

АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Орлов О.И., д.м.н., член-корреспондент РАН

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ардашев В.Н., д.м.н., профессор
Баранов В.М., д.м.н., профессор, академик РАН
Буравкова Л.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Бухтияров И.В., д.м.н., профессор
Виноградова О.Л., д.м.н., профессор
Дьяченко А.И., д.т.н., профессор
Иванов И.В., д.м.н., профессор
Ильин Е.А., д.м.н., профессор – заместитель главного редактора
Котов О.В., к.м.н.
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор
Носков В.Б., д.м.н.
Синяк Ю.Е., к.х.н., д.т.н., профессор
Сорокин О.Г., к.м.н.
Суворов А.В., д.м.н., профессор
Усов В.М., д.м.н., профессор
Хоменко М.Н., д.м.н., профессор
Mukai Ch., M.D., Ph.D. (Japan)
Sutton J., M.D., Ph.D. (USA)
Suchet L.G., Ph.D. (France)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Григорьев А.И., д.м.н., профессор, академик РАН – **председатель**
Благинин А.А., д.м.н., д.психол.н., профессор
Гальченко В.Ф., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Жданько И.М., д.м.н.
Козловская И.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Котовская А.Р., д.м.н., профессор
Никольский Е.Е., д.м.н., профессор, академик РАН
Островский М.А., д.б.н., профессор, академик РАН
Розанов А.Ю., д.г.-м.н., профессор, академик РАН
Рубин А.Б., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Залуцкий И.В., д.б.н., профессор, член-корреспондент НАНБ (Беларусь)
Крышталь О.А., д.б.н., профессор, академик НАНУ (Украина)
Макашев Е.К., д.б.н., профессор, член-корреспондент АН РК (Казахстан)
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)
Gharib C., Ph.D., professor (France)
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1967 ГОДУ

С 1967 по 1974 г. назывался «Космическая биология и медицина»,
с 1974 по 1991 г. – «Космическая биология и авиакосмическая медицина»,
с 1991 г. по настоящее время – «Авиакосмическая и экологическая медицина»

ВХОДИТ В ПЕРЕЧЕНЬ ВЕДУЩИХ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ЖУРНАЛОВ
ВЫСШЕЙ АТТЕСТАЦИОННОЙ КОМИССИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Институт медико-биологических проблем
Российской академии наук»

**Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати 28.02.1995,
рег. № 01072, лицензия ИД № 05859 от 18.09.2001 г.**

© Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, 2016
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2016

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя
All rights reserved. Articles and information contained in this publication may not be reproduced
in any form or translated without the written of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованных в журнале, доступны в базе данных РИНЦ
(www.elibrary.ru) и на сайте журнала journal.imbp.ru**

Выпускающий редактор О.Г. Сорокин
Редакторы: С.О. Николаев, С.М. Плаксина
Корректор М.Е. Козлова
Перевод Л.М. Смирновой
Компьютерная верстка Е.В. Рзаевой

Адрес: 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 76а, метро «Полежаевская»,
Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН
(редакция) тел.: 8 (499) 195-68-74, факс: 8 (499) 195-22-53, эл. почта: library@imbp.ru
(отв. секретарь) тел.: 8 (499) 195-65-12, эл. почта: arhiv@imbp.ru

Сдано в набор 28.07.2016.
Подписано в печать 09.08.2016.
Формат 60 × 84 1/8.
Гарнитура Times.
Печать офсетная.
Усл. печ. л. 8,83.
Тираж 250 экз.
Заказ № 187.

Отпечатано в типографии ООО ИПЦ «Научная книга».
Адрес: 394030, г. Воронеж, Московский пр-т, д. 116.

Содержание

Contents

Обзоры

Reviews

Салтыкова М.М. Физиологические механизмы адаптации к холоду 5

Saltykova M.M. Physiological mechanisms of adaptation to cold

Экспериментальные и общетеоретические исследования

Experimental and Theoretical Investigations

Ковалева А.А., Скедина М.А., Потапов М.Г. 14
Нейрофизиологическое состояние человека в условиях длительной изоляции

Kovaleva A.A., Skedina M.A., Potapov M.G. Neurophysiological state of humans in long-duration isolation

Пастушкова Л.Х., Каширина Д.Н., Кононихин А.С., Стародубцева Н.Л., Доброхотов И.В., Тийс Е.С., Иванисенко В.А., Ларина И.М. 21
Протеомный анализ мочи при контролируемом солепотреблении в проекте «Марс-500»

Pastushkova L.Kh., Kashirina D.N., Kononikhin A.S., Starodubtseva N.L., Dobrokhoto I.V., Tiys E.S., Ivanisenko V.A., Larina I.M. Proteomic analysis of urine under controlled salt intake in project «Mars-500»

Куприянова М.С., Усик М.А., Огнева И.В. 27
Содержание цитоскелетных белков в ооцитах третьего поколения плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, полученных после 44,5-суточного космического полета

*Kupriyanova M.S., Usik M.A., Ogneva I.V. Content of cytoskeleton proteins in oocytes of third generation *Drosophila melanogaster* fruit flies obtained after a 44,5-day space flight*

Коновалова И.О., Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Смолянина С.О., Яковлева О.С., Знаменский А.И., Тараканов И.Г., Радченко С.Г., Лапач С.Н. 35
Обоснование оптимальных режимов освещения растений для космической оранжереи «Витацикл-Т»

Konovalova I.O., Berkovich Yu.A., Erokhin A.N., Smolyanina S.O., Yakovleva O.S., Znamensky A.I., Tarakanov I.G., Radchenko S.G., Lapach S.N. Substantiation of optimal lighting regimes for plants in space greenhouse «Vitacycle-T»

Николаев В.П., Комаревцев В.Н. 42
Специфика образования и роста газовых пузырьков в тканях при декомпрессии после насыщенных погружений

Nikolaev V.P., Komarevtsev V.N. Specifics of gas bubble formation and growth in tissues during decompression after saturation dives

Дешевая Е.А., Новикова Н.Д., Шубралова Е.В., Поликарпов А.Н., Краснов Н.А. 48
Очистка поверхностей металлов от микроорганизмов-биодеструкторов при совместном действии излучателя ультразвука «Паскаль» и установки обеззараживания воздуха «Поток»

Deshevaya E.A., Novikova N.D., Shubralova E.V., Polikarpov A.N., Krasnov N.A. Cleaning of metal surfaces from microorganisms-biodestructors by combined use of ultrasound generator «Pascal» and air decontamination unit «Potok»

Клинические исследования

Clinical Investigations

Васин А.Л., Шафиркин А.В., Сасонко М.Л. 54
Метод анализа напряжения регуляции сердечного ритма с помощью обобщенного логарифмического показателя при холтеровском мониторинге электрокардиограммы

Vasin A.L., Shafirkin A.V., Sasonko M.L. Method for analysis of heart rate regulation strain by application of the overall logarithmic index to the Holter electrocardiogram monitoring

Методики

Methods

Климарев С.И., Синяк Ю.Е. Комбинированное СВЧ-устройство для обеззараживания воды в потоке 63

Klimarev S.I., Sinyak Yu.E. Combined ultra-high frequency unit for in-stream water purification

Лекции

Lectures

Ушаков И.Б. Космическая медицина и биология: сегодня и завтра 67

Ushakov I.B. Space medicine and biology: today and tomorrow

ОБЗОРЫ

УДК 612.014.43+612.017.2

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

Салтыкова М.М.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
E-mail: marinams2002@mail.ru

Представлен обзор литературы, посвященный адаптации человека к холоду и использованию криосауны для восстановительных и лечебных процедур. Проанализированы основные физиологические механизмы адаптации к холоду. Показано, что при адаптации к условиям полярных широт высок риск развития заболеваний, прежде всего сердечно-сосудистой и дыхательной систем, а также и периферической нервной системы. Вместе с тем холодовое воздействие рассматривается многими исследователями как перспективный метод борьбы с ожирением и лечения метаболического синдрома. Показаны возможности криосауны как экспериментальной модели для изучения влияния холода на организм человека, разработки методик адаптации к холоду и оценки адаптационных резервов организма.

Ключевые слова: адаптация к холоду, адаптация к условиям полярных широт, механизмы адаптации к холоду, воздушная криосауна.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 5–13.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-5-13

Адаптация к холоду и освоение Арктики

Комплексное изучение адаптивных физиологических процессов и оценка резервных возможностей организма при адаптации к холоду особенно актуальны в связи с интенсивным освоением Арктики и усилением миграции туда населения из районов, существенно отличающихся по климатическим параметрам. По мнению большинства исследователей, холод является одним из основных стрессирующих факторов в условиях полярных широт [1–3]. Начальный период адаптации к суровым условиям Крайнего Севера продолжается в среднем до года и проявляется дестабилизацией многих физиологических параметров. Напряженная адаптация к холоду характеризуется тем, что формирование системного структурного следа в одних органах может сопровождаться прямыми структурными повреждениями в других [4].

Наиболее высок риск развития у мигрантов сердечно-сосудистых заболеваний [1–3, 5, 6]. У людей, мигрировавших на Север, отмечается нарастание изменений биохимических показателей крови

атерогенного характера и повышение проницаемости сосудов. В крови увеличивается содержание триглицеридов, свободных жирных кислот, липопротеинов низкой и очень низкой плотности. Обследование группы практически здоровых лиц, прибывших в Норильск из Новосибирска, выявило возрастание содержания в крови свободных жирных кислот уже в 1-ю неделю на 40 %, холестерина через 2 нед – на 60 %, кроме того, возрастало содержание липопротеинов низкой и очень низкой плотности [5]. Помимо усиления липидного обмена («полярный метаболический тип» [3]), у мигрантов выявляется повышение уровня тиреоидных гормонов в крови [7, 8], увеличение толерантности к гепарину [5].

Таким образом, адаптация к непрерывному действию холода оказывается фактором, потенцирующим развитие атеросклероза.

При этом среди коренного населения Севера атеросклероз и ишемическая болезнь сердца встречаются относительно редко [9]. Хотя для аборигенных популяций Аляски, Канады, Гренландии и Севера России, проживающих в сопоставимых климатических условиях, характерен высокий уровень липидного обмена, увеличение содержания липопротеинов очень низкой и низкой плотности у них сопровождается повышением уровня липопротеинов высокой плотности и снижением индекса атерогенности [3, 10, 11].

Большинство исследователей отмечают у людей, переселившихся на Север, повышение артериального кровяного давления [1–3, 6, 12]. По данным Е.В. Агбаляна и соавт. [6], артериальная гипертония встречается практически у половины переехавших в условия Арктики, что согласуется с более ранними данными Л.Н. Образцова [12], отмечавшего, что у военнослужащих в Заполярье заболеваемость органов кровообращения в 2–3 раза выше, чем в умеренном климатическом поясе. При этом у большинства аборигенов Севера в течение всей жизни сохраняется низкое АД [9]. При анализе геномов коренных народов Севера было показано, что гены, задействованные в процессах адаптации, – это гены, которые вовлечены главным образом в

регуляцию энергии и метаболизма (*CPT1A*, *LRP5*, *THADA*), а также в процесс сокращения гладкой мускулатуры сосудов (*PRKG1*) [13].

Помимо сердечно-сосудистых заболеваний, у людей, поселившихся в полярных широтах, выявлено нарушение нервно-мышечной иннервации, связанное со снижением проводящих свойств сенсорных и моторных волокон, широкое распространение феномена Рейно, который считается одним из специфических проявлений непереносимости холода, крапивницы, миалгий, артралгий [14].

Характерной особенностью процесса адаптации к экстремальным условиям Крайнего Севера являются морфологические и функциональные изменения органов дыхания, которые часто сопровождаются одышкой [1, 2, 9, 15], получившей название полярной. А.П. Авцын и соавт. [15] установили, что в период начальной адаптации к холоду происходит наращивание функциональных резервов за счет дополнительного раскрытия альвеол в верхних и средних зонах легких. Однако при более длительном пребывании на Севере увеличение площади газообмена осуществляется за счет морфологических изменений: увеличения размеров альвеол, количества, диаметра и объема капилляров, выходящих в просвет альвеол. При этом давление крови в малом круге кровообращения значительно превышает нормальную величину.

В.П. Казначеевым и соавт. в 1980 г. описан «синдром полярного напряжения» [1], основой которого являются метаболические сдвиги, характеризующиеся возрастанием перекисного окисления липидов и токсического действия свободных радикалов на мембранные структуры клеток на фоне истощения защитной системы антиоксидантов.

Многие исследователи отмечают, что на Севере теплопродукция выше и это приводит к снижению коэффициента полезного действия (КПД) физической работы [1–3, 16–18]. Было показано, что КПД физической работы на открытом воздухе в условиях Крайнего Севера на 15–25 % ниже, чем в средних широтах [17]. У строителей в Заполярье отмечено увеличение теплообмена и в покое, и при работе, особенно зимой [18].

В связи с высоким риском развития у мигрантов отрицательных последствий при срочной напряженной адаптации к холоду необходима разработка методик отбора и предварительной (опережающей) адаптации к холоду людей, проживающих в умеренном климате, но готовящихся работать в Арктике постоянно или в экспедиционном режиме. По данным группы исследователей под руководством В.И. Хаснулина [19, 20], около 40 % приезжающих в полярные широты людей могут сохранять свое здоровье на Севере не более 3–7 лет. Использование опережающей адаптации может позволить, с одной стороны, разработать методики отбора лиц с

наибольшим адаптационным потенциалом, а с другой – уменьшить напряженность адаптации к арктическим условиям при переезде на Север и таким образом снизить риск развития заболеваний, связанных с перестройками метаболизма.

Адаптация к холоду и борьба с ожирением

В последние годы активно изучается возможность использования холодового воздействия для лечения ожирения и метаболического синдрома – пандемии XXI в. [21]. Поскольку адаптация организма человека к холоду приводит к усилению липидного обмена и большему рассеянию энергии в виде тепла, многими исследователями именно эти свойства рассматриваются как потенциальные механизмы, обеспечивающие уменьшение накопления избыточного количества энергетических субстратов в виде жира без изменения диеты и уровня физической активности [21, 22].

Основные механизмы адаптации к холоду

Известно, что холод, являясь одним из основных адаптогенных факторов окружающей среды, может запускать приспособительные реакции даже после однократного кратковременного холодового воздействия, при этом изменения, как правило, затрагивают весь организм. Возбуждение кожных холодовых рецепторов активирует центры терморегуляции, которые расположены в гипоталамусе. Паттерн импульсов, индуцируемых в ответ на охлаждение, зависит от скорости охлаждения: выделяют статическую (медленное охлаждение) и динамическую (быстрое охлаждение) реакцию холодовых рецепторов [4, 22–26]. Целью физиологических изменений, запускаемых при адаптации к холоду, является увеличение теплопродукции и снижение потерь тепла.

Снижение теплопотерь у человека осуществляется, во-первых, за счет вазоконстрикции кожных сосудов [4, 23, 24, 26]. Сосудистые изменения, возникающие у человека в ответ на охлаждение, увеличивают его теплоизоляцию на 0,5–0,65 clo (1 clo = 0,18 °C/ккал/м²·ч) [23]. Однако это слабая защита, так как у обнаженного человека уже при температуре кожи 26–27 °C сосуды максимально сужены и, следовательно, их терморегуляторный эффект уже исчерпан [26]. Таким образом, предел компенсации действия холода за счет теплоизоляционных свойств тканей самого тела достигается очень быстро, ввиду того, что вся область физиологических колебаний у человека лежит между 0,15 clo (при полном расширении сосудов) и 0,8–0,9 clo (при полном сужении) [23]. Другим фактором, обеспечивающим снижение теплопотерь при адаптации человека к холоду, является уменьшение частоты дыхания и объема легочной вентиляции при повышении утилизации кислорода из

вдыхаемого воздуха [15, 25]. Уменьшение частоты дыхания сопровождается увеличением продолжительности выдоха, что обеспечивает более длительный контакт теплого влажного альвеолярного воздуха с охлажденной при вдохе слизистой верхних дыхательных путей и способствует более эффективному возврату тепла и влаги, затраченных на кондиционирование воздуха. Кроме того, у лиц, адаптированных к полярным широтам, увеличены просветы мелких бронхов и бронхиол, а также альвеолярная поверхность и количество сурфактанта на поверхности альвеол, что способствует улучшению диффузии кислорода [25].

Как известно, увеличение теплопродукции может осуществляться 3 основными способами: 1) гидролиз АТФ; 2) рассеяние протонного потенциала; 3) окисление субстратов системами, не образующими ни АТФ, ни протонный потенциал [28].

Главными производителями дополнительной теплопродукции являются мышцы и бурый жир. Однако у человека (в отличие от лабораторных грызунов – наиболее распространенного объекта при изучении терморегуляции) вклад несократительного термогенеза за счет бурой жировой ткани (БЖТ) невелик вследствие относительно небольшого ее количества [16, 24, 26], поэтому основным источником регулируемого теплообразования исходно и после холодовой адаптации организма является мышечная система. Существуют 3 механизма повышения теплопродукции мышечной системой [26]. Первый – терморегуляторный мышечный тонус. Он представляет собой нерегулярные частые сокращения отдельных пучков мышечных волокон внешне покоящихся скелетных мышц. Обычно в его создании участвуют мышцы головы и шеи. На электромиограмме это выглядит как непрерывная последовательность биопотенциалов от 10 до 50 мкВ. Этот тип мышечной активности увеличивает теплопродукцию целого организма на 15–50 %, всегда приводит к увеличению потребления кислорода и не сопровождается увеличением периферического кровотока, что позволяет избежать потерь сгенерированного тепла. Если охлаждение усиливается, терморегуляторный тонус превращается в холодовую дрожь (2-й механизм), которая повышает производство тепла в организме на 200–250 %, сопровождается увеличением периферического кровотока, вследствие чего у человека теряется до 50 % дополнительно произведенного тепла, поскольку существенно ухудшаются теплоизоляционные свойства поверхностных тканей. Обычно дрожь вначале возникает в мышцах головы и шеи, затем – туловища и, наконец, конечностей. И 3-й механизм – произвольные мышечные сокращения, которые сопровождаются значительным увеличением кровотока и как следствие относительно низкой терморегуляционной эффективностью [26].

Установлено, что не только разные группы мышц, но и разные волокна внутри одной мышцы существенно различаются по терморегуляционному эффекту. Он наибольший в мышцах головы и шеи, которые первыми вовлекаются в термогенез. Красные мышцы (мышцы, в которых большинство волокон окислительные) принимают наиболее активное участие в теплообразовании [24].

При адаптации организма к холоду изменяется энергетика мышечных сокращений за счет уменьшения сопряженности окисления и фосфорилирования [24–26, 28–30]. Увеличивается теплопродукция внутренних органов (прежде всего печени) [7]. Наиболее изучены механизмы длительной адаптации к холоду, которая сопровождается усилением субстратного и ферментативного обеспечения окислительных реакций, увеличением их скорости, ростом митохондрий в мышцах и печени, уменьшением сопряженности окисления и фосфорилирования, что и обеспечивает большее теплообразование. Как показали многочисленные исследования БЖТ, уменьшение сопряжения окисления и фосфорилирования обеспечивается за счет увеличения синтеза разобщающего белка термогенина (UCP-1) [20, 28, 30], который локализован на внутренней мембране митохондрий адипоцитов БЖТ и выполняет функцию переносчика ионов. В процессе передачи электронов по дыхательной цепи и переноса протонов из внутреннего пространства митохондрий в межмембранный митохондриальный матрикс на внутренней мембране митохондрий формируется электрохимический градиент, являющийся главным источником энергии, которая используется АТФ-синтазой, также локализованной на внутренней мембране митохондрий, для синтеза АТФ из АДФ и фосфата. Понижая величину протонного градиента, термогенин ускоряет дыхание, но снижает энергетическое обеспечение синтеза АТФ, уменьшая таким образом продукцию АТФ, но увеличивая рассеяние в виде тепла энергии, аккумулированной в протонном потенциале. Кроме термогенина у человека были найдены 4 гомолога этого белка: UCP2–UCP5. Однако пока не удалось найти зависимость между синтезом какого-либо из этих белков и адаптацией к холоду; предполагают, что основное назначение этих белков – контролируемое уменьшение продукции активных форм кислорода [22, 31].

В настоящее время широко известны данные В.П. Скулачева и соавт. [28], а также других авторов о терморегуляционном разобщении окисления и фосфорилирования в митохондриях скелетных мышц [30]. По их мнению, наиболее значимым фактором, повышающим протонную проводимость и соответственно разобщающим окисление и фосфорилирование, а следовательно, увеличивающим рассеяние энергии в виде тепла, в мышцах, как и в других тканях, помимо бурого жира, является возрастание

при охлаждении концентрации свободных жирных кислот. На внешней поверхности внутренней митохондриальной мембраны анион жирная кислота присоединяет протон, который был откачан туда из матрикса митохондрии ферментами дыхательной цепи; модифицированная (протонированная) ЖК (RCOOH) проходит сквозь внутреннюю мембрану и диссоциирует на ее внутренней поверхности на протон (H^+) и анион ЖК (RCOO^-). При этом уменьшается протонный градиент и выделяется тепло. А анион жирной кислоты возвращается в межмембранное пространство через АТФ/АДФ-антипортер [28, 32]. При остром холодовом воздействии наибольшая терморегуляционная лабильность сопряжения (способность к быстрому разобщению окисления и фосфорилирования) выявлена в митохондриях мышц; в митохондриях БЖТ и особенно печени она существенно меньше [30].

При охлаждении увеличение притока нервных импульсов от холодových рецепторов кожи в гипоталамус индуцирует высвобождение норадреналина из нервных окончаний, а также рост его концентрации в крови за счет увеличения секреции надпочечниками. Норадреналин активирует гормонзависимую липазу, и благодаря интенсивному липолизу образуется большое количество свободных жирных кислот. Жирные кислоты являются и субстратами окисления, и разобщителями окисления и фосфорилирования. После адаптации к холоду имеет место не только стабильное повышение липидного обмена, но и повышение мощности механизма, способного быстро изменить его уровень в соответствии с физиологическими потребностями [30]. При этом резко возрастает калоригенный эффект норадреналина – медиатора химической терморегуляции [16, 24, 26]. Норадреналин не изменяет энергетику в покое мышц, но его влияние существенно увеличивается даже при незначительном сокращении мышц. К.П. Иванов и Л.Д. Пчеленко [33] показали (на изолированной мышце диафрагмы крысы), что повышение сократительной теплопродукции у адаптированных к холоду животных не связано с изменением кровообращения в работающей мышце, а является специфическим адаптационным изменением энергетики мышечного сокращения.

Многочисленные исследования выявили, что электрическая активность скелетных мышц при длительном действии холода сначала возрастает, а потом снижается, но образование тепла остается повышенным [24, 26], поскольку происходит повышение теплопродукции на элементарный сократительный акт. Этим обуславливается тот факт, что при адаптации к холоду повышение теплопродукции в ответ на действие холода сопровождается меньшей по величине холодовой дрожью, которая появляется при более низкой температуре, чем до адаптации. Кроме того, установлено, что при

адаптации к холоду уменьшается количество холодových рецепторов [24].

Таким образом, сократительная деятельность скелетных мышц является основой холодového термogenesis [26], а усиление способности к терморегуляционному разобщению при адаптации к холоду – самый важный механизм повышения мощности и эффективности теплообразования [30].

В работе [25] было показано, что терморегуляторные реакции зависят от скорости падения кожной температуры: быстрое охлаждение обуславливает формирование терморегуляторного ответа с участием динамической активности кожных холодových рецепторов, что обеспечивает включение адаптивных метаболических реакций при меньшем падении кожной и внутренней температуры.

При адаптации к холоду большая (чем до адаптации) часть энергии рассеивается в виде тепла, что приводит к увеличению потребления кислорода для выполнения мышечной работы, т.е. к снижению КПД мышечного сокращения [24–26]. У адаптированных к холоду крыс при выполнении одинаковой по величине мышечной работы потребление кислорода больше, чем у неадаптированных. Эта величина зависит от температуры окружающего воздуха: при $24\text{ }^{\circ}\text{C}$ различия составляют 11 %, а при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ – 39 % [24].

В экспериментах с участием человека выявлено, что у любителей зимнего плавания («моржей») и у рабочих-строителей, постоянно работающих на открытом воздухе в условиях Сибири и Крайнего Севера, кислородный запрос выше, чем у лиц, не адаптированных к холоду, в среднем соответственно на 27 и 21 % при температуре окружающего воздуха $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ и на 9 и 28 % – при температуре $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ [23, 34, 35]. В.В. Пулина [35] установила, что снижение КПД работы у любителей зимнего плавания в наибольшей степени проявляется при физических нагрузках мощностью, соответствующей 45 % от максимальной.

По расчетам К.П. Иванова [36] в экстремальных условиях для сохранения температурного гомеостаза организм может выработать дополнительно количество тепла, в 2–3 раза превосходящее уровень основного обмена.

В 1993 г. Р.К. Портер и М.Д. Бранд [37] при исследовании митохондрий млекопитающих различной массы выявили, что чем меньше размеры тела гомойотермного животного и чем больше его теплопродукция на единицу массы, тем ниже КПД синтеза АТФ в митохондриях его клеток. Понижение КПД связано с повышением проницаемости внутренней мембраны митохондрий для протонов. Так, например, проницаемость для протонов внутренней мембраны митохондрий из клеток печени мыши почти в 10 раз больше, чем для мембраны митохондрий из клеток печени лошади (при равном мембранном

потенциале 170–180 мВ). Авторы предполагают, что утечка протонов может частично объяснить различия в метаболизме у разных животных.

Необходимо подчеркнуть, что эффект разобщения зависит не только от концентрации разобщителей, но и от чувствительности мембран митохондрий к их разобщающему действию [15, 25, 28, 30, 38]. При адаптации к холоду усиливаются метаболические эффекты тиреоидных гормонов [30, 38], которые увеличивают чувствительность мембран митохондрий к влиянию норадреналина. Тиреоидэктомия или применение антитиреоидных препаратов снижают чувствительность животных к норадреналину и тормозят симпатозависимый термogenesis, причем у адаптированных к холоду животных это торможение выражено сильнее [30].

При действии холода разобщение окисления и фосфорилирования сопровождается относительным дефицитом АТФ, но при дальнейшем развитии адаптации увеличивается общая мощность митохондрий на единицу массы ткани, что компенсирует недовыработку АТФ каждой митохондрией. В целом в архитектуре системного структурного следа, составляющего основу адаптации к холоду, выделяют несколько связанных между собой звеньев. Такими звеньями являются:

- повышение функциональной активности надпочечников и щитовидной железы;
- индуцированный гормонами этих желез адаптационный рост массы и мощности системы митохондрий в мышцах, печени и БЖТ;
- увеличение массы и физиологической эффективности всей системы транспорта к митохондриям кислорода и субстратов окисления [4].

Использование криосауны в медицине и спорте

Впервые экспозицию при ультранизкой температуре применил японский ревматолог Тосимо Ямаучи для лечения болезней суставов в конце 70-х годов XX в. [39]. Сейчас в основном используются 2 типа криосаун: 1) открытые кабины, в которых охлаждение тела (кроме головы) осуществляется с помощью паров жидкого азота, охлажденного до температуры -130 ... -150 °С, и 2) воздушные криосауны – закрытые кабины, в которых охлаждение всего тела человека осуществляется воздухом, охлажденным до -80 ... -140 °С (при использовании температуры ниже -120 °С используются 2-камерные криосауны, в которых пациент на 30 с заходит в 1-ю камеру с температурой воздуха -60 °С, а затем переходит во 2-ю с температурой -120 ... -140 °С). Обычное время экспозиции – 3 мин. За это время кожная температура снижается в среднем на 8–15 °С, а внутренняя (тимпаническая) – на 0,4–0,6 °С [40–43]. Основное производство криосаун сосредоточено в Германии (воздушные и на жидком азоте) и в России (на жидком азоте).

В медицинских центрах охлаждение в криосауне используется для купирования боли при болезнях суставов, острых и хронических спортивных травмах и реабилитации после соревнований [39, 44–46].

Исследования влияния систематического охлаждения в воздушной криосауне выявили следующие адаптивные изменения в организме человека:

- повышается антиоксидантный потенциал организма [44, 46, 48];
- меняется липидный профиль – снижается индекс атерогенности за счет увеличения концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности [49];
- увеличивается количество лейкоцитов за счет лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов и эозинофилов [48];
- увеличивается концентрация норадреналина, адренокортикотропного гормона, бета-эндорфина [41, 48];
- уменьшается выраженность болевого синдрома при травмах и хронических воспалительных процессах [47].

Результаты анализа изменения концентрации противовоспалительных цитокинов противоречивы и существенно различаются в разных исследованиях. По мнению G. Banfi et al. [44] и H. Pournot et al. [46], сеансы криотерапии после высокоинтенсивных тренировок стимулируют увеличение противовоспалительных цитокинов. Напротив, R.H. Straub et al. [50] и J.T. Costello et al. [51] демонстрируют отсутствие такого эффекта. Вместе с тем криосауна все чаще используется в спортивной медицине для уменьшения боли и воспаления в мышцах после соревнований и тренировок [45, 46]. При этом не учитывается тот факт, что систематическое холодное воздействие приводит к адаптации к холоду, что проявляется, в частности, в изменении мышечной энергетики (увеличении доли свободного окисления (без синтеза АТФ).

Преимущества кратковременного охлаждения при ультранизкой температуре

Известно, что адаптивные изменения в организме возникают уже после однократной холодной экспозиции [24, 26, 28].

Как показали многочисленные исследования, кратковременное (до 4 мин) охлаждение в воздушной криосауне при температуре от -70 до -140 °С не вызывает негативных изменений в организме человека [45, 47, 51]. Поэтому она может быть использована в исследованиях (в том числе повторных) на людях. При этом 2-кратное и более повышение концентрации в крови норадреналина (медиатора термogenesis) и снижение (более чем на 0,4 °С) внутренней температуры регистрируется после выхода из криосауны в течение более чем 20 мин, а повышение концентрации свободных жирных кислот и снижение

кожной температуры – в течение часа и более [40–42]. Поскольку известно, что снижение температуры крови, приносимой к гипоталамусу, на 0,1 °C запускает реакции терморегуляции [26], то снижение тимпанической температуры на 0,4 °C, обусловленное снижением температуры крови, приносимой к барабанной перепонке, тем более достаточно для активации реакций терморегуляции. Это позволяет использовать 20-минутный интервал после выхода из криосауны для оценки терморегуляторных показателей. За 3 мин в криосауне кожная температура снижается более чем на 8 °C, т.е. скорость снижения составляет более 0,04 °C/с [40, 42, 43]. Столь быстрое падение кожной температуры обусловлено тем, что перепад температур между кожей и окружающим воздухом составляет более 100 °C. В экспериментах с анализом активности кожных холодовых рецепторов, показано, что при скорости снижения кожной температуры более чем на 0,01 °C/с регистрируется динамическая активность холодовых рецепторов [25, 27]. Это позволяет предположить, что именно высокая скорость снижения кожной температуры определяет значительные метаболические изменения при относительно небольшом падении кожной и внутренней температуры, которые регистрируются после кратковременных холодовых экспозиций при ультранизкой температуре.

Использование криосауны для выработки адаптированности к холоду по сравнению с другими методиками (например, «моржеванием») обладает следующими преимуществами:

- возможностью систематических экспозиций без риска причинить вред;
- возможностью мониторингирования тимпанической (внутренней) температуры и частоты сердечных сокращений в процессе холодовой экспозиции;
- возможностью холодовой тренировки дыхательной системы в условиях воздушной криокамеры.

Таким образом, криосауна может служить хорошей экспериментальной моделью для изучения механизмов адаптации к холоду, а также для развития предварительной (опережающей) адаптации у лиц, которые планируют переезд в условия, например, Крайнего Севера. Адаптация к холоду с помощью криосауны может быть использована для того, чтобы оценить, как у конкретного человека происходит формирование системного структурного следа, составляющего основу адаптации к холоду, и выявить слабые звенья этого процесса. На основании такого анализа могут быть разработаны критерии, позволяющие выделять тех лиц, у которых при длительной адаптации к холоду в условиях полярных широт высока вероятность развития дезадаптивных изменений, а затем и заболеваний внутренних органов.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Список литературы

1. Казначеев В.П. Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт. Л., 1980.
Kaznacheev V.P. Mechanisms of human adaptation to Polar regions. Leningrad, 1980.
2. Солонин Ю.Г., Бойко Е.Р. Медико-физиологические аспекты жизнедеятельности в Арктике // Арктика: экология и экономика. 2015. № 1 (17). С. 70–75.
Solonin Yu.G., Boiko E.R. Medical and physiological aspects of vital activity in Arctic // Arktika: ekologiya i ekonomika. 2015. № 1 (17). P. 70–75.
3. Панин Л.Е. Гомеостаз и проблемы приполярной медицины (методологические аспекты адаптации) // Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30. № 3. С. 6–11.
Panin L.E. Homeostasis and problems of circumpolar medicine (methodological aspects of adaptation) // Byulleten SO RAMN. 2010. V. 30. № 3. P. 6–11.
4. Барабаш Н.А., Двуреченская Г.Я. Адаптация к холоду (Гл. 5) // Физиология адаптационных процессов М., 1986. С. 251–302.
Barabash N.A., Dvurechenskaya G.Ya. Adaptation to cold (Ch. 5) // Physiology of adaptation. Moscow, 1986. P. 251–302.
5. Казначеев В.П., Гичев Ю.П., Поляков Я.В. и др. Биохимические сдвиги у здоровых людей при кратковременном пребывании в Заполярье // Физиология человека. 1979. Т. 5. № 2. С. 293–299.
Kaznacheev V.P., Gichev Yu.P., Polyakov Ya.V. et al. Biochemical changes in healthy people during a short stay in the Arctic // Fiziologiya cheloveka. 1979. V. 5. № 2. P. 293–299.
6. Агбалян Е.В., Клименко О.А., Буюк М.А., Шинкарук Е.В. Ведущие предикторы развития и дальнейшего прогрессирования ишемической болезни сердца среди мигрантов Арктики // Успехи современного естествознания. 2014. № 9. С. 8–10.
Agbalyan E.V., Klimenko O.A., Buyak M.A., Shinkaruk E.V. Basic predictors of the development and further progression of coronary heart disease among migrants of the Arctic // Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2014. № 9. P. 8–10.
7. Колпаков А.Р. Энергетический обмен и метаболическая функция печени при адаптации организма к холоду: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 1997.
Kolpakov A.R. Energy metabolism and metabolic function of the liver in adaptation of organism to cold: Avtoreferat dissertatsii ... doktora meditsinskikh nauk. Novosibirsk, 1997.
8. Юрлова Л.Л., Одинцов С.В., Хаснулин П.В. и др. Гормональные и биохимические показатели крови у лиц вахтового труда в зависимости от стажа работы на северных газовых промыслах // Бюллетень СО РАМН. 2006. № 1 (119). С. 85–89.
Yurlova L.L., Odintsov S.V., Khasnulin P.V. et al. Hormonal and biochemical indices of blood in shift workers in relation to work experience at Northern gas fields // Byulleten SO RAMN. 2006. № 1 (119). P. 85–89.
9. Коган А.Б. Экологическая физиология человека. Ростов-на-Дону, 1990.

- Kogan A.B. Environmental human physiology. Rostov-on-Don, 1990.
10. Климова Т.М., Федорова В.И., Балтахинова М.Е., Кривошапкин В.Г. Липидный профиль и дислипотеинемии у коренного сельского населения Якутии // Сиб. мед. журн. 2012. Т. 27. № 3. С. 142–146.
- Klimova T.M., Fedorova V.I., Baltakhinova M.E., Krivoschapkin V.G. Lipid profile and dyslipoproteinemia among indigenous rural population of Yakutia // Sibirskiy meditsinskiy zhurnal. 2012. V. 27. № 3. P. 142–146.
11. Young M.D., Bjerregaard P., Dewailly E. et al. Prevalence of obesity and its metabolic correlates among the circumpolar Inuit in 3 countries // Am. J. Publ. Health. 2007. V. 97. № 4. P. 691–695.
12. Образцов Л.Н. Медицинская экология Европейского Севера России. СПб., 1998.
- Obraztsov L.N. Medical ecology of the European North of Russia. St. Petersburg, 1998.
13. Cardona A., Pagani L., Antao T. et al. Genome-wide analysis of cold adaption in indigenous Siberian populations // PLoS ONE. 2014. V. 9. e98076.
14. Герасимова Л.И. Патогенетическая роль дезадаптации к холоду в развитии донозологических состояний в условиях Севера: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2008.
- Gerasimova L.I. Pathogenetic role of dysadaptation to cold in the development of prenosological conditions in the North: Avtoreferat dissertatsii ... doktora meditsinskikh nauk. St. Petersburg, 2008.
15. Авцын А.П., Марачев А.Г., Матвеев Л.Н. Циркумпольный гипоксический синдром // Вестн. АМН СССР. 1979. № 6. С. 32–39.
- Avtsyn P.A., Marachev A.G., Matveev L.N. Circumpolar hypoxic syndrome // Vestnik AMN SSSR. 1979. № 6. P. 32–39.
16. Пастухов Ю.Ф., Максимов А.Л., Хаскин В.В. Адаптация к холоду и условиям Субарктики: проблемы термофизиологии. Т.1. Магадан, 2003.
- Pastukhov Yu.F., Maksimov A.L., Khaskin V.V. Adaptation to cold and Subarctic conditions: the problems of thermophysiology. V. 1. Magadan, 2003.
17. Кандрор И.С. Очерки по физиологии и гигиене человека на Крайнем Севере. М., 1968.
- Kandror I.S. Essays on physiology and hygiene of man in the Extreme North. Moscow, 1968.
18. Бобров Н.И., Ломов О.П., Тихомиров В.П. Физиолого-гигиенические аспекты акклиматизации человека на Севере. Л., 1979.
- Bobrov N.I., Lomov O.P., Tikhomirov V.P. Physiological and hygienic aspects of acclimatization of man to the North. Leningrad, 1979.
19. Фомин А.Н. Особенности формирования приспособительных реакций у пришлого населения на Севере: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2004.
- Fomin A.N. Peculiarities of formation of adaptive reactions in migrant populations in the North: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. Novosibirsk, 2004.
20. Хаснулин В.И., Хаснулин П.В. Современные представления о механизмах формирования северного стресса у человека в высоких широтах // Экология человека. 2012. № 1. С. 3–11.
- Khasnulin V.I., Khasnulin P.V. Modern understanding of the mechanisms of formation of Northern stress in humans at high latitudes // Ekologiya cheloveka. 2012. № 1. P. 3–11.
21. Lowell B.B., Spiegelman B.M. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis // Nature. 2000. V. 404 (6778). P.652–660.
22. Busiello R.A., Savarese S., Lombardi A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism // Front. Physiol. 2015. 6:36. Doi: 10.3389/fphys.2015.00036.
23. Бартон А., Эдхольм О. Человек в условиях холода. М., 1957.
- Barton A., Edholm O. Man in a cold environment. Moscow, 1957.
24. Баженов Ю.И. Термогенез и мышечная деятельность при адаптации к холоду. Л., 1981.
- Bazhenov Yu.I. Thermogenesis and muscle activity in adaptation to cold. Leningrad, 1981.
25. Козырева Т.В., Ткаченко Е.Я., Симонова Т.Г. Функциональные изменения при адаптации к холоду // Успехи физиологических наук. 2003. Т. 34. № 2. С. 76–84.
- Kozyreva T.V., Tkachenko E.Ya., Simonova T.G. Functional changes in adaptation to cold // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2003. V. 34. № 2. P. 76–84.
26. Иванов К.П. Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты. Т. 1 // Общая энергетика, теплообмен и терморегуляция. Л., 1990.
- Ivanov K.P. Basis of body energy: Theoretical and practical aspects. V. 1 // General energetics, heat exchange and thermoregulation. Leningrad, 1990.
27. Ткаченко Е.Я., Козарук В.П., Храмова Г.М. и др. Зависимость формирования терморегуляторных реакций на охлаждение от типа активности кожных терморецепторов // Бюллетень СО РАМН. 2010. Т. 30. № 4. С. 95–100.
- Tkachenko E.Ya., Kozaruk V.P., Khramova G.M. et al. Dependence of thermoregulatory reactions formation to cooling on the activity of cutaneous thermoreceptors // Byulleten SO RAMN. 2010. V. 30. № 4. P. 95–100.
28. Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О. Мембранная биоэнергетика. М., 2010.
- Skulachev V.P., Bogachev A.V., Kasprinskiy F.O. Membrane bioenergetics. Moscow, 2010.
29. Wijers S.L.J., Schrauwen P., Saris W.H.M., van Marken Lichtenbelt W.D. Human skeletal muscle mitochondrial uncoupling is associated with cold induced adaptive thermogenesis // PLoS ONE. 2008. 3 (3). e1777.
30. Хаскин В.В. Биохимические механизмы адаптации к холоду. (Гл. 9) // Физиология терморегуляции. Л., 1984. С. 237–266.
- Khaskin V.V. Biochemical mechanisms of adaptation to cold. (Ch. 9) // Physiology of thermoregulation. Leningrad, 1984. P. 237–266.
31. Ramsden D.B., Ho P., Ho J. et al. Human neuronal uncoupling proteins 4 and 5 (UCP4 and UCP5): structural

properties, regulation, and physiological role in protection against oxidative stress and mitochondrial dysfunction // *Brain and Behavior*. 2012. V. 2. № 4. P. 468–478.

32. Talbot D.A., Duchamp C., Rey B. et al. Uncoupling protein and ATP/ADP carrier increase mitochondrial proton conductance after cold adaptation of king penguins // *J. Physiol.* 2004. V. 558. P. 123–135.

33. Иванов К.П., Пчеленко Л.Д. Повышение теплопродукции мышечного сокращения после адаптации к холоду // *ДАН СССР*. 1978. Т. 240. № 1. С. 227–230.

Ivanov K.P., Pchelenko L.D. Increase of heat production of muscle contraction after adaptation to cold // *DAN SSSR*. 1978. V. 240. № 1. P. 227–230.

34. Лазаренко П.В., Симонова Т.Г., Якименко М.А. и др. Энерготраты на физическую работу у любителей зимнего плавания // *Физиология человека*. 1986. Т. 12. № 6. С. 1036–1038.

Lazarenko P.V., Simonova T.G., Yakimenko M.A. et al. Expenditure for physical activity among fans of winter swimming // *Fiziologiya cheloveka*. 1986. V. 12. № 6. P. 1036–1038.

35. Пулина В.В. Функциональное состояние системы терморегуляции в процессе адаптации организма человека к мышечной деятельности и низкой температуре окружающей среды: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владимир, 2000.

Pulina V.V. Functional state of the thermoregulatory system in the process of human organism adaptation to muscular activity and low ambient temperature: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata biologicheskikh nauk. Vladimir, 2000.

36. Иванов К.П. Основы энергетики организма: Теоретические и практические аспекты. Т. 3 // *Современные проблемы, загадки и парадоксы регуляции энергетического баланса*. СПб., 2001.

Ivanov K.P. Basis of body energy: Theoretical and practical aspects. V. 3 // *Modern problems, puzzles and paradoxes of energy balance regulation*. St. Petersburg, 2001.

37. Porter R.K., Brand M.D. Body mass dependence of proton leak in mitochondria and its relevance to metabolic rate // *Nature*. 1993. V. 362. P. 628–630.

38. Silva J.E. The thermogenic effect of thyroid hormone and its clinical implications // *Ann. Intern. Med.* 2003. V. 139. № 3. P. 205–213.

39. Yamauchi T., Nogami S., Miura K. Various applications of the extreme cryotherapy and strenuous exercise program focusing on rheumatoid arthritis // *Physiother. Rehabil.* 1981. V. 26. № 5. P. 89–101.

40. Cholewka A., Stanek A., Sieron A., Drzazga Z. Thermography study of skin response due to whole-body cryotherapy // *Skin Res. and Technol.* 2012. V. 18. № 2. P. 180–187.

41. Hausswirth C., Schaal K., Le Meur Y. et al. Parasympathetic activity and blood catecholamine responses following a single partial-body cryostimulation and a whole-body cryostimulation // *PLoS ONE*. 2013. V.8 (8): e72658. Doi:10.1371/journal.pone.0072658.

42. Салтыкова М.М., Кузьмин И.В., Журавлева О.А. Влияние кратковременного охлаждения в воздушной криосауне при температуре -70 °С на температуру тела и липидный профиль здоровых лиц // *Авиакосм. и экол. мед.* 2016. Т. 50. № 2. С. 42–46.

Saltykova M.M., Kuzmin I.V., Zhuravleva O.A. Influence of short-term cooling in the air cryosauna at -70 °C on body temperature and lipid profile of healthy individuals // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2016. V. 50. № 2. P. 42–46.

43. Costello J.T., Algar L.A., Donnelly A.E. Effects of whole-body cryotherapy (-110 degree C) on proprioception and indices of muscle damage // *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 2012. V. 22. P. 190–198.

44. Banfi G., Melegati G., Barassi A. et al. Effects of whole-body cryotherapy on serum mediators of inflammation and serum muscle enzymes in athletes // *J. of Thermal Biol.* 2009. V. 34. P. 55–59.

45. Banfi G., Lombardi G., Colombini A., Melegati G. Whole-body cryotherapy in athletes // *Sports Med.* 2010. V. 10. № 6. P. 509–517.

46. Pournot H., Bieuzen F., Louis J. et al. Time-course of changes in inflammatory response after whole-body cryotherapy multi exposures following severe exercise // *PLoS ONE*. 2011. V. 6. № 7.

47. Guillot X., Tordi N., Mourot L. et al. Cryotherapy in inflammatory rheumatic diseases: A systematic review // *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 2014. V. 10. № 2. P. 281–294.

48. Lubkowska A., Szygula Z., Klimek A.J., Torii M. Do sessions of cryostimulation have influence on white blood cell count, level of IL-6 and total oxidative and antioxidative status in healthy men? // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2010. V. 109. P. 67–72.

49. Lubkowska A., Banfi G., Dołęgowska B. et al. Changes in lipid profile in response to three different protocols of whole-body cryostimulation treatments // *Cryobiol.* 2010. V. 61. P. 22–26.

50. Straub R.H., Pongratz G., Hirvonen H. et al. Acute cold stress in rheumatoid arthritis inadequately activates stress responses and induces an increase of interleukin 6 // *Ann. Rheum. Dis.* 2009. V. 68. P. 572–578.

51. Costello J.T., Baker P.R., Minett G.M. et al. Whole-body cryotherapy (extreme cold air exposure) for preventing and treating muscle soreness after exercise in adults // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015. Sep. 18;9:CD010789.

Поступила 25.01.2016

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF ADAPTATION TO COLD

Saltykova M.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2016. V. 50. № 4. P. 5–13

The literary review is devoted to human adaptation to cold and rehabilitation and therapeutic uses of cryosauna. Main physiological mechanisms of adaptation to cold are

analyzed. It is shown that adaptation to polar latitudes increases primarily the risks of cardiovascular diseases, as well as disorders in the respiratory and peripheral nervous systems. At the same time, many investigators consider cold exposure as a promising method to combat obesity and to treat the metabolic syndrome. Cryosayna can be an experimental model for studying cold effects on human organism, developing procedures of adaptation to cold and evaluation of the adaptation reserve.

Key words: cold adaptation, adaptation to polar latitude environments, mechanisms of cold adaptation, air cryosauna.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 612.084

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Ковалева А.А., Скедина М.А., Потапов М.Г.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
E-mail: aakovaleva@imbp.ru

В условиях 520-суточной изоляции в ограниченном объеме при имитации длительного межпланетного полета у 6 членов экипажа проводилось исследование нейрофункционального состояния методом синхронной регистрации церебральной электрической (ЭЭГ) и энергетической (уровня постоянного потенциала (УПП) активности головного мозга. Проведенные (2 раза) фоновые исследования позволили прогнозировать высокий уровень адаптационных возможностей у всех членов экипажа и низкую вероятность возникновения истощения адаптационных резервов во время эксперимента. Динамика показателей нейрофункциональных коррелятов мозговой активности в ходе изоляции в целом соответствовала тем факторам, на фоне которых проходила деятельность экипажа. В ходе значимых событий для экипажа наблюдалась физиологическая реакция как со стороны метаболической активности, так и электрической активности головного мозга. На 54-й неделе отмечали состояние физиологической адаптации к условиям среды обитания, выраженное в снижении: УПП без межполушарной асимметрии и абсолютного значения мощности α -активности. В ходе всего эксперимента ни у одного из членов экипажа не наблюдали признаков выраженной стресс-реакции (наличие асимметрии по локализации α -активности, сопровождающееся значимым снижением УПП), что подтверждает наш прогноз о низкой вероятности истощения адаптационных резервов у участников 520-суточной изоляции.

Ключевые слова: изоляция, уровень постоянного потенциала, электроэнцефалограмма, стресс-реакция, топография α -ритма.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 14–20.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-14-20

Поиск надежных прогностических критериев и методов оценки состояния нервной системы и закономерностей высшей нервной деятельности актуален для прогнозирования надежности поведения человека в экстремальных ситуациях. Длительное пребывание в условиях изоляции является характерной особенностью полетов в дальний космос. Нахождение в пределах замкнутого объема в составе автономной малочисленной группы

обуславливает формирование различных функциональных состояний (ФС), каждое из которых является интегральным комплексом различных характеристик тех функций и качеств человека, которые прямо или косвенно обуславливают его поведение.

При исследованиях ФС у лиц экстремальных профессий в качестве возможных индикаторов ФС рассматривались самые разнообразные электрофизиологические показатели, отражающие работу сердечно-сосудистой и центральной нервной систем (ЦНС), вегетативные и биохимические сдвиги. ЦНС обуславливает как восприятие окружающей среды, так и взаимодействие с ней, поэтому в настоящее время при исследовании особенностей деятельности лиц экстремальных профессий для оценки ФС ЦНС все чаще используются нейрофункциональные корреляты мозговой активности и, в частности, показатели электроэнцефалограммы (ЭЭГ) [1–3].

Наряду с этим, отмечается, что изменение функциональной активности головного мозга сопровождается сдвигом церебрального энергетического обмена [4, 5]. Изменение церебрального метаболизма обуславливает усиление или ослабление медленных электрохимических процессов, отражением которых является такой электрофизиологический показатель как омега-потенциал, или уровень постоянного потенциала (УПП).

Деятельность экипажа в условиях имитации длительного межпланетного полета сопряжена с рядом специфических факторов среды обитания, психологических и профессиональных, которые вызывают различные нейрофизиологические реакции, находящие свое отражение в исследуемых показателях [4, 6–8].

Проект «Марс-500», при проведении которого участники эксперимента длительное время находились в условиях изоляции в составе малочисленной группы, являлся базисным по изучению влияния факторов длительной изоляции на ФС ЦНС человека. В рамках данного проекта предусматривалось проведение нескольких этапов эксперимента с различной длительностью пребывания обследуемых в условиях изоляции. Результаты ранее опубликованных исследований, посвященных 105-суточному

Таблица

Усредненное значение УПП у членов «экипажа» в ходе 520-суточной изоляции

Неделя эксперимента	Испытатели					
	A	B	C	D	E	F
	Усредненное значение УПП, мВ					
-6-я	1,4	1,5	-8,5	-1,7	1,7	-13,8
-1-я	15,5	16,7	1,4	2,0	10,5	1,9
7-я	4,4	5,8	-7,3	8,3	4,7	-3,9
15-я	3,1	4,3	4,7	-5,4	1,0	3,4
23-я	5,4	-3,2	-5,2	6,0	0,6	-2,5
33-я	6,8	-0,7	11,0	4,1	8,5	7,9
46-я	-0,1	-3,0	-2,2	-8,1	-11,0	6,7
54-я	-4,9	-9,9	-2,5	-7,7	-4,9	1,2
63-я	-2,7	-3,3	-9,7	-26,9	-6,6	-1,1
71-я	26,3	-0,7	-5,3	-6,1	-3,4	13,3
+1-я	-2,6	34,2	-4,5	-20,0	-3,7	-13,5
+3-я	-3,7	1,0	3,6	1,5	-9,6	29,6
Шкала значений УПП, мВ						
Более 15	Стресс-реакция					
15–10	Повышенное значение УПП					
10 – -3,5	Норма					
-3,5 – -7	Пониженное значение УПП					
Менее -7,5	Признаки стресс-реакции с истощением					

пребыванию испытуемых-добровольцев в условиях изоляции, показали, что совместная регистрация классической ЭЭГ и показателей сверхмедленной активности головного мозга УПП позволяет оценить текущие нейрофизиологические характеристики человека. Отмечено, что условия 105-суточной изоляции приводили к некоторому снижению активности нейрофизиологических процессов [9].

Цель данной работы – продолжение изучения особенностей функционального состояния человека по нейрофизиологическим характеристикам в условиях 520-суточной изоляции в ограниченном объеме при имитации длительного межпланетного полета.

Методика

Исследования выполнены в рамках проекта «Марс-500», с участием 6 мужчин-добровольцев (возраст 26–38 лет), которые в течение 520 сут находились в наземном замкнутом экспериментальном комплексе ГНЦ РФ – ИМБП РАН [10]. Одновременная регистрация ЭЭГ и УПП проводилась 12 раз: 2 раза в фоновом периоде (-6-я и -1-я недели), 8 раз во время изоляции: на 7, 15, 23, 33, 46, 54, 63, 71-й неделях и 2 раза в период восстановления (+1-я и +3-я недели). Периоды некоторых исследований совпадали с событиями (согласно циклограмме эксперимента), которые влияли на формирование текущих нейрофизиологических характеристик обследуемых. Так, на 7-й неделе началась имитация задержки связи с «Землей» на 20 мин (усиление автономности); 23-я неделя характеризовалась активной подготовкой

всех членов экипажа к этапу «выхода на поверхность Марса»; на 33-й неделе произошло объединение экипажа после «выхода на поверхность Марса»; на 63-й неделе проводился один из режимов физической разгрузки; на 71-й неделе была возобновлена прямая связь с «Землей».

Регистрация ЭЭГ и УПП проводилась с помощью аппаратно-программного комплекса (АПК) «Нейро-КМ – Омега-Нейроанализатор» (ООО «Статокин», Россия), позволяющего синхронно регистрировать церебральную электрическую и энергетическую активность в 7 монополярных отведениях по схеме «10 x 20». Подробное описание методики приведено в работах [9, 11]. На ЭЭГ исследовали динамику показателей активности коры головного мозга в диапазоне основных частот. Оценивали показатели α -активности, β -ритма, θ -ритма, δ -ритма, наличие амплитудной асимметрии, индекс, организованность, спектральные частотные и амплитудные характеристики: абсолютное значение мощности (АЗМ) в $\mu\text{В}^2$, значение доминирующей частоты (ЗДЧ) в Гц. Анализ спектра ЭЭГ проводился с использованием программного обеспечения электроэнцефалографа-анализатора ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03».

Топографическое картирование УПП мозга проводилось в программном обеспечении АПК «Нейро-КМ – Омега-Нейроанализатор», расчет его усредненного по всем отведениям значения осуществлялся в программе MS Excel 2010.

Для оценки различий спектра АЗМ α -активности на ЭЭГ каждая 10-минутная запись, не содержащая выраженных артефактов, была разбита на участки

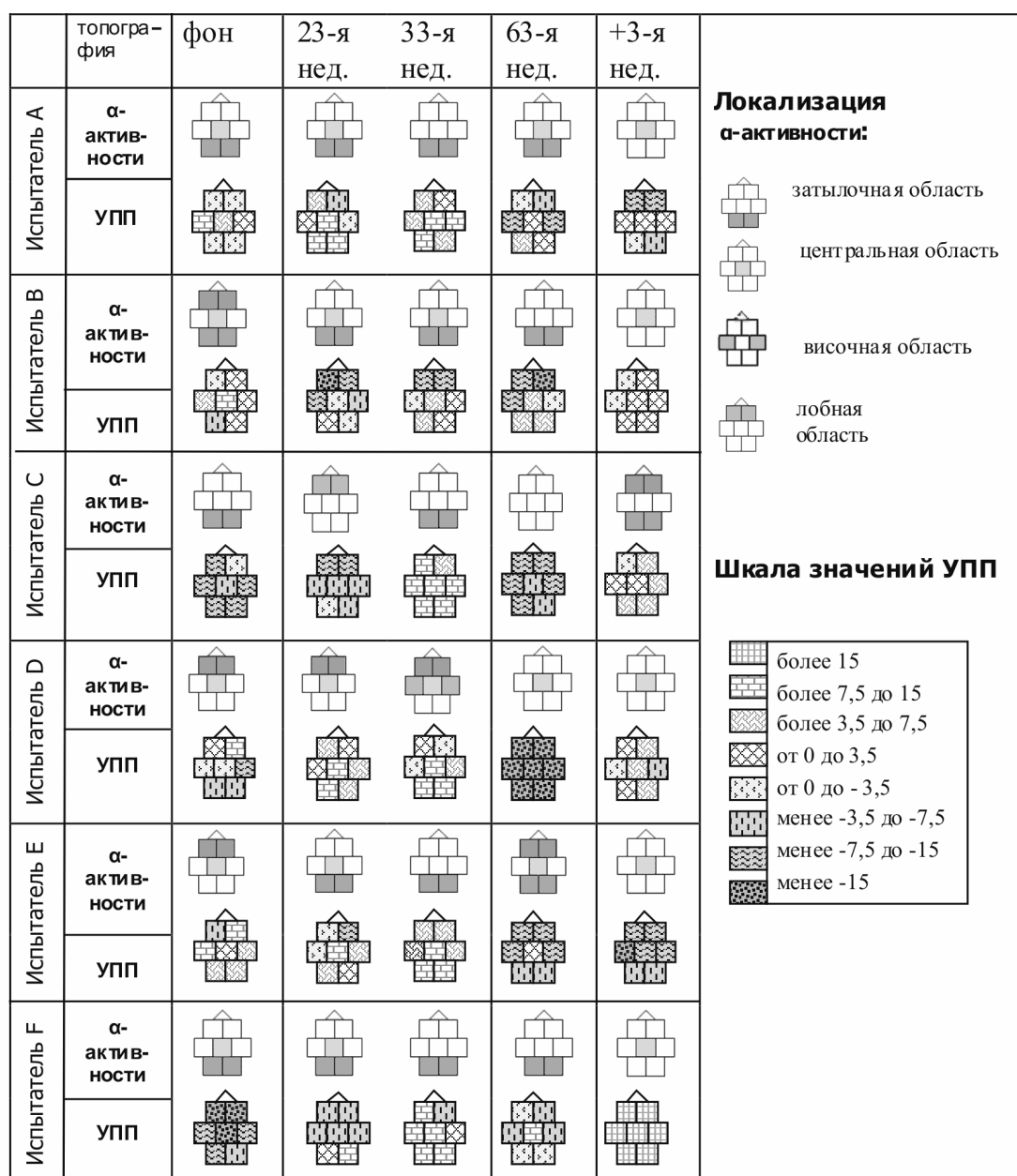


Рис. 1. Индивидуальные особенности топографии УПП и α -активности по ЭЭГ у членов экипажа в ходе изоляции. Здесь и на рис. 2, 3: испыталы В, D, F – участники «высадки на поверхность Марса»

по 30 с, таким образом, получали 12 выборок ($n = 20$) для каждого испыталого. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических критериев для связанных групп – Фридмана (принятый уровень значимости $p = 0,05$) и Вилкоксона (принятый уровень значимости $p = 0,05$) в пакете прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Фоновые исследования, проведенные за 6 нед до изоляции, показали, что испыталы имели разный тип ЭЭГ (по α -активности): 2 – с индексом α -активности 15 и 46 %, амплитудой 46 и 49 мкВ

соответственно, 2 – со средним индексом α -активности и амплитудой (45 и 55 %, 58 и 69 мкВ соответственно) и 2 – с высокой амплитудой (61 и 77 мкВ) и индексом α -активности (62 и 63 %). У 3 членов «экипажа» были отмечены изменения, которые можно отнести к начальным признакам стресс-реакции: смещение α -активности кпереди [12], нарастание частоты в пределах 1–2 Гц со снижением индекса и нарастанием дезорганизованности α -активности (рис. 1). Усредненное значение УПП у иностранных участников эксперимента в среднем было выше на 8–10 мВ, чем у российских, что, вероятно, было обусловлено адаптацией к новой языковой среде (таблица).

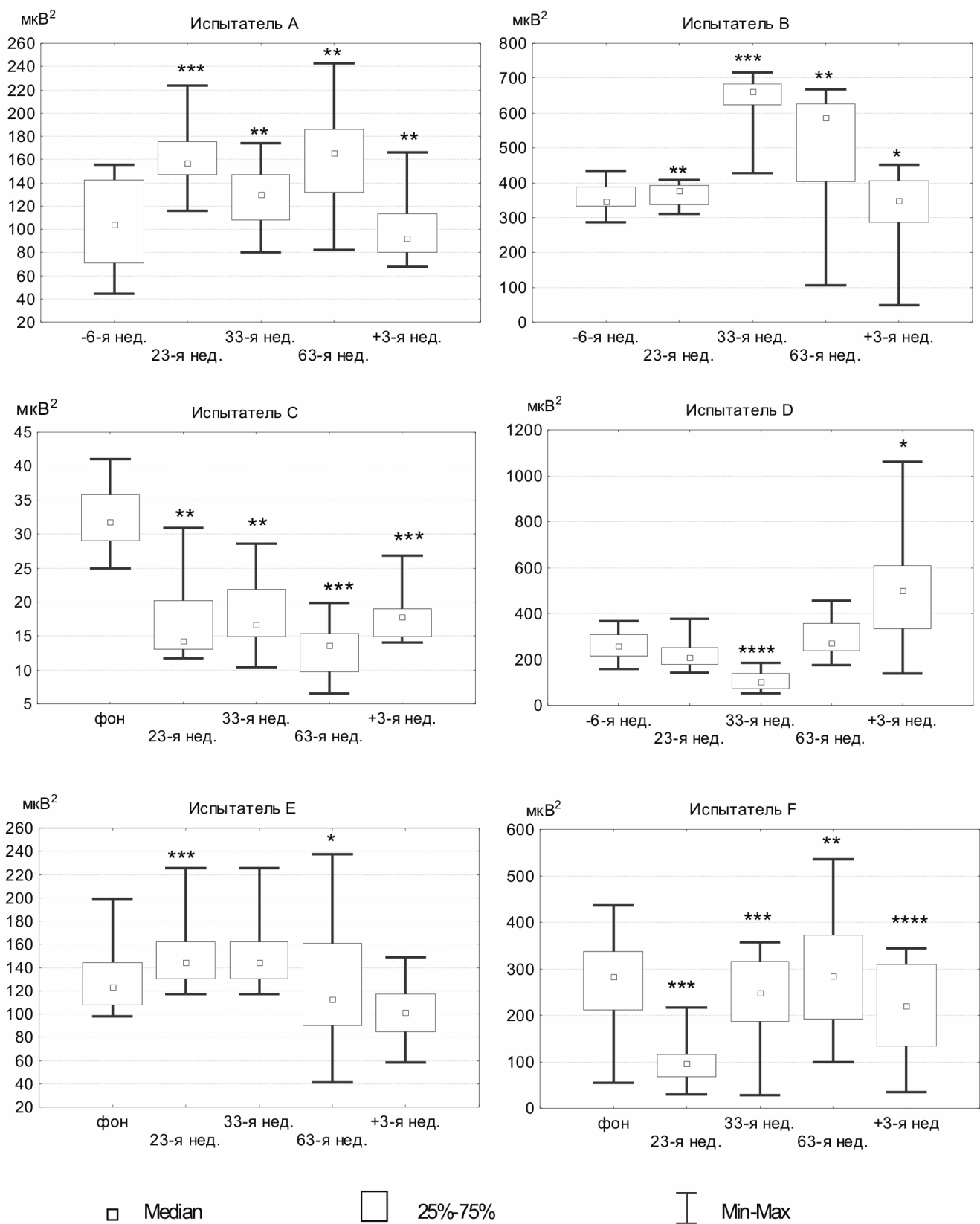


Рис. 2. Индивидуальная динамика АЗМ α -активности по ЭЭГ у членов экипажа в ходе эксперимента.
* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$

За 7 сут до начала моделирования длительно-го межпланетного полета наблюдалось снижение мощности α -активности у 5 обследуемых (на 15–25 %) и увеличение УПП у всех членов экипажа относительно предыдущего значения. Отсутствие межполушарной асимметрии по топографии распределения УПП и α -активности, а также увеличение частоты α -ритма более чем на 1 Гц позволяло прогнозировать высокий уровень адаптационных возможностей у всех членов экипажа и низкую вероятность возникновения истощения адаптационных резервов по данным нейрофизиологических характеристик во время 520-суточного эксперимента.

Исследования, проведенные в период увеличения степени автономности (7-я неделя), выявили смещение α -активности кпереди с нарастанием УПП у 4 участников эксперимента. На 15-й неделе данные признаки отмечались только у 2 членов «экипажа» (D и C), однако у обследуемого C они были зарегистрированы впервые и сопровождалась увеличением частоты α -активности на 2,1 Гц. У этих же лиц на 23-й неделе отмечали изменения топографии α -активности. У обследуемого C частота α -ритма снизилась относительно предыдущего значения на 2,7 Гц (и на 1,5 Гц ниже фонового), что сопровождалось уменьшением усредненного значения УПП и частоты θ -активности (более чем на 1 Гц). Снижение частоты θ -активности порядка 1 Гц также наблюдалось и у участника эксперимента F. Такое снижение доминирующих частот может быть связано с некоторым утомлением данных членов экипажа.

В период, который соответствовал подготовке к имитации высадки на «поверхность Марса», у 5 человек отмечено значимое изменение АЗМ α -ритма по сравнению с предыдущим периодом (рис. 2).

На 33-й неделе эксперимента смещение α -ритма кпереди, сопровождающееся увеличением ЗДЧ на 0,8 Гц и некоторым ростом усредненного значения УПП, наблюдалось только у обследуемого D (рис. 3), который являлся участником «марсианского десанта». АЗМ при этом достигла минимума за весь период эксперимента. Также отмечалось увеличение на 2 Гц ЗДЧ α -активности у обследуемого C. Такие изменения в спектральных характеристиках ЭЭГ могут свидетельствовать об активации процессов торможения после завершения самого ответственного этапа эксперимента – «высадки на поверхность Марса» и объединения экипажа.

На 46-й неделе зарегистрировано снижение ЗДЧ θ -активности на 1,2 Гц и увеличение АЗМ α -ритма у члена экипажа D. Данное сочетание коррелятов мозговой активности свидетельствует о наличии состояния утомления [13, 14]. Увеличение АЗМ наблюдалось также у обследуемых A, C и E.

На 54-й неделе у всех участников эксперимента локализация α -активности соответствовала норме. Наблюдаемое при этом снижение УПП позволяет

предположить наступление физиологической адаптации к измененным условиям среды обитания, сопровождающееся изменением метаболической активности организма в целом. При этом у 4 человек отмечено снижение АЗМ α -активности.

В процессе выполнения физической разгрузки (63-я неделя) наиболее выраженные изменения отмечены в частотных спектральных характеристиках ЭЭГ (см. рис. 3). При этом у всех членов экипажа была зарегистрирована α -подобная активность. Абсолютное значение мощности α -активности (9–13 Гц) при этом сохранялось (или увеличивалось) у 5 человек, а у обследуемого C, характеризовавшегося десинхронизированным типом ЭЭГ в фоне, снижалось. Подобные изменения мозговой активности встречаются при описании состояния монотонии [3].

На 71-й неделе была возобновлена прямая телефонная и видеосвязь с «Землей». Вероятно, именно этот факт обусловил увеличение УПП со смещением локализации α -активности кпереди у 5 участников эксперимента, у обследуемого C без смещения α -активности.

Период реадаптации (+1-я, + 3-я недели) характеризовался наличием начальных признаков стресс-реакции как на ЭЭГ, так и со стороны УПП. При этом снижение ЗДЧ медленноволновой активности сохранялось у всех участников эксперимента.

Анализ индивидуальных изменений АЗМ α -активности в ходе эксперимента (по 12 точкам) с использованием критерия Фридмана показал отсутствие значимых изменений этой характеристики.

Изучение динамики показателей нейрофункциональных коррелятов мозговой активности в ходе 520-суточной изоляции позволило выявить наиболее значимые характеристики для оценки нейрофункционального состояния человека, которыми являются показатели α -ритма, топография и усредненное значение УПП.

Для α -активности важны такие показатели, как частота и амплитуда, индекс, регулярность, локализация, симметричность проявления, организованность. Однако локализация α -активности является наиболее информативной характеристикой: смещение α -ритма из затылочной области кпереди является показателем нарастания стресс-реакции.

Также значимой характеристикой является усредненное значение УПП мозга по всем отведениям и топография УПП при наличии межполушарной асимметрии со стороны α -активности [15].

Выводы

1. Динамика показателей нейрофункциональных коррелятов мозговой активности в ходе 520-суточной изоляции в целом соответствовала тем факторам, на фоне которых проходила деятельность экипажа. В ходе значимых событий для экипажа,

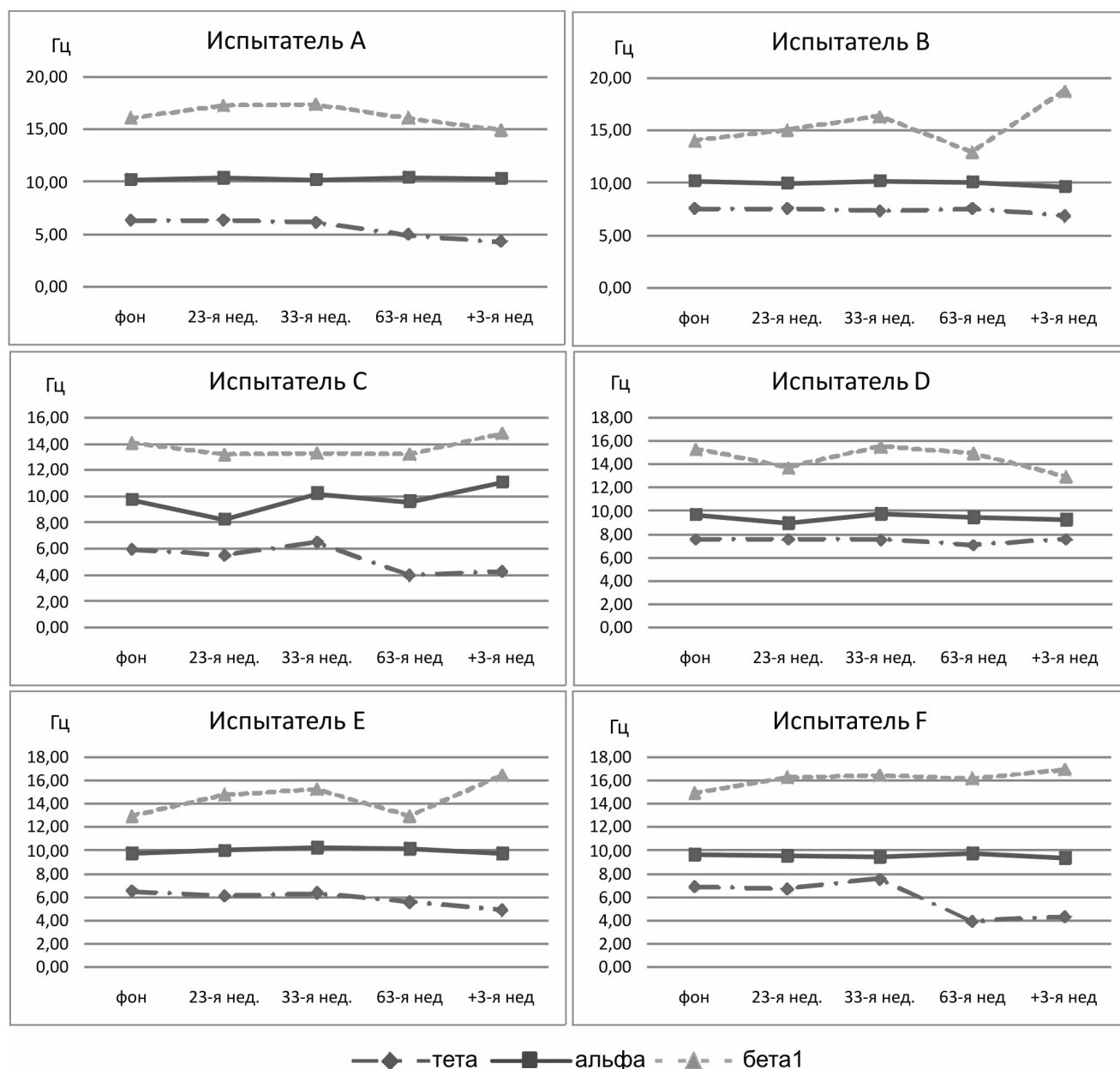


Рис. 3. Индивидуальная динамика изменения ЗДЧ θ -, α - и β -активности по ЭЭГ у членов экипажа в ходе эксперимента

таких, как начало задержки и возобновление связи с «внешним миром», подготовка к «выходу на поверхность Марса», объединение экипажа, завершение эксперимента, наблюдалась физиологическая реакция как со стороны метаболической активности (повышение УПП), так и электрической активности головного мозга.

2. Приблизительно в середине эксперимента (54-я неделя) отмечали состояние физиологической адаптации к условиям среды обитания, выраженное в снижении: УПП без межполушарной асимметрии и АЗМ α -активности.

3. В ходе всего эксперимента ни у одного из членов экипажа не наблюдали признаков стресс-реакции (наличие асимметрии по локализации

α -активности, сопровождающееся значимым снижением УПП), что подтверждает наш прогноз о низкой вероятности истощения адаптационных резервов у участников 520-суточной изоляции.

Список литературы

1. Свидерская Н.Е., Королькова Т.А. Влияние свойств нервной системы и темперамента на пространственную организацию ЭЭГ // Журн. высшей нервной деятельности. 1996. Т. 46. № 5. С. 849.

Sviderskaya N.E., Korolkova T.A. Influence of properties of nervous system and temperament on the EEG spatial organization // Zhurnal vysshei nervnoy deyatel'nosti. 1996. V. 46. № 5. P. 849.

2. Болдарева Г.Н., Шарова Е.В., Добронравова И.С. Роль регуляторных структур мозга в формировании ЭЭГ человека // Физиология человека. 2000. Т. 26. № 5. С. 19–34.
Boldareva G.N., Sharova E.V., Dobronravova I.S. The role of regulatory brain structures in formation of person's EEG // *Fiziologiya cheloveka*. 2000. V. 26. № 5. P. 19–34.
3. Кирой В.Н. Физиологические методы в психологии: Учеб. пособие. Ростов н/Д, 2003.
Kiroy V.N. Physiological methods in psychology: Manual. Rostov-on-Don, 2003.
4. Фокин В.Ф., Пономарева Н.В. Энергетическая физиология мозга. М., 2003.
Fokin V.F., Ponomareva N.V. Energy physiology of brain. Moscow, 2003.
5. Илюхина В.А., Заболотских И.Б. Энергодефицитные состояния здорового и больного мозга человека. СПб., 1993.
Ilyukhina V.A., Zabolotskikh I.B. Energy-deficient conditions of a healthy and sore brain of a person. St. Petersburg, 1993.
6. Бодров В.А., Федорук А.Г. Исследование функциональной асимметрии парных органов у лиц летного состава // Воен.-мед. журн. 1985. № 7. С. 50–53.
Bodrov V.A., Fedoruk A.G. Research of functional asymmetry of paired organs of flight personnel // *Voenno-meditsinskiy zhurnal*. 1985. № 7. P. 50–53.
7. Хомская Е.Д., Ефимова И.В., Сироткин Е.Б. Межполушарная асимметрия и произвольная регуляция интеллектуальной деятельности // Вопр. психологии. 1988. № 12. С. 147–152.
Homskeya E.D., Efimova I.V., Sirotkin E.B. Hemispheric asymmetry and random regulation of intellectual activity // *Voprosy psikhologii*. 1988. № 12. P. 147–152.
8. Козеренко О.П., Холланд А.В. Психологическая поддержка экипажей // Космическая биология и медицина. Т. IV. Здоровье, работоспособность, безопасность космических экипажей. М., 2001. С. 310–324.
Kozerenko O.P., Kolland A.V. Psychological support of crews // *Space biology and medicine*. V. IV. Health, performance, safety of space crews. Moscow, 2001. P. 310–324.
9. Потапов М.Г., Доценко В.И. и др. Нейрофизиологические механизмы изменения психофизиологического состояния человека при 105-суточной изоляции в гермообъеме // Авиакосм. и экол. мед. 2010. Т. 44. № 6. С. 62–64.
Potapov M.G., Dotsenko V.I. et al. Neurophysiological mechanisms of change of a psychophysiological condition of the person at 105-day isolation in a containment // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2010. V. 44. № 6. P. 62–64.
10. Григорьев А.И., Ушаков И.Б., Морук Б.В. К первым итогам международного мегаэксперимента «Марс-500» // Пилотируемые полеты в космос. 2012. № 1 (3). С. 5–14.
Grigoriev A.I., Ushakov I.B., Morukov B.V. The first results of the Mars-500 International mega-experiment // *Pilotiruemye polety v kosmos*. 2012. №1 (3). P. 5–14.
11. Доценко В.И., Потапов М.Г., Скедина М.А., Клишин Г.Ю. Влияние динамически управляемой световой среды на нейрофизиологические показатели головного мозга // Вестник восстановительной медицины. 2010. № 6. С. 40–44.
Dotsenko V.I., Potapov M.G., Skedina M.A., Klishin G.Yu. Effect of dynamically operated illumination environment on brain neurophysiological indicators // *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny*. 2010. № 6. P. 40–44.
12. Егорова И.С. Электроэнцефалография. М., 1973.
Egorova I.S. Electroencephalography. Moscow, 1973.
13. Jap B.T., Lal S., Fischer P., Bekiaris E. Using EEG spectral components to assess algorithms for detecting fatigue // *Expert Systems with Applications*. 2009. V. 36. Is. 2. Part 1. P. 2352–2359.
14. Borghini G., Astolfi L. et al. Measuring neurophysiological signals in aircraft pilots and car drivers for the assessment of mental workload, fatigue and drowsiness // *Neurosci. & Biobehav. Rev.* 2014. V. 44. P. 58–75.
15. Функциональная межполушарная асимметрия: Хрестоматия / Н.Н. Боголепов, В.Ф. Фокин, ред. М., 2004.
Functional hemispheric asymmetry: Anthology / N.N. Bogolepov, V.F. Fokin, eds. Moscow, 2004.

Поступила 03.04.2015

NEUROPHYSIOLOGICAL STATE OF HUMANS IN LONG-DURATION ISOLATION

Kovaleva A.A., Skedina M.A., Potapov M.G.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 14–20

During the 520-d imitation of isolation and confinement in a long-duration exploration mission, the neurofunctional state of 6 crewmembers was studied by synchronous registration of cerebral electrical (EEG) and energy (permanent potential level (PPL)) activities of the brain. Two baseline investigations predicted high adaptability of all crew members and low probability of depletion of the adaptation reserve in the experiment. During isolation, dynamics of neurofunctional correlates of the cerebral activity was generally proportionate to the factors the crewmembers were affected by. Events epochal to the crew gave rise to physiological reactions both of the metabolic and electrical activity of the brain. On week 54, crew physiological adaptation to the experimental environment was manifested by decreases in PPL without interhemispheric asymmetry and absolute α -power. All through the experiment none of the crew members showed signs of a distinct stress-reaction (α -activity asymmetry with a significant PPL decrease) supporting our prediction of low probability of adaptation reserve depletion in participants in the 520-day isolation and confinement study.

Key words: isolation, permanent potential level, electroencephalogram, stress-reaction, α -rhythm topography.

УДК 577.2

ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МОЧИ ПРИ КОНТРОЛИРУЕМОМ СОЛЕПОТРЕБЛЕНИИ В ПРОЕКТЕ «МАРС-500»

Пастушкова Л.Х.¹, Каширина Д.Н.¹, Кононихин А.С.^{1,3}, Стародубцева Н.Л.³,
Доброхотов И.В.¹, Тийс Е.С.², Ларина И.М.¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Федеральный исследовательский центр – Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск

³Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава РФ, Москва

E-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

На специфику протеома мочи воздействует комплекс факторов. Один из них – особенности питания, в том числе поступление в организм основных нутриентов, включая соль (NaCl). Задачей данного исследования было изучение протеомной композиции мочи здорового человека в контролируемых условиях жизнедеятельности в ходе 105-суточного эксперимента (проект «Марс-500») при различном уровне солепотребления. Для анализа использовали современные методы протеомики на основе хромато-масс-спектрометрии, а также различные возможности биоинформатики. Предпринималась попытка связать наблюдаемые изменения в различных процессах и физиологических системах с контролируемым приемом соли. В ходе работы определен список белков, непосредственно связанных с различным солепотреблением внутри эксперимента, затем – тканей, в которых данные белки преимущественно экспрессируются, выполнен анализ сверхпредставленных процессов, в которых данные белки участвуют.

Ключевые слова: солепотребление, протеом мочи, изоляция, здоровые люди.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 21–26.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-21-26

С развитием сельского хозяйства, животноводства и реализацией потребности иметь существенные запасы пищи 6000–8000 лет назад в эволюцию человека пришло регулярное добавление в пищу соли. Этому новому риску человечество подверглось слишком поздно для генетической адаптации путем естественного отбора, вследствие чего его патофизиологические последствия почти всегда берут свою «дань» в виде сердечно-сосудистых и других заболеваний, нетрудоспособности и повышения смертности [1, 2].

Существует гипотеза, что жизнедеятельность здорового человека в изолированном гермообъеме (со снижением уровня двигательной активности, а также под влиянием метаболических эффектов, индуцируемых факторами эксперимента) сопровождается накоплением натрия в организме в осмотически

неактивной форме [3, 4]. Активирующиеся в этих условиях процессы депонирования натрия, по-видимому, локализованы в костной, соединительной ткани или хряще, в которых в норме содержится от 55 до 60 % общего натрия организма [5, 6].

У здорового человека экскреция Na^+ с мочой прямо пропорциональна количеству Na^+ в организме, в результате чего содержание Na^+ колеблется незначительно, хотя поступление в организм может колебаться в значительных пределах. Если увеличить потребление соли, то экскреция натрия прогрессивно увеличивается и примерно за 3–5 сут достигает постоянного уровня, уравнивая поступление. В течение этого периода наблюдается положительный натриевый баланс, сопровождающийся задержкой воды и соответствующим увеличением массы тела. Затем в ответ на увеличение объема внеклеточной жидкости возрастает экскреция натрия (натрийурез) и восстанавливается натриевый баланс. Когда потребление соли резко уменьшается, то наблюдаются противоположные эффекты [1]. Авторы работы [7] показали, что восстановление баланса натрия после чрезмерного употребления соли зависит от натрийуретического ответа, который стимулирует повышение артериального давления (АД). В основном повышение АД служит физиологической реакцией, направленной на поддержание баланса натрия и объема внеклеточной жидкости в нормальных пределах. Ослабление механизмов, ответственных за соотношение давление – натрийурез, перемещает кривую взаимозависимости данных параметров «вправо», так чтобы более высокие цифры АД были необходимы для достижения выделения достаточного количества натрия с мочой, требуемого для поддержания гомеостаза, и, таким образом, высокие цифры АД сохраняются постоянно [1, 8]. Высокое АД ведет к перегрузкам сердечной мышцы, которая со временем гипертрофируется, но затем стенки сердца истончаются, оно ослабевает, что влечет за собой сердечную недостаточность и может привести к инфаркту миокарда, нефросклерозу, инсульту. Высокое АД повреждает и сосуды,

ведь они вынуждены противостоять значительному напору крови. Стенки сосудов утолщаются, просвет сужается, сосуды теряют эластичность, становятся ломкими, что увеличивает риск кровоизлияния. А стойкий спазм сосуда способствует поддержанию повышенного АД, замыкая круг нарушений.

Задачей данной работы явилось исследование изменений белкового состава мочи в зависимости от уровня солепотребления в условиях гермообъекта, а также биоинформационный анализ тканевой принадлежности и биохимических процессов, в которых участвуют выявленные белки, динамика обнаружения которых в моче коррелирует с солепотреблением, с целью определения перечня белков, непосредственно связанных с различным солепотреблением во время эксперимента.

Методика

Объектом исследования служили образцы мочи 6 добровольцев в возрасте от 26 лет до 41 года, которые жили в условиях изоляции в гермообъекте в течение 105 сут, находясь в одинаковых контролируемых условиях. Обследуемые получали стандартный рацион, с контролируемым содержанием всех нутриентов (использовали CARRAR System), водопотребление учитывалось. Общие условия проведения комплексных испытаний, циклограмма исследований, научно-практические цели экспериментов описаны в работе [9]. Добровольцы, принимавшие участие в наземных экспериментах, были допущены врачебно-экспертной комиссией ГНЦ РФ – ИМБП РАН к проведению испытаний. Предварительно процедуры и методики исследований были рассмотрены Комиссией по биомедицинской этике при ГНЦ РФ – ИМБП РАН, а от испытуемых, принимавших участие в исследованиях, было получено добровольное Информированное согласие. В ходе эксперимента, согласно программе, директивно изменялось количество потребления соли обследуемыми: с 1-х по 35-е сутки изоляции каждый из них потреблял в среднем 11,55 г поваренной соли в сут, с 36-х по 70-е сутки – 8,73 г, с 71-х по 75-е сутки – 11,85 г, 75-х по 104-е сутки – 7,38 г. Эти уровни среднего потребления несколько отличались от предписанного (соответственно 12, 9, 12 и 6 г соли в сут). Моча для протеомных исследований собиралась ежедневно в течение 7 сут перед началом эксперимента, еженедельно в течение 105-суточной изоляции, а также в 1-е и 7-е сутки периода реадaptации.

После свободного выделения фракции мочи и измерения ее объема из нее отбирали образец, который центрифугировали 10 мин при 4 °C, 2000 g с целью удаления загрязнений (крупных мертвых клеток, их фрагментов). Из обработанных таким образом проб отбирали надосадочную фракцию,

которую замораживали при температуре -80 °C для длительного хранения. В дальнейшем замороженные образцы размораживали при комнатной температуре, после чего повторно центрифугировали 10 мин при 4 °C, 2000 g. Надосадочную жидкость отбирали и концентрировали с помощью ультрацентрифужных пробирок AmiconUltraUltracel-15 3 k при 2000 g, 50 мин, 4 °C, до 20-кратного уменьшения объема супернатанта. Полученный таким способом образец высушивали в вакуумном концентрате при 30 °C.

Для проведения хроматомасс-спектрометрического анализа проводилась пробоподготовка, состоящая из стандартных этапов: восстановления, алкилирования, осаждения белка и протеолиза с использованием трипсина [10].

Анализ полученной полипептидной смеси проводили на системе, состоящей из хроматографа Agilent 1100 (Agilent Technologies Inc., Санта-Клара, США) и гибридного масс-спектрометра LTQ-FT Ultra (Thermo, Бремен, Германия) – масс-спектрометра ионного циклотронного резонанса, совмещенного с линейной квадрупольной ионной ловушкой, использующейся для накопления ионов и измерения спектров индуцированной фрагментации (МС/МС) ионов. Для хроматографии использовали колонку с обращенной фазой ReproSil-Pur C18 (диаметр частиц 3 мкм, диаметр пор 100 Å, Dr. Maisch GmbH, Аммербух-Энтринген, Германия).

Масс-спектрометрический анализ фракций пептидов осуществлялся при помощи программы Xcalibur (Thermo Electron, Бремен, Германия) в 2-стадийном режиме автоматического измерения спектров. В качестве подвижной фазы использовались растворитель А: H₂O–HCOOH (1000:1, по объему), растворитель В: CH₃CN–HCOOH (1000:1, по объему). Выполнялась градиентная хроматография с линейным увеличением относительного содержания растворителя В в потоке от 5 до 50 % за 90 мин, после каждого эксперимента система промывалась 95 %-ным ацетонитрилом в течение 15 мин, а затем 100 %-ным растворителем А еще 5 мин. Измерение масс-спектров продуктов хроматографического разделения производилось в диапазоне от 300 до 1600 m/z.

Список из точных масс пептидов и масс их фрагментов использовали для поиска и идентификации белков по базе данных IPI-human (Международные индексы белков, International protein indices) при помощи программы Mascot (Matrix Science, Лондон, Великобритания). Для анализа тканеспецифичности экспрессии и преимущественной тканевой локализации белков, выявленных в моче, использовали базу данных TiGER. Для оценки сверхпредставленности молекулярных функций и биологических процессов, связанных с выявленными белками, использовался Hypergeometric test (Fisher's exact test) с поправкой на

Таблица 1

Список белков, частота выявления которых в моче достоверно коррелирует с солепотреблением

Название белка	Название гена	R	Corr p-val
Кагерин-1	CDH1	0,89	7,00E-06
Гемопексин	HPX	0,89	7,69E-06
Антиген CD14 дифференциации моноцитов	CD14	0,84	8,37E-05
Соль-активируемая липаза желчи	CEL	0,86	3,37E-05
Альфа-1 цепь коллагена VI	COL6A1	0,85	7,47E-05
Цистатин-С	CST3	0,86	7,04E-05
Цистатин-М	CST6	0,84	9,13E-05
Гелсолин	GSN	0,83	0,00
Ингибитор интер-альфа-трипсина тяжелой цепи H4	ITIH4	0,84	0,00
Рецептор гиалуронана 1 эндотелия лимфатических сосудов	LYVE1	0,85	6,00E-05
Глутаминил-пептид-циклотрансфераза	GPCT	0,83	0,00
α-N-ацетилглюкозаминидаза	NAGLU	0,82	0,00
Фибронектин	FN1	0,81	0,00
Эндосалин	CD248	0,80	0,00
Молекулы клеточной адгезии 4	CADM4	0,80	0,00
L-лактатдегидрогеназа В цепь	LDHB	0,80	0,00
Хондроитинсульфатпротеогликан 4	CSPG4	0,79	0,00
Бета-амилоид белка A4	APP	0,78	0,00
Аминопептидаза N	ANPEP	0,78	0,00
Кишечная мальтаза-глюкоамилаза	MGAM	0,785	0,00
Каппа-цепи Ig V-IV регион JI	-	0,77	0,00

Примечание. R – коэффициент корреляции Пирсона; corr p-value – p-value с поправкой Бенджамини – Хокберга (Benjamini – Hochberg) на множественность сравнения.

множественное сравнение Бенджамини – Хокберга (Benjamini – Hochberg). Расчеты проводились с помощью программы BiNGO. Построение ассоциативных генных сетей между белками осуществлялось с помощью ANDSystem [11].

Таблица 2

Связанные с уровнем
солепотребления ткани и их белки

Ткани	Число белков
Клетки крови	1
Кости	2
Костный мозг	1
Сердце	1
Почки	1
Печень	2
Поджелудочная железа	1
Кожа	2
Мягкие ткани	2

Результаты и обсуждение

Результаты хромато-масс-спектрометрического анализа всех образцов были представлены в виде комплекта из 121 файла в формате html, являющихся отчетами по идентификации IPI-индексов белков в базе данных Mascot. Файлы содержали список из 2037 различных IPI-индексов белков со значением Score от 20 до 1700. Всего среди более чем 20 тыс. выявленных пептидов было обнаружено 690 протеотипических, т.е., содержащих уникальные последовательности аминокислот, присущих только 1 белку человека. По ним было идентифицировано около 600 белков, пополнивших базу данных белков мочи здорового человека.

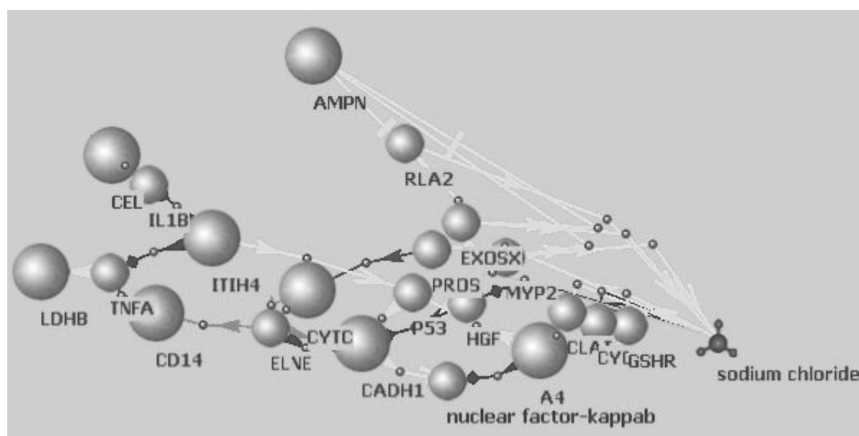


Рисунок. Ассоциативная сеть взаимодействия белков с NaCl, выявленных с помощью программы ANDvisio.

Маленькие шары – добавленные при реконструкции молекулярных цепей «новые» белки (т.е. невыявляемые в данном исследовании); линии и точки показывают отдельные взаимодействия между парой белков

Для определения белков, непосредственно связанных с различным солепотреблением во время изоляции, был взят список белков 105-суточного эксперимента и определена их связь с приемом соли. Анализ данных показал, что частота выявления в образцах не всех белков, но 21 из них достоверно коррелирует с изменением режима солепотребления (табл. 1).

С помощью программы ANDvisio была определена ассоциативная сеть взаимодействия данных белков с NaCl, где крупными шарами выделены белки, достоверно коррелирующие с солепотреблением (рисунок).

Изучение тканевой принадлежности белков, ассоциированных с уровнем потребления NaCl, было выполнено для белков, внесенных в табл. 1, однако только для 13 из них была определена тканевая принадлежность с помощью базы данных Tiger (табл. 2).

В некоторых из этих тканей, возможно, происходит не только экспрессия белков, связанных корреляционными связями с уровнем потребления натрия, но и накопление, депонирование натрия. Основываясь на данных, полученных в исследованиях на крысах, при установлении локуса депонирования обменнспособного связанного натрия, можно утверждать, что его преимущественная аккумуляция происходит в костях и коже [12, 13]. В условиях острой нагрузки натрием у крыс накопление происходит в костях [13], скелетной мускулатуре и печени [6], коже [12]. У крыс линии Sprague – Dawley при высоком потреблении соли содержание натрия в коже растет, в то время как общее содержание натрия в организме, колеблясь в широких пределах от 37,0 до 77,5 ммоль/кг массы тела, зависит от его содержания в пище [13]. Повышенное

потребление соли (8 % NaCl с 1 %-ным солевым раствором в качестве питьевого раствора) у крыс привело к накоплению Na^+ в коже, способствуя увеличению интерстициального тонуса наряду с гиперплазией лимфокапиллярной сети [14]. В экспериментах на животных показано, что кожа является не только важным осмотически неактивным Na^+ хранилищем у крыс. Известно, что кожа является самым большим органом с внеклеточным пространством, насыщена сосудами и состоит в основном из компонентов внеклеточного матрикса и гликозаминогликанов. Осмотически неактивное хранение Na^+ в коже сопровождается изменениями в протеогликанах, что выражается их полимеризацией и сульфатацией [15].

Эндотелиальный гликокаликс, анионный биополимер, покрывающий внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, участвует в механизмах Na^+ гомеостаза, поскольку он способен временно депонировать преимущественно ионы натрия [16]. Он, видимо, служит в качестве защиты от быстрого поглощения натрия клетками через эндотелиальные натриевые каналы (ENaCs), замедляя в определенной степени поток ионов натрия из крови в интерстиций [17]. Экспериментальные данные указывают, что Na^+ является одним из критических кофакторов развития гипертрофии миокарда, особенно при избытке минералокортикоидов, что наблюдается как при наличии, так и отсутствии повышенного АД [18]. При этом гипертрофия миокарда, вызванная повышенным потреблением соли, может быть уменьшена большим потреблением солей K^+ [19, 20]. Гипертрофия левого желудочка как проявление универсальных механизмов ремоделирования миокарда, развивается также вследствие прямой активации солями Na^+ тканевой ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и симпатической нервной системы как у соль-чувствительных, так и у соль-резистентных пациентов [18, 20].

При использовании программы BiNGO было выявлено 90 процессов, в которых участвуют белки, связанные с солепотреблением (21 протеин). Считали, что сверхпредставленные процессы – это статистически значимо более представленные по сравнению с некоторой референсной (контрольной) группой процессы, «обеспеченные» выделенными белками. В качестве контроля выбирались все белки человека, для которых известны биологические процессы, в которых они являются участниками. Среди наиболее сверхпредставленных биологических процессов тех белков, что оказались

корреляционно связаны с солепотреблением в эксперименте, можно выделить:

- метаболизм и катаболизм гликозаминогликанов и аминогликанов;
- анатомический структурный морфогенез;
- ответ на аминокислотный стимул;
- клеточную адгезию;
- организацию внеклеточного матрикса.

Выводы

1. В результате хромато-масс-спектрометрического анализа протеомного состава мочи, полученной от добровольцев в 105-суточной изоляции, было идентифицировано около 600 белков, пополнявших базу данных белков мочи здорового человека. Показано, что из них 21 белок достоверно коррелирует с изменением режима солепотребления в эксперименте. Для этих белков определена тканевая принадлежность по базе данных Tiger.

2. Наибольшее число белков, частота выявления которых коррелировала с солепотреблением, экспрессировалось в таких тканях, как кости, кожа, печень и мягкие ткани.

3. С помощью программы Vingo определены сверхпредставленные биологические процессы, которыми оказались метаболизм (анаболизм и катаболизм) гликозаминогликанов, анатомический структурный морфогенез, клеточная адгезия, организация внеклеточного матрикса и др.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-04-02463 А правительства Москвы в рамках научного проекта № 15-38-70039 «мол_а_мос», при частичной поддержке фундаментальных исследований РАН и научных школ.

Список литературы

1. Драгунов Д.О. Натрийурез у больных с гипертонической болезнью I и II стадии, осложненной хронической сердечной недостаточностью: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2014.

Dragunov D.O. Natriuresis in patients with hypertension stage I and II, complicated with chronic heart failure: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata meditsinskikh nauk. – Moscow, 2014.

2. Stamler J. The INTERSALT study: background, methods, findings, and implications // Am. J. Clin. Nutr. 1997. V. 65. (2 Suppl). P. 626–642.

3. Титце Й., Ларина И.М., Гариб К. и др. Исследование баланса натрия во время продолжительной изоляции человека в наземной модели космической станции // Физиология человека. 2003. Т. 29. № 5. С. 90–101.

Titze J., Larina I.M., Garib K. et al. Investigation of sodium balance during prolonged isolation of man in ground-based space station model // Fiziologiya cheloveka. 2003. V. 29. № 5. P. 90–101.

4. Titze J., Dahlmann A., Lerchl K. et al. Spooky sodium balance // Kidney Int. 2014. V. 85. № 4. P. 759–767.

5. Штеренталь И.Ш., Николаева А.А., Николаев К.Ю. и др. Особенности гормональной и сосудистой реакции на кратковременную солевую нагрузку у больных с пограничной артериальной гипертензией в зависимости от уровня психоэмоционального напряжения // Кардиология. 1993. Т. 33. № 10. С. 35–38.

Shterental I.Sh., Nikolaeva A.A., Nikolaev K.Yu. et al. Features of hormonal and vascular reactions to short-term salt load in patients with borderline hypertension in depend of the level of emotional stress // Kardiologiya. 1993. V. 33. № 10. P. 35–38.

6. Тернер А.Я. Гормональные реакции на водно-солевые нагрузки у людей. Интеграция функциональных систем в онтогенезе. Новосибирск, 1994.

Terner A.Ya. Hormonal response to water-salt load in humans. Integration of functional systems in ontogenesis. Novosibirsk, 1994. P. 132–147.

7. Guyton A.C., Coleman T.G., Cowley A.V.Jr. et al. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension // Am. J. Med. 1972. V. 52. № 5. P. 584–594.

8. Rodriguez-Iturbe B., Vaziri N.D. Salt-sensitive hypertension-update on novel findings // Nephrol. Dial. Transplant. 2007. V. 22. № 4. P. 992–995.

9. Моруков Б.В., Демин Е.П., Васильева Г.Ю. Эксперимент со 105-суточной изоляцией, моделирующий элементы межпланетной экспедиции к Марсу: задачи, объем и структура исследований // Авиакосм. и экол. мед. 2010. Т. 44. № 4. С. 3–5.

Morukov B.V., Demin E.P., Vasilyeva G.Yu. Experiment with the 105-day isolation simulating elements of an interplanetary expedition to Mars: objectives, scope and structure of the research // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2010. V. 44. № 4. P. 3–5.

10. Fliser D., Wittke S., Mischak H. Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry for clinical diagnostic purposes // Electrophoresis. 2005. V. 26. V. 14. P. 2708–2716.

11. Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V. ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology // BMC System Biology. 2015. V. 9 (Suppl. 2). P. 2

12. Иванова Л.Н., Арчибасова В.К., Штаренталь И.Ш. Натрийдепонирующая функция кожи у белых крыс // Физиол. журн. СССР им. И.М. Сеченова. 1978. Т. 64. № 3. С. 280–295.

Ivanova L.N., Archibasova V.K., Shtarental I.Sh. Sodium deposited function of the skin of white rats // Fiziologicheskii zhurnal SSSR imeni I.M. Sechenova. 1978. V. 64. № 3. P. 280–295.

13. Titze J., Krause H., Hecht H. et al. Reduced osmotically inactive Na storage capacity and hypertension in the Dahl model // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2002. V. 283. № 1. P. 134–141.

14. Kanbay M., Chen Y., Solak Y., Sanders P.W. Mechanisms and consequences of salt sensitivity and dietary salt intake // *Curr.Opin. Nephrol. Hypertens.* 2011. V. 20. № 1. P. 37–43.

15. Tyan S.W., Hsu C.H., Peng K.L. et al. Breast cancer cells induce stromal fibroblasts to secrete ADAMTS1 for cancer invasion through an epigenetic change // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 4. P. 35128.

16. Weinbaum S., Tarbell J.M., Damiano E.R. The structure and function of the endothelial glycocalyx layer // *Ann. Rev. Biomed. Eng.* 2007. V. 9. P. 121–167.

17. Oberleithner H. A physiological concept unmasking vascular salt sensitivity in man // *Pflugers Arch.* 2012. V. 464. № 3. P. 287–293.

18. Frohlich E.D. Target organ involvement in hypertension: a realistic promise of prevention and reversal // *Med. Clin. North Am.* 2004. V. 88. № 1. P. 209–221.

19. Burnier M., Phan O., Wang Q. High salt intake: a cause of blood pressure-independent left ventricular hypertrophy? // *Nephrol. Dial Transplant.* 2007. V. 2. № 9. P. 2426–2429.

20. Потешкина Н.Г. Потребление соли. Сердечно-сосудистая система как орган-мишень. Ч. 3. // *Рос. кардиол. журн.* 2012. № 6. С. 84–90.

Poteshkina N.G. The consumption of salt. Cardiovascular system as the target organ. Part 3 // *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal.* 2012. № 6. P. 84–90.

Поступила 15.12.2015

PROTEOMIC ANALYSIS OF URINE UNDER CONTROLLED SALT INTAKE IN PROJECT «MARS-500»

Pastushkova L.Kh., Kashirina D.N., Kononikhin A.S., Starodubtseva N.L., Dobrokhoto I.V., Tiys E.S., Larina I.M.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 21–26

Specifics of urine proteome is sensitive to a multitude of factors. One is nutrition or entrance in organism of main nutrients including salt (NaCl). Purpose of the investigation was to study the proteomic composition of healthy human urine in the controlled environment of a 105-day isolation experiment (project «Mars-500») with various levels of salt intake. Analysis was performed using the present-day proteomics techniques based on chromatography-mass spectrometry and bio-informatics options. An attempt was made to correlate changes in processes and physiological systems with the controlled salt intake. As a result, a list of proteins directly responsible for different salt intake during the experiment and then a list of tissues where these proteins express predominantly were compiled; besides, analysis of the processes these proteins are involved in was performed.

Key words: salt intake, urine proteome, isolation, healthy people.

УДК 613.693+576.3

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОСКЕЛЕТНЫХ БЕЛКОВ В ООЦИТАХ ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ ПЛОДОВОЙ МУШКИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ 44,5-СУТОЧНОГО КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Куприянова М.С.^{1, 2}, Усик М.А.^{1, 2}, Огнева И.В.^{1, 2}

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

E-mail: iogneva@yandex.ru

После 44,5-суточного полета космического аппарата «Фотон-М4» (Россия, 2014), на борту которого находились плодовые мушки *Drosophila melanogaster* линии Canton S, были получены личинки 3-й стадии развития 3-го поколения. Далее, в условиях лаборатории, из этих личинок получили 3-е поколение мух, у самок которых на 2-е сутки после вылета извлекали яичники (группа pF). Аналогично после синхронного эксперимента получали 3-е поколение (группа C).

Методом ОТ-ПЦР в реальном времени и вестерн-блоттинга определяли содержание цитоскелетных белков и мРНК-кодирующих их генов.

Содержание мРНК-генов, кодирующих бета- (Act57B и Act87E), гамма-актин (Act5C), актиносвязывающие белки (Arpc3, Tmod, Svil, Fim и Actn), а также тубулин (Betatub85D) и тубулинсвязывающие белки (Msps, T-cp1, Cct5, T-cp1eta), в группе pF было снижено по сравнению с контрольной группой.

Относительное содержание компонентов актинового цитоскелета достоверно снижалось и в мембранной, и в цитоплазматической фракциях в группе pF по сравнению с группой C, однако снижение в цитоплазматической фракции было более выраженным. Напротив, снижение содержания компонента тубулинового цитоскелета – бета-тубулина было более значительным в мембранной фракции белков в группе pF по сравнению с группой C. Однако изменений в содержании ацетилированного тубулина ни в мембранной, ни в цитоплазматической фракциях белков яичников в экспериментальной группе pF по сравнению с контрольной группой C не отмечалось. Полученные данные позволяют предположить наличие в животных клетках, в частности в ооцитах, механизма регуляции сегрегации этих белков в зависимости от внешних механических условий.

Ключевые слова: микрогравитация, ооцит, цитоскелет, актиносвязывающие белки, тубулин-связывающие белки.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 27–34.

DOI: 10.26187/0233-528X-2016-50-4-27-34

В условиях космического полета (КП) и при моделировании его эффектов на Земле на различных объектах (*Xenopus laevis*, *Pleurodeles Walti*,

Drosophila melanogaster) показано, что на ранних стадиях эмбриогенеза имеют место нарушения, которые могут нивелироваться на более поздних стадиях эмбрионального развития [1–7]. Кроме того, изменения, которые сохраняются на поздних стадиях развития эмбрионов, например, у эмбрионов японского перепела [8–10], у эмбрионов крыс аналогичного срока развития [11–13], после рождения на Земле довольно быстро сглаживаются относительно контроля. Однако механизм подобного нивелирования до сих пор остается неясным, как и влияние изменения силы тяжести на половые клетки, в частности ооциты. Исследования последних в условиях КП затруднены в том числе и тем, что в процессе раннего развития эмбриона происходит миграция первичных половых клеток к зачаткам гонад, что приводит к необходимости получения последующих поколений изучаемых организмов и представляется возможным при работе с плодовой мушкой *Drosophila melanogaster*.

На сегодняшний день показано, что изменение направления силы тяжести при клиностаტიровании эмбриональных стволовых клеток снижает их способность к образованию эмбрионидных тел [14, 15], клиностаტიрование которых, в свою очередь, увеличивало количество бета-III тубулин-положительных клеток (ранние нейробласты) и незначительно снижало число MAP2-положительных клеток (поздние нейробласты) в ходе спонтанной нейрональной дифференцировки [14, 15].

Выявлено, что моделирование эффектов микрогравитации для мезенхимальных стволовых клеток приводит к ингибированию остеогенной дифференцировки и активации программы адипогенной дифференцировки [16–23].

Изменения в различных культивируемых клетках могут быть связаны с реорганизацией актинового цитоскелета [24, 25], в частности, с разрушением F-актина, что приводит к активации Rho-зависимых сигнальных путей [16–18], а также может регулировать MAP-киназный каскад в результате уменьшения уровня фосфорилирования ERK1/2^{MARK} [16, 19, 22]. Изменение дифференцировочного потенциала

стволовых клеток после реальной или моделируемой микрогравитации также может быть связано с реорганизацией цитоскелета, поскольку отдельные его структуры могут участвовать в определении пути дифференцировки [26, 27]. Кроме того, моделирование эффектов микрогравитации уже через сутки вызывает в мезенхимальных стволовых клетках транзиторное изменение уровня экспрессии генов, кодирующих белки актинового цитоскелета и ассоциированных с ним элементов, а также ухудшает их способность к адгезии [25].

Таким образом, представленные в литературе данные, полученные при моделировании эффектов КП, свидетельствуют о том, что различные типы клеток чувствительны к изменению вектора силы тяжести, что проявляется в изменении клеточного профиля, дезорганизации микротрубочек и микрофиламентов, увеличении числа апоптотических клеток в культуре [24, 28–32], а также изменении локализации митохондрий, их кластеризации [33]. Учитывая, что эти данные получены на культурах клеток, были проанализированы изменения ряда цитоскелетных белков яйцеклеток в яйцечниках *Drosophila melanogaster* 3-го поколения, 1-е из которых развивалось в условиях КП.

Методика

Материалом исследования служили яйцечники мух *Drosophila melanogaster* линии Canton S 3-го поколения мух, полученных после 44,5-суточного КП космического аппарата «Фотон-М4» (сроки полета: 19.07.14, 0:50 мск, Байконур, Казахстан – 01.09.14, 13:20 мск, Оренбургская область, Россия) и соответствующего синхронного эксперимента.

На борту биоспутника «Фотон-М4» объекты исследования были размещены в пластиковых пробирках объемом 50 мл типа Falcon в 3 блоках ББ-2 научной аппаратуры ББ-1Ф, в которых была обеспечена пассивная оксигенация за счет воздушной среды биоспутника. В каждый блок ББ-2 были помещены 30 пробирок, закрытых воздухопроницаемыми крышками. В пробирках находилась твердая стандартная (для разведения дрозофилы) питательная среда следующего состава: вода – 1000 мл, агар-агар – 7 г, сахарный песок – 40 г, манная крупа – 40 г, пекарские дрожжи – 25 г, пропионовая кислота – 10 мл.

За 80 ч до старта биоспутника имаго *Drosophila melanogaster* линии Canton S (3–5 пар самок и самцов) возрастом 2 сут были помещены в пробирки, которые далее были загружены в научную аппаратуру ББ-1Ф. Все процедуры проводили при комнатной температуре (24–26 °С).

Во время нахождения на стартовом столе и полета биоспутника был осуществлен мониторинг состояния среды в биоспутнике, а также контроль температуры и газового состава среды. Средняя

температура в полете составила 18,1 °С, давление в аппарате – 100 529 Па, насыщение O_2 – 134,5 мм рт. ст., CO_2 – 2,22 мм рт. ст., влажность – 39,6 %. Синхронный наземный контроль проводили в тех же температурных условиях и при поддержании воздушного состава среды, аналогичного тому, что был измерен во время полета биоспутника. Процедуры подготовки и загрузки биообъектов были аналогичны таковым перед стартом биоспутника, так же как и распределение биоматериала для исследований после окончания срока эксперимента.

После посадки биоспутника и окончания синхронного эксперимента часть личинок 3-й стадии развития были оставлены для содержания в лабораторных условиях на стандартной среде для последующего получения их 3-го поколения, у виргинных самок которого на 2-е сутки после вылета извлекали яйцечники.

Соответственно, яйцечники, выделенные из мух 3-го поколения после КП, были экспериментальной группой рF, а после синхронного контрольного эксперимента – контрольной группой С.

Определение содержания мРНК методом количественной полимеразной цепной реакции

Для определения содержания мРНК генов, кодирующих ряд цитоскелетных и метаболических белков, выделяли тотальную РНК из замороженных яйцечников части мух, используя RNeasy Micro Kit (Qiagen, Германия), согласно инструкции производителя. Обратную транскрипцию осуществляли, используя в качестве затравки $d(T)_{15}$ и 500 нг РНК. Для оценки содержания мРНК исследуемых генов проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени с использованием праймеров, подобранных с помощью программы Primer3Plus (таблица). Для идентификации продукта использовали кривые плавления, для сравнения уровня содержания мРНК генов-мишеней – метод $2(-\Delta\Delta C(T))$ [34].

Определение содержания белков методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом

Для определения содержания ряда цитоскелетных белков яйцечники части мух замораживали при температуре жидкого азота. Приготовление экстрактов ткани для получения мембранной и цитоплазматической фракций белков проводили по методу, описанному в работе [35].

Денатурирующий электрофорез в полиакриламидном геле проводили по методу Лэмли на системе Bio-Rad (США). Опираясь на проведенное измерение концентрации, в каждую лунку вносили одинаковое количество белка. Перенос на нитроцеллюлозную мембрану проводили по методу, описанному в работе [36].

Таблица

Последовательность праймеров и размер продуктов

Ген	Направление	Последовательность праймера (5'...3')	Размер продукта, п.о.
<i>Act57B</i> (актин 57B, бета-актин)	Прямой	ccccatccactgttaatcg	115
	Обратный	tcggggaagttgttaggttc	
<i>Act87E</i> (актин 87E, бета-актин)	Прямой	aggaaccgcgattgtaacag	96
	Обратный	tcttggtctcctcaactcctc	
<i>Act5C</i> (актин 5C, гамма-актин)	Прямой	gatcgggatggtcttgattc	149
	Обратный	gtgggtccgctctttcatc	
<i>Arpc3</i> (Arp2/3 комплекс, субъед. 3)	Прямой	cccaataaatggtggacctg	119
	Обратный	accgctcgtagaagcaaac	
<i>Tmod</i> (тропомодулин)	Прямой	gacaaccaatccaaccaacc	70
	Обратный	ctgacgtccaattcatgtcg	
<i>Svil</i> (супервиллин)	Прямой	atgaggggtggatcagcttg	120
	Обратный	ttgaagcactggagttgcac	
<i>Fim</i> (фимбрин)	Прямой	agacctaccgcaattggatg	126
	Обратный	agttgacaatacccgcttg	
<i>Actn</i> (альфа-актинин)	Прямой	acaagccgaacattgaggag	96
	Обратный	gcgtttccatcgtgtagttg	
<i>Betatub85D</i> (бета-тубулин 2B)	Прямой	gtggcgcgcatgaataatag	119
	Обратный	atgctaaggcccaagatcc	
<i>Msp5</i> (гомолог СКАР 5)	Прямой	aaataacccccgaggaattg	127
	Обратный	cttatttcgccagaagctg	
<i>Tcp1</i> (Т-комплекс1)	Прямой	caagatcattggtgctgacg	83
	Обратный	cacggggatctgtgatttc	
<i>Cct5</i> (Т-комплекс, шаперонин 5)	Прямой	ggagtgcataaactccaagg	143
	Обратный	caccaccgtaacaatacgc	
<i>T-cp1eta</i> (субъединица 7 Тср-1)	Прямой	atcgtgctcctcaaagaagg	71
	Обратный	caggcattgatgttgacac	
<i>Cyt-c</i> (цитохром c)	Прямой	tgctggtgatgttgagaagg	99
	Обратный	agattgggtccaacctgtg	
<i>Gapdh</i> (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа)	Прямой	aaagcggcagtcgtaatagc	80
	Обратный	tcttcgacatggctgagttc	

Для определения каждого белка использовались специфические первичные моноклональные антитела в рекомендованных фирмами-производителями разведениях: для тотального актина – антитела на основе иммуноглобулинов кролика (Santa Cruz Biotechnology, Inc., США) в разведении 1:100, для бета-актина – антитела на основе иммуноглобулинов мыши (Abcam, Великобритания) в разведении 1:1000, для актинина – антитела на основе иммуноглобулинов крысы (Abcam, Великобритания) в концентрации 1 мкг/мл, для бета-тубулина – антитела на основе иммуноглобулинов мыши (Santa Cruz Biotechnology, Inc., США) в разведении 1:100, для ацетилированного тубулина – антитела на основе иммуноглобулинов мыши (Santa Cruz Biotechnology, Inc., США) в разведении 1:100.

В качестве вторичных антител использовали биотинилированные козы антигены против IgG

кролика (Jackson ImmunoResearch Lab., Inc., США) в разведении 1:10 000, против IgG мыши (Sigma, Германия) в разведении 1:20 000 и против IgG крысы (Sigma, Германия) в разведении 1:20 000.

Далее все мембраны обрабатывали раствором стрептавидина, конъюгированного с пероксидазой хрена (Sigma, Германия) в разведении 1:8000. Белковые полосы выявляли с помощью 3,3'-диаминобензидина (Merck, США).

Программа ImageJ была использована для анализа получаемых данных.

Полученные в ходе экспериментов результаты статистически обрабатывали с помощью ANOVA, используя для оценки достоверности отличий между группами пост-хоковский t-тест с уровнем значимости $p < 0,05$. Данные представляли в виде $M \pm SE$, где M – среднее арифметическое, SE – ошибка среднего значения.

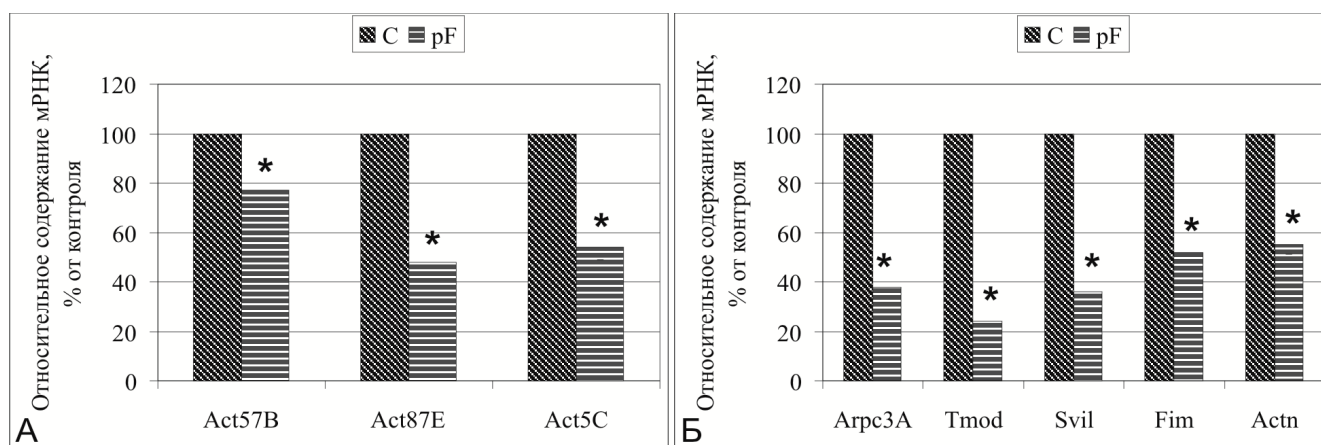


Рис. 1. Относительное содержание мРНК генов, кодирующих компоненты актинового цитоскелета.

А – изоформы актина (А): бета-актин (Act57B и Act87E) и гамма-актин (Act5C). Б – актиносвязывающие белки: субъединица 3 комплекса Arp2/3 (Arpc3A); тропомодулин (Tmod); супервиллин (Svll); фимбрин (Fim); альфа-актинин (Actn). Здесь и на рис. 2–5: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой С

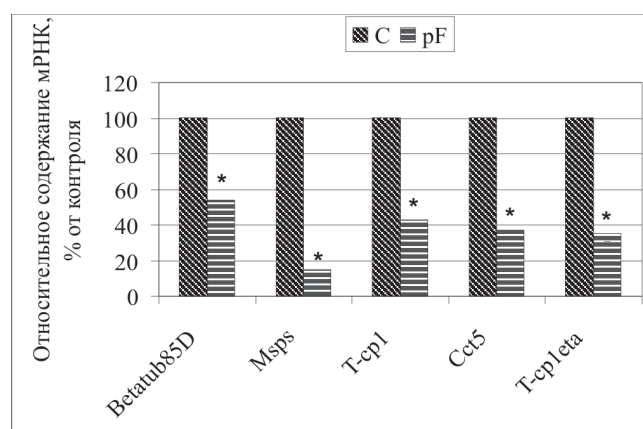


Рис. 2. Относительное содержание мРНК генов, кодирующих компоненты тубулинового цитоскелета: бета-тубулин 2В (Betatub85D); гомолог СКАР 5 (Msps); Т-комплекс1 (Tcrp1); шаперонин 5 Т-комплекса (Cct5); субъединица 7 Тср-1 (T-cp1eta)

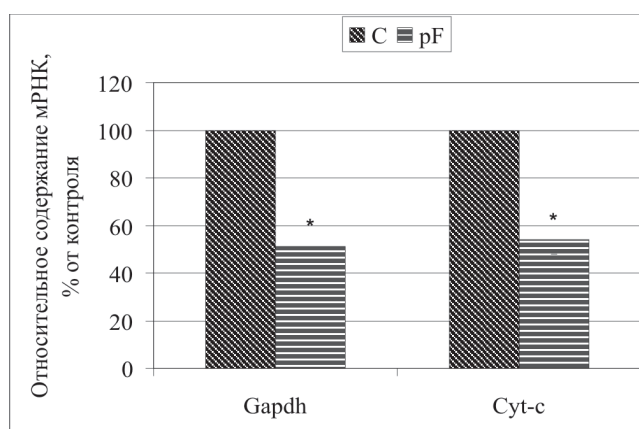


Рис. 3. Относительное содержание мРНК генов, кодирующих метаболические белки в яичниках: цитохром с (Cyt-c) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (Gapdh)

Результаты и обсуждение

Содержание мРНК генов, кодирующих некоторые цитоскелетные и метаболические белки

Полученные данные свидетельствуют о том, что в экспериментальной группе pF содержание мРНК генов, кодирующих различные цитоскелетные белки, было существенно снижено по сравнению с контрольной группой С.

Так, содержание мРНК генов, кодирующих бета- (Act57B и Act87E) и гамма-актин (Act5C), в группе pF было снижено по сравнению с контрольной группой на 23 % ($p < 0,05$), 52 % ($p < 0,05$) и 46 % ($p < 0,05$) соответственно (рис. 1, А). При этом

снижалось и содержание мРНК генов, кодирующих белки, связывающие как мономеры актина, так и актиновые филаменты (см. рис. 1, Б). Содержание мРНК генов, кодирующих белок 3 субъединицы комплекса Arp2/3 (Arpc3) и тропомодулина (Tmod) (белки, связывающие мономеры актина), в группе pF было достоверно ($p < 0,05$) меньше чем в группе С на 62 и 76 % соответственно. Комплекс ARP2/3 представляет собой макромолекулярный белковый комплекс, состоящий из ARP2, ARP3 и 5 дополнительных белков [37] и играет роль в нуклеации актиновых филаментов и соответственно в их образовании *de novo* [38]. В свою очередь, тропомодулин Tmod блокирует элонгацию актиновых филаментов [39].

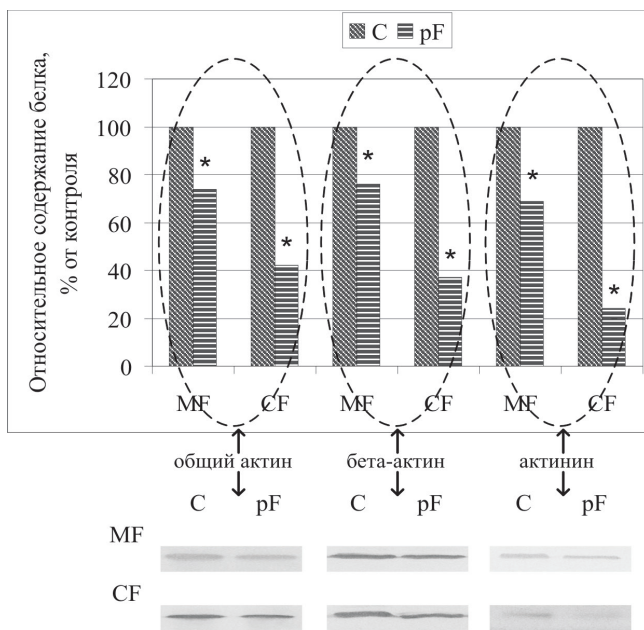


Рис. 4. Относительное содержание компонентов актинового цитоскелета в мембранной белковой фракции (MF) и цитоплазматической белковой фракции (CF) – общего актина, бета-актина, альфа-актинина

Содержание мРНК *Svil*, *Fim* и *Actn* (белки, связывающие филаменты актина) в группе pF также было достоверно ($p < 0,05$) меньше, чем в группе C, на 64, 48 и 45 % соответственно. Супервиллин – периферический мембранный белок, который связывает миозин II и F-актин в любой клетке, реорганизуя актиновый цитоскелет, и негативно регулирует стресс-фибриллы, фокально-адгезивные контакты и адгезию клеток на субстрате [40]. Фимбрин – белок семейства актиносвязывающих белков, является высококонсервативным в ряду эукариот и представлен в различных типах клеток [41]. В зависимости от уровня фосфорилирования он может связываться с F-актином в подмембранном цитоскелете и выступать в качестве основного организатора 3-мерной актиновой сети в клетке [42]. При этом альфа-актинин связывает кортикальный цитоскелет с мембраной и обеспечивает его взаимодействие с цитоплазматическими сигнальными белками [43].

Аналогичным вышеописанному образом менялось и содержание мРНК генов, кодирующих компоненты тубулинового цитоскелета (рис. 2). Содержание мРНК гена одной из субъединиц тубулина, *Betatub85D*, в группе pF было на 46 % ($p < 0,05$) меньше, чем в группе C. Содержание мРНК генов, кодирующих тубулинсвязывающие белки, также было достоверно ($p < 0,05$) снижено в группе pF по сравнению с контрольной группой: *Msp*s – на 85 %, *T-cp1* – на 57 %, *Cct5* – на 43 %, *T-cp1eta* – на 65 %. MSPS (mini spindles) – гомолог

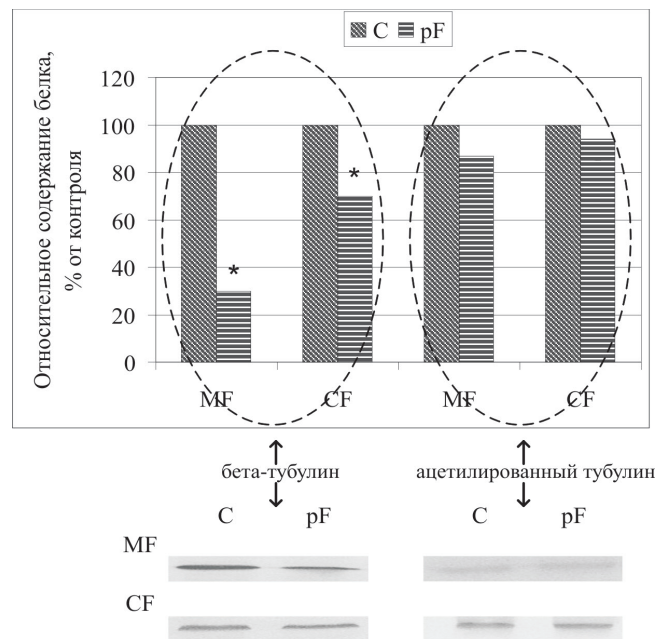


Рис. 5. Относительное содержание компонентов тубулинового цитоскелета в мембранной белковой фракции (MF) и цитоплазматической белковой фракции (CF) – бета-тубулина и ацетилированного тубулина

СКАР5 (XMAP215) – это цитоскелетный белок семейства XMAP215/Dis1 белков, который связывает микротрубочки между собой и мембраной, организуя тубулиновый цитоскелет. Кроме того, XMAP215 связывается с плюс-концом микротрубочек, препятствуя их разрушению [44], и участвует в формировании веретена деления в соматических клетках [45]. Белки TCP1, CCT5 и CCT7 входят в состав шаперонин-содержащего t-комплекса полипептидов 1, состоящего из 8 субъединиц (CCT 1–8) [46], который участвует в фолдинге цитоплазматических белков, в частности актина и тубулина. Вновь синтезированные альфа- и бета-субъединицы тубулина собираются в гетеродимеры в присутствии Mg и АТР с помощью TCP1 комплекса [47]. Содержание субъединиц CCT уменьшается со снижением активности шаперонов в зависимости от стадии клеточного цикла, в частности в М-фазе, восстанавливаясь в S-фазе [48]. Более того, комплекс TCP-1 участвует в биогенезе циклина E, способствующего движению клетки по клеточному циклу из фазы G1 в фазу S [49].

Содержание мРНК генов, кодирующих глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (*Gapdh*) и цитохром c (*Cyt-c*), также снижалось в группе pF по сравнению с группой C на 49 и 46 % ($p < 0,05$) соответственно (рис. 3). Учитывая данные об изменении локализации митохондрий, их кластеризации [33] можно предположить изменения метаболического статуса яйцеклеток мух 3-го поколения после КП.

Таким образом, содержание мРНК исследованных генов в послеполевой группе рФ было существенно снижено относительно уровня контроля (группы С). В связи с этим мы решили определить содержание ключевых компонентов как актинового, так и тубулинового цитоскелета в мембранной и цитоплазматической фракциях белков.

Относительное содержание компонентов актинового и тубулинового цитоскелета в мембранной и цитоплазматической фракциях белков

Относительное содержание компонентов актинового цитоскелета достоверно снижалось в мембранной и цитоплазматической фракциях в группе рФ по сравнению с группой С, но снижение в цитоплазматической фракции было более выраженным (рис. 4). Так, общий актин в мембранной фракции снизился на 26 % ($p < 0,05$), в цитоплазматической – на 58 % ($p < 0,05$), бета-актин – на 24 и 63 % ($p < 0,05$) соответственно, альфа-актинин – на 31 и 76 % ($p < 0,05$) соответственно. При этом содержание компонента тубулинового цитоскелета – бета-тубулина, наоборот, больше снизилось в мембранной фракции белков – на 70 % ($p < 0,05$), а в цитоплазматической – только на 30 % ($p < 0,05$) в группе рФ по сравнению с группой С (рис. 5). Однако изменений в содержании ацетилированного тубулина, т.е. стабильных микротрубочек, ни в мембранной, ни в цитоплазматической фракциях белков яичников в экспериментальной группе рФ по сравнению с контрольной группой С не отмечалось. Последнее может свидетельствовать о том, что функции тубулинового цитоскелета в формировании веретена деления и в целом в данном процессе не нарушены.

Таким образом, на фоне сходного снижения содержания мРНК генов, кодирующих компоненты актинового и тубулинового цитоскелета, перераспределение между белковыми фракциями было различным. В клетках животных, несмотря на присутствие во всех компартментах как актина, так и тубулина, доминирующую роль в образовании подмембранного цитоскелета играет актин, в то время как, например, формирование в цитоплазме веретена деления невозможно без тубулина. Поскольку локализация того или иного белка в клетке неслучайна, то можно предположить 2 варианта. Возможно, сегрегация изоформ актина по умолчанию сдвинута в сторону подмембранной локализации, а тубулин остается в цитоплазме, что в условиях снижения содержания соответствующих мРНК приводит к наблюдаемому перераспределению белка. С другой стороны, нельзя исключать, что снижение содержания соответствующего белка/мРНК задает подобное направление сегрегации.

Выводы

1. В яичниках 3-го поколения плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, 1-е поколение которой было получено в условиях КП, наблюдалось значительное снижение содержания мРНК генов, кодирующих ключевые цитоскелетные, в частности актин и тубулин, а также связывающие их белки, и метаболические белки (компонент цикла Кребса глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа и компонент дыхательной цепи митохондрий цитохром с).
2. Снижение содержания актина было более выраженным в цитоплазматической фракции по сравнению с мембранной фракцией белков в послеполевой группе, а тубулина – наоборот.
3. Учитывая особенности локализации и функционирования исследованных компонентов цитоскелета, можно предположить наличие в эукариотических клетках механизма регуляции сегрегации этих белков в зависимости от внешних механических условий.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Список литературы

1. Souza K.A., Black S.D., Wassersug R.J. Amphibian development in the virtual absence of gravity // Proc. Natl. Acad. Sci. 1995. V. 92. P. 1975–1978.
2. Husson D., Gualandris-Parisot L., Foulquier F. et al. Differentiation in microgravity of neural and muscle cells of a vertebrate (amphibian) // Adv. Space Res. 1998. V. 22. № 2. P. 303–308.
3. Li X., Noll M. Evolution of distinct developmental functions of three *Drosophila* genes by the acquisition of different cis-regulatory regions // Nature. 1994. V. 367. P. 83–87.
4. Parfyonov G.P., Platonova R.N., Tairbekov M.G. et al. Biological experiments carried out aboard the biological satellite Cosmos-936 // Life Sciences and Space Res. 1979. V. 17. P. 297–301.
5. Парфенов Г.П. Развитие организмов в состоянии невесомости // Косм. иссл. 1964. Вып. 2. С. 330–335.
Parfenov G.P. Development of organisms in a state of weightlessness // Kosmicheskie issledovaniya. 1964. V. 2. P. 330–335.
6. Парфенов Г.П. Генетические исследования в космосе // Там же. 1967. Вып. 5. С. 633–635.
Parfenov G.P. Genetic researches in space // Ibid. 1967. V. 5. P. 633–635.
7. Глембоцкий Я.Л. Генетические исследования в космосе // Там же. 1970. Вып. 8. С. 616–627.
Glembotskiy Ya.L. Genetic researches in space // Ibid. 1970. V. 8. P. 616–627.

8. Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Медникова Е.И. и др. Гистогенез внутренних органов эмбрионов японского перепела, развившихся в условиях невесомости // *Авиакосм. и экол. мед.* 2009. Т. 43. № 6. С. 8–13.
- Gur'eva T.S., Dadasheva O.A., Mednikova E.I. et al. Histogeny of the visceral organs of embryonic Japanese quails developed in the micro-g environment // *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2009. V. 43. № 6. P. 8–13.
9. Дадашева А.О., Гурьева Т.С., Сычев В.Н. и др. Особенности развития спинного мозга у эмбрионов и птенцов японского перепела в условиях комического полета // Там же. 2013. Т. 47. № 5. С. 3–6.
- Dadasheva A.O., Gur'eva T.S., Sychev V.N. et al. Spinal marrow development in Japanese quail embryos and chicklings in the spaceflight environment // *Ibid.* 2013. V. 47. № 5. P. 3–6.
10. Комиссарова Д.В., Дадашева О.А., Гурьева Т.С. и др. Гистогенез костной и хрящевой ткани эмбрионов японского перепела в условиях невесомости на завершающих стадиях эмбрионального развития // Там же. 2013. Т. 47. № 6. С. 24–28.
- Komissarova D.V., Dadasheva O.A., Gur'eva T.S. et al. Histogenesis of Japanese quail bone and cartilage tissues at the final stages of embryonic development in microgravity // *Ibid.* 2013. V. 47. № 6. P. 24–28.
11. Серова Л.В., Наточин Ю.В., Носовский А.М. и др. Влияние невесомости на систему мать-плод (Результаты эмбриологического эксперимента NIH-R1 на корабле «Шаттл») // Там же. 1996. Т. 30. №6. С. 4–8.
- Serova L.V., Natochin Yu.V., Nosovskiy A.M. et al. Effect of weightlessness on the mother-fetus system (results of embryological experiment NIH-R1 aboard the «Space Shuttle») // *Ibid.* 1996. V. 30. № 6. P. 4–8.
12. Савельев С.В., Серова Л.В., Бесова Н.В. и др. Влияние невесомости на развитие нейроэндокринной системы у крыс // Там же. 1998. Т. 32. №2. С. 31–36.
- Savel'ev S.V., Serova L.V., Besova N.V. et al. Effect of weightlessness on rats endocrine system development // *Ibid.* 1998. V. 32. № 2. P. 31–36.
13. Серова Л.В. Невесомость и развитие млекопитающих (проблема, результаты, перспективы) // Там же. 2001. Т. 35. № 2. С. 32–35.
- Serova L.V. Microgravity and development of the mammals: problems, results, prospects // *Ibid.* 2001. V. 35. № 2. P. 32–35.
14. Konstantinova N.A., Buravkova L.B., Manuilova E.S. et al. The effects of gravity vector randomization on mouse embryonic stem cells in vitro // *J. Grav. Physiol.* 2006. V. 13. № 1. P. 149–150.
15. Buravkova L.B., Romanov Yu.A., Konstantinova N.A. et al. Cultured stem cells are sensitive to gravity changes // *Acta Astronautica*. 2008. Is/ 63. P. 603–608.
16. Zayzafoon M., Gathings W.E., McDonald J.M. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis // *Endocrinol.* 2004. V. 145. № 5. P. 2421–2432.
17. Meyers V.E., Zayzafoon M., Gonda S.R. et al. Modeled microgravity disrupts collagen I/integrin signaling during osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells // *J. Cell. Biochem.* 2004. V. 93. № 4. P. 697–707.
18. Meyers V.E., Zayzafoon M., Douglas J.T. et al. RhoA and cytoskeletal disruption mediate reduced osteoblastogenesis and enhanced adipogenesis of human mesenchymal stem cells in modeled microgravity // *J. Bone Miner. Res.* 2005. V. 20. № 10. P. 1858–1866.
19. Dai Z.Q., Wang R., Ling S.K. et al. Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells // *Cell Prolif.* 2007. V. 40. № 5. P. 671–684.
20. Patel M.J., Liu W., Sykes M.C. et al. Identification of mechanosensitive genes in osteoblasts by comparative microarray studies using the rotating wall vessel and the random positioning machine // *J. Cell Biochem.* 2007. V. 101. №3. P. 587–599.
21. Gershovich J.G., Konstantinova N.A., Gershovich P.M. et al. The primary effects of prolonged gravity vector randomization (2D-clinorotation) on precursor's cells in vitro // *J. Grav. Physiol.* 2007. V. 14. № 1. P. 133–134.
22. Pan Z., Yang J., Guo C. et al. Effects of hindlimb unloading on ex vivo growth and osteogenic/adipogenic potentials of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in rats // *Stem Cell Dev.* 2008. V. 17. № 4. P. 795–804.
23. Huang Y., Dai Z.Q., Ling S.K. et al. Gravity, a regulation factor in the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells // *J. Biomed. Sci.* 2009. V. 21. P. 16–87.
24. Plett P.A., Abonour R., Frankovitz S.M. et al. Impact of modeled microgravity on migration, differentiation and cell cycle control of primitive human hematopoietic progenitor cells // *Exp. Hematol.* 2004. Is. 32. P. 773–781.
25. Gershovich P.M., Gershovich J.G., Buravkova L.B. Simulated microgravity alters actin cytoskeleton and integrin-mediated focal adhesions of cultured human mesenchymal stromal cells // *J. Grav. Physiol.* 2008. V. 15. № 1. P. 203–204.
26. Sordella R., Jiang W., Chen G.C. et al. Modulation of Rho GTPase signaling regulates a switch between adipogenesis and myogenesis // *Cell.* 2003. V. 113. № 2. P. 147–158.
27. McBeath R., Pirone D.M., Nelson C.M. et al. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment // *Dev. Cell.* 2005. V. 6. № 4. P. 483–495.
28. Sakar D., Nagaya T., Koga K. et al. Culture in vector-averaged gravity environment in a clinostat results in detachment of osteoblastic ROS 17/2.8 // *Cells Environ. Med.* 1999. V. 43. № 1. P. 22–24.
29. Uva B.M., Masini M.A., Sturla M. et al. Clinorotation-induced weightlessness influences the cytoskeleton of glial cells in culture // *Brain Res.* 2002. V. 934. P. 132–139.
30. Gaboyard S., Blachard M.P., Travo B.T. et al. Weightlessness affects cytoskeleton of rat utricular hair cells during maturation in vitro // *NeuroReport.* 2002. V. 13. № 16. P. 2139–2142.
31. Kacena M.A., Todd P., Landis W.J. Osteoblasts subjected to spaceflight and simulated space shuttle launch

conditions // *In Vitro Cell Dev. Biol. – Animal*. 2004. V. 39. № 10. P. 454–459.

32. Crawford-Young S.J. Effects of microgravity on cell cytoskeleton and embryogenesis // *Int. J. Dev. Biol*. 2006. V. 50. № 2–3. P. 183–191.

33. Schatten H., Lewis M.L., Chakrabarti A. Spaceflight and clinorotation cause cytoskeleton and mitochondria changes and increases in apoptosis in cultured cells // *Acta Astronautica*. 2001. V. 49. № 3–10. P. 399–418.

34. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method // *Methods*. 2001. V. 25. P. 402–408.

35. Vitorino R., Ferreira R., Neuparth M. et al. Subcellular proteomics of mice gastrocnemius and soleus muscles // *Anal. Biochem*. 2007. V. 366. № 2. P. 156–169.

36. Towbin H., Staehlin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some application // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1970. V. 76. P. 4350–4354.

37. Welch M.D., Depace A.H., Verma S. et al. The human Arp2/3 complex is composed of evolutionarily conserved subunits and is localized to cellular regions of dynamic actin filament assembly // *J. Cell Biol*. 1997. V. 138. P. 375–384.

38. Pollard T.D., Borisy G.G. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments // *Cell*. 2003. V. 112. P. 453–465.

39. Wear M.A., Cooper J.A. Capping protein: new insights into mechanism and regulation // *Trends Biochem. Sci*. 2004. V. 29. P. 418–428.

40. Crowley J.L., Smith T.C., Fang Z. et al. Supervillin reorganizes the actin cytoskeleton and increases invadopodial efficiency // *Mol. Biol. Cell*. 2009. V. 20. № 3. P. 948–962.

41. Matsushima K., Shiroy M., Kung H.F. et al. Purification and characterization of a cytosolic 65-kilodalton phosphoprotein in human leukocytes whose phosphorylation is augmented by stimulation with interleukin 1 // *Biochem*. 1988. V. 27. P. 3765–3770.

42. Janji B., Giganti A., De Corte V. et al. Phosphorylation on Ser5 increases the F-actin-binding activity of L-plastin and promotes its targeting to sites of actin assembly in cells // *J. Cell Sci*. 2006. V. 119. P. 1947–1960.

43. Baron M.D., Davison M.D., Jones P. et al. The structure and function of alpha-actinin // *Biochem. Soc Trans*. 1987. V. 15. P. 796–798.

44. Cassimeris L., Morabito J. TOGp, the human homolog of XMAP215/Dis1, is required for centrosome integrity, spindle pole organization, and bipolar spindle assembly // *Mol. Biol. Cell*. 2004. V. 15. P. 1580–1590.

45. Gergely F., Draviam V.M., Raff J.W. The ch-TOG/XMAP215 protein is essential for spindle pole organization in human somatic cells // *Genes Dev*. 2013. V. 17. P. 336–341.

46. Knee K.M., Sergeeva O.A., King J.A. Human TRiC complex purified from HeLa cells contains all eight CCT subunits and is active in vitro // *Cell Stress Chaperones*. 2013. V. 18. P. 137–144.

47. Yaffe M.B., Farr G.W., Miklos D. et al. TCP1 complex is a molecular chaperone in tubulin biogenesis // *Nature*. 1992. V. 358. P. 245–248.

48. Yokota S., Yanagi H., Yura T. et al. Cytosolic chaperonin-containing t-complex polypeptide 1 changes the content of a particular subunit species concomitant with substrate binding and folding activities during the cell cycle // *Eur. J. Biochem*. 2001. V. 268. P. 4664–4673.

49. Won K.-A., Schumacher R.J., Farr G.W. et al. Maturation of human cyclin E requires the function of eukaryotic chaperonin CCT // *Mol. Cell Biol*. 1998. V. 18. № 12. P. 7584–7589.

Поступила 07.12.2015

CONTENT OF CYTOSKELETON PROTEINS IN OOCYTES OF THIRD GENERATION *DROSOPHILA MELANOGASTER* FRUIT FLIES OBTAINED AFTER A 44.5-DAY SPACE FLIGHT

Kupriyanova M.S., Usik M.A., Ogneva I.V.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 27–34

Third-stage larvae of the third generation of Drosophila melanogaster Canton S fruit flies were obtained after a 44.5-day flight of spacecraft «Foton-M4» (Russia, 2014). In laboratory, the larvae grew into a third generation of flies. On the second day of emergence ovaries were extracted from female flies (group pF). Similarly, a third generation of flies (group C) was raised in the synchronous experiment.

Real-time RT-PCR and Western blotting were used to determine the content of cytoskeletal proteins and mRNA of respective encoding genes.

The content of mRNA genes encoding beta (Act57B and Act87E), gamma-actin (Act5C), actin-binding proteins (Arpc3, Tmod, Svll, Fim and Actn), and tubulin (Betatub85D) and tubulin-binding proteins (Mps, T-cp1, Cct5, T-cp1eta) was less in group pF but not in the control group.

The relative content of actin cytoskeleton components reduced significantly both in membrane and cytoplasmic fractions in group pF as compared to group C; however, reduction of the cytoplasmic fraction was more dramatic. On the contrary, content of beta-tubulin, a component of the tubulin cytoskeleton, reduced more significantly in the membrane fraction in group pF but not in group C. However, the acetylated tubulin content of ovarian membrane or cytoplasmic protein fraction was found unchanged both in the pF and C groups. The data suggest the presence in animal cells, oocytes specifically, of a mechanism regulating segregation of these proteins depending on external mechanical factors.

Key words: microgravity, oocyte, cytoskeleton, actin-binding proteins, tubulin-binding proteins.

УДК 629.78+631.234+628.97:001.891.5

ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ РАСТЕНИЙ ДЛЯ КОСМИЧЕСКОЙ ОРАНЖЕРЕИ «ВИТАЦИКЛ-Т»

Коновалова И.О.¹, Беркович Ю.А.¹, Ерохин А.Н.¹, Смолянина С.О.¹, Яковлева О.С.²,
Знаменский А.И.², Тараканов И.Г.², Радченко С.Г.³, Лапач С.Н.³

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

³Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», Киев, Украина

E-mail: pet-nelli@yandex.ru

В ходе 3-факторного эксперимента с 24-дневными вегетациями посевов китайской капусты *Brassica chinensis* L. продемонстрирована зависимость накопления массы сухого вещества растений от режимов освещения посевов с помощью разработанного облучателя, выполненного на основе белых (цветовая температура 4000 К) и красных (660 нм) светодиодов (СД). По результатам эксперимента построены регрессионные зависимости накопленной растениями массы сухого вещества, а также критерия оптимальности режима освещения – произведения массы накопленного растениями сухого вещества на КПД фотосинтеза посева растений от 3 параметров светодиодного режима освещения: от плотности потока фотонов (ППФ), падающего на посев, от соотношения ППФ от красных и белых СД и от периода следования световых импульсов. Для посевов китайской капусты получены следующие оптимальные параметры светодиодного освещения: усредненная по времени ППФ – 500 мкмоль/(м²·с), отношение уровней ППФ от красных и белых СД – 1,5 и период следования световых импульсов – 501 мкс. С учетом максимально допустимой мощности энергопотребления для проектируемой витаминной оранжереи «Витацикл-Т» рекомендован режим круглосуточного освещения со следующими параметрами: ППФ – 430 мкмоль/(м²·с), отношение ППФ_{кр}/ППФ_{бел} – 1,5, характер излучения – непрерывный.

Ключевые слова: космическая оранжерея, оптимальное освещение посева, светоизлучающие диоды, спектральный состав света, импульсное освещение, продуктивность посева, регрессионный анализ, планирование эксперимента.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 35–41.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-35-41

По мнению ряда специалистов, единственным биологическим звеном в системах жизнеобеспечения (СЖО) пилотируемых космических аппаратов в ближайшие десятилетия будут относительно небольшие космические оранжереи (КО) для производства овощей с энергопотреблением до нескольких кВт [1, 2]. Удачная конструкция системы

освещения и обоснованный выбор режима освещения растений играют важную роль в успешном и эффективном функционировании КО на пилотируемом космическом аппарате. Современные системы освещения для КО выполнены, как правило, на основе светоизлучающих диодов (СД) ввиду ряда технических и эксплуатационных преимуществ последних и с учетом возможности варьирования спектральным составом светового потока [3].

Наиболее существенными характеристиками режима освещения растений являются: плотность потока фотонов (ППФ), падающего на посев, в диапазоне длин волн фотосинтетически активной радиации (ФАР) (400–700 нм) [4, 5], спектральный состав света [6, 7] и фотопериод [8–11]. Кроме того, в ряде работ продемонстрировано, что свет, подаваемый в коротких (порядка мкс) интенсивных импульсах, в некоторых случаях эффективнее стимулирует фотосинтез посева и рост растений по сравнению с непрерывным излучением при одинаковой усредненной по времени плотности светового потока [9, 12].

Точка светового насыщения для большинства сельскохозяйственных культур находится в диапазоне 1000–1500 мкмоль/(м²·с) [13]. Диапазон значений ППФ, в котором стимулирующий эффект света на рост растений наиболее выражен, составляет обычно от 200–250 до 500–800 мкмоль/(м²·с) и существенно зависит от листового индекса (густоты стояния растений) в посеве [4, 5, 14]. Например, в Японии растения салата в защищенном грунте выращивают при уровне ППФ 300–400 мкмоль/(м²·с) [15], при этом для растений китайской капусты насыщающим считают уровень ППФ, равный 672 мкмоль/(м²·с) [16]. В ходе выращивания салатных растений при уровне облученности свыше 600 мкмоль/(м²·с) иногда наблюдали даже деструкцию фотосинтетического аппарата верхних листьев и снижение урожая биомассы по сравнению с посевами, выращенными при более низких облученностях [17].

Согласно закону Гротгуса, поглощенный листом квант света способен инициировать только

1 фотохимическую реакцию [18]. При этом энергия кванта света обратно пропорциональна соответствующей длине световой волны. Таким образом, энергия квантов в красной области спектра (т.е. в области максимумов поглощения хлорофиллов *a* и *b*) является минимальной по сравнению с квантами в других областях ФАР и, следовательно, обеспечивает максимум фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Однако, несмотря на то что обогащение светового спектра квантами в красном диапазоне выгодно энергетически для фотоавтотрофных растений, сильно редуцированный в спектральном отношении световой поток зачастую приводит к серьезным нарушениям в морфогенезе и онтогенетическом развитии растений, что, в свою очередь, негативно влияет на фотосинтетическую продуктивность посева [7]. В ряде работ продемонстрировано, что комбинация красных и белых СД в светильнике приводит к увеличению удельной урожайности посевов на единицу световой энергии по сравнению с освещением только белыми светодиодами, но вопрос об оптимальной доле красного света в спектре при различной интенсивности освещающего растения светового потока остается открытым [9, 19].

Еще одним световым фактором, воздействующим на рост растений в закрытых установках, является фотопериод, связанный с суточной дозой световой энергии, падающей на посев (интегралом суточной ППФ), и влияющий на скорость развития фотопериодически чувствительных растений. Для многих культур увеличенный фотопериод может изменять как рост биомассы [8, 9], так и накопление вторичных метаболитов [10, 11]. В частности, была экспериментально продемонстрирована возможность 2-кратного увеличения биомассы салата при замене 16-часового фотопериода на круглосуточное освещение [8].

В целом накопленные к настоящему моменту экспериментальные данные позволяют сузить область поиска оптимального режима освещения для некоторых видов растений в КО по ряду параметров. Экспериментальная проверка множества возможных сочетаний параметров световой среды растений при условии широкого диапазона варьирования для каждого параметра крайне трудоемка и потребовала бы, с учетом повторностей, проведения многих сотен вегетационных опытов. Для минимизации числа опытов, необходимых для решения задачи оптимизации режима освещения растений, целесообразно использовать теорию построения оптимальных планов многофакторного эксперимента [20]. После реализации подобных планов возможно построение многомерных регрессий ряда наиболее значимых показателей растений (критериев оптимальности, или откликов) на параметры режима освещения (параметры оптимизации),

которые позволяют выделить зоны оптимальных режимов освещения растений.

Цель работы: обоснование режима освещения зеленных культур в разрабатываемой в ГНЦ РФ – ИМБП РАН витаминной КО «Витацикл-Т» по результатам проведенного 3-факторного эксперимента.

Методика

На основании обзора литературы для исследований были отобраны следующие диапазоны параметров круглосуточного режима освещения растений: ППФ на уровне верхних листьев от 260 до 500 мкмоль/(м²·с) (фактор x_1); соотношение ППФ в световых потоках от красных и белых СД ($\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}}$) – от 0 до 1,5 (фактор x_2); периоды импульсов длительностью 30 мкс – от 30 до 501 мкс (фактор x_3). С учетом красной составляющей в спектре излучения белых СД, доля красного света в световом потоке варьировала от 33 до 73 %. При облучении растений импульсным светом усредненные по времени значения ППФ (т.е. средние за период, равный сумме длительности светового импульса и темновой паузы между импульсами) находились в том же диапазоне значений, что и значения ППФ при непрерывном освещении.

Для проведения исследования по оптимизации режимов светодиодного освещения растений в витаминной КО совместно со специалистами Центра светодиодных и оптоэлектронных технологий НАН Беларуси был разработан импульсный облучатель на основе красных (660 нм) и белых (цветовая температура 4000 К) СД. Спектр излучения светильника представлен в работе [21]. Согласно техническому заданию на витаминную КО, максимальная мощность потребления электроэнергии блоком освещения составляет не более 200 Вт. Испытания макета светодиодного модуля показали, что при запитке импульсного облучателя постоянным током с указанной мощностью максимальное значение средней ППФ на уровне верхних листьев посева не может превышать 430 мкмоль/(м²·с).

При проведении биолого-технических испытаний светодиодные модули размещали над посевами растений в климатических камерах с контролируемыми параметрами среды. Объектом исследований была китайская капуста *Brassica chinensis* L., сорт Веснянка, селекции ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур. Растения выращивали при круглосуточном освещении в течение 24 сут на заполненных питательным раствором металлокерамических пористых трубках с намотанными на них рулонами волокнистого ионитного почвозаменителя «БИОНА-ВЗ». Методика выращивания растений подробно была описана ранее в работе [21].

На 24-е сутки вегетации растения срезали и взвешивали по отдельности на электронных весах

с точностью до 0,1 г, после чего все растения объединяли, измельчали ножницами и отбирали по 3 навески по 2,0 г для определения содержания сухого вещества. Содержание сухого вещества определяли, высушивая измельченные листья до постоянного веса при 80 °С. Сухую массу посевов рассчитывали на м² облучаемой поверхности.

Для определения оптимального режима светодиодного освещения был предложен компромиссный критерий в следующем виде [22]:

$$\max Q_1 = \max (M^2/E) \text{ при } (x_1, x_2, x_3) \in D, \quad (1)$$

где M – масса сухого вещества растений в посеве в съемном возрасте, E – энергия светового потока, падающего на посев на уровне верхних листьев за время вегетации, D – область допустимых значений параметров оптимизации.

Показатель Q_1 является произведением прироста биомассы на КПД фотосинтеза посева растений и отражает удельную производительность оранжереи на единицу поданной на посев световой энергии.

Энергию светового потока рассчитывали по формуле (2)

$$E = W \cdot S \cdot t, \quad (2)$$

где W – мощность светового потока, S – площадь освещаемой поверхности, t – время вегетации. Мощность светового потока рассчитывали по формуле

$$W = \text{ППФ}_{\text{кр}} \cdot \varepsilon_{\text{кр}} + \text{ППФ}_{\text{бел}} \cdot \varepsilon_{\text{бел}}, \quad (3)$$

где $\varepsilon_{\text{кр}}$, $\varepsilon_{\text{бел}}$ – коэффициент энергетической эффективности для красных и белых СД соответственно.

Коэффициент энергетической эффективности СД зависит от спектра излучения. Для СД, использованных в работе, он составляет 0,18 и 0,22 Дж/мкмоль для красных и для белых СД соответственно. В области использованных в данной работе допустимых значений параметров светового режима максимальная величина энергии падающего на посев светового потока за 7 суток вегетации составила $5,2 \cdot 10^6$ Дж, минимальная – $2,5 \cdot 10^6$ Дж.

Вегетационные опыты проводили в соответствии с квазиортогональной матрицей дробного многофакторного эксперимента из 16 точек. Для построения поверхностей отклика с помощью программы «ПРИАМ» и алгоритма RASTA 13 [23] были рассчитаны коэффициенты регрессионных уравнений $M(x_1, x_2, x_3)$ и $Q_1(x_1, x_2, x_3)$; статистические гипотезы проверяли при уровне значимости $\alpha = 0,05$. Уравнения поверхностей отклика и рабочая матрица плана эксперимента представлены в работе [24].

Результаты и обсуждение

Анализ поверхностей отклика сухой биомассы посева на варьирование параметрами освещения показал, что сухая масса побегов монотонно возрастала по мере увеличения уровня ППФ практически при любых сочетаниях других параметров освещения (рис. 1, А, Б). При облучении белыми СД была получена классическая форма световой кривой с постепенным выходом на плато по мере увеличения ППФ. Степень влияния средней ППФ на формирование сухой массы посева в исследованном диапазоне значений параметров освещения составила 84,4 %. Эти данные хорошо согласуются с известным фактом о положительной корреляционной зависимости между накоплением биомассы растениями и плотностью падающего на посев потока фотонов до достижения уровня светового насыщения [17, 25].

При непрерывном характере излучения варьирование долей красного света в падающем на посев световом потоке от 33 % ($\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 0$) до 73 % ($\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 1,5$) слабо влияло на накопление массы сухого вещества в посеве (см. рис. 1, А). Только при повышении ППФ до 500 мкмоль/(м²·с) было отмечено увеличение продуктивности посева за счет добавления излучения от красных СД (см. рис. 1, А).

Увеличение периода следования импульсов излучения с различным спектральным составом оказывало как стимулирующее, так и угнетающее действие на накопление массы сухого вещества в посеве, в зависимости от уровня усредненной по времени ППФ. Пример такой зависимости при освещении белыми СД приведен на рис. 1, Б. При невысоких значениях усредненной ППФ (до 300 мкмоль/(м²·с) импульсный свет с периодом 300–400 мкс оказывал слабое стимулирующее влияние на прирост биомассы растений по сравнению с непрерывным излучением, однако дальнейшее увеличение периода импульса оказывало негативное влияние на продуктивность посевов (см. рис. 1, В). Однако при возрастании средней ППФ до величин около 500 мкмоль/(м²·с) отмечено значительное увеличение массы сухого вещества посева по мере увеличения периодов импульсов свыше 400 мкс (см. рис. 1, Г). Неоднозначное воздействие импульсного освещения на продуктивность посева отмечали и другие исследователи [12, 26]. Такой феномен может быть обусловлен различием эффектов, вызываемых импульсным светом в разных ярусах листового полога растений. Очень высокая, свыше 1000 мкмоль/(м²·с), амплитуда ППФ в момент светового импульса может приводить к образованию активных форм кислорода в хлоропластах и, следовательно, к частичному повреждению фотосинтетического аппарата. Это может вызвать угнетение фотосинтеза в верхнем слое листового покрова.

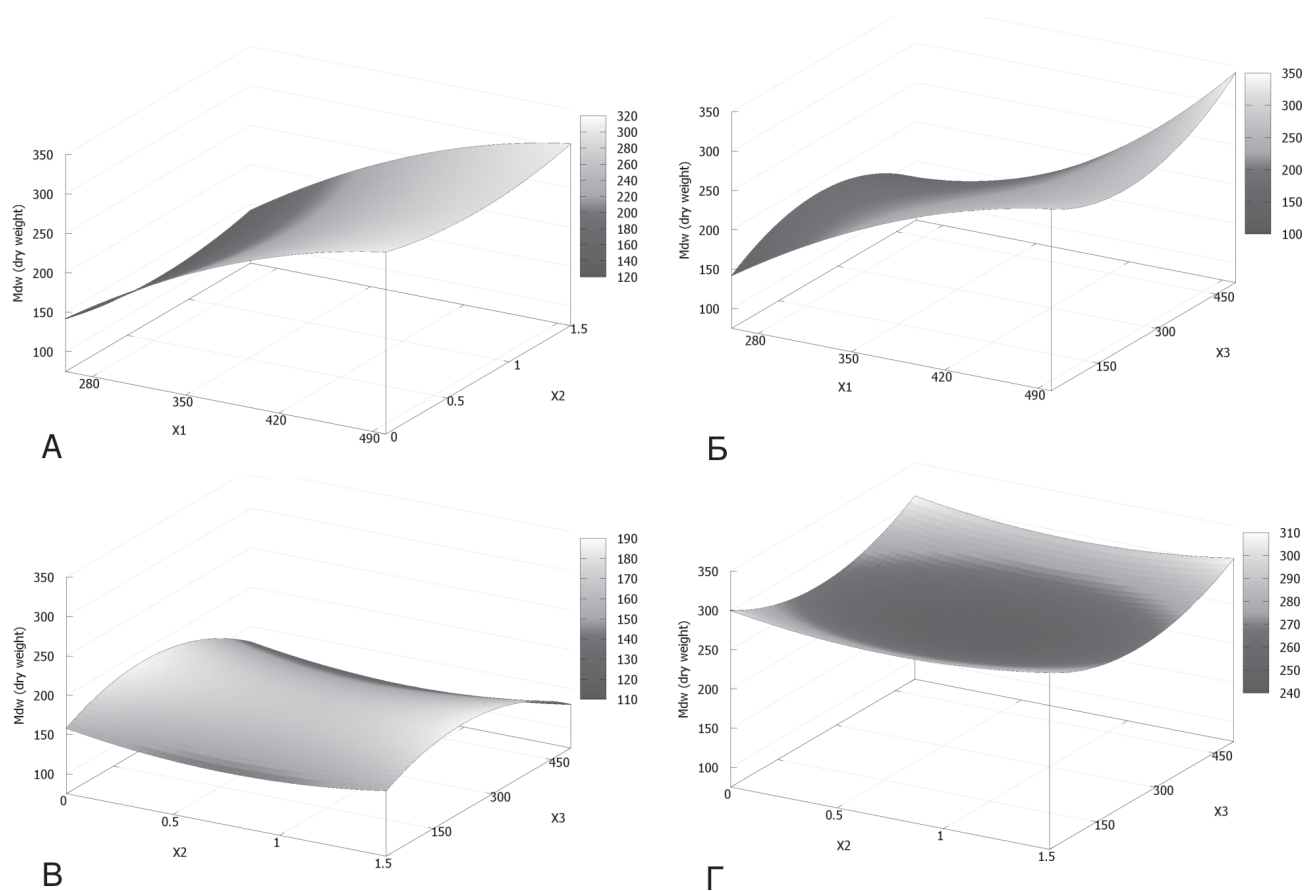


Рис. 1. Зависимость массы сухого вещества посева китайской капусты в возрасте 24 сут от параметров режима освещения.

А – зависимость массы сухого вещества посева, г/м² облучаемой поверхности, от уровня ППФ и соотношения ППФ от красных и белых СД при непрерывном характере излучения; Б – зависимость массы сухого вещества посева, г/м² облучаемой поверхности, от уровня ППФ и длительности периода следования импульсов, τ , при фиксированном соотношении ППФ от красных и белых СД, равном 0; В – зависимость массы сухого вещества посева, г/м² облучаемой поверхности, от соотношения ППФ от красных и белых СД и длительности периода следования импульсов, τ , при фиксированном уровне ППФ, равном 275 $\mu\text{M}/(\text{м}^2\cdot\text{с})$; Г – зависимость массы сухого вещества посева, г/м² облучаемой поверхности, от соотношения ППФ от красных и белых СД и длительности периода следования импульсов, τ , при фиксированном уровне ППФ, равном 480 $\mu\text{M}/(\text{м}^2\cdot\text{с})$

Вместе с тем свет, подаваемый в интенсивных импульсах, может проникать в более глубокие слои листового покрова, активизируя фотосинтез в средних и нижних ярусах посева. Различное соотношение этих процессов при изменении длительности и периода следования импульсов при фиксированных значениях средней ППФ, по-видимому, и обусловило нелинейный характер зависимости сухой массы посева от периода следования импульсного излучения (см. рис. 1, В, Г).

Максимальное значение массы сухого вещества в посеве, согласно построенной модели, составило 342 г/м² при следующих характеристиках светового режима: средняя ППФ – 500 мкмоль/(м²·с); отношения уровней ППФ от красных и белых СД – 0 и 1,5; период следования импульсов – 501 мкс. Минимальное

значение массы сухого вещества в посеве составило 112 г/м² при параметрах освещения: средняя ППФ – 260 мкмоль/(м²·с); $\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 0,75$; период следования импульсов – 501 мкс.

Таким образом, в исследованном диапазоне значений параметров освещения фотосинтетическая продуктивность посева в наибольшей степени зависела от уровня ППФ. Однако при значениях ППФ около 500 мкмоль/(м²·с) спектральный состав света и импульсный характер излучения оказали дополнительное стимулирующее воздействие на рост растений.

В условиях жесткого ограничения на потребляемую электроэнергию на борту космической станции адекватной характеристикой эффективности режима освещения растений в КО является

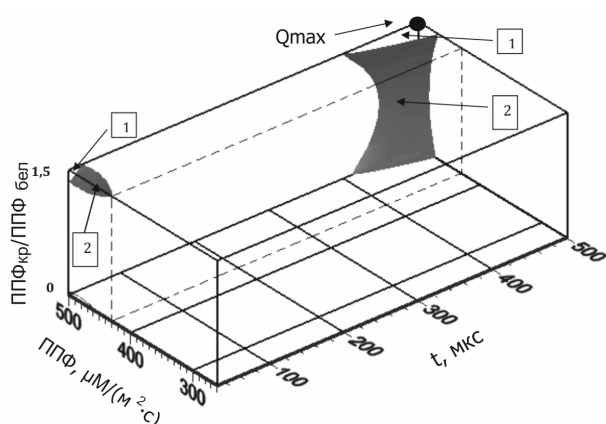


Рис. 2. Ограниченные изоповерхностями (2) области значений параметров светового режима (1), внутри которых величина Q_1 -критерия отклоняется от максимального значения не более чем на 25 %.

Пунктирные линии показывают ограничения по уровню ППФ с учетом максимально допустимой мощности энергопотребления витаминной КО «Витацикл-Т»

компромиссный показатель Q_1 . По результатам наших экспериментов максимальное значение компромиссного показателя оптимальности светового режима Q_1 , равное $4,53 \cdot 10^{-7} \text{ г}^2/\text{Дж}$, находилось в одной из точек области допустимых значений, где находился максимум накопления массы сухого вещества посевом (средняя ППФ – 500 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$); отношение уровней ППФ от красных и белых СД – 1,5; период следования импульсов – 501 мкс). Минимальное значение $Q_1 = 0,873 \cdot 10^{-7} \text{ г}^2/\text{Дж}$ было получено при следующих параметрах: средняя ППФ – 285 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$), $\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 0,71$, длительность периода следования импульсов – 501 мкс, т.е. близких к тем, при которых отмечали минимальное значение накопления сухого вещества посевом.

Полученные результаты позволили определить область высоких значений показателя Q_1 , внутри которой значения отличаются от максимального не более чем на 25 %, при следующих значениях параметров светового режима: ППФ – от 430 до 500 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$), $\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}}$ – от 0 до 1,5, длительность периода следования импульсов – от непрерывного излучения до 50 мкс и от 420 до 501 мкс (рис. 2). При ограниченной мощности энергопотребления витаминной КО «Витацикл-Т» можно рекомендовать для освещения растений в ней следующий режим: ППФ – 430 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$), отношение $\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 1,5$, характер излучения – непрерывный. При таком световом режиме значение показателя Q_1 составляет $3,5 \cdot 10^{-7} \text{ г}^2/\text{Дж}$.

Для подтверждения окончательного выбора режима освещения растений в разрабатываемой витаминной КО «Витацикл-Т» в дальнейшем будут проанализированы такие показатели качества

выращиваемой биомассы, как содержание в ней основных витаминов (С и А), нитратов, а также ряд показателей физиологического статуса растений при выбранном режиме освещения: листовой индекс посева, интенсивность газообмена посева в конце вегетации, концентрация сахаров в сухой массе побегов, содержание сухого вещества в побегах, удельная поверхностная плотность листьев и содержание фотосинтетических пигментов.

Выводы

1. Поиск оптимального режима освещения растений в КО целесообразно проводить путем нахождения максимума компромиссного показателя Q_1 , равного отношению квадрата массы сухого вещества, накопленного посевом, к энергии, затраченной на освещение посева за время вегетации. Этот критерий позволяет выбрать режим освещения, обеспечивающий высокую продуктивность посевов при экономном использовании энергии, затрачиваемой на освещение растений.

2. Анализ регрессионной модели, построенной по результатам 3-факторного эксперимента, позволил выявить оптимальный режим круглосуточного СД-освещения для выбранного вида растений со следующими параметрами: ППФ – 500 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$), отношение уровней ППФ от красных и белых СД – 1,5, длительность периода следования импульсов – 501 мкс.

3. С учетом ограничения предельного энергопотребления для витаминной КО можно рекомендовать световой режим со следующими параметрами: ППФ – 430 мкмоль/($\text{м}^2 \cdot \text{с}$), отношение $\text{ППФ}_{\text{кр}}/\text{ППФ}_{\text{бел}} = 1,5$, характер излучения – непрерывный.

Работа выполнена в рамках плановых фундаментальных исследований, проводимых в ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Список литературы

1. Беркович Ю.А., Синяк Ю.Е., Смолянина С.О. и др. Энергетические потребности для производства растительной пищи в длительных пилотируемых космических экспедициях // Изв. РАН. Энергетика. 2009. № 1. С. 27–35.
Berkovich Yu.A., Sinyak Yu.E., Smolyanina S.O. et al. Energy consumption for vegetable food production during long-term manned space missions // Izvestiya RAN. Energetika. 2009. № 1. P. 27–35.
2. Романов С.Ю., Железняков А.Г., Телегин А.А. и др. Системы жизнеобеспечения экипажей длительных межпланетных экспедиций // Там же. 2007. № 3. С. 57–74.
Romanov S.Yu., Zheleznyakov A.G., Telegin A.A. et al. Life support systems for crews on long-duration interplanetary missions // Ibid. Energetika. 2007. № 3. P. 57–74.

3. Massa G.D., Emmerich J.C., Morrow R.C. et al. Plant-growth lighting for space life support: a review // *Gravit. and Space Biology*. 2006. V. 19. № 2. P. 19–29.
4. Knight S.L., Mitchell C.A. Enhancement of lettuce yield by manipulation of light and nitrogen nutrition // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1983. V. 108. № 5. P. 750–754.
5. Knight S.L., Mitchell C.A. Effects of CO₂ and photosynthetic photon flux on yield, gas exchange and growth rate of *Lactuca sativa* «Waldmanns Green» // *J. Exp. Bot.* 1988. V. 39. № 200. P. 317–328.
6. Tamulaitis G., Duchovskis P., Bliznikas Z. et al. High-power light-emitting diode based facility for plant cultivation // *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2005. № 38. P. 3182–3187.
7. Lin K.H., Huang M.Y., Huang W.D. et al. The effects of red, blue, and white light-emitting diodes on the growth, development, and edible quality of hydroponically grown lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata) // *Scientia Horticulturae*. 2013. V. 150. P. 86–91.
8. Koontz H.V., Prince R.P. Effect of 16 and 24 hours daily radiation (light) on lettuce growth // *Hort. Science*. 1986. V. 21. № 1. P. 123–124.
9. Yoneda K., Mori Ya. Method of cultivating plant and illuminator for cultivating plant. Patent EP 1 374 665 A1. 2004.
10. Ali M.B., Khandaker L., Oba S. Comparative study on functional components, antioxidant activity and color parameters of selected leafy vegetables as affected by photoperiods // *J. Food Agric. Environ.* 2009. V. 7. № 3&4. P. 392–398.
11. Lefsrud M.G., Kopsell D.A., Auge R.M., Both A.J. Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiods // *Hort. Science*. 2006. V. 41. № 3. P. 603–606.
12. Olvera-Gonzalez E., Alaniz-Lumbreras D., Ivanov-Tsonchev R. et al. Chlorophyll fluorescence emission of tomato plants as a response to pulsed light based LEDs // *Plant Growth Regul.* 2013. V. 69. P. 117–123.
13. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. М., 2006.
14. Kuznetsov V.V., Dmitrieva G.A. Plant physiology. Moscow, 2006.
15. Li Z.Z., Gong S.F. Vertical column and system of columnar soilless culture (SCSC) and its application to cultivation of lettuce // *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* 2002. V. 8. P. 142–147.
16. Tazawa S. Effects of various radiant sources on plant growth (P. 1) // *Japan. Agric. Res.* 1999. V. 33. № 3. P. 163–176.
17. Tatsumi M., Hori Y. Studies on photosynthesis of vegetable crops // *Hort. Res. Stn., Jpn.*, 1969. A8. 127–140.
18. Fu W., Li P., Wu Y. Effects of different light intensities on chlorophyll fluorescence characteristics and yield in lettuce // *Scientia Horticulturae*. 2012. V. 135. P. 45–51.
19. Тихомиров А.А., Шарупич В.П., Лисовский Г.М. Светокультура растений: биофизические и биотехнологические основы. Новосибирск, 2000.
20. Tikhomirov A.A., Sharupich V.P., Lisowskiy G.M. Plant photoculture: biophysical and biotechnological bases. Novosibirsk, 2000.
21. Dong C., Fu Y., Liu G., Liu H. Growth, photosynthetic characteristics, antioxidant capacity and biomass yield and quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to LED light sources with different spectra combinations // *J. Agro Crop Sci.* 2014. V. 200. P. 219–230.
22. Радченко С.Г. Методология регрессионного анализа. Киев, 2011.
23. Radchenko S.G. Methodology of regression analysis. Kiev, 2011.
24. Коновалова И.О., Беркович Ю.А., Смолянина С.О. и др. Влияние параметров светового режима на накопление нитратов в надземной биомассе капусты китайской (*Brassica chinensis* L.) при выращивании со светодиодными облучателями // *Агрохимия*. 2015. № 11. С. 63–70.
25. Konovalova I.O., Berkovich Yu.A., Smolyanina S.O. et al. The effect of light regime parameters on nitrate accumulation in above-ground biomass of Chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.) plants grown with LED illumination // *Agrokhiymiya*. 2015. № 11. P. 63–70.
26. Беркович Ю.А., Кривобок Н.М., Смолянина С.О., Ерохин А.Н. Космические оранжереи: настоящее и будущее. М., 2005.
27. Berkovich Yu.A., Krivobok N.M., Smolyanina S.O., Erokhin A.N. Space greenhouses: present and future. Moscow, 2005.
28. Лапач С.Н., Радченко С.Г., Бабищ П.Н. Планирование, регрессия и анализ моделей PRIAM (ПРИАМ) // Каталог программных продуктов Украины. Киев, 1993. С. 24–27.
29. Lapach S.N., Radchenko S.G., Babich P.N. Planning, analysis and regression of PRIAM models // *Katalog programnykh produktov Ukrainy*. Kiev, 1993. P. 24–27.
30. Коновалова И.О., Беркович Ю.А., Ерохин А.Н. и др. Оптимизация светодиодной системы освещения витаминной космической оранжереи // *Авиакосм. и экол. мед.* 2016. Т. 50. № 3. С. 17–22.
31. Konovalova I.O., Berkovich Yu.A., Erokhin A.N. et al. optimization of a light-emitting diode-based illumination system of a vitamin space greenhouse // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2016. V. 50. № 3. P. 17–22.
32. Li Z.Z., Gong S.F. Vertical column and system of columnar soilless culture (SCSC) and its application to cultivation of lettuce // *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* 2002. V. 8. P. 142–147.
33. Dong C., Shao L., Liu G. et al. Photosynthetic characteristics, antioxidant capacity and biomass yield of wheat exposed to intermittent light irradiation with millisecond-scale period // *J. of Plant Physiol.* 2015. V. 184. P. 28–36.

Поступила 17.03.2016

SUBSTANTIATION OF OPTIMAL LIGHTING REGIMES FOR PLANTS IN SPACE GREENHOUSE «VITACYCLE-T»

Konovalova I.O., Berkovich Yu.A., Erokhin A.N., Smolyanina S.O., Yakovleva O.S., Znamensky A.I., Tarakanov I.G., Radchenko S.G., Lapach S.N.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 35–41

A 3-factor experiment with 24-d vegetation of Brassica chinensis L. crops demonstrated the dependence of dry mass yield on lighting regimes provided by a lamp composed of

white (color temperature 4000 K) and red (660 nm) LEDs (light-emitting diodes). Experimental data were used to build regressive dependences of plant dry mass and optimal light criterion (product of dry mass and photosynthesis efficiency) on 3 LEDs lamp parameters: photosynthetic photon flux density (PPFD), red and white PPFD ratio, and pulse period. The following LEDs light parameters were found to be optimal for the Chinese cabbage: time-averaged PFD – 500 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, red and white PPFD ratio – 1.5 and pulse period – 501 μs . Considering the wattage rating for projectible vitamin greenhouse «Vitacycle-T», continuous light should have PPFD = 430 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, rPPFD/wPPFD ratio – 1.5 and continuous light.

Key words: space greenhouse, optimal growth light, light-emitting diodes, light spectrum, pulse light, crop yield, regressive analysis, experiment planning.

СПЕЦИФИКА ОБРАЗОВАНИЯ И РОСТА ГАЗОВЫХ ПУЗЫРЬКОВ В ТКАНЯХ ПРИ ДЕКОМПРЕССИИ ПОСЛЕ НАСЫЩЕННЫХ ПОГРУЖЕНИЙ

Николаев В.П., Комаревцев В.Н.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
E-mail: viknik@imbp.ru

Показано, что режим декомпрессии после насыщенных погружений на глубину 30 м, рассчитанный на удержание перенасыщения наиболее «медленных» тканей человека азотом на предельно допустимом уровне, значительно короче режимов декомпрессии с нулевым перенасыщением их азотом и всеми растворенными в них газами. Равенство риска возникновения декомпрессионной болезни (ДБ) при этом режиме декомпрессии риску ее возникновения при быстром подъеме на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м свидетельствует о том, что действие высокого давления окружающей среды снижает концентрацию зародышей газовых пузырьков (ГП) в тканях и скорость их последующего роста. При декомпрессии по заведомо опасному режиму симптомы ДБ у опытных водолазов отсутствуют благодаря пониженной концентрации зародышей ГП в их тканях относительно среднего уровня, присущего большинству людей.

Ключевые слова: газовые пузырьки, декомпрессионная болезнь, режимы декомпрессии.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 42–47.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-42-47

Профессиональная деятельность водолазов и кессонных рабочих сопряжена с риском заболевания декомпрессионной болезнью (ДБ). Эта болезнь вызывается газовыми пузырьками (ГП), которые образуются в крови и тканях организма при их перенасыщении растворенными газами (O_2 , CO_2 и инертным газом дыхательной смеси) в результате снижения давления окружающей среды. Согласно теории метастабильных систем, зародышами растущих ГП становятся микроскопические газовые ядра критического размера, определяемого поверхностным натяжением окружающей их крови или межклеточной жидкости и степенью их перенасыщения газами. Симптомы ДБ возникают в результате прямого действия ГП на нервные окончания или блокирования микроциркуляции в тканях. При этом из-за случайного характера действия механизмов образования газовых ядер и превращения их в зародыши растущих ГП симптомы ДБ возникают как случайные события.

Возникновение ДБ у водолазов можно было бы полностью предотвратить при их подъеме на

поверхность по режимам, исключающим возникновение перенасыщения всех тканей организма растворенными в них газами, а следовательно, и возможность образования и роста в них ГП. Однако из-за очень медленного вымывания избытка инертного газа из так называемых медленных тканей организма декомпрессия по абсолютно безопасным режимам протекает весьма медленно. Особенно большие затраты времени требуются при подъеме водолазов на поверхность по таким режимам после длительных (насыщенных) погружений. Вполне естественно, что сравнительно быстрое снижение давления неизбежно вызывает перенасыщение тканей газами и тем самым создает возможность возникновения ДБ.

Существующие вероятностные модели возникновения ДБ разработаны путем статистической обработки результатов погружений водолазов по различным профилям [14, 17]. В отличие от них, предложенная вероятностная модель ДБ [4, 12] отражает биофизические механизмы ее этиологии и патогенеза. Эта модель основана на математическом моделировании процессов образования и роста ГП в тканях организма и на критерии перехода этих процессов в опасную стадию своего развития. Согласно этому критерию, симптомы ДБ возникают в тех случаях, когда удельный суммарный объем ГП, образовавшихся в какой-либо ткани организма, вырастает до некоторого критического для нее уровня. Эта модель может служить теоретической основой для расчета режимов декомпрессии с априорно заданной степенью риска возникновения ДБ. Однако для разработки методов расчета таких режимов декомпрессии необходимо провести поиск адекватных гипотез о неизвестной градации тканей организма по всем параметрам, определяющим риск их поражения ГП.

В настоящее время подъем водолазов с глубины в основном проводят по режимам, рассчитанным на удержание перенасыщения тканей инертным газом на допустимых уровнях. При использовании этих режимов декомпрессии ДБ у водолазов возникает с вероятностью не более 0,02 [1, 15]. Такой риск возникновения ДБ создается при быстром подъеме на поверхность после насыщенного погружения при

дыхании воздухом на глубину 6,1 м [16]. В то же время безопасное завершение более глубоких насыщенных погружений возможно лишь при постепенном снижении давления.

С другой стороны, длительность безопасного пребывания водолаза на заданной глубине погружения лимитируется токсическим действием кислорода дыхательной смеси. Как известно, устойчивость легких к отравлению кислородом снижается по мере увеличения его парциального давления сверх уровня 0,5 ата и длительности его воздействия. В частности, дыхание смесью с парциальным давлением кислорода 0,8 ата (80 кПа) является безопасным в течение первых 20 ч, но через 40–50 ч его токсическое действие приводит к снижению жизненной емкости легких на 8–10 % и ее восстановление обычно завершается в течение 1–3 сут после окончания действия гипероксии [2]. Отметим, что в экспериментах авторов работы [8] такое токсическое действие кислорода испытывали водолазы, которые совершили погружение длительностью 42–48 ч на глубину 30 м в барокамере при дыхании воздухом.

Целью данной работы явилось сравнение длительности режимов непрерывной декомпрессии после насыщенных погружений на глубину 30 м, рассчитанных на удержание парциального давления азота в наиболее «медленных» тканях в заданных пределах, и режима декомпрессии, успешно апробированного авторами работы [8] на практике, и проведение расчетов динамики роста ГП, образующихся в тканях при этих режимах декомпрессии и при быстром подъеме на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м. Результаты этих расчетов и вероятностная модель возникновения ДБ [4, 12] явились основой для формирования гипотезы о специфике процессов образования и роста ГП в тканях при декомпрессии после насыщенных погружений на различные глубины.

Методика

Традиционные методы расчета режимов декомпрессии основаны на математических моделях сатурации и десатурации теоретических тканей организма от инертного газа дыхательной смеси и на критериях допустимого перенасыщения тканей этим газом. Эти же модели являются составной частью моделей динамики роста и растворения ГП, образующихся в тканях при воздействии декомпрессии. В частности, упрощенная форма математической модели [3, 11] описывает эволюцию размера единичного ГП совместно с динамикой парциального давления инертного газа в окружающей ткани системой из 2 дифференциальных уравнений:

$$dP_T/dt = -(0,69/T_{1/2})(P_T - P_a), \quad (1)$$

$$dR_b/dt = -[(D_T \alpha_T)(P_b - P_T)/R_b - (R_b/3)(dB/dt)]/(B + 4\gamma/3R_b), \quad (2)$$

в которых

$$T_{1/2} = 0,693(\alpha_T/\alpha_K q),$$

$$P_a = F(B - P_h),$$

$$P_b = B - C + 2\gamma/R_b,$$

где P_T – парциальное давление инертного газа в ткани; P_a – парциальное давление этого газа в альвеолах легких и артериальной крови; B – внешнее давление; P_h – парциальное давление паров воды в альвеолах легких; F – фракционная концентрация инертного газа в дыхательной смеси; $T_{1/2}$ – период полунасыщения и полурассыщения ткани от инертного газа; q – удельное кровоснабжение ткани; α_K и α_T – коэффициенты растворимости инертного газа в крови и в ткани; R_b – радиус пузырька; P_b – парциальное давление инертного газа в пузырьке; C – сумма парциальных давлений O_2 , CO_2 и паров воды в пузырьке и в ткани; D_T – эффективная скорость диффузии инертного газа между ГП и окружающей его тканью; γ – коэффициент поверхностного натяжения тканевой жидкости.

Следует отметить, что, согласно уравнению альвеолярного воздуха [10], при респираторном дыхательном коэффициенте (отношении количества удаляемого из легких CO_2 к количеству поглощаемого в легких O_2) менее 1 парциальное давление инертного газа в альвеолах легких несколько превышает величину $F(B - P_h)$. Отметим также, что при дыхании нормоксическими и умеренно гипероксическими смесями величина $C = 17$ кПа.

Известные данные о структуре, составе и кровоснабжении тканей человека и растворимости в них инертных газов дают основание считать, что присущие тканям параметры $T_{1/2}$ для азота лежат в диапазоне от 0,14 до 416 мин, а параметры $T_{1/2}$ для гелия – в диапазоне до 140 мин [13]. Тем не менее в теле человека имеются ткани, в которых процессы сатурации и десатурации от инертных газов лимитируются скоростью диффузии этих газов, и поэтому параметры $T_{1/2}$ таких тканей имеют сравнительно большие значения. Принято считать, что параметры $T_{1/2}$ для азота и гелия у наиболее «медленных» тканей равны 640 и 240 мин соответственно [8, 9].

С начала прошлого века о допустимом перенасыщении тканей инертным газом судили по величине коэффициента перенасыщения или градиента (лимита) перенасыщения тканей этим газом [6, 7]. Коэффициент перенасыщения (КП) ткани инертным газом равен отношению парциального давления этого газа в ткани (P_T) к давлению на глубине погружения (B), а градиент перенасыщения (ΔP)

– разности между P_T и B . Оценки предельно допустимых величин КП и ΔP были получены путем статистического анализа обширных баз данных с результатами погружений водолазов по различным профилям (глубине, времени пребывания на грунте, режиме декомпрессии). Допустимые величины КП тканей инертным газом уменьшаются с увеличением присущего им параметра $T_{1/2}$ и давления. Допустимые величины ΔP тканей также уменьшаются с увеличением параметра $T_{1/2}$, но возрастают с увеличением давления. Кроме того, допустимые величины КП и ΔP зависят от вида инертного газа.

Однако в настоящее время при расчетах режимов декомпрессии обычно используют M -величины, определяющие допустимые уровни парциального давления инертного газа в тканях для заданной глубины погружения. Вначале автор работы [18], а затем автор работы [9] показали, что M -величину для каждой теоретической ткани можно оценить по уравнению

$$M = M_0 + a \cdot D \quad (3)$$

где D – глубина; M_0 – допустимая величина P_T на поверхности, т.е. при $D = 0$; a – коэффициент, который, как и M_0 , зависит от параметра $T_{1/2}$ ткани.

Данные таблиц M -величин для теоретических тканей [5] показывают, что величины M_0 и a уменьшаются с увеличением параметра $T_{1/2}$. В частности, величины M_0 для азота у 5- и 640-минутных тканей равны 317 и 127 кПа. При этом допустимые величины КП азотом этих тканей на поверхности равны $317/100 = 3,17$ и $127/100 = 1,27$ соответственно. В то же время M -величины тканей возрастают с увеличением глубины погружения. Так, на глубине 30 м M -величины указанных тканей равны 850 и 440 кПа, но допустимые величины КП снижены до $850/400 = 2,125$ и $440/400 = 1,1$ соответственно.

Процесс насыщения и насыщения тканей водолаза от инертного газа дыхательной смеси протекает со скоростью, определяемой величиной присущего им параметра $T_{1/2}$. При кратковременных погружениях полностью насыщаются инертным газом до уровня его парциального давления в альвеолярном воздухе лишь наиболее «быстрые» ткани (ткани с малыми значениями параметра $T_{1/2}$), и подъем водолазов на поверхность при завершении таких погружений обычно проводят по ступенчатым режимам декомпрессии, при которых уровни P_T во всех тканях на глубине каждой остановки не должны превышать соответствующие им M -величины.

При длительных погружениях происходит полное насыщение инертным газом всех тканей, и поэтому декомпрессию после таких погружений необходимо проводить по режимам, при которых парциальное давление этого газа в наиболее «медленных» тканях удерживается на допустимом

уровне. На практике подъем водолазов на поверхность после таких погружений начинают с быстрого снижения давления до уровня, при котором парциальное давление азота в этих тканях не превышает соответствующую M -величину, и в дальнейшем проводят непрерывное снижение давления до наземного уровня. Расчеты таких режимов декомпрессии по уравнениям (1) и (3) и программному пакету Mathcad сводятся к поиску методом последовательных приближений соответствующих параметров b и k уравнения

$$B(t) = (B_0 - b)e^{-kt} + b. \quad (4)$$

В то же время насыщенные погружения на сравнительно малую глубину можно безопасно завершить безостановочным подъемом на поверхность. В частности, при дыхании водолазов воздухом предельно безопасной глубиной погружений такого типа является глубина 6,1 м, на которой парциальное давление азота в наиболее «медленных» (640-минутных) тканях достигает уровня 127 кПа (величины M_0 для этих тканей).

Результаты и их обсуждение

При дыхании воздухом во время длительного (2–3 сут) пребывания под давлением 400 кПа (на глубине 30 м) все ткани водолаза насыщаются азотом до уровня $P_T = 312$ кПа при суммарном парциальном давлении других растворенных в них газов $C = 17$ кПа. Поэтому перед началом подъема на поверхность существует недонасыщение тканей всеми растворенными в них газами и отсутствуют условия для образования и роста в них ГП. Это состояние тканей исчезает при быстром снижении давления до 329 кПа, но возникает их нулевое перенасыщение всеми газами, при котором также исключена возможность образования и роста в них ГП. В то же время быстрое снижение давления до 312 кПа приводит к возникновению нулевого перенасыщения тканей азотом при их суммарном перенасыщении всеми растворенными газами и тем самым создает возможность образования и роста в них ГП.

Расчеты по уравнениям (1) и (4) показывают, что нулевое перенасыщение 640-минутных тканей всеми растворенными в них газами сохраняется при снижении давления до наземного уровня по представленному на рис. 1 профилю B_1 , а их нулевое перенасыщение азотом – при декомпрессии по профилю B_2 . Парциальное давление азота в этих тканях при декомпрессии по профилю B_1 изменяется в соответствии с кривой P_1 , расположенной ниже кривой B_1 на 17 кПа, а при декомпрессии по профилю B_2 – в соответствии с кривой P_2 , совпадающей с кривой B_2 .

Согласно таблицам М-величин [5], парциальное давление азота $P_T = 312$ кПа является максимальным допустимым для 640-минутных тканей на глубине 18 м, т.е. при снижении давления от 400 до 280 кПа. Расчеты по уравнениям (1), (3) и (4) показывают, что при последующем снижении давления до наземного уровня по представленному на рис. 1 профилю V_3 , парциальное давление азота в этих тканях снижается по кривой P_3 , которая совпадает с кривой, определяющей динамику изменения М-величины для этих тканей. Градиент перенасыщения этих тканей азотом ($\Delta P = P_3 - B_3$) при режиме декомпрессии ВЗ уменьшается от 32 до 27 кПа, а коэффициент перенасыщения ($KП = P_3/B_3$) – возрастает от 1,114 до 1,27. Поэтому можно полагать, что вероятность возникновения ДБ при этом режиме декомпрессии идентична вероятности возникновения ДБ при быстром подъеме на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м, т.е. не превышает 0,02. Как видно на рис. 1, длительность режима декомпрессии ВЗ составляет 2380 мин, что в 1,9 и 3,6 раза меньше длительности режимов B_2 и B_1 , удерживающих нулевое перенасыщение 640-минутных тканей азотом и всеми растворенными в них газами.

Однако авторы работы [8] продемонстрировали возможность более быстрого подъема на поверхность после рассматриваемого нами погружения. В экспериментах этих авторов водолазы находились в воздушной атмосфере барокамеры при давлении 400 кПа в течение 42–48 ч, и после быстрого снижения давления до 250 кПа они переключались на дыхание смесью 70 % O_2 – 30 % N_2 . Дальнейшее снижение давления до наземного уровня в течение 630 мин проходило по ступенчатому профилю, который мы аппроксимировали профилем непрерывного снижения давления и представили его на рис. 1 в виде кривой V_4 . Расчеты по уравнениям (1), (3) и (4) показывают, что при таком профиле декомпрессии парциальное давление азота в 640-минутных тканях изменяется в соответствии с кривой P_4 , а его допустимые значения (М-величины) – в соответствии с кривой P_{M4} . При этом коэффициенты перенасыщения тканей азотом при давлении 250 и 100 кПа равны соответственно 1,25 и 1,8, что значительно превышает их допустимые значения 1,13 и 1,27. Поэтому режим декомпрессии V_4 нельзя считать практически безопасным, несмотря на отсутствие симптомов ДБ у 8 профессиональных водолазов, подвергшихся его воздействию в экспериментах указанных авторов. Согласно теории вероятностей, благополучный исход 8-кратного тестирования какого-либо режима декомпрессии дает лишь основание полагать с достоверностью 0,025, что вероятность возникновения ДБ при его воздействии составляет не менее 0,3.

Возможность отсутствия у водолазов симптомов ДБ при декомпрессии, создающей перенасыщение

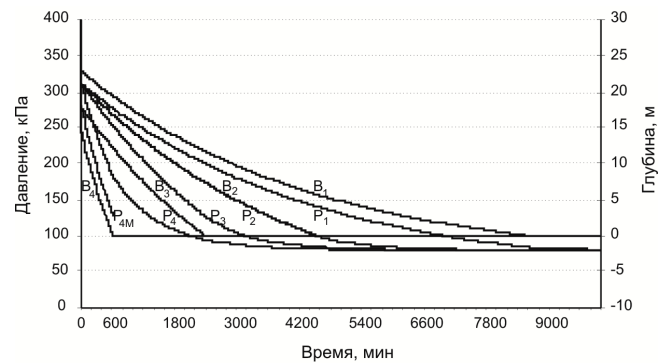


Рис. 1. Режимы декомпрессии после насыщенного погружения на глубину 30 м.

B_1 – при удержании нулевого перенасыщения 640-минутных тканей всеми растворенными в них газами; B_2 – при удержании нулевого перенасыщения этих тканей азотом; B_3 – при удержании допустимого перенасыщения этих тканей азотом; B_4 – по режиму авторов работы [8]. Кривые P_1, P_2, P_3 и P_4 отображают динамику снижения парциального давления азота в этих тканях при соответствующих режимах декомпрессии, а кривая P_{M4} – динамику снижения допустимого парциального давления азота (М-величины) при режиме декомпрессии B_4 .

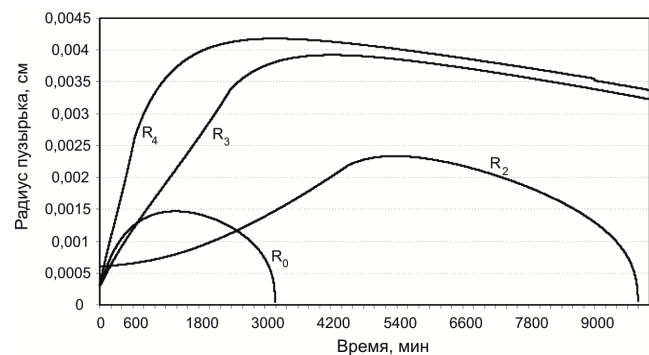


Рис. 2. Динамика роста ГП, образующихся в 640-минутных тканях.

R_0 – в момент завершения быстрого подъема на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м; R_2, R_3, R_4 – на начальном этапе декомпрессии после насыщенного погружения на глубину 30 м по режимам B_2, B_3, B_4 соответственно, представленным на рис. 1, при условии неизменных значений параметров D_T и γ тканей

тканей инертным газом выше допустимого уровня, обусловлена вероятностной природой возникновения этой болезни. С целью объяснения этого феномена сравним специфику образования и роста ГП, образующихся в тканях водолазов при подъеме на поверхность после насыщенных погружений на глубину 6,1 и 30 м. Кривая R_0 на рис. 1 отображает рассчитанную по уравнениям (1) и (2) динамику роста и последующего растворения ГП, образующихся в

640-минутных тканях с параметрами $D_T = 10^{-8} \text{ см}^2 \cdot \text{с}$, $\alpha_T = 0,013$, $\gamma = 50 \text{ дин} \cdot \text{см}^{-1}$ из газовых ядер радиусом 3 мкм в момент завершения быстрого подъема на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м. Здесь же построены кривые R_2 , R_3 и R_4 , которые отображают динамику роста и последующего растворения ГП, образующихся в этих тканях при таком же значении параметра D_T на начальном этапе декомпрессии после насыщенного погружения на глубину 30 м по представленным на рис. 1 режимам B_2 , B_3 и B_4 . При декомпрессии с уровня 6,1 м размеры (радиусы) ГП в этих тканях вырастают до 14,7 мкм, а при декомпрессии по режимам B_2 , B_3 и B_4 – до 23,4; 38,9 и 41,8 соответственно мкм. Если же при режимах декомпрессии с глубины 30 м рост пузырьков происходит при сравнительно малой величине параметра D_T , то они достигают меньшего размера. Следует отметить, что при всех этих воздействиях возможность роста ГП создается лишь в тканях с параметрами $T_{1/2} > 50 \text{ мин}$.

Согласно вероятностной модели ДБ [7, 8], риск поражения какой-либо ткани организма газовыми пузырьками и возникновения симптомов этой болезни определяется величиной максимального суммарного объема ГП в единице объема ткани, т.е. величиной произведения максимального объема отдельного пузырька и их количества (концентрации). Поскольку риски возникновения ДБ при декомпрессии по режиму B_3 после насыщенного погружения на глубину 30 м и при быстром подъеме на поверхность после насыщенного погружения на глубину 6,1 м одинаковы, то одинаковыми являются и величины максимального суммарного объема образующихся в тканях ГП. При неизменной эффективной скорости диффузии азота между ГП и тканями, D_T , это условие соблюдается в том случае, когда при декомпрессии по режиму B_3 их концентрация в $(38,9/14,7)^3 = 18,5$ раза меньше, чем при декомпрессии с уровня 6,1 м. Снижение концентрации ГП в тканях при декомпрессии по этому режиму обусловлено снижением концентрации предсуществующих в них зародышей пузырьков и интенсивности образования новых зародышей под действием повышенного внешнего давления. Следует отметить, что равенство величин максимального суммарного объема ГП в тканях при указанных воздействиях может соблюдаться и при меньшем различии их концентрации, если при декомпрессии по режиму B_3 рост пузырьков происходит при меньшей величине параметра D_T .

Как видно на рис. 1, режим декомпрессии B_4 создает опасное перенасыщение азотом наиболее медленных тканей организма. Более того, на рис. 2 видно, что максимальный размер ГП, образующихся в тканях при этом режиме декомпрессии, превышает максимальный размер ГП, образующихся при режиме декомпрессии B_3 , несмотря на увеличение

скорости десатурации тканей от азота и снижения скорости роста в них ГП под действием высокого парциального давления кислорода в дыхательной смеси. Поэтому можно считать, что в экспериментах авторов работы [8] подъем опытных водолазов на поверхность после насыщенного погружения на глубину 30 м по режиму B_4 завершился благополучным для них исходом благодаря пониженной концентрации зародышей ГП в их тканях относительно среднего уровня, присущего большинству людей. Практика водолазного дела также свидетельствует о том, что хорошо тренированные водолазы весьма часто совершают подъем на поверхность по опасным для большинства людей режимам и избегают при этом возникновения симптомов ДБ.

Выводы

1. Режимы декомпрессии после насыщенных погружений, нацеленные на удержание парциального давления азота в тканях на допустимых уровнях, значительно короче режимов с нулевым перенасыщением тканей азотом и всеми растворенными в них газами.
2. Концентрация ГП в тканях при практически безопасной декомпрессии с глубины 30 м меньше, чем при декомпрессии с глубины 6,1 м из-за снижения концентрации предсуществующих и интенсивности образования новых зародышей пузырьков под действием повышенного внешнего давления.
3. Хорошо тренированные водолазы могут совершать подъем на поверхность по опасным для большинства людей режимам декомпрессии и избегать при этом возникновения симптомов ДБ благодаря пониженной концентрации зародышей ГП в их тканях.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Список литературы

1. Ванн Р.Д. Теория и практика декомпрессии // Медицинские проблемы подводных погружений: Пер. с англ. / П.Б. Беннетт, Д.Г. Эллиот, ред. М., 1988 С. 418–468.
Vann R.D. Decompression theory and application // The medical problems of diving: Transl. from Engl. / P.B. Bennett, D.H. Elliott, eds. Moscow, 1988. P. 418–468.
2. Кларк Д.М. Токсическое действие кислорода // Медицинские проблемы подводных погружений: Пер. с англ. / П.Б. Беннетта, Д.Г. Эллиотта, ред. М., 1988. С. 190–246.
Clark J.M. Oxygen toxicity // The medical problems of diving: Transl. from Engl. / P.B. Bennett, D.H. Elliott, eds. Moscow, 1988. P. 190–246.
3. Николаев В.П. Динамика газовых пузырьков в гетерогенных по структуре и диффузионной проницаемости

тканях организма при декомпрессии // Докл. РАН. 1999. Т. 366. № 1. С. 133–137.

Nikolaev V.P. Dynamics of decompression gas bubbles in body tissues with heterogeneous structure and diffusion permeability // Doklady RAN. 1999. V. 366. № 1. P. 133–137.

4. *Николаев В.П.* Кумулятивная вероятность возникновения декомпрессионной болезни // Там же. 2002. Т. 386. № 1. С. 130–135.

Nikolaev V.P. Cumulative probability of decompression sickness onset // Ibid. 2002. V. 386. № 1. P. 130–135.

5. *Baker E.C.* Understanding M-values. // Immersed. 1998. V. 3. № 3. P. 23–27.

6. *Behnke A.R.* Decompression sickness following exposure to high pressure // Decompression sickness / J.F. Fulton, ed. Philadelphia, 1951. P. 53–89.

7. *Boycott A.E., Damant G., Haldane J.S.* The prevention of compressed air illness // J. Hyg. 1908, V. 8. P. 343–443.

8. *Buhlmann A.A., Frei P., Keller H.* Saturation and desaturation with nitrogen and helium at 4 atm. // J. Appl. Physiol. 1967. V. 23. P. 458–462.

9. *Buhlmann A.A.* Decompression – decompression sickness. N.Y., 1984.

10. *Fenn W.O., Rann H., Otis A.B.* A theoretical study of the composition of the alveolar air at altitude // Am. J. Physiol. 1946. V. 146. № 5. P. 637–653.

11. *Nikolaev V.P.* Effects of heterogeneous structure and diffusion permeability of body tissues on decompression gas bubbles dynamics // Aviat. Space Environ. Med. 2000. V. 71. № 7. P. 723–729.

12. *Nikolaev V.P.* Probabilistic model of decompression sickness based on stochastic models of bubbling in tissues // Ibid. 2004. V. 75. № 7. P. 603–610.

13. *Schreiner H.R., Kelly P.L.* The computation of decompression schedules for repetitive saturation-exursion dives // Aerospace Med. 1970. V. 41. № 3. P. 491–495.

14. *Thalmann E.D., Parker E.C., Survanshi S.S., Weathersby P.K.* Improved probabilistic decompression model risk predictions using linear-exponential kinetics // Undersea Hyperb. Med. 1997. V. 24. P. 255–274.

15. *Van Liew H.D., Flynn E.T.* Decompression tables and dive-outcome data: graphical analysis // Ibid. 2005. V. 32. № 4. P. 187–198.

16. *Van Liew H.D., Flynn E.T.* Direct ascent from air and N₂-O₂ saturation dives in humans: DCS risk and evidence of threshold // Ibid. 2005. V. 32. № 6. P. 409–419.

17. *Weathersby P.K., Homer L.D., Flynn E.T.* On the likelihood of decompression sickness // J. Appl. Physiol. 1984. V. 57. P. 815–825.

18. *Workman R.D.* Calculation of decompression schedules for nitrogen-oxygen and helium-oxygen dives // USN Experim. Diving Unit Report. NEDU 6-65. Washington, 1965.

Поступила 24.03.2016

SPECIFICS OF GAS BUBBLE FORMATION AND GROWTH IN TISSUES DURING DECOMPRESSION AFTER SATURATION DIVES

Nikolaev V.P., Komarevtsev V.N.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 42–47

It is shown that the decompression schedule after saturation dives to a depth of 30 m designed to hold the nitrogen supersaturation for the most «slow» tissues at the acceptable levels is significantly shorter than the decompression schedules with zero supersaturation of these tissues with nitrogen and all dissolved gases. Equality of the risk of decompression sickness (DCS) onset under this decompression schedule to the risk of DCS onset under the rapid ascent to the surface after saturation dives to a depth of 6.1 m indicates that the effect of the high ambient pressure decreases the concentration of seeds of gas bubbles in tissues and their subsequent growth rate. The DCS symptoms in experienced divers under dangerous decompression profiles not appear due to the lower concentration of gas bubble seeds in their tissues relatively to the average level inherent to the many of humans.

Key words: gas bubbles, decompression sickness, decompression schedule.

УДК 579.65+629.786:534.392+613.155:614.487

ОЧИСТКА ПОВЕРХНОСТИ МЕТАЛЛОВ ОТ МИКРООРГАНИЗМОВ-БИОДЕСТРУКТОРОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ ИЗЛУЧАТЕЛЯ УЛЬТРАЗВУКА «ПАСКАЛЬ» И УСТАНОВКИ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОЗДУХА «ПОТОК»

Дешевая Е.А.¹, Новикова Н.Д.¹, Шубралова Е.В.², Поликарпов А.Н.¹, Краснов Н.А.³

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Центральный научно-исследовательский институт машиностроения, г. Королев, Московская область

³Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений, п. Менделеево, Московская область

E-mail: Deshevaya@imbp.ru

В работе оценена возможность удаления микроорганизмов с поверхности материалов при воздействии ультразвука высокой интенсивности, создаваемой установкой «Паскаль», и последующим обеззараживанием воздуха с помощью установки «Поток». В результате проведенных исследований разработана аппаратура, позволяющая полностью удалять развитую ассоциацию микроорганизмов с алюминиевой поверхности. Использование сочетанного действия установок «Паскаль» и «Поток» привело к полному обеззараживанию воздушной среды.

Ключевые слова: ультразвуковая очистка поверхностей, инактивация микроорганизмов.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 48–53.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-48-53

Длительная эксплуатация орбитальных станций приводит к тому, что на поверхностях различных конструкционных материалов интерьера и оборудования в локальных зонах развиваются микроорганизмы, которые оказывают существенное влияние на безопасность и надежность функционирования космической техники. В результате жизнедеятельности микроорганизмов, развивающихся в среде космического аппарата, появляются очаги обрастания поверхностей конструкционных и декоративно-отделочных материалов и металлов, приводящие к их биодеструкции и биокоррозии [1–5]. Основным способом, предотвращающим развитие микроорганизмов на поверхности материалов, является удаление влаги или очага роста микроорганизмов. Одним из методов удаления влаги и очага роста микроорганизмов является воздействие ультразвука, способного удалить влагу с поверхности и под влиянием интенсивных акустических колебаний вызвать отрыв микроорганизмов от поверхности [6].

Установка «Паскаль» способна создавать ультразвуковые колебания 29 кГц при уровне звукового давления 149–150 дБ × 2 × 10⁵ Па, при которых

происходит ультразвуковая сушка и очистка поверхности. В значительной мере эффективность ультразвуковой сушки связана с ускорением процессов тепломассообмена в ультразвуковом поле. Для запуска механизма очистки высушиваемый материал должен подвергаться воздействию ≥145 дБ. При очень высокой влажности материала (200–500 % в нашем случае) имеет место чисто механическое удаление влаги, которое сводится к своеобразному «вытряхиванию» жидкости из капилляров. Это происходит вследствие дробления капель при возникновении у поверхности материала сильных акустических потоков. В известной степени эти процессы аналогичны процессам, протекающим при ультразвуковом распылении, с той разницей, что ультразвуковая энергия подводится со стороны жидкости [6, 7].

Принцип действия установки «Поток» основан на инактивации микроорганизмов, находящихся в обрабатываемом воздушном потоке, при воздействии на них постоянными электрическими полями заданной ориентации и напряженности. Обработка воздуха осуществляется в 2 этапа [8–10].

На 1-м этапе в зоне инактивации осуществляется комбинированное многократное воздействие на микроорганизмы резко изменяющихся по величине напряженности и градиенту постоянных электрических полей и ионов противоположных знаков, приводящих к необратимому повреждению или полному разрушению микробных клеток.

На 2-м этапе в зоне фильтрации происходит улавливание обломков разрушенных микробных клеток, аллергенов и находящегося в обрабатываемом воздушном потоке твердого аэрозоля на электростатическом осадителе. Осадитель состоит из пористого диэлектрика, который зажимается 2 пластинами из пенометалла. Разность потенциалов между металлическими пластинами создает электрическое поле внутри пористой пластмассы. Частицы, получившие заряд в зоне инактивации, движутся вместе с

потоком воздуха по каналам пористой диэлектрической пластины. Воздействие электрического поля существенно усиливает эффект фильтрации [11].

Методика

Определение влияния ультразвука (УЗ) высокой интенсивности на микроорганизмы проводили в специальном помещении объемом 36 м³ с помощью установки «Паскаль», которая создавала непрерывные ультразвуковые колебания 29 кГц при уровне звукового давления (амплитуде) 155 дБ x 2 x 10⁵ Па. Действие УЗ осуществлялось воздушным способом, т.е. УЗ распространялся первоначально по воздуху на расстоянии 1 см от поверхности. Время воздействия УЗ составляло 5–10 с. Обеззараживание воздуха осуществляли с помощью установки «Поток-150МК» (далее «Поток»).

Для исследований были выбраны штаммы бактерии и грибов, выделенные из среды обитания Международной космической станции (МКС):

- *Aspergillus versicolor* № 3-4-4;
- *Penicillium expansum* № 3-4-3;
- *Bacillus pumilus* № 25.

В экспериментах определяли возможность очистки металлической поверхности и обеззараживания воздуха при действии установок «Паскаль» и «Поток» по наличию на поверхности образцов жидкой бактериально-грибной суспензии и развитой ассоциации микроорганизмов.

Суспензию бактерий и грибов готовили в стерильной воде и наносили на поверхность образцов за 1 ч до воздействия УЗ.

Для получения развитой ассоциации микроорганизмов на поверхности алюминия создавали макетные образцы с хорошо видимым глазом ростом микроорганизмов. Для этого образцы алюминия заражали ассоциацией бактерий и грибов в питательном растворе жидкой среды Чапека и инкубировали в течение 14 сут.

Для полного контакта с обрабатываемой УЗ поверхностью в серии экспериментов изготавливали специальную насадку, позволяющую собирать мелкодисперсную фазу и ее инактивировать с помощью установки «Поток», работа которой начиналась с момента озвучивания образцов.

Отбор проб воздушной среды осуществляли аспирационно-седиментационным методом с помощью воздушного пробоотборника SAS фирмы PBI путем посева определенного объема воздуха на поверхность питательной среды согласно методике работы данного прибора. Отбор проб осуществляли после воздействия УЗ с целью определения содержания микроорганизмов в мелкодисперсной воздушной фазе после действия установки «Поток». Пробы воздуха данным методом отбирали на расстоянии 50 см от ультразвуковой установки.

Ультразвуковое воздействие осуществляли на 0,5 мл суспензии микроорганизмов, налитой на поверхность образца алюминия, который помещали в стерильный специальный бюкс.

Для приготовления взвеси каждой тест-культуры бактерий использовали суточную культуру, выращенную на плотной питательной среде (мясопептонный агар) при температуре 37 °С. Для определения воздействия УЗ на споры были выбраны бактерии *B. pumilus*. Для этого готовили суспензию культуры в физиологическом растворе и рассеивали ее на поверхность картофельного агара, разлитого в стерильные чашки Петри, в объеме 15–18 мл на чашку. Инкубирование посевов производили в течение 48 ч при температуре 37 °С в термостате. По истечении 48-часовой инкубации чашки Петри с посевами вынимали из термостата и дополнительно выдерживали при комнатной температуре (20–22 °С) в присутствии естественного источника света в течение 5 сут.

Взвесь (смыв) тест-культуры бактерии готовили в стерильном физиологическом растворе, используя эталонный стеклянный стандарт мутности на 10 ед, что соответствует количеству микробных клеток 1 млрд/мл. Затем серией последовательных разведений в стерильном физиологическом растворе добивались концентрации взвеси каждого тест-микроорганизма, равной 5×10^6 – 1×10^7 клеток в 1 мл.

Для стандартизации тест-культур микромицетов штаммы выращивали в чашках Петри с плотной питательной средой Чапека – Докса. Подтверждали их видовую идентичность на основании анализа культуральных и морфологических признаков, а затем высевали на скошенный агар (среда Чапека), разлитый в большие (диаметр 20–22 мм) пробирки.

Для приготовления взвеси (суспензии) спор грибов для заражения проб использовали тест-культуры грибов, выращенные на среде Чапека – Докса при 28 °С, имеющие возраст от 14 до 28 сут, считая с момента посева. Суспензию спор в концентрации 1 млн/мл готовили отдельно для каждого вида тест-культур грибов. Для этого в колбу (пробирку), содержащую 15 ± 5 мл стерильного физиологического раствора, переносили споры грибов из пробирки с чистой культурой. Перенос спор из пробирок в колбу (пробирку) осуществляли путем захвата спор бактериологической петлей.

При взятии спор из пробирки не касались петлей питательной среды. Определение количества спор в суспензии осуществляли методом подсчета с использованием счетной камеры Горяева.

Для получения взвеси спор грибов приготовленные суспензии спор каждого вида смешивали в равных частях.

Суспензии грибов и бактерий смешивали в равных частях для получения инокулята, содержащего 10^{5-6} спор грибов и 10^{6-7} бактериальных клеток в 1 мл.

После ультразвукового воздействия проводили смыв со стенок бюкса и с алюминиевого образца. Эти пробы отбалтывали в течение 3 мин, проводили посев на питательные среды и инкубировали при соответствующих температурах.

Для получения достоверных результатов количество проб анализировали в 3-кратной повторности.

Контролем для данных исследований являлось содержание колониеобразующих единиц бактерий и грибов в исходных растворах или на контрольных образцах с ростом микроорганизмов.

Результаты и обсуждение

При ультразвуковом воздействии на жидкость, содержащую бактериально-грибную суспензию, на алюминиевом образце в бюксе отмечен быстрый перевод жидкости в аэрозольную фазу и образование на стенках бюкса капель влаги. На самом образце алюминия видимой влаги не отмечено. Численность микроорганизмов в воздушной фазе в данном эксперименте оценивалась после действия установки «Поток» через 5 мин и через 1 ч. Это позволяло определить возможность установки «Поток» удалять высокодисперсную фазу в эксперименте.

Воздействие УЗ высокой интенсивности разделило жидкую суспензию на разные фазы. Крупнодисперсная фаза отмечалась на стенках бюкса, и численность бактерий в ней была выше. При этом выявлен большой разброс в содержании колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий, особенно на стенках бюкса.

При совместном действии установок «Паскаль» и «Поток» на бактериально-грибную суспензию численность бактерий на стенках бюкса уменьшилась с $1,0 \cdot 10^5$ до $2,2 \cdot 10^4$ КОЕ/мл (табл. 1). Это снижение было недостоверным, однако разброс чисел при повторяемости эксперимента был настолько мал, что не вызывал сомнений в достоверности данных, полученных при совместном действии изучаемых физических факторов. Следовательно, при ультразвуковом воздействии на жидкость, содержащую бактерии, большая часть микроорганизмов переходила в аэрозольную фазу, которая затем улавливалась установкой «Поток».

Результаты данного эксперимента показывают, что при воздействии УЗ на жидкость, содержащую бактерии в крупнодисперсной фазе (на стенках бюкса и на алюминиевом образце), содержание микробов было достоверно ниже, чем в аэрозольной фазе. Это видно при вычитании от исходного содержания бактерий в суспензии суммы численности бактерий на стенках и на образце, которая составляла более $7,0 \cdot 10^7$ КОЕ/мл.

При воздействии УЗ высокой частоты на образцы алюминия с видимым ростом микроорганизмов численность бактерий на стенках бюкса и образцах существенно не различалась.

Содержание грибов при воздействии только УЗ-установки и совместном воздействии обеих установок в низкодисперсной фазе, т.е. на стенках бюкса и на образцах алюминия, по сравнению с исходным содержанием снижалось на 2 порядка. Большая часть микромицетов после воздействия УЗ находилась в аэрозольной высокодисперсной фазе как при действии на жидкую суспензию, так и при действии на ассоциацию микроорганизмов. Колонии грибов сохранялись на образцах, но в значительно измененном виде (рис. 1).

Следовательно, при воздействии УЗ высокой интенсивности большая часть жидкости, содержащей бактерии и грибы, переходила в аэрозольную высокодисперсную фазу. Совместное действие установок «Паскаль» и «Поток» недостоверно изменяло численность микроорганизмов на стенках бюкса и на образцах алюминия, так как капли жидкости, образующиеся на стенках бюкса, и пленочная влага на образцах являются низкодисперсной фазой, которую установка «Поток» не улавливала.

Установка «Поток» эффективно обеззараживала воздух от микроорганизмов при воздействии УЗ на жидкость, содержащую бактерии и грибы. В воздухе помещения через 1 ч не выявлено жизнеспособных единиц бактерий и грибов тех видов, которые использовали в данном эксперименте (табл. 2). При действии УЗ на развитую бактериально-грибную ассоциацию численность микроорганизмов в воздухе через 5 мин после работы установки «Поток» была выше, чем при озвучивании суспензии микроорганизмов. Жизнеспособные единицы бактерий и грибов были отмечены в аэрозоле и через 1 ч работы установки «Поток». Следовательно, установка «Поток» со 100 %-ной эффективностью обеззараживала воздух специального помещения при воздействии УЗ на микроорганизмы, находящиеся в жидкости. Эффективность инактивации развитой ассоциации бактерий и грибов установкой «Поток» была ниже и составляла через 1 ч 97,7 %. Возможно, это связано не только с работой установки «Поток», но и с большой степенью «разбрызгивания» спор микроорганизмов при воздействии УЗ на развитую колонию микроорганизмов.

Результатом проведенных экспериментов явилось создание комплекса специальной аппаратуры состоящей из установок «Паскаль» и «Поток», наконечника на УЗ-излучатель и насадки, которая соединялась с входным отверстием установки «Поток». Кроме этого, был проведен расчет установки «Паскаль», позволивший сфокусировать УЗ в четко определенную зону действия, круг диаметром 18 мм.

В следующей серии экспериментов определялась возможность удаления развитой ассоциации микроорганизмов с алюминиевой поверхности. Модернизированный комплекс не разделял колонии

Таблица 1

Содержание КОЕ микроорганизмов на исследуемых поверхностях

Бактерии				
Вид	Место отбора проб	Исходная численность, КОЕ/мл	Численность после воздействия установки «Паскаль», КОЕ/мл	Численность после воздействия установок «Паскаль» и «Поток», КОЕ/мл
Суспензия	Стенки бьюкса	8,0 ± 0,2·10 ⁷	1,0 ± 0,6·10 ⁵	2,2 ± 0,01·10 ⁴
	Поверхность образца		2,0 ± 0,1·10 ⁴	4,0 ± 0,2·10 ⁴
Ассоциация	Стенки бьюкса	5,6 ± 0,4·10 ⁶	4,0 ± 0,6·10 ⁴	3,2 ± 0,08·10 ³
	Поверхность образца		2,8 ± 0,5·10 ⁴	5,2 ± 0,1·10 ³
Грибы				
Суспензия	Стенки бьюкса	8,6 ± 0,2·10 ⁶	7,0 ± 0,2·10 ⁴	1,3 ± 0,1·10 ⁴
	Поверхность образца		8,0 ± 0,3·10 ⁴	1,4 ± 0,1·10 ⁴
Ассоциация	Стенки бьюкса	1,4 ± 0,2·10 ⁷	6,5 ± 1,2·10 ⁵	4,4 ± 0,5·10 ⁴
	Поверхность образца		9,0 ± 1·10 ⁵	6,6 ± 0,2·10 ⁴

Таблица 2

Содержание КОЕ микроорганизмов в воздухе

Содержание микроорганизмов в воздухе	Численность бактерий, КОЕ/м ³		Численность грибов, КОЕ/м ³	
	Через 5 мин	Через 1 ч	Через 5 мин	Через 1 ч
После совместного действия установок «Паскаль» и «Поток» на бактериально-грибную суспензию	173	Не обнаружено	55	Не обнаружено
После совместного действия установок «Паскаль» и «Поток» на развитую бактериально-грибную ассоциацию	265	6	171	4

Таблица 3

Содержание КОЕ микроорганизмов на поверхности образцов алюминия при воздействии УЗ

Вид микроорганизма	Исходная численность микроорганизма, КОЕ/см ²	Численность микроорганизма после действия УЗ, КОЕ/см ²
<i>Aspergillus versicolor</i>	$1,5 \pm 0,3 \cdot 10^5$	$1,4 \pm 1,2 \cdot 10^1$
<i>Penicillium expansum</i>	$2,7 \pm 0,5 \cdot 10^6$	Не обнаружено
<i>Bacillus pumilus</i>	$4,2 \pm 0,6 \cdot 10^5$	$8,1 \pm 4,0 \cdot 10^2$

микроорганизмов на отдельные фракции, а полностью «срывал» их с поверхности. К воздушному потоку, создаваемому всасывающей частью установки «Поток», присоединялась волна, содержащая мелкодисперсную влагу и микроорганизмы с очищенной поверхности, образованная УЗ-потоком при воздействии на очищаемую поверхность. На рис. 2 показаны поверхности образцов до действия комплекса с видимым ростом микроорганизмов и после воздействия УЗ на образец – чистая алюминиевая поверхность.

Численность КОЕ бактерий на поверхностях образцов была низкой, а жизнеспособные единичные

фрагменты грибов сохранялись только за счет микромицетов вида *Aspergillus versicolor* (табл. 3). Полученные результаты выявили высокую степень удаления видимого роста микроорганизмов с помощью созданного аппаратного комплекса. Эффективность обеззараживания поверхностей образцов с помощью разработанного комплекса от грибов составляла 99,9 %, а от бактерий – 99,8 %.

Действие установки «Поток» в данной серии экспериментов полностью обеззараживало воздух от микробного фактора. Тест-микроорганизмов в воздухе помещения после действия в течение 5 мин установки «Поток» не было обнаружено.



А



Б

Рис. 1. Рост колонии гриба на поверхности алюминия. А – рост колонии на поверхности алюминия до воздействия УЗ; Б – изменение внешнего вида колонии после действия УЗ. Увеличение 2 x 2,5



А



Б

Рис. 2. Рост колонии гриба на поверхности алюминия. А – рост колонии гриба на поверхности алюминия; Б – чистая поверхность алюминия после воздействия комплекса аппаратуры. Увеличение 2 x 2,5

Эффективность обеззараживания воздуха при использовании специальной аппаратуры, соединяющей зону озвучивания с установкой «Поток», составляла 100 %. Это было связано с тем, что при переходе в высокодисперсную аэрозольную фазу бактерии и грибы сразу засасывались установкой «Поток» и попадали в область постоянного тока, что вызывало их полную инактивацию.

Выводы

1. Направленное действие УЗ высокой интенсивности способно разделять на низко- и высокодисперсную фракции суспензии и ассоциации микроорганизмов, растущие на поверхностях алюминиевых образцов. При этом численность бактерий и грибов в аэрозольной фракции была значительно выше, чем в низкодисперсной фракции.

2. На основании полученных результатов был модернизирован аппаратный комплекс, позволивший полностью очищать поверхности образцов от роста микроорганизмов и не допускать попадания жизнеспособных единиц бактерий и грибов во внешнюю среду.

3. Модифицированная установка «Поток» способна эффективно обеззараживать воздух от микроорганизмов.

Работа выполнена при поддержке контракта «МКС» (Надежность – Наука).

Список литературы

1. Дешева Е.А. Микроскопические грибы как фактор экологического риска при многолетней эксплуатации орбитальной станции: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1999.

Deshevaya E.A. Microscopic fungi as a factor of environmental risk in the long-term operation of the orbital station: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 1999.

2. Новикова Н.Д. Микробное сообщество среды обитания пилотируемых орбитальных комплексов – проблемы, методы контроля и коррекции: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2002.

Novikova N.D. Microbial community of the manned orbital vehicles habitat – problems, methods of control and

correction: Avtoreferat dissertatsii ... doktora biologicheskikh nauk. Moscow, 2002.

3. Новикова Н.Д. Основные закономерности формирования микрофлоры среды обитания орбитального комплекса «Мир» // Авиакосм. и экол. мед. 2001. Т. 35. № 4. С. 32–40.

Novikova N.D. The main regularities of formation of the microflora of the habitat of the orbital station «Mir» // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2001. V. 35. № 4. P. 32–40.

4. Новикова Н.Д., Поддубко С.В., Дешевая А.А. и др. Микробиологические аспекты формирования среды обитания пилотируемых космических объектов // Научные аспекты экологических проблем России. М., 2002. Т. 1. С. 582–586.

Novikova N.D., Poddubko S.V., Deshevaya E.A. et al. Microbiological aspects of the formation of the manned space objects habitat // Scientific aspects of environmental problems in Russia. Moscow, 2002. V. 1. P. 582–586.

5. Викторов А.Н., Новикова Н.Д., Дешевая Е.А. Микрофлора кабин пилотируемых космических объектов и проблема биоповреждений используемых в них конструкционных материалов // Авиакосм. и экол. мед. 1992. Т. 26. № 3. С. 41–48.

Viktorov A.N., Novikova N.D., Deshevaya E.A. The microflora of manned space objects' compartments and the problem of their construction materials biodeterioration // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 1992. V. 26. № 3. P. 41–48.

6. Голямин И.П. Ультразвук. М., 1979.

Golyamin I.P. Ultrasound. Moscow, 1979.

7. Борисов Ю.Я., Гынкина Н.М. Физические основы ультразвуковой технологии. М., 1970.

Borisov Yu.Ya., Gynkina N.M. Physical basis of ultrasound technology. Moscow, 1970.

8. Knorr D., Heinz V. Development of nonthermal methods for microbial control // Disinfection, sterilization and preservation / S.S. Block, ed. 5th ed. Philadelphia, 2001. P. 853–880.

9. Spilimbergo S., Dehghani F., Bertuccio A., Foster N.R. Inactivation of bacteria and spores by pulse electric field and high pressure CO₂ at low temperature // Biotechnol. and Bioengineering. 2003. V. 82. № 1. P. 118–125.

10. Патент № 2026751 РФ. Устройство для стерилизации и тонкой фильтрации газа / Е.В. Володина, А.В. Наголкин – № 5048011. Заявл. 13.05.92. Опубл. 20.01.95; приоритет 13.05.92.

Patent № 2026751 RF. Device for sterilization and fine gas filtration / E.V. Volodina, A.V. Nagolkin – № 5048011. Application 13.05.92. Published 20.01.95; priority 13.05.92.

11. Использование установки обеззараживания воздуха УОВ «Поток-М-01» и контроль микробной обсемененности воздуха при ее работе: Метод. указания. М., 2002.

Operation of air disinfection unit UOV «Potok-M-01» and the control of microbial contamination of air during its work: Guidelines. Moscow, 2002.

Поступила 07.12.2015

CLEANING OF METAL SURFACES FROM MICROORGANISMS-BIODESTRUCTORS BY COMBINED USE OF ULTRASOUND GENERATOR «PASCAL» AND AIR DECONTAMINATION UNIT «POTOK»

Deshevaya E.A., Novikova N.D., Shubralova E.V., Polikarpov A.N., Krasnov N.A.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 48–53

The effort was made to assess the feasibility to remove microorganisms from surface of materials with the help of high-intensity ultrasound generator «Pascal» and further air decontamination using unit «Potok». The test data guided construction of a system capable to eliminate completely a mature association of microorganisms from aluminum surfaces. The combined use of 2 units resulted in total decontamination of atmosphere.

Key words: ultrasound cleaning of surfaces, inactivation of microorganisms.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 612.087+612.171.1

МЕТОД АНАЛИЗА НАПРЯЖЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА С ПОМОЩЬЮ ОБОБЩЕННОГО ЛОГАРИФМИЧЕСКОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ПРИ ХОЛТЕРОВСКОМ МОНИТОРИРОВАНИИ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАММЫ

Васин А.Л.^{1, 2}, Шафиркин А.В.¹, Сасонко М.Л.²

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Научный клинический центр ОАО «Российские железные дороги», Москва

E-mail: alvasin07@rambler.ru

Изучение процессов адаптации человека к длительно действующим экстремальным факторам окружающей среды требует разработки интегральных показателей для количественной оценки состояния различных функциональных систем организма. В данной работе использован разработанный интегральный обобщенный логарифмический показатель для анализа изменений показателей variability сердечного ритма (BCP) за период 20-часового мониторинга у отдельных пациентов, прошедших обследование в условиях клиники. Выраженность адаптационных процессов по изменениям показателей BCP сопоставлена между пациентами и по отношению к аналогичным показателям в норме у здоровых людей в возрасте до 30 лет.

Ключевые слова: обобщенный логарифмический показатель, variability сердечного ритма, спектральные показатели, адаптация, вегетативная регуляция.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 54–62.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-54-62

В настоящее время по-прежнему уделяется большое внимание определению функционального состояния регуляторных систем организма человека в условиях адаптации к различным факторам окружающей среды. Вопрос особенно актуален при профессиональном отборе лиц, связанных с работой в экстремальных условиях при длительном воздействии стрессорных факторов.

Для количественного описания закономерностей формирования поражения в системе кроветворения, иммунной системе, белковом и углеводном обмене, а также развития компенсаторных процессов в организме при длительном действии ионизирующих излучений, электромагнитных излучений сверхвысоких частот ранее был успешно применен обобщенный логарифмический показатель (ОЛП) [1–5]. При увеличении интенсивности действующего стрессорного фактора и его продолжительности с помощью этого показателя удалось количественно

охарактеризовать степень напряжения регуляторных систем, состояние функциональных резервов и изменение общей устойчивости организма [2–4]. С помощью ОЛП удалось оценить индивидуальную устойчивость животных к радиационному воздействию и осуществить индивидуальный подбор животных из когорты со 100 %-ной выживаемостью при облучении в среднелетальных дозах [1]. Успешно был применен этот показатель и для описания напряженности регуляторных процессов при длительном комбинированном воздействии облучения животных и химического загрязнения воздуха в замкнутом объеме в режимах, характерных для межпланетного полета к Марсу [5]. Обобщенный логарифмический показатель органично входит в систему градаций состояний организма, используемую в литературе и полностью согласуется с концепцией здоровья, представленной в работах Р.М. Баевского [6–9], что было отмечено в обзорном исследовании [4]. С его помощью на основе степени напряжения регуляторных систем удалось количественно характеризовать переход от нормы к активной адаптации (АА), неудовлетворительной адаптации (НА) и срыву адаптации. Показано, что с использованием ОЛП удается удовлетворительно описывать возрастные изменения работы сердца у мужчин и женщин по 12 показателям, включающим также работу сердечно-сосудистой системы (ССС): частоты пульса, САД, ДАД, ЭКГ, БКГ, ИН и др. Для этого мы обратились к описанию состояния СССР более 500 работников завода «Экситон» разного возраста от 25 до 45 лет и выше, представленного в работе [6].

В работе [4] были продемонстрированы дополнительные возможности ОЛП для оценки функционального состояния (ФС) СССР и индекса функциональных изменений (ИФИ). Была показана его высокая чувствительность для описания перехода состояния СССР от нормы к АА, НУ и срыву адаптации. Это позволило с достаточно высокой достоверностью выявить возрастные изменения у работников. С помощью обобщенного логарифмического

Таблица 1

Клинические данные по состоянию ССС у участников анализа ВСР

Код пациента	Возраст, годы	Диагноз	Артериальное давление, мм рт. ст. САД/ДАД	Гипотензивная терапия
101	44	Артериальная гипертензия 2-й степени	132/84	Да
102	47	Артериальная гипертензия 2-й степени	140/95	Да
103	32	Артериальная гипертензия 2-й степени	130/90	Да
104	27	Здоров	120/80	Нет
105	40	Трепетание предсердий, пароксизмальная форма. Аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз	135/90	Да
106	72	Здоров	110/67	Нет
107	58	Артериальная гипертензия 2-й степени. Сахарный диабет 2-го типа	135/80	Да
108	39	Здоров	120/80	Нет

показателя удалось установить также максимальную информативность отдельных показателей состояния ССС [3, 4].

Дополнительные возможности применения указанного показателя для диагностики состояния ССС открываются при изучении регуляции системы кровообращения и анализе показателей вариабельности сердечного ритма (ВСР).

Методика

В данной работе на основе ряда показателей ВСР, широко представленных в работах [6–9], включающих среднеквадратичное (стандартное) отклонение (SDNN) кардиоинтервалов (КИ) от среднего значения за контролируемый период, а также спектральные характеристики кардиограммы, проанализировали на основе ОЛП характер изменений показателей ВСР за период 20-часового мониторинга у отдельных пациентов, проходивших обследование в клинике НКЦ ОАО «РЖД».

В соответствии с принятой интерпретацией показателей ВСР уменьшение SDNN связано с усилением симпатической регуляции, а увеличение SDNN указывает на усиление автономной регуляции, связанной с ростом влияния дыхания на ритм сердца.

Вариацию сердечного ритма также характеризуют суммарной мощностью спектра КИ. Мощность спектра в 3 основных частотных диапазонах (высоко-частотном – HF, низко-частотном – LF, очень низко-частотном – VLF) при 5-минутных записях отражает глубину модуляции длительности КИ, т.е. напряжение регуляторных механизмов сердечного ритма, создаваемое волновой активностью различных отделов вегетативной нервной системы (ВНС).

Оценку степени напряженности отдельных регуляторных звеньев проводили по изменению одного из спектральных показателей ВСР – логарифмического индекса (logarithm index – LI).

Значения LI соответствуют напряжению регуляторных процессов по отдельным частотным характеристикам спектра КИ. Для оценки общей напряженности вегетативной нервной регуляции использовали обобщенный логарифмический индекс (generalized logarithmic index GLI(3), рассчитанный по 3 спектральным показателям ВСР.

Для получения оценки текущего состояния регуляторных систем организма с помощью логарифмических индексов проанализированы записи ВСР 8 мужчин, с установленными диагнозами (табл. 1). Случайная выборка пациентов без ишемической болезни сердца (ИБС).

Трое испытуемых были здоровы. Пятеро получали медикаментозную терапию: 80 % – диуретики, 100 % – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, 40 % – антагонисты кальция и 20 % – бета-блокаторы.

Анализ ВСР проводили по обработанным результатам суточного мониторинга ЭКГ, выведенным в текстовый файл. Файл содержал последовательность записей через каждые 2,5 мин с указанием времени суток. Мониторирование и анализ ЭКГ проводилось с помощью аппаратуры и программного обеспечения системы «Астрокард-Телеметрия» в условиях клиники. В анализе использованы показатели MeanNN, SDNN, а также показатели спектральной плотности мощности: суммарная – TotP, и по отдельным спектральным компонентам VLF, LF, HF.

Записи суточного мониторинга ВСР у пациентов были синхронизированы по времени суток. Из всех записей были отобраны 470, в которых время суток совпадало с точностью до 0,5 мин. Все записи были разбиты на 5 временных периодов (П1–П5) по 94 записи. Длительность каждого периода составила 3 ч 55 мин.

Для анализа ВСР использовали временной ряд данных: усредненные КИ и спектральные показатели, записанные в течение 5 мин с интервалом 2,5 мин.

Таблица 2

Средние значения показателей ВСР в норме для здоровых мужчин до 30 лет и показатель скорости возрастных отклонений (СВО) за год

Показатель	Среднее значение, $M \pm m$	СВО, %/год
Ln(SDNN)	$4,34 \pm 0,49$	-0,42
Ln(VLF)	$7,66 \pm 0,92$	-0,34
Ln(LF)	$7,81 \pm 1,11$	-0,58
Ln(HF)	$6,58 \pm 1,38$	-0,81
ССС	-	-0,88 [10, 13]
Основной обмен	-	-0,49 [10, 13]

Логарифмический индекс, соответствующий уровню напряжения (активности) звена ВНС, определялся по простому соотношению:

$$LI(j) = \lg(M_j/M_{0j}), \quad (1)$$

где M_j – текущее значение показателя ВСР; M_{0j} – значение j-го показателя в норме (табл. 2).

Для оценки общей напряженности вегетативной нервной регуляции использовали обобщенный логарифмический индекс (generalized logarithmic index GLI(3), рассчитанный по 3 спектральным показателям ВСР: VLF, LF и HF.

GLI(3), исходя из предположения нормальности распределения, рассчитывается по формуле:

$$GLI(3) = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{M_{0i}}{\sigma_{0i}}} \left(\sum_{i=1}^n \frac{M_{0i}}{\sigma_{0i}} \left| \lg \frac{M_i}{M_{0i}} \right| \right) \quad (2)$$

где GLI(3) – обобщенный логарифмический показатель (ОЛП); n – количество спектральных показателей ВСР; M_i – среднее значение i-го показателя в данный момент; M_{0i} – среднее значение i-го показателя в норме; σ_{0i} – среднеквадратическое отклонение i-го показателя в норме.

Предварительная оценка показала, что спектральные показатели ВСР имеют логнормальное распределение. Поэтому в расчетах логарифмических индексов для показателей в норме использовали натуральные логарифмы зарегистрированных данных (см. табл. 2).

Сущность обобщенного индекса, как указывалось выше, заключается в интегральной суммарной оценке изменения активности отделов ВНС на основе отношения каждого используемого показателя к базовому значению, соответствующему норме, определенной по большой выборке.

Значения нормы для вычисления ОЛП и оценки возрастных изменений показателей ВСР у обследуемых пациентов, как будет показано ниже, были тщательно выбраны на основе данных литературы

для молодых спортсменов и аналогичного обследования группы здоровых добровольцев («молодежная» норма).

При анализе возрастных изменений состояния ССС необходимо обратить внимание на онтогенетический аспект. В ряде работ показано постепенное уменьшение показателей здоровья по состоянию ряда систем, включая ССС, с возрастом [10–13], которое характеризовалось скоростью возрастных отклонений (СВО) за год. В подробном обзоре, посвященном исследованию зависимости некоторых параметров ВСР от факторов внутренней и внешней среды [12], в котором они изучались также в онтогенетическом аспекте, показано, что до 13–14 лет происходит активное созревание механизмов регуляции сердечного ритма, а далее к 15–20 годам скорость изменений существенно замедляется. К этому возрасту отмечают наиболее оптимальные значения показателей ВСР в норме, однако реакции на функциональные тесты (нагрузки) все еще отличаются от таковых у взрослого человека 25–30 лет. С возрастом в этой работе также отмечено снижение значений таких показателей ВСР как SDNN и мощность высокочастотного спектра HF. Показатель SDNN постепенно снижается с возрастом к 90 годам на 40 % (0,7 %/год). Мощность высокочастотной части спектра HF уменьшается уже с 20 лет и по некоторым данным может достигать 15 % за каждые 10 лет [12].

Для получения границ варьирования «молодежной» нормы были проанализированы данные литературы по показателям ВСР молодых здоровых мужчин-спортсменов (до 30 лет), очевидно обладающих наилучшими оптимальными значениями показателей ВСР. Эти данные представлены в работах [14–19]. Для сопоставления измеряемых показателей с данными литературы, уменьшения ошибок, связанных с использованием разнотипного оборудования и методик расчета показателей ВСР, проведено предварительное обследование 26 здоровых добровольцев, мужчин в возрасте от 20 до 75 лет при 2-часовом дневном мониторингировании ЭКГ в лабораторных условиях с помощью системы «Астрокард-Телеметрия», которая обычно применяется в клинических обследованиях НКЦ ОАО «РЖД». По результатам обследования построена линейная экстраполяция показателей ВСР от возраста, на основе которых была рассчитана норма для молодых людей в возрасте 30 лет. Полученные значения оказались в границах варьирования для «молодежной» нормы по данным литературы. Значения нормы для молодых здоровых мужчин в возрасте до 30 лет представлены в табл. 2. В таблице также даны значения СВО, которая позволяет сравнивать возрастные изменения различных систем организма. СВО для показателей ВСР пересчитаны, учитывая коэффициент линейного снижения показателей

с возрастом по результатам экстраполяции экспериментальных данных испытуемых добровольцев. В табл. 2 приведены также значения СВО состояния CCC и основного обмена по данным работ [10, 13].

Следует отметить, что показатель СВО основного обмена близок к полученному нами значению СВО для логарифмических показателей SDNN и VLF BCP, а коэффициент СВО, отражающей функциональное состояние CCC по данным литературы, близок к СВО логарифма показателя HF, соответствующего активности автономного звена регуляции сердечного ритма. Последнее свидетельствует о том, что старение CCC определяется в большей степени снижением резервов парасимпатической регуляции сердечного ритма.

Результаты и обсуждение

Согласно модели регуляции, предложенной в методических рекомендациях по анализу BCP [7], управление ритмом сердца осуществляется взаимодействием 2 уровней (контуров) регулирования – автономного и центрального. Автономный контур регуляции обеспечивается структурами парасимпатического отдела ВНС. Воздействие автономного контура на ритм сердца идентифицируется с дыхательной аритмией. Недыхательная синусовая аритмия связана с деятельностью центрального контура регуляции, идентифицируется с симпатoadренальными влияниями медленноволновых составляющих на ритм сердца. Связь между центральным и автономным контурами осуществляется посредством нервных (в основном симпатических) и гуморальных связей.

Как указывалось выше, 3 частотные компоненты BCP характеризуют активность и взаимодействие рассмотренных уровней регуляции. В случае дефицита активности парасимпатического отдела (показатель HF) усиливается активность центрального звена регуляции (симпатический отдел ВНС), что сопровождается увеличением значений VLF и LF. Работу такой «триады» наглядно демонстрирует рис. 1.

Для пациентов 104 и 107, данные которых представлены в табл. 1 (см. рис. 1, А, Б), показаны изменения показателей VLF, LF, и HF (в % от полного спектра Tot P), отражающие активность отделов вегетативной регуляции. Для лучшего восприятия кривые сглажены с помощью FFT-фильтра по 10 точкам. (Сглаживание с помощью FFT-фильтров рассмотрено в работе [20].)

Для пациента 104 увеличение активности парасимпатического отдела ВНС во время ночного отдыха сопровождалось симметричным снижением активности центрального звена регуляции сердечного ритма, что больше свойственно для нормальной регуляции сердечного ритма. Для пациента 107

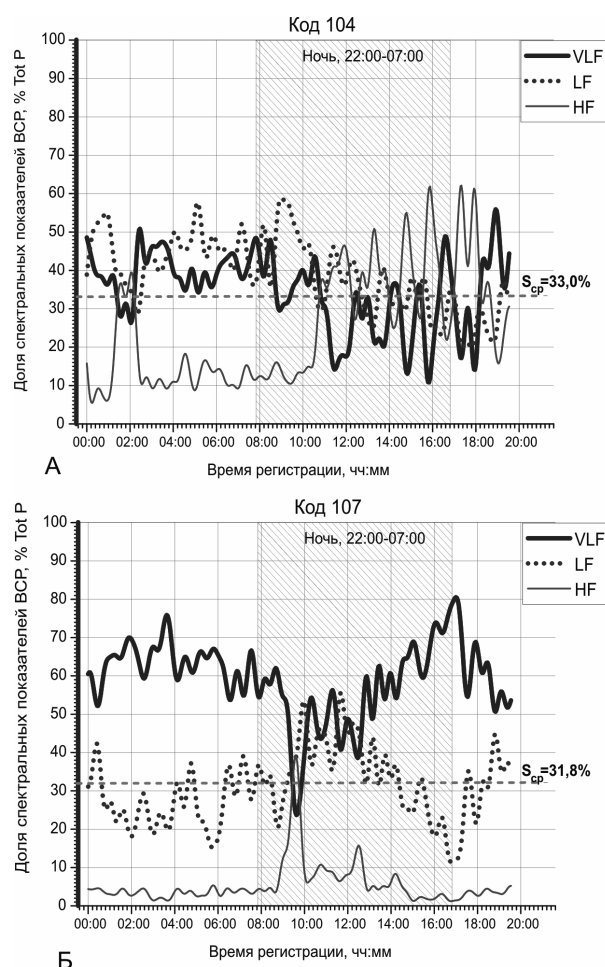


Рис. 1. Изменения спектральных показателей в течение суток.

А – пациент 104; Б – пациент 107. S_{cp} – средний уровень 3 спектральных показателей в % от суммарного спектра за весь период мониторингирования ЭКГ

можно отчетливо видеть существенный дефицит активности автономного контура регуляции (HF) и повышенную напряженность (активность) работы центрального симпатического звена регуляции (VLF), связанного с энергетическими и обменными процессами (с подключением нейроэндокринной системы).

Активность вегетативной регуляции сердечного ритма зависит от возраста. Коэффициенты СВО (табл. 2) свидетельствуют о разном темпе старения структур, отвечающих за спектральные показатели BCP. Скорость возрастных отклонений HF больше чем LF и VLF ($0,81 > 0,58 > 0,34$). Именно поэтому с возрастом наступает преобладание центрального контура регуляции (симпатического отдела) над автономным контуром (парасимпатический отдел). Имеет место более резкое напряжение регуляции сердечного ритма с подключением основного нейроэндокринного звена.

Таблица 3

**Средние значения логарифмических индексов и ОЛП за весь период мониторингирования
ЭКГ ($M \pm m$) и риск ССО у обследуемых пациентов**

Код пациента	LI(SDNN)	LI(VLF)	LI(LF)	LI(HF)	GLI(3)	Степень ССО по Score, %
101	0,059 $\pm$ 0,042	0,068 $\pm$ 0,051	0,077 $\pm$ 0,044	0,173 $\pm$ 0,089	0,096 $\pm$ 0,042	2,41
102	0,036 $\pm$ 0,027	0,053 $\pm$ 0,039	0,031 $\pm$ 0,027	0,094 $\pm$ 0,052	0,055 $\pm$ 0,027	1,82
103	0,030 $\pm$ 0,022	0,052 $\pm$ 0,036	0,026 $\pm$ 0,023	0,030 $\pm$ 0,019	0,038 $\pm$ 0,022	0,11
104	0,034 $\pm$ 0,026	0,051 $\pm$ 0,036	0,030 $\pm$ 0,025	0,072 $\pm$ 0,046	0,049 $\pm$ 0,029	0,03
105	0,102 $\pm$ 0,050	0,102 $\pm$ 0,062	0,120 $\pm$ 0,052	0,236 $\pm$ 0,102	0,140 $\pm$ 0,058	1,38
106	0,103 $\pm$ 0,062	0,096 $\pm$ 0,072	0,156 $\pm$ 0,073	0,253 $\pm$ 0,084	0,154 $\pm$ 0,064	>4,52
107	0,105 $\pm$ 0,059	0,097 $\pm$ 0,063	0,152 $\pm$ 0,075	0,284 $\pm$ 0,133	0,160 $\pm$ 0,071	>15,0
108	0,055 $\pm$ 0,041	0,073 $\pm$ 0,052	0,061 $\pm$ 0,054	0,117 $\pm$ 0,064	0,079 $\pm$ 0,047	0,83

Значения GLI(3) и логарифмических индексов по отдельным показателям, находящиеся в пределах 0–0,05, соответствовали норме и, следовательно, оптимальному режиму регуляции сердечного ритма, что свидетельствовало о минимальном расходовании суммарного объема функциональных резервов организма [10].

В соответствии с системой количественной оценки процессов адаптации, предложенной в работах [2–4], диапазон удовлетворительной адаптации 0–0,05. Активная адаптация (АА) характеризуется напряжением и перенапряжением регуляторных систем, и значение LI увеличивается от 0,05 до 0,1. При превышении LI более 0,1 проявляется неудовлетворительная адаптация (НУА), при которой наблюдается выраженное и резко выраженное перенапряжение регуляторных механизмов. Границами срыва адаптации (СА), при которой отмечают патологию в регуляции, являются значения, превышающие 0,2.

В табл. 3 представлены средние значения логарифмических индексов по отдельным показателям и обобщенный логарифмический индекс (GLI) за весь период суточного мониторингирования ЭКГ для каждого пациента (см. табл. 1). Кроме того, в табл. 3 представлены расчетные данные факторов риска сердечно-сосудистых осложнений (ССО) для пациентов.

По данным литературы имеется связь уровней адаптации с риском развития общих заболеваний, особенно заболеваний ССС. В кардиологии принято определять степень риска ССО по шкалам. В течение 27 лет в 12 странах Европы, включая Россию, проводилось проспективное исследование с участием более 200 тыс. пациентов, в котором оценивался 10-летний риск развития смертельных случаев сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с артериальной гипертензией и атеросклерозом. На основании этих данных была разработана и

адаптирована к российской популяции шкала Score (Systematic Coronary Risk Evaluation). Шкала построена с учетом таких факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний как пол, возраст, статус курения, уровень систолического давления и общего холестерина. В расчете ССО использовали данные об уровне артериального давления на момент исследования. Некурящими считались испытуемые, никогда не курившие или отказавшиеся от курения не менее 10 лет назад.

Оценка риска ССО по Score имеет ряд ограничений. Она не применяется для людей старше 65 лет, поэтому степень риска пациента 106 (72 года) рассчитывалась и принята, условно, большей, чем для лиц в возрасте 65 лет. У пациента 107 имеются признаки сахарного диабета. Оценка риска ССО по Score таким пациентам не проводится, их риск ССО считается очень высоким (более 15 %). На основании расчета большинство включенных в исследование имеют низкий риск ССО (менее 5 %). Наиболее низкий риск ССО выявлен у пациента 104. Наиболее высокий риск ССО по Score (более 15 %) определен у пациента 107, что связано с наличием у него также сахарного диабета 2-го типа.

Из табл. 3 видно, что спектральный показатель HF, отражающий волновые процессы, связанные с автономным контуром регулирования ритма сердца в высокочастотной части спектра КИ, оказался наиболее вариативным в выборке. По расчету логарифмических индексов у 3 пациентов (код 105–107) состояние процесса адаптации в ответ на комплекс воздействий внешней среды в высокочастотной части спектра КИ, может быть охарактеризовано как НУА и с высокой вероятностью возможен срыв адаптации, – LI(HF) > 0,2. Для этих пациентов снижение активности автономного контура регуляции по сравнению с «молодежной» нормой регуляции очень значительно. Очевидно, что чем меньше активность автономного звена регуляции, т.е. чем

больше показатель HF отличается от нормы, тем более напряженно работает центральное нейро-гуморальное звено регуляции. При этом также отмечаются повышенные значения логарифмических индексов LI(VLF) и LI(LF).

Максимальное значение показателя LI(VLF), отражающего наибольшее напряжение регуляции метаболических процессов центрального звена, наблюдали у пациента 105 (значение находится на границе НУА), при сопутствующем у него заболевании (аутоиммунный тиреоидит, при котором наблюдаются расстройства обменных процессов).

При анализе низкочастотной составляющей спектра у пациентов 105, 106 и 107 отмечали значительное перенапряжение регуляторных систем. Адаптационный процесс на основе расчетных значений логарифмического индекса низких частот LI(LF) может быть охарактеризован как НУА. Эта часть спектра соответствует активности вазомоторного центра, регулирующего артериальное давление. Можно предположить, что повышенное значение LI(LF) отражает неудовлетворительное состояние сосудов, что характерно для людей старше 55 лет [6].

Рассматривая данные по другим пациентам (см. табл. 1) можно отметить, что у пациента 101 логарифмический индекс по сверхнизкочастотной составляющей LI(VLF) находился в пределах «молодежной» нормы. В то же время по показателям LI(LF) и LI(HF) адаптационный процесс может быть охарактеризован как АА и НУА соответственно, и регулирование ритма сердца по низкочастотной и высокочастотной составляющим осуществляется со значительным напряжением и даже перенапряжением регуляторных механизмов.

У пациентов 102 и 108 большинство логарифмических индексов оказались в пределах или вблизи нормы и лишь по высокочастотной составляющей LI(HF) имело место выраженное напряжение или даже перенапряжение регуляторных механизмов (состояния АА у 102 и НУА у 108). Логарифмические индексы у пациентов 103 и 104 по показателям ВСР находились в норме и, согласно классификации Р.М. Баевского, характер адаптационных процессов у них мог рассматриваться как оптимальный [6, 9].

Более общее представление о процессах регуляции сердечного ритма с помощью различных отделов ВНС и четкое разграничение пациентов по состоянию CCC, по характеру адаптационных процессов и степени напряжения регуляторных механизмов получили на основе обобщенного логарифмического индекса GLI(3) по 3 показателям, включающим весь рассматриваемый частотный спектр КИ (см. данные табл. 3 и рис. 2). Расчет GLI показал, что только за счет усиления напряжения центрального контура регуляции адаптационные процессы у пациентов 105, 106 и 107 сохранялись

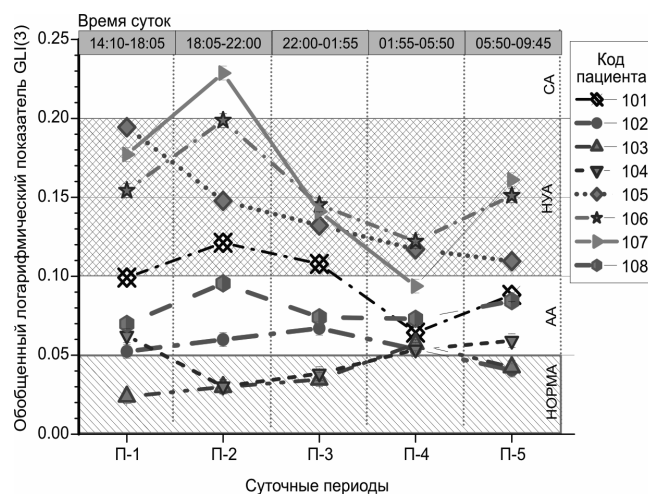


Рис. 2. Изменения обобщенного логарифмического индекса GLI(3) за периоды суточного мониторинга у пациентов ($M \pm m$).

Справа даны обозначения уровней адаптации, соответствующие заштрихованной области: АА – активная адаптация; НУА – неудовлетворительная адаптация; СА – срыв адаптации

на уровне неудовлетворительной адаптации и не было срыва адаптации: $GLI(3) < 0,2$.

Наибольшее напряжение регуляции сердечного ритма, оцениваемое по 3 спектральным компонентам, отмечали у пациента 107, $GLI(3) = 0,16$, что соответствовало основному и сопутствующему заболеваниям (см. табл. 1). Столь же высокое значение этого показателя было и у пациента 106, что объясняется существенно более зрелым возрастом. Таким образом, данные табл. 3 наглядно подтверждают, что чем меньше активность автономного звена регуляции, т.е. чем больше показатель HF отличается от нормы ($LI(HF) > 0.05$), тем более напряженно работает центральное звено регуляции.

Длительное холтеровское мониторирование ЭКГ позволяет также оценить степень напряжения регуляции сердечного ритма в течение суток. На рис. 2 представлены графики изменения обобщенного логарифмического показателя GLI(3) по суточным периодам.

Из рисунка видно, что значения GLI(3) у пациента 103 только в ночной период превышали границу АА, оставаясь в пределах нормы остальное время суток. В соответствии с данными о возрастных изменениях у него, по-видимому, имелся некоторый резерв в регуляции сердечного ритма по сравнению с принятой нами нормой для мужчин в возрасте до 30 лет, что связано с индивидуальными особенностями регуляции. Степень напряжения регуляторных механизмов пациента 104 в течение мониторирования была близка к границе нормы. Таким образом, вычисление обобщенных значений GLI(3)

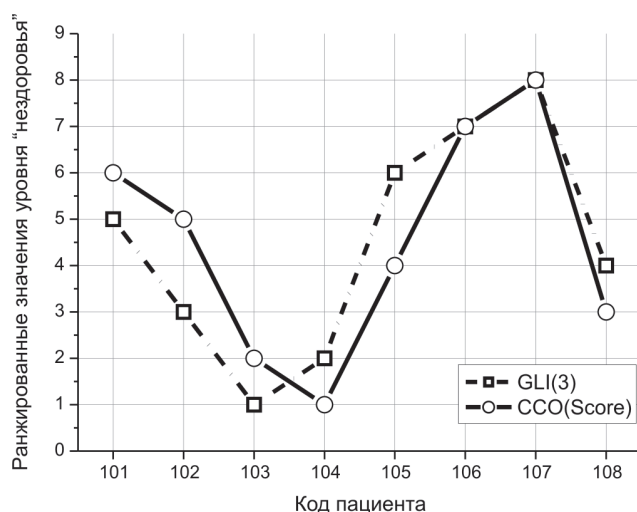


Рис. 3. График распределения мест участников анализа по уровню «нездоровья»

позволяет контролировать степень напряжения регуляторных механизмов сердечного ритма в течение суток, что может оказаться полезным при изучении биологических ритмов организма.

В заключение анализа было проведено сравнение степени напряжения регуляторных механизмов сердечного ритма у пациентов по обобщенному логарифмическому индексу GLI(3) с клинической оценкой степени риска ССО по Score. На рис. 3 представлено условное распределение мест среди участников исследования по уровню «нездоровья».

Из рисунка видно, что значения рангов по GLI(3) и степень возможных ССО по Score совпали для пациентов с наихудшими показателями (код 106 и 107). Наилучшие показатели ОЛП и ССО также поделили первые 2 места между пациентами 103 и 104. Для остальных пациентов разница ранжированных мест между обобщенным логарифмическим показателем GLI(3) и ССО в основном не превышала 1 или 2 места. Близкие значения мест пациентов по уровню «нездоровья» между ОЛП, отражающего степень напряжения регуляции по 3 спектральным показателям ВСП и показателем степени риска ССО, свидетельствуют о хороших перспективах ОЛП для использования в диагностических целях.

Выводы

1. Обобщенный логарифмический показатель, характеризующий значимые отклонения показателей ВСП от нормы, является чувствительным индикатором, отражающим состояние (напряжения) отделов ВНС.

2. Представленный метод анализа показал, что числовые значения логарифмического индекса по отдельным показателям (логарифмические индексы – LI) и обобщенному логарифмическому

показателю (GLI(3)) адекватно отражают характер адапционных процессов и состояние регуляторных механизмов, что подтверждено диагнозом заболеваний ССС.

Работа выполнена по программе фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Список литературы

1. Шафиркин А.В., Короткевич А.О., Штемберг А.С. Оценка индивидуальной радиоустойчивости животных на основе некоторых показателей исходного состояния регуляторных систем организма // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2000. № 6. С. 728–733.

Shafirkin A.V., Korotkevich A.O., Shtemberg A.C. The animal individual radioresistance estimation on the basis of some regulatory systems of organism's initial state // Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya. 2000. № 6. P. 728–733.

2. Васин А.Л., Шафиркин А.В. Оценка изменений различных систем организма при адаптации к хроническому действию электромагнитных полей на основе обобщенных показателей // Ежегодник РНЦНИ 2004–2005. М., 2006. С. 75–104.

Vasin A.L., Shafirkin A.V. Assessment of changes in various body systems during adaptation to chronic action of electromagnetic fields on the basis of generalized indicators // Annual Book of RNCNIRP 2004–2005. Moscow, 2006. P. 75–104.

3. Васин А.Л. Разработка системы обобщенных показателей для характеристики адапционных процессов в организме при хроническом воздействии электромагнитных полей радиочастот: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2008.

Vasin A.L. Development of a generalized indicators system to characterize the adaptation processes in the body chronically exposed to electromagnetic fields of radio frequencies: Avtoreferat dissertatsii kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 2008.

4. Шафиркин А.В., Васин А.Л., Штемберг А.С. Обобщенный логарифмический показатель для характеристики адаптации, определения степени напряжения регуляторных систем при длительном действии экстремальных факторов окружающей среды // Авиакосм. и экол. мед. 2013. Т. 47. № 6. С. 3–10.

Shafirkin A.V., Vasin A.L., Shtemberg A.S. Generalized logarithmic index for the characteristics of adaptation, determine the degree of tension of regulatory systems with prolonged action of extreme environmental factors // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2013. V. 47. № 6. P. 3–10.

5. Шафиркин А.В., Мухамедиева Л.Н., Татаркин С.В., Баранцева М.Ю. Установление риска отдаленных неблагоприятных эффектов хронического комбинированного воздействия радиационного и химического факторов с целью обеспечения безопасности орбитальных и межпланетных космических полетов // Там же. 2012. Т. 46. № 1. С. 23–29.

- Shafirkin A.V., Mukhamedieva L.N., Tatarkin C.V., Barantseva M.Yu. Evaluation of the risk of delayed adverse effects of chronic combined exposure to radiation and chemical factors with the purpose to ensure safety in orbital and exploration space missions // Ibid. 2012. V. 46. № 1. P. 23–29.
6. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М., 1997.
- Baevskiy R.M., Berseneva A.P. Assessment of the adaptive capacity of the organism and the risk of developing diseases. Moscow, 1997.
7. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ variability сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем (методические рекомендации) // Вестн. аритмологии. 2001. № 24. С. 65–87.
- Baevskiy R.M., Ivanov G.G., Chireykin L.V. et al. Analysis of heart rate variability using different electrocardiographic systems (guidelines) // Vestnik aritmologii. 2001. № 24. P. 65–87.
8. Баевский Р.М. Теоретические и прикладные аспекты оценки и прогнозирования функционального состояния организма при действии факторов длительного космического полета. М., 2005.
- Baevskiy R.M. Theoretical and applied aspects of assessment and prediction of functional state of the organism under the action of factors of long-term space flight. Moscow, 2005.
9. Григорьев А.И., Баевский Р.М. Концепция здоровья и космическая медицина. М., 2007.
- Grigoriev A.I., Baevskiy R.M. The concept of health and space medicine. Moscow, 2007.
10. Шафиркин А.В., Штемберг А.С., Есауленко И.Э., Попов В.И. Экология, социальный стресс, здоровье населения и демографические проблемы России. Воронеж, 2009.
- Shafirkin A.V., Shtemberg A.S., Esaulenko I.E., Popov V.B. Ecology, social stress, health and demographic problems of Russia. Voronezh, 2009.
11. Шафиркин А.В., Васин А.Л. Резервы организма, ускоренное старение и сокращение продолжительности жизни человека в условиях длительного действия ЭМП РЧ нетепловых интенсивностей, а также ряда других стрессорных факторов // Ежегодник РНКЗНИ 2007. М., 2007. С. 40–59.
- Shafirkin A.V., Vasin A.L. Reserves of the body, accelerated aging and reduced life expectancy of a person in conditions of prolonged action of non-thermal intensities of RF EMF, and a number of other stress factors // Annual Book of RNCNIRP 2007. Moscow, 2007. P. 40–59.
12. Карпенко Ю.Д. Изучение зависимости variability сердечного ритма от факторов внутренней и внешней среды // Фундамент. исследования. 2011. № 10. С. 619–623.
- Karpenko Yu.D. The study of heart rate variability dependence from internal and external environment factors // Fundamental'nye issledovaniya. 2011. № 10. P. 619–623.
13. Ступаков Г.П., Тихончук В.С., Карпов В.Н. Разработка унифицированных методик оценки уровня здоровья и надежности деятельности операторов // Отчет ГНИИИАиКМ. М., 1991.
- Stupakov G.P., Tikhonchuk V.S., Karpov V.N. Development of standardized methodologies for assessing the level of health and secure the activities of the operators // GNIIIAiKM Report. Moscow, 1991.
14. Берсенева Е.Ю. Вегетативная регуляция сердечного ритма на разных этапах спортивной подготовки // Вариабельность сердечного ритма: Теоретические аспекты и практическое применение. Ижевск, 2008. С. 45–47.
- Bersenev E.Yu. Autonomic regulation of the heart rate at different stages of sports training // Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application. Izhevsk, 2008. P. 45–47.
15. Берсенева Е.Ю., Воронов А.В. Анализ variability сердечного ритма у юных спортсменов в разные периоды суток // Там же. С. 48–51.
- Bersenev E.Yu., Voronov A.V. Analysis of heart rate variability in young athletes in different periods of a day // Ibid. P. 48–51.
16. Велибеков Я.В., Викулов А.Д. Регуляция сердечной деятельности и интенсивность процесса восстановления у спортсменов высокой квалификации // Там же. С. 63–65.
- Velibekov Ya.V., Vikulov A.D. Regulation of cardiac activity and the intensity of recovery process in high qualification athletes // Ibid. P. 63–65.
17. Воронина Г.А., Сафарова Р.И. Характеристика основных параметров variability сердечного ритма как показатель тренированности лыжников-гонщиков // Там же. С. 65–68.
- Voronina G.A., Safarova R.I. Characteristics of heart rate variability main parameters as training indicator of sprinter skiers // Ibid. P. 65–68.
18. Шевченко А.Ю. Сравнительная характеристика основных параметров variability ритма сердца у спортсменов с разной направленностью тренировочного процесса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ярославль, 2006.
- Shevchenko A.Yu. Comparative characteristics of heart rate variability main parameters in athletes with different orientation of training process: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata biologicheskikh nauk. Yaroslavl, 2006.
19. Дратцев Е.Ю., Викулов А.Д., Турчанинов С.Ю., Алехин В.В. Регуляция сердечной деятельности и региональный кровоток у спортсменов // Вариабельность сердечного ритма: Теоретические аспекты и практическое применение. Ижевск, 2008. С. 93–97.
- Dratsev E.Yu., Vikulov A.D., Turchaninov S.Yu., Alekhin V.V. Regulation of cardiac activity and regional blood flow in athletes // Heart rate variability: Theoretical aspects and practical application. Izhevsk, 2008. P. 93–97.
20. URL: <http://www.originlab.com/doc/Tutorials/FFT-Filter>. Дата обращения: 01.06.2015.

Поступила 01.07.2015

**METHOD FOR ANALYSIS OF HEART RATE
REGULATION STRAIN BY APPLICATION OF
THE OVERALL LOGARITHMIC INDEX TO THE
HOLTER ELECTROCARDIOGRAM MONITORING**

Vasin A.L., Shafirkin A.V., Sasonko M.L.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2016. V. 50. № 4. P. 54–62

*Studies of human adaptation to extended exposure
in extreme environments necessitate the development of*

*integral indexes for quantitative evaluation of the functional
systems of organism. The study was performed using an
integral overall logarithmic index to analyze changes in
heart rate variability (HRV) over 20-hour monitoring of
patients examined in a hospital. HRV-evidenced adaptation
processes were compared to the data of Holter monitoring
of patients and normal values for healthy people under
30 years of age.*

Key words: overall logarithmic index, heart rate
variability, spectral parameters, adaptation, autonomous
regulation.

МЕТОДИКИ

УДК 613.693+628.166

КОМБИНИРОВАННОЕ СВЧ-УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОДЫ В ПОТОКЕ

Климарев С.И., Синяк Ю.Е.

Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
E-mail: klimarev2006@gmail.com

Предложено техническое решение, при котором СВЧ-устройство совмещено с электролизером. В этом случае широкая стенка прямоугольного волновода является одним из электродов электролизера и снабжена отверстиями для прохождения жидкости. Другой электрод электролизера расположен в корпусе за пределами волновода под отверстиями в нем. Размещенная в волноводе камера стерилизации выполнена в виде объемной детали из фторопласта, накрывающей часть поверхности широкой стенки волновода с отверстиями для прохождения жидкости и переходящая в поперечный канал, расположенный под углом 30–45° к широкой стенке волновода.

Цель разработки – снижение температуры обеззараживания жидкостей, зараженных спорообразующими формами микроорганизмов, ниже 100 °С и при нормальном давлении, сохранение питательных свойств жидкостей.

Ключевые слова: сверхвысокая частота (СВЧ), СВЧ-устройство, электролизер, камера стерилизации, обеззараживание, жидкость, вода.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 4. С. 63–66.

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-63-66

Известно, что СВЧ-энергия – это эффективный источник тепла, который в большинстве применений обладает несомненными преимуществами перед традиционными источниками воздействия на обрабатываемые среды. Он не вносит каких-либо загрязнений при нагреве, отличается гибкостью в применении и практически безынерционен в управлении. Сочетание СВЧ-нагрева с другими факторами воздействия дает возможность разрабатывать новые методы и технологическое оборудование для выполнения различных задач. В данном конкретном случае это относится к процессу обеззараживания и нагрева воды в потоке применительно к гермообъектам различного назначения.

Так, например, при комбинированном воздействии СВЧ-излучения и перекиси водорода на питательную среду в условиях потока стерилизация для *E. coli* достигалась при 41–42 °С. Перекись водорода вносилась в обрабатываемую среду перед

обработкой из расчета конечной концентрации 0,05–0,015 %. Однако после обработки отмечалось частичное разрушение органических компонентов питательной среды, что следует считать нежелательным [1, 2]. При этом наличие перекиси водорода в обработанной среде обнаружено не было.

Ранее было показано эффективное воздействие на воду, зараженную вегетативными формами микроорганизмов, комбинации СВЧ-энергии и серебра как в ионной форме при концентрации в воде 0,01–0,02 мг/л, так и в виде спирали из проволоки, расположенной в зоне СВЧ-нагрева, при этом температура стерилизации на 10 °С ниже, чем только при СВЧ-нагреве [3].

Заслуживает внимания и сочетанное влияние СВЧ-излучения и свободного (активного) хлора, образующегося в результате электролиза воды. Такая комбинация инструментов воздействия на ассоциацию вегетативных форм микроорганизмов также приводила к снижению температуры обеззараживания на 10 °С [4]. Если в случае использования для обеззараживания жидкостей СВЧ-энергии, перекиси водорода и серебра не требуется дополнительное устройство, то в сочетании СВЧ-энергии и электролиза необходим электролизер с источником питания.

Реализация этого метода с описанием конструкции электролизера и СВЧ-устройства предложена в работе [4]. При этом обрабатываемая вода или водная среда подается непрерывно в электролизер, электрически не связанный с волноводом СВЧ-устройства. К электродам электролизера подводится напряжение, обеспечивающее возникновение процесса электролиза и поддержания его на минимальном уровне, который сам по себе не способен вызвать как полное обеззараживание, так и разрушение компонентов водной среды.

Для примера, при воздействии только СВЧ-энергией стерилизация достигается для *E. coli* при 66 °С, а для *Bac. thuringiensis* – при 125 °С и повышенном давлении без изменения физико-химических свойств воды. Применение только электролиза не вызывает уничтожения микроорганизмов, и это воздействие незначительное (35 %).

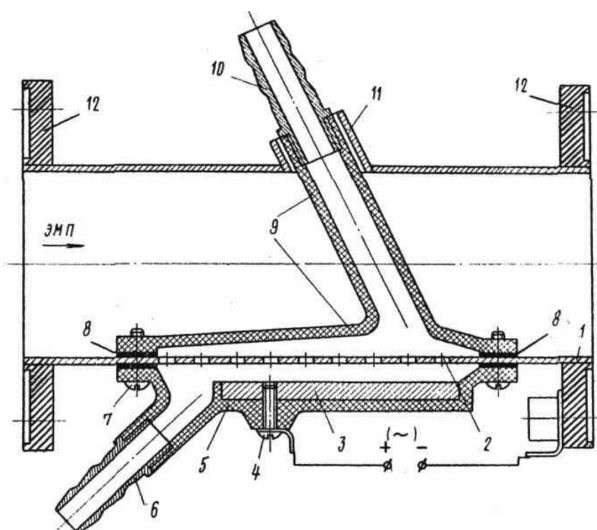


Рис. 1. Комбинированное СВЧ-устройство для обеззараживания воды в потоке (продольный разрез).

1 – волновод; 2 – отверстия для прохождения жидкости; 3 – электрод вне волновода; 4 – токоподвод; 5 – корпус электрода 3; 6 – входной штуцер; 7 – винты; 8 – резиновые прокладки; 9 – камера стерилизации; 10 – выходной штуцер; 11 – запредельное устройство; 12 – фланцы

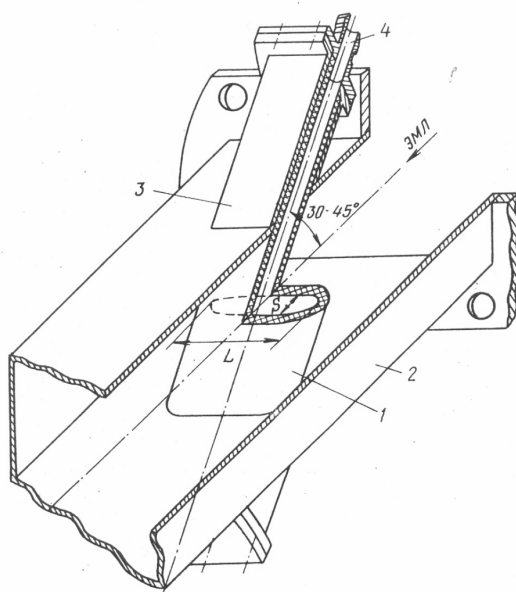


Рис. 2. СВЧ-устройство для обеззараживания и нагрева водных сред.

1 – трубка плоской формы для прохода водной среды; 2 – прямоугольный волновод; 3 – запредельное устройство; 4 – штуцер

Комбинированное воздействие СВЧ-энергии и электролиза обеспечивает 100 %-ное уничтожение бактерий *E. coli* при 43 °С, а *Bac. thuringiensis* – при 90 °С, нормальном давлении и сохранении физико-химических компонентов воды и питательной

среды [2]. В такой комбинации электролизер располагается за пределами волновода и соединен с СВЧ-устройством с помощью диэлектрической манжеты (силиконового шланга). Расстояние от электролизера до зоны СВЧ-воздействия в этом случае составляет не менее 10 см, в результате образуются газовые пузырьки, которые укрупняются по мере удаления от электродов, что может привести к нарушению однородности обрабатываемой жидкости и к снижению эффективности стерилизации.

С учетом вышеизложенного усилия исследователей были направлены на разработку комбинированного СВЧ-устройства для обеззараживания и нагрева водных сред в потоке, в котором электролизер был бы совмещен с волноводом СВЧ-устройства и электрически связан с ним.

Другие комбинации СВЧ-энергии с физико-химическими методами воздействия на водные среды в данной статье не рассматриваются.

Методика

Комбинированное СВЧ-устройство для обеззараживания воды в потоке представляет собой единую конструкцию 2 объединенных технических решений для реализации 3-го метода обеззараживания воды СВЧ-излучением и электролизом [5–7]. На рис. 1 представлен продольный разрез комбинированного СВЧ-устройства.

Устройство представляет собой отрезок прямоугольного волновода 1 сечением 90 х 45 мм с размещенной в нем камерой стерилизации 9, выполненной из радиопрозрачного материала (фторопласта) в виде объемной детали, внутренняя полость которой сформирована из продольного канала, переходящего в поперечный канал, который расположен под углом 30–45° к широкой стенке волновода. Часть поверхности волновода 1, ограниченная продольным каналом камеры стерилизации, является одним из электродов электролизера и снабжена отверстиями 2 для прохождения воды. Поперечный канал имеет высоту S , составляющую 0,12–0,14 длины волны и ширину L , равную 0,26–0,45 размера широкой стенки волновода, и расположен широкой стороной к направлению распространения электромагнитной волны. Его изначальное положение в волноводе иллюстрирует техническое решение, показанное на рис. 2 [8].

Второй электрод 3 электролизера расположен за пределами волновода 1 и закреплен в корпусе 5, выполненном из диэлектрического материала (фторопласта). Корпус внешнего электрода 5 и камера стерилизации 9 прикреплены к широкой стенке волновода посредством винтов 7 и резиновых прокладок 8 для герметизации элементов устройства. Корпус внешнего электрода 5 соединен со штуцером 6 для подачи обрабатываемой жидкости в СВЧ-устройство.

Таблица

Технологические параметры процесса обеззараживания воды в комбинированном СВЧ-устройстве

$t_{\text{воды нач}}, ^\circ\text{C}$	$t_{\text{воды кон}}, ^\circ\text{C}$	$Q_{\text{воды}}, \text{мл/мин}$	$P_{\text{СВЧ погл}}, \text{Вт}$	$I_{\text{эл-ра}}, \text{А}$	$U_{\text{эл-ра}}, \text{В}$	КСВН	$C_{\text{ост}}, \text{КОЕ/мл}$
20,0	90	170	794	0,75	10,0	2,6	0
20,0	87	175	805	0,75	10,0	2,6	0
20,0	85	185	815	0,75	10,0	2,5	60
20,0	80	205	830	0,75	10,0	2,4	600
20,0	70	255	864	0,75	10,0	2,1	1000
20,0	60	325	890	0,75	10,5	2,0	1200
20,0	50	475	935	0,75	11,0	1,7	1200
20,0	40	650	937	0,75	11,0	1,6	1200

Примечание. $t_{\text{воды нач}}$ – начальная температура воды, $^\circ\text{C}$; $t_{\text{воды кон}}$ – конечная температура воды, $^\circ\text{C}$; $Q_{\text{воды}}$ – расход воды, мл/мин; $P_{\text{СВЧ погл}}$ – поглощенная водой СВЧ мощность, Вт; $I_{\text{эл-ра}}$ – ток электролизера, А; $U_{\text{эл-ра}}$ – напряжение электролизера, В; КСВН – коэффициент стоячей волны напряжения; $C_{\text{ост}}$ – концентрация микроорганизмов после СВЧ-обработки, КОЕ/мл; КОЕ – колониеобразующая единица.

Отверстия 2 в широкой стенке волновода для прохода обрабатываемой среды выполнены в виде щелей, расположенных последовательно одна за другой между узкими стенками волновода с образованием цепочки. При этом цепочки расположены в несколько рядов на электроде, являющемся широкой стенкой волновода 1. Щели выполнены с увеличением их длины от центральной части электрода к его периферии. Отношение ширины щели к ее длине в центральной части электрода составляет $1/2$, а ближе к периферии – $1/3$. Это сделано для выравнивания скорости потока среды при подаче ее через штуцер 6 с центральным расположением.

Устройство работает следующим образом: стерилизуемая вода через штуцер 6 подается в пространство, образованное электродом 3 и нижней плоскостью волновода 1, где подвергается воздействию электрического тока электролизера. Затем газожидкостная смесь через отверстия 2 поступает в продольный и поперечный каналы 9, где подвергается воздействию СВЧ-энергии.

Соотношение площади электрода, являющейся частью поверхности широкой стенки волновода 1, расположенной под продольным каналом камеры стерилизации, к площади сечения поперечного канала может составлять $20 : 100$, а соотношение высоты продольного канала к высоте узкой стенки волновода b $0,1 : 0,30$. Продольный канал выполнен приплюснутым с целью предотвращения преждевременного укрупнения пузырьков электролизных газов.

Обрабатываемая среда проходит через максимум электрической составляющей электромагнитного поля, формируемого в СВЧ-устройстве в зоне поперечного канала [7]. Это техническое решение реализуется с помощью волноводного тракта, содержащего СВЧ-генератор, комбинированное СВЧ-устройство для обеззараживания воды и концевую

согласованную поглощающую нагрузку [4]. Для проведения исследований использовался СВЧ-генератор мощностью $1,0 \text{ кВт}$, работающий на частоте $2450 \pm 50 \text{ МГц}$.

Перед входом в штуцер 6 комбинированного СВЧ-устройства и после выходного штуцера 10 устанавливались термометры по ГОСТ 215-57 и ГОСТ 215-73 для регистрации температуры воды с ценой деления шкалы $0,1$ и $1,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Расход воды фиксировался ротаметром типа РЭС 3 с погрешностью измерений 5% . Количество энергии, поглощенной водой после прохождения СВЧ-устройства, определялось по уравнению теплового баланса.

Обеззараживание воды осуществлялось в следующей последовательности: предварительно дехлорированная водопроводная вода заражалась спорообразующей формой микроорганизмов *Bac. thuringiensis* в концентрации 1200 КОЕ/мл и подвергалась комбинированному воздействию СВЧ-энергии и электролиза при токе $0,75 \text{ А}$. Фиксирование параметров и отбор проб на биоконтроль осуществлялись при дискретных значениях температуры от 90 до $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Количество микроорганизмов после комбинированного воздействия и в контроле определялось по стандартной микробиологической методике чашечным методом.

Результаты и обсуждение

В соответствии с изложенной выше методикой были проведены экспериментальные исследования обеззараживания воды в потоке с использованием комбинированного СВЧ-устройства. Результаты исследований представлены в таблице.

Из данных таблицы видно, что стерилизующий эффект комбинированного воздействия СВЧ-энергии

и электролиза при токе 0,75 А на *Bac. thuringiensis* проявляется при температуре 87 °С. Исходя из этого, верхний температурный режим стерилизации воды принимается в пределах 87–90 °С.

В результате электролиза воды мелкодиспергированные кислород, водород и свободный (активный) хлор равномерно распределяются в воде и предварительно воздействуют на микроорганизмы, затем вода через отверстия в волноводе поступает в продольный и поперечный каналы, где окончательно подвергается нагреву СВЧ-энергией. При этом дополнительное влияние оказывает и мелкодиспергированный кислород, который под действием СВЧ-энергии может перейти в синглетное состояние. Помимо этого может иметь место и кавитационное воздействие, возникающее за счет растворенных в обеззараживаемой воде газов.

Выводы

Использование комбинированного СВЧ-устройства для обеззараживания воды в потоке, благодаря совокупности воздействия таких факторов, как температура, специфическое влияние СВЧ-энергии, электрического тока, образующихся при электролизе газов кавитационного эффекта, позволяет:

- уничтожить спорообразующие формы микроорганизмов при температуре 87–90 °С и без повышения давления;
- сохранить питательную ценность обеззараживаемых жидкостей.

Работа выполнена в рамках базовой НИР РАН, номер госрегистрации 01201373016.

Список литературы

1. Заблочкий Л.Л., Лобанов А.Г., Попов В.В. и др. Способ стерилизации воды. Авт. св. СССР № 610797. 1976.
Zablotskiy L.L., Lobanov A.G., Popov V.V. et al. Method of water sterilization. Avtorskoe svidetel'stvo SSSR. № 610797. 1976.
2. Заблочкий Л.Л., Климарев С.И., Лобанов А.Г. и др. Способ стерилизации воды. Авт. св. СССР № 715491. 1979.
Zablotskiy L.L., Klimarev S.I., Lobanov A.G. et al. Method of water sterilization. Avtorskoe svidetel'stvo SSSR. № 715491. 1979.
3. Климарев С.И., Синяк Ю.Е. Исследование комбинированного воздействия СВЧ-энергии и серебра на воду в потоке для ее обеззараживания // *Авиакосм. и экол. мед.* 2015. Т. 49. № 4. С. 38–41.
Klimarev S.I., Sinyak Yu.E. Investigation of the combined disinfectant effect of ultra-high frequency energy and silver on water in flow // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2015. V. 49. P. 38–41.

4. Климарев С.И., Синяк Ю.Е. Обеззараживание воды при комбинированном воздействии СВЧ-энергии и активного хлора, образующегося при ее электролизе // Там же. 2014. Т. 48. № 2. С. 48–51.

Klimarev S.I., Sinyak Yu.E. Water disinfection by the combined exposure to super-high frequency energy and available chlorine produced during water electrolysis // Ibid. 2014. V. 48. № 2. P. 48–51.

5. Заблочкий Л.Л., Климарев С.И., Попов В.В. Устройство для стерилизации воды. Авт. св. СССР № 996334. 1982.

Zablotskiy L.L., Klimarev S.I., Popov V.V. Device for water sterilization. Avtorskoe svidetel'stvo SSSR. № 996334. 1982.

6. Климарев С.И., Королева В.И., Королев И.А. и др. СВЧ-стерилизатор. Патент на полезную модель № 130224. 2013.

Klimarev S.I., Koroleva V.I., Korolev I.A. et al. UHF-Sterilizer. Patent № 130224. 2013.

7. Климарев С.И., Королева В.И., Королев И.А. и др. Способ непрерывной стерилизации жидкости и устройство для его осуществления. Патент на изобретение № 2519841. 2014.

Klimarev S.I., Koroleva V.I., Korolev I.A. et al. Method of continuous sterilization of liquid and device for its realization. Patent on invention № 2519841. 2014.

8. Заблочкий Л.Л., Климарев С.И., Лобанов А.Г. Устройство для обеззараживания и нагрева водных сред. Авт. св. СССР № 1139439. 1984.

Zablotskiy L.L., Klimarev S.I., Lobanov A.G. Device for water sterilization and heating. Avtorskoe svidetel'stvo SSSR. № 1139439. 1984.

Поступила 12.04.2016

COMBINED ULTRA-HIGH FREQUENCY UNIT FOR IN-STREAM WATER PURIFICATION

Klimarev S.I., Sinyak Yu.E.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 63–66

An engineering solution proposes to merge an ultra-high frequency energy unit and an electrolyzer. The broad wall of a rectangular waveguide is one of electrolyzer electrodes and has holes for liquid. Another electrode is located outside the waveguide under the waveguide holes. The teflon sterilization chamber inside the waveguide has the form of a volumetric component that covers part of the broad wall and transforms to a lateral at a 30–45° angle to the waveguide wall.

The idea of this design is to reduce decontamination temperature for liquids containing spore-forming microorganisms below 100 °C at normal pressure, and to retain the nutritional properties of liquids.

Key words: ultra-high frequency (UHF), UHF-device, electrolyzer, sterilization chamber, decontamination, liquid, water.

ЛЕКЦИИ

УДК [613.693+573]001.18

КОСМИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ: СЕГОДНЯ И ЗАВТРА

Ушаков И.Б.

Российская академия наук, Москва
E-mail: ibushakov@gmail.com

DOI: 10.21687/0233-528X-2016-50-4-67-73

Отмечая в этом году 55-летний юбилей первого полета человека в космос, совершенного нашим соотечественником Юрием Алексеевичем Гагариным, следует напомнить, что полет стал возможным не только благодаря созданию передовой в то время ракетно-космической техники, но и достижениям космической медицины и биологии. Эта область знаний развивалась параллельно с созданием и постоянным совершенствованием космических летательных аппаратов.

В настоящее время космическая медицина и биология – это передовой край науки, где теснейшим образом переплетены фундаментальные и прикладные исследования, направленные на получение новых знаний о влиянии факторов космического полета (КП) и космического пространства на живые системы и на решение проблем медицинской безопасности пилотируемых КП, будь то орбитальные полеты или полеты в дальний космос.

Космическая медицина, как и медицина в целом – это система научных знаний и практической деятельности, целью которых является укрепление и сохранение здоровья, продление жизни людей, предупреждение и лечение болезней человека в необычных экстремальных условиях КП. Все области знаний, используемые в земной медицине, находят свое отражение и в космической медицине. Это в первую очередь физиология, гигиена и санитария, радиобиология и др. Космическая медицина является важным элементом практики пилотируемой космонавтики, во многом определяющим состояние и перспективы освоения человеком космического пространства.

Прогресс в области космонавтики стимулировал развитие многих наук, в том числе космической медицины. Без создания надежной системы сохранения здоровья и работоспособности человека в КП невозможно себе представить развитие пилотируемой космонавтики. Безопасность, обеспечение здоровья и способности к профессиональной деятельности космонавтов при выполнении космических миссий всегда являлись важнейшими принципами отечественной пилотируемой космонавтики.

Основной задачей исследований в области космической медицины является совершенствование систем медицинского обеспечения пилотируемых полетов. В настоящее время под медицинским обеспечением КП понимается сложившаяся система организационных, медицинских, санитарно-гигиенических и медико-технических мероприятий, направленных на сохранение и поддержание здоровья и работоспособности космонавтов на всех этапах их профессиональной деятельности. Эта система включает, в частности:

- медицинский отбор и медико-биологическую подготовку космонавтов и их периодическое медицинское освидетельствование (медицинскую сертификацию здоровья космонавтов);
- оперативное медицинское обеспечение здоровья и работоспособности космонавтов в КП (медицинский, санитарно-гигиенический и радиационный контроль, диагностика и медицинская помощь, профилактика неблагоприятного влияния факторов КП на организм, режим труда и отдыха).

В этой системе каждый элемент является чрезвычайно важным для обеспечения безопасности пилотируемого полета, сохранения здоровья и работоспособности членов экипажей космических миссий и поддержания их профессионального долголетия.

Эффективность этой системы была успешно продемонстрирована в кратковременных и длительных космических полетах экипажей на космических кораблях «Союз», орбитальных станциях «Салют» и «Мир». В настоящее время она получает дальнейшее развитие в рамках работы интернациональных экипажей на борту Международной космической станции (МКС).

Во время полетов космонавтов осуществляются:

- мониторинг среды обитания;
- контроль здоровья и работоспособности членов экипажа;
- прогноз возможных нарушений в состоянии здоровья космонавтов, оказание при необходимости медицинской помощи;
- профилактика неблагоприятного влияния на организм факторов полета;

- регламентация труда и отдыха, психологическая поддержка;
- медицинское обеспечение внекорабельной деятельности;
- обеспечение средствами личной гигиены;
- водообеспечение, контроль питания;
- обеспечение радиационной безопасности.

Накопленный к настоящему времени опыт в области космической медицины в части сохранения здоровья и профессионального долголетия космонавтов свидетельствует об успешном преодолении ранее существовавших медицинских ограничений на возможность осуществления длительных (12–14 мес) КП. Это в значительной мере определило поступательное развитие пилотируемой космонавтики и освоение космического пространства человеком, создало реальные предпосылки к реализации планов дальнейшего освоения космоса, в том числе осуществлению межпланетных полетов.

В связи с переходом Российской Федерации на инновационный путь экономического развития проблема повышения эффективности и рентабельности наукоемкого сектора приобрела особую актуальность. Это отразилось на целях и задачах, которые в настоящее время поставлены перед пилотируемой космонавтикой. Наряду с тем, что космическая деятельность является мощным средством развития фундаментальных исследований в различных областях науки и техники, она создает колоссальный задел знаний и для решения прикладных задач. Медицинская аппаратура, методы диагностики и средства профилактики неблагоприятного воздействия невесомости на организм человека, разрабатываемые для КП, обладают ценными свойствами для их использования в клинической практике, спортивной медицине, экстремальных ситуациях, т.е. заключают в себе значительный инновационный потенциал.

Одним из важнейших вопросов социально-экономического развития общества является сохранение здоровья населения. Использование результатов космической деятельности в приоритетных национальных проектах, в частности внедрение космических медицинских технологий, созданных на базе современных достижений науки и техники, в практику здравоохранения (национальный проект «Здоровье»), позволит обеспечить их еще более эффективную реализацию.

Специалистами в области космической медицины и биологии накоплен уникальный опыт изучения воздействия факторов КП на организм человека, выявлены основные физиологические эффекты воздействия невесомости и наиболее страдающие при этом системы организма, определены стадии его адаптации к невесомости, созданы методы медицинского контроля и управления физическим и психологическим состоянием космонавтов,

аппаратура контроля параметров среды обитания, средства и методы профилактики неблагоприятного действия невесомости на организм человека, определены медико-психологические требования к отбору и подготовке космонавтов, режиму их труда и отдыха.

В течение первых двух десятилетий с момента начала полетов человека в космос космическая медицина была для научной общественности экзотической областью научных знаний, «вещью в себе и для себя». Однако по мере накопления знаний приходило понимание, что микрогравитацию можно использовать как специфический, уникальный фактор, своего рода «инструмент», которого мы лишены на Земле, для изучения фундаментальных биологических процессов и модификации биологических систем.

В космической медицине впервые реализованы теоретические положения об управлении здоровьем, о здоровом образе жизни и резервах адаптации. Все эти положения при реализации в практике здравоохранения, в первую очередь в области профилактической медицины, могли бы оказаться существенными для сохранения и улучшения здоровья населения и снижения заболеваемости. Прежде всего, это касается проблем диспансерного обследования населения.

Ближайшее будущее космической медицины связано с использованием МКС в качестве научной лаборатории для решения актуальных проблем минимизации медицинских рисков для человека и создания задела для пилотируемых полетов в дальний космос. Важным событием явится введение в эксплуатацию космодрома Восточный, в том числе для запуска пилотируемых космических аппаратов с неременным решением медико-биологических аспектов безопасности экипажей при старте и приземлении.

Осуществление в будущем межпланетных полетов, создание на Луне и планетах Солнечной системы обитаемых комплексов (баз) и проведение различных работ на их поверхности невозможно без решения вопросов медицинского обеспечения, направленных на сохранение здоровья и работоспособности человека в экстремальных условиях, получения большого объема научного материала для решения фундаментальных проблем наук о жизни.

Российский сегмент МКС полностью обеспечивает условия эффективной и безопасной деятельности экипажей и выполнения текущей и перспективной программ прикладных и фундаментальных биомедицинских исследований.

Строительство российского сегмента МКС еще не завершено; введение в его состав новых модулей создаст дополнительные возможности для совершенствования бортовых средств медицинского обеспечения экипажей и размещения

аппаратуры для перспективных медико-биологических исследований.

Одним из условий успешного развития космической медицины является международное сотрудничество и интеграция научных медико-биологических исследований на основе использования научного потенциала партнеров по МКС для решения и развития перспективных проектов пилотируемой космонавтики.

Открываются новые перспективы комплексных полетных и наземных модельных медико-биологических исследований для решения актуальных проблем космической медицины и пилотируемой космонавтики, в том числе с повторными (интервалом 1–2 мес) длительными 6–9-месячными КП.

Актуальными проблемами космической медицины, требующими своего решения, являются:

- разработка новых и совершенствование существующих методов и средств медицинского отбора и подготовки членов экипажей с учетом возможного увеличения продолжительности КП и подготовки врачей-космонавтов и их участия в полетах;
- изучение феноменологии и механизмов изменений основных физиологических функций в КП;
- изучение генетических характеристик человека как для оценки и прогноза здоровья, так и для прогностической оценки переносимости факторов КП;
- изучение тех систем организма или его «слабых мест», которые могут лимитировать длительность пребывания человека в КП и при миссиях на другие планеты;
- систематическое изучение на различных этапах длительных КП нейрогуморальных механизмов регуляции функций организма;
- модернизация методов и средств, направленных на профилактику нарушений, развивающихся под влиянием факторов КП;
- совершенствование методов диагностики предболезни и заболевания в КП;
- изучение общебиологических проблем влияния невесомости и измененной гравитации на живые системы и попытка дифференцирования гравитационно зависимых и независимых физиологических процессов;
- обоснование оптимальных подходов к обеспечению декомпрессионной безопасности при внекорабельной деятельности в будущих КП и разработка медико-технологических требований к планетарному скафандру;
- дальнейшее совершенствование и развитие эффективных профилактических комплексов, включая создание принципиально новых средств профилактики (в частности, искусственной силы тяжести), которые могли бы надежно обеспечить сопровождение лунных и марсианских миссий;

– разработка дизайна системы профилактики гипогравитационных нарушений в межпланетных миссиях на основе индивидуального подхода при создании автоматизированной системы поддержки принятия решения для управления тренировочным процессом космонавта;

– создание в составе будущей орбитальной станции нового поколения специализированного медицинского модуля для решения медико-биологических проблем как для пилотируемых полетов на околоземной орбите, так и для межпланетных полетов. Желательно, чтобы на этом модуле была центрифуга короткого радиуса, которая при своем вращении будет создавать перегрузки и обеспечивать человеку утраченную в невесомости «весомость»;

– преемственность результатов исследований в проектно-конструкторских разработках с целью создания аппаратуры, а также средств и методов исследований на основе высоких технологий. Это, в свою очередь, позволит осуществлять проведение широкого круга исследований для решения проблем освоения околоземного и межпланетного пространства;

– разработка и создание для будущих орбитальных и межпланетных полетов надежных автономных регенеративных систем жизнеобеспечения, экспресс-мониторинга компонентов среды обитания и методов эффективной очистки среды обитания от вредных газообразных микропримесей, бортовых экспресс-методов диагностики микроорганизмов, системы хранения, обеззараживания и трансформации биологических и бытовых отходов.

В настоящее время применение изделий робототехники рассматривается как значимый ресурс обеспечения жизнедеятельности человека-оператора в экстремальных условиях среды обитания. В большей степени это положение относится к роботам-помощникам и сервисным роботам, возможности применения которых для поддержки деятельности экипажа пилотируемого космического комплекса постоянно расширяются.

Сегодня выявляются новые направления применения медицинских роботов для оказания человеку опасной профессии всесторонней поддержки в нештатных ситуациях, защиты и спасения при чрезвычайных происшествиях, особенно в случаях частичной или полной потери работоспособности, а также для решения вопросов профилактики и коррекции состояния здоровья в свете существующих и прогнозируемых рисков и опасностей.

Представляется, что сегодня в области построения и совершенствования роботизированных биотехнических систем следует ожидать получения значимых результатов при решении практических задач поддержки жизнедеятельности и снижения рисков здоровью космонавтов на борту пилотируемого комплекса.

Медицинские роботы в области космической медицины органично «произрастают» из уникальных достижений космических медицинских технологий и в каком-то смысле являются естественным результатом интенсивно ведущихся в настоящее время исследований и на Земле, и в пилотируемых КП.

Уникальные достижения отечественной космической медицины в области создания защитного снаряжения космонавта, а также построения искусственной среды обитания на борту пилотируемых космических кораблей, индивидуальных средств жизнеобеспечения космонавта и бортовых средств профилактики создают надежную технологическую основу для построения роботизированных биотехнических комплексов управления состоянием организма на принципах биологической обратной связи.

Учитывая такую перспективу, необходима интенсификация дальнейших исследований в данной междисциплинарной области знаний, предполагающая внедрение в космическую медицину передовых информационных технологий: информатики, автоматизации, имитационного моделирования, тренажеростроения, робототехники и мехатроники.

Проходивший в июле 2015 г. в Праге очередной конгресс «Человек в космосе» показал беспрецедентный рост интереса мирового научного сообщества к наземному моделированию элементов и факторов КП. Этой тематике были посвящены более 60 % докладов представителей NASA, ESA, JAXA, Китайского космического агентства. Из докладов делегатов было очевидно, что международные агентства стремятся быстро преодолеть отставание от России в области наземной отработки длительных КП, включая межпланетные. Для этого в последние годы в этих странах были созданы крупные комплексы гермокамер с автономными системами жизнеобеспечения (HERA в США, Envihab в Германии, Moon Palace в Китае), позволяющие имитировать модули как космической станции, так и напланетных поселений. Появился даже популярный термин – «аналоговые исследования».

При разработке планов создания базы на Луне, окололунных станций и осуществления планетных экспедиций необходимо учитывать, что во многом подходы к организации жизни и деятельности их экипажей будут иными, отличными от орбитальных полетов. В этой связи решение проблемы медико-биологического обеспечения таких экспедиций является новой приоритетной задачей.

Наземное (аналоговое) моделирование ряда ключевых факторов, действующих в КП, и изучение состояния здоровья и работоспособности человека в этих условиях позволяют весьма эффективно исследовать и решать многие проблемы будущих пилотируемых КП.

Созданный в ГНЦ РФ – ИМБП РАН наземный экспериментальный комплекс является эффективной

экспериментальной базой, признанной в мире и способной обеспечить проведение длительных экспериментов с изоляцией в замкнутых гермообъектах с управляемой средой обитания. Комплекс позволяет моделировать как орбитальную космическую станцию любой конфигурации, так и напланетные поселения. В своем современном виде комплекс позволяет изучать практически все условия космических экспедиций и разрабатывать опережающими темпами средства профилактики и медицинского обеспечения космических экипажей.

В этой связи нельзя не упомянуть проведение в наземном экспериментальном комплексе уникального международного эксперимента по проекту «Марс-500». Целью проводившегося в 2010–2011 гг. эксперимента являлось изучение многофакторного взаимодействия «человек – окружающая среда», исследование здоровья и работоспособности членов экипажа, изолированного в течение 520 сут в герметично замкнутом пространстве малого объема при моделировании основных факторов и ограничений, присущих будущему полету на Марс. Экипаж состоял из 6 человек в возрасте 25–40 лет: 3 россиян, 2 участников от ЕКА (Франция, Италия) и 1 представителя Китая.

Впервые воссоздавалась нарастающая задержка связи между ЦУПом и экипажем, которая к 350-м суткам эксперимента достигла 12 мин. Кроме того, на 320–327-е сутки моделирования связь была полностью прекращена. В период задержки связи для общения с ЦУПом экипаж использовал электронные письма и видеосообщения.

Также впервые воспроизводился этап высадки на поверхность Марса (244–272-е сутки эксперимента) с выполнением ключевых исследовательских операций по сценарию, разработанному Роскосмосом и РАН. Во время «высадки» экипаж разделили на 2 равные части: орбитальная группа находилась в макете марсианского корабля, а десантная часть экипажа – в имитаторе спускаемого модуля.

Длительная автономность «межпланетной экспедиции» приводила к эффекту «отрыва», т.е. нарастающего по мере удаления от Земли снижения потребности экипажа в помощи и руководстве со стороны ЦУПа – на фоне роста необходимости психологической поддержки со стороны близких.

Установлено существенное влияние на поведение, самочувствие и деятельность экипажа таких значимых событий, как высадка на незнакомую планету и прекращение связи. Нештатное нарушение связи с экипажем усугубляло эффект «отрыва» и снижало объем коммуникации экипажа с ЦУПом. Значимые события приводили к дополнительному напряжению адаптационных систем организма и росту психофизиологической напряженности: изменялись психофизиологическое состояние, фазовая структура сна, коммуникационное поведение,

показатели психической работоспособности и биохимические характеристики крови. Своевременная компенсация фрустрированных потребностей членов экипажа предотвращала развитие депрессивных расстройств.

Преодоление комплекса сложных стрессовых ситуаций приводило к очевидному личностному развитию большинства членов экипажа, выходу на новый уровень функционирования индивидуального генетически заложенного потенциала человека.

По итогам эксперимента разработаны новые критерии психофизиологического отбора в автономный межпланетный полет. Приоритет должны получать кандидаты, склонные к самоорганизации с преобладанием мотивации достижения успеха, а не мотивации избегания неудач.

С целью восполнения пробелов в наших знаниях, а также в рамках передачи опыта ведущих специалистов Института медико-биологических проблем молодому поколению, на плечи которого ляжет вся тяжесть подготовки и осуществления межпланетных полетов в будущем, Совет молодых ученых и специалистов института предложил и выполнил волонтерский эксперимент «Луна-2015», имитирующий полет к Луне. Модель полета к спутнику Земли выбрана неслучайно: освоение Луны включено в проект Федеральной космической программы России на 2016–2025 гг.

Следует отдельно подчеркнуть, что эксперимент был проведен в наземном экспериментальном комплексе Института медико-биологических проблем на безвозмездной основе. Все сотрудники, от добровольцев-испытателей до ученых и членов дежурных бригад, являлись волонтерами. Успешная реализация проекта позволила не только использовать опыт старшего поколения, но и дала возможность молодым ученым получить необходимые навыки проведения исследований, создать надежную команду экспериментаторов, без которой проведение больших проектов в будущем будет невозможно.

Эксперимент «Луна-2015» еще раз продемонстрировал важность наземных модельных экспериментов для отработки вопросов медицинского обеспечения межпланетных полетов, эргономической оценки разрабатываемой перспективной космической техники и повышения надежности человеческого фактора при реализации национальной космической программы.

Космическая биология – в значительной степени фундамент космической медицины, хотя цели и задачи космической биологии, а также методики исследований несколько отличаются.

Основными задачами космической биологии как комплекса преимущественно биологических наук являются:

- изучение закономерностей влияния факторов КП и космического пространства на процессы

жизнедеятельности организмов, находящихся на различных уровнях онтогенетического и филогенетического развития;

- разработка принципов создания и эксплуатации биологических систем обеспечения жизнедеятельности экипажей в длительных КП и при нахождении на научных базах, расположенных на Луне, Марсе и, возможно, на других небесных телах;

- поиск внеземной жизни, определение условий ее возникновения и распространения во Вселенной.

К настоящему времени в экспериментах с животными и растительными организмами в наземных модельных условиях и КП на различных видах космических аппаратов (станции «Салют», «Мир», МКС, биоспутники «Бион») накоплен огромный научный материал. Прежде всего, это результаты экспериментов и исследований на млекопитающих (мыши, крысы, обезьяны) и высших растениях.

Установлено, что невесомость оказывает влияние практически на все физиологические системы организма животных, но в большей степени на мышечную, скелетную, нейросенсорную и сердечно-сосудистую. Обнаруженные структурно-функциональные изменения многочисленны, но они носят адаптивный, а не патологический характер и вскоре после окончания полета возвращаются к норме. Тем не менее в экспериментах на крысах было показано, что искусственная сила тяжести, создаваемая вращением животных во время полета на бортовой центрифуге, может сохранить в условиях невесомости земной уровень функционирования многих систем организма.

Вышеизложенное не означает, что проблема адаптации физиологических систем организма животных к условиям невесомости решена полностью. Мы пока мало знаем о том, как невесомость влияет на молекулярном уровне жизнедеятельности и какова роль генетического аппарата в механизмах адаптации организма к невесомости и длительному воздействию повышенных уровней космической радиации. Решению этих вопросов были в значительной степени посвящены эксперименты в 30-суточном полете биоспутника «Бион-М1» в 2013 г. и готовящиеся эксперименты в полете биоспутника «Бион-М2» в 2020 г.

Если говорить о результатах полетных экспериментов с высшими растениями на борту станции «Мир» и МКС, можно сказать, что выращивание растений в 4 поколениях в условиях невесомости не привело к каким-либо структурно-функциональным изменениям, в том числе в генетическом аппарате. Эти результаты являются исключительно важными для решения проблем создания и эксплуатации биологических систем обеспечения жизнедеятельности (БСЖО) человека в будущих полетах.

Система обеспечения жизнедеятельности экипажей (СОЖ) является одним из важнейших элементов пилотируемых космических комплексов.

Используемые на орбитальных станциях СОЖ основаны на физико-химических процессах регенерации атмосферы и влаги, а также на регулярном пополнении расходуемых компонентов грузовыми кораблями. Для полетов за пределы околоземных орбит в ближайшей перспективе такая организация СОЖ также теоретически возможна, но ее техническая реализуемость и экономическая эффективность вызывает серьезные опасения.

По мере освоения дальнего космоса вопросы создания автономных систем жизнеобеспечения приобретут практическую значимость. По преобладающим в настоящее время представлениям для обеспечения межпланетных полетов и планетных поселений необходимо создание биологической системы обеспечения жизнедеятельности (БСОЖ) как некоего подобия земного биоценоза. И если в пилотируемых комплексах в обозримой перспективе с учетом ограничений по массе, объему, энергопотреблению будут, вероятно, использоваться гибридные СОЖ, то для планетных поселений создание автономных БСОЖ является одним из ключевых технологических решений.

Работы по созданию компонентов БСОЖ активно проводятся за рубежом. В России (СССР) работы в этом направлении начаты рядом учреждений с 1960-х годов, однако в последние десятилетия сведены к выполнению отдельных узких тем, что неминуемо ведет к потере приоритета отечественной космонавтики по данному ключевому направлению, важному для дальнейшего освоения человеком космического пространства.

Работы по созданию БСОЖ должны вестись с учетом особенностей создаваемых перспективных космических комплексов и систем медико-биологического обеспечения межпланетных полетов. Поэтому в интересах данного направления необходимо создание широкой кооперации учреждений науки с организациями космической отрасли. Создание задела по БСОЖ для задач межпланетных полетов должно стать одним из важных направлений перспективных исследований, для чего необходимо сформировать межведомственную рабочую группу для подготовки проекта программы по созданию БСОЖ и подготовке предложений по путям ее реализации.

Как указывалось выше, астробиология – это составная часть космической биологии, хотя и претендующая на некоторую самостоятельность.

Основным направлением исследований в области астробиологии в настоящее время является изучение влияния экстремальных факторов открытого космического пространства на выживаемость и жизнеспособность микроорганизмов, суховоздушных семян и лишайников. Эти исследования впервые начали проводить на наружной обшивке автоматических космических аппаратов, затем аппаратуру с

биообъектами стали размещать на внешней поверхности пилотируемых орбитальных станций («Мир» и МКС). Максимальная продолжительность экспонирования биообъектов в открытом космосе составила 18 мес. Послеполетное активирование биообъектов выявило их жизнеспособность, при этом выраженность обнаруженных изменений варьировала в достаточно широком диапазоне. Результаты исследований в области астробиологии помимо научной новизны имеют большое практическое значение для решения вопросов стерилизации межпланетных космических аппаратов и соблюдения требований по обеспечению карантина планет.

Биологические эксперименты в космосе в ближайшее десятилетие должны быть направлены прежде всего на решение медико-биологических проблем, связанных с будущими полетами человека в дальний космос.

К числу приоритетных проблем космической биологии следует отнести:

- клеточные и молекулярные механизмы адаптации к невесомости и реадaptации к земной силе тяжести;
- зависимость структурно-функциональных изменений в организме от длительности пребывания в условиях невесомости, возраста и пола;
- возможные повреждения в организме при сочетанном действии невесомости и повышенных уровней космической радиации;
- биологические эффекты искусственной силы тяжести и длительного пребывания в условиях моделированной гипогравитации (1/6 и 1/3 g) с использованием бортовых центрифуг;
- эффективность новых физических и химических (фармакологических) средств профилактики неблагоприятного влияния невесомости и космической радиации;
- выживаемость и жизнеспособность земных организмов при длительном воздействии на них условий открытого космического пространства;
- технологии культивирования высших растений в условиях невесомости.

Решение вышеперечисленных проблем исключительно важно для более полного понимания фундаментальных основ жизнедеятельности в экстремальных условиях и решения практических задач космической медицины.

У космической медицины и биологии увлекательное будущее, основанное, прежде всего, на твердых основах и безусловной необходимости ее развития для дальнейшего освоения человеком космоса, в том числе дальнего.

В последние годы сформировался своеобразный «олимпийский» принцип космической медицины и биологии – сделать все возможное в фундаментальном и прикладном аспекте, чтобы человек смог летать выше, дольше, дальше и больше.

Будущая космическая медицина и в дальнейшем будет стремиться работать на опережение (т.е. выполнять упреждающую научную роль, в том числе при проектировании новой космической техники). Это будет медицина микрогравитации, все более радиационная и гипомагнитная, медицина виртуальной реальности (для моделирования и подготовки), роботоориентированная, с целями расширения функциональных резервов и соответственно пределов устойчивости организма человека. И конечно, она всегда была и еще больше будет медициной комбинированных воздействий и персонифицированной (индивидуализированной) биомедициной не только по геному человека, но и по его фенотипу.

Большое значение в дальнейшем развитии космической медицины будут иметь результаты исследований в области космической биологии.

Поступила 10.02.2016

SPACE MEDICINE AND BIOLOGY: TODAY AND TOMORROW

Ushakov I.B.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2016. V. 50. № 4. P. 67–73

Редколлегия журнала сердечно поздравляет
с юбилейными датами ведущих специалистов
в области космической медицины и биологии,
сотрудников ИМБП:

*Волосюка Юрия Анатольевича,
Миролюбову Людмилу Игоревну,
Ушакова Бориса Борисовича,
Мореву Татьяну Ивановну,
Кремневу Ларису Александровну,
Бобкову Наталью Анатольевну,
Быканову Светлану Викторовну,
Карсанову Светлану Казбековну,
Зорину Нину Георгиевну*

Добрые вам пожелания и плодотворного сотрудничества
с нашим журналом!

Редколлегия журнала «Авиакосмическая и экологическая медицина»
и Институт медико-биологических проблем РАН
с прискорбием сообщает о безвременной кончине

ответственного секретаря журнала (1967–2016)
доктора биологических наук, профессора
Шипова Алексея Алексеевича

члена редколлегии журнала
доктора биологических наук, профессора
Родионовой Натальи Васильевны