. из рядов Вооруженных Сил Ю.К. Янов назначен директором головного в России Санкт-Петербургского НИИ уха, горла, носа и речи Минздрава РФ. В 2001 г. он по совместительству возглавил кафедру высоких технологий в оториноларингологии СПб МАПО. За 17 лет руководства институтом Ю.К. Яновым подготовлена известная в стране школа оториноларингологов. Под его руковод-

ством защищено 18 докторских и 36 кандидатских диссертаций по оториноларингологии. Подготовленные им отохирурги работают в различных регионах России. С именем Ю.К. Янова связано широкомасштабное внедрение метода кохлеарной имплантации в клиническую практику. Если в 1990-х годах в России осуществлялись лишь единичные операции кохлеарной имплантации с участием приглашаемых зарубежных специалистов, то в настоящее время только в НИИ ЛОР производится более 500 таких операций в год. По количеству кохлеарных имплантаций СПб НИИ ЛОР занимает первое место в мире и входит в число 10 ведущих мировых центров, работающих по проблеме патологии слуха. Впервые в России под руководством Ю.К. Янова разработаны и осуществлены операции стволомозговой имплантации, разработана уникальная система реабилитации больных после кохлеарной имплантации, впервые внедрена дистанционная система настройки речевых процессоров у больных, проживающих в различных регионах России.

Не случайно именно под руководством Ю.К. Янова с 2012 г. каждые два года проводятся международные конгрессы по кохлеарной имплантации. Ю.К. Янову принадлежит инициатива проведения (в 2015 и 2017 гг.) всероссийских концертов «Волшебная симфония» в Санкт-Петербургской капелле, в которых исполнителями были его пациенты после кохлеарной имплантации. Помимо проблем сурдологии, вестибулологии и отиатрии, под руководством Ю.К. Янова в СПб НИИ ЛОР развиваются и другие фундаментальные и прикладные направления оториноларингологии. С 2001 по 2011 г. Ю.К. Янов по совместительству руководил кафедрой оториноларингологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, в настоящее время он остается профессором этой кафедры.

Юрий Константинович является автором более 400 научных работ, в том числе нескольких монографий, руководств, учебников, а также научным редактором многих переводных изданий.

В 2001 г. Ю.К. Янов основал журнал «Российская оториноларингология» и является его главным редактором. Академик Ю.К. Янов является членом редакционных коллегий и редакционных советов ряда отечественных и зарубежных научных журналов. С 2001 г. в течение многих лет он возглавлял межведомственную комиссию РАМН и Минздрава РФ по оториноларингологии.

Огромная научно-клиническая и организационная работа Ю.К. Янова обеспечила признание его заслуг научным сообществом: в 2011 г. он избран членом-корреспондентом РАМН, а в 2016 г. — действительным членом РАН по отделению медицинских наук, в котором он курирует направление «оториноларингология».

С 2001 по 2010 г. Ю.К. Янов являлся главным внештатным оториноларингологом Минздрава РФ, а с 2003 по 2016 г. — главным оториноларингологом Комитета по здравоохранению Санкт-Петербурга.

Признание профессиональным сообществом и высокий авторитет Ю.К. Янова проявились в полной мере на XVI съезде оториноларингологов России в 2001 г., где он был единогласно избран Президентом Российского общества оториноларингологов и сохранял этот пост на трех последующих съездах оториноларингологов России до 2016 г. После преобразования Российского общества оториноларингологов в Национальную медицинскую ассоциацию оториноларингологов России именно Ю.К. Янов избран Президентом этой ассоциации.

Ю.К. Янов удостоен многих государственных наград, в том числе орденами «За службу Родине» (1985 г.), «За военные заслуги» (2000 г.), орденом «Почета» (2008 г.), медалями СССР и РФ; в 1995 году ему присвоено почетное звание «Заслуженный врач Российской Федерации».

Юрию Константиновичу присущи высокие и добрые человеческие качества: честь, достоинство, смелость и ответственность, а вместе с ними — доброжелательность, отзывчивость, щедрость и человеколюбие. Он прекрасно образован, остроумен, замечательный рассказчик и яркий полемист, одним словом, светлый человек. В службе, в работе и просто в обычном общении с Юрием Константиновичем надежно, спокойно и тепло.

Редколлегия «Медицинского академического журнала» и его читатели, а также медицинское академическое сообщество, друзья, ученики, коллеги от всей души поздравляют Юрия Константиновича Янова с замечательным юбилеем и желают ему отменного здоровья, новых творческих успехов, дальнейшего роста и развития его научной школы, процветания руководимого им института.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

1. Статьи для публикации должны быть написаны на русском языке, иметь реферат (резюме), ключевые слова (3–4) на русском и английском языках.
2. Статьи представляются в редакцию на электронных и бумажных носителях. Если у автора есть затруднения с пересылкой статьи по почте, предоставление материала возможно в электронном виде. Все страницы должны быть пронумерованы от первой до последней страницы, без пропусков и литерных добавлений (например, 2а и т. п.).
3. Объем статьи не должен превышать:
 - 3.1. Передовая статья, обзор, лекция — 25 страниц;
 - 3.2. Оригинальная статья — 15 страниц;
 - 3.3. Рекомендации для врачей — 5 страниц;
 - 3.4. Рецензии, информация, хроника — 3 страницы.
4. Статья должна иметь следующие разделы.
 - 4.1. Титульный лист — указываются название статьи, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, город на русском и английском языках. Титульный лист должен быть подписан всеми авторами.
 - 4.2. Резюме — до 1500 знаков, отражает цель, основные методы исследований, важнейшие результаты.
 - 4.3. Основной текст должен включать в себя следующие разделы, расположенные в установленном порядке:
 - 4.3.1. Введение;
 - 4.3.2. Материалы и методы исследования — обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала;
 - 4.3.3. Результаты и их обсуждение;
 - 4.3.4. Выводы;
 - 4.3.5. Литература не более 25 источников для оригинальной статьи и 75 для обзора.
5. Каждая таблица должна иметь номер и название. Рисунки, графики, схемы должны быть черно-белыми с различной штриховкой, выполнены в электронном (отдельными файлами с сохранением возможности редактирования) и бумажном вариантах отдельно от текста, а также иметь подрисночные подписи без сокращений и дублироваться в тексте. При включении в публикацию растровой графики (сканированных, цифровых снимков, снимков с экрана мониторов и т. п.) предпочтение отдается рисункам с размером меньшей стороны не менее 5 см (640 пикселей), в форматах pdf, tiff, jpeg (максимальное качество).
6. Библиографический список.
 - 6.1. Библиографические описания источников располагают в порядке упоминания их в тексте статьи и нумеруют арабскими цифрами.
 - 6.2. В лекции можно давать список рекомендуемой литературы, и тогда в тексте ссылаться на источники не обязательно.
 - 6.3. Библиографический список оформляют в соответствии с действующим ГОСТом, указываются все авторы цитируемых работ.
 - 6.4. Ссылки на цитируемые работы в тексте дают в виде порядковых номеров, заключенных в квадратные скобки. Не следует включать в список литературы диссертации.
- 6.5. Примеры:
 1. *Ткаченко Б. И.* Физиология человека. — СПб.: Наука, 2000. — 400 с.
 2. *Шабанов П. Д.* Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. — 2001. — Т. I, № 1. — С. 27–35.
 3. *Лебедев А. А.* Поведенческие эффекты алаптида у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е. С. Петрова. — СПб.: Питер, 2000. — С. 56–78.
7. Данные об авторах статьи должны включать следующие сведения: фамилия, имя, отчество, место работы с указанием города и страны, адрес для переписки и номер телефона для связи, e-mail.
8. Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и др.), названия лекарственных средств — Государственной Фармакопее, единицы физических величин — системе единиц СИ.
9. Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, статья возвращается на доработку. Датой поступления статьи считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи.
10. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление, издание, распространение и доведение до всеобщего сведения публикаций, а также включение журнала в различные базы данных и информационные системы. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.
11. Редакция высылает авторам 1 копию журнала, в котором опубликована статья.
12. Редакция не выплачивает гонорара за статьи и не взимает плату за опубликование рукописей.
13. Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей, статей, содержащих коммерческую информацию по профилю журнала с указанием «Публикуется на правах рекламы». Размещение рекламы в журнале платное. Объем помещения рекламной информации в журнале ограничен.
14. Материалы следует направлять ответственному секретарю Александру Валентиновичу Дмитриеву. Адрес: Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский пр., д. 71, СЗО РАМН, электронная почта: medicalacademicjournal@gmail.com, admitriev10@yandex.ru.

Мы рады всем Вашим статьям, представленным в наш журнал!

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов опубликованных материалов.

Редакция не несет ответственности за последствия, связанные с неправильным использованием информации.

Медицинский академический журнал

Свидетельство о регистрации: ПИ № 2-4952 от 27.12.2017 г.

Редактор: Т. В. Руксина

Верстка: Е.Ю. Паллей

Подписано в печать 27.12.2017 г. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 9,3. Тираж 1000 экз. Отпечатано в типографии: ООО "ИПКНП Принт", 190020, Санкт-Петербург, Измайловский пр., д. 29.