

АВИАКОСМИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

AVIAKOSMICHESKAYA I EKOLOGICHESKAYA MEDITSINA

НАУЧНЫЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
SCIENTIFIC PERIODIC JOURNAL

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Орлов О.И., д.м.н., академик 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.б.н., профессор – заместитель главного редактора
Дьяченко А.И., д.т.н., профессор
Ерофеева Л.М., д.б.н., профессор
Иванов И.В., д.м.н., профессор
Ильин Е.А., д.м.н., профессор
Котов О.В., к.м.н.
Красавин Е.А., к.м.н., д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН
Меденков А.А., к.психол.н., д.м.н., профессор
Синяк Ю.Е., к.х.н., д.т.н., профессор
Сорокин О.Г., к.м.н. – ответственный секретарь
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
Жданыко И.М., д.м.н.
Козловская И.Б., д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН
Котовская А.Р., д.м.н., профессор
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 АНРК (Казахстан)
Gerzer R., M.D., Ph.D., professor (Germany)
Gharib C., Ph.D., professor (France)
Yinghui Li, M.D., Ph.D., professor (China)

2019 Т. 53 № 6

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, 2019
© State Research Center RF – Institute of Biomedical Problems Russian Academy of Sciences, 2019

Все права зарегистрированы. Никакая часть журнала не может быть воспроизведена
каким-либо способом без письменного разрешения Издателя
All rights reserved. No part of this journal may be reproduced in any form by any means without
written permission of the Editorial Board

**Метаданные статей, опубликованных в журнале, размещены на сайте журнала journal.imbp.ru
Полные тексты статей доступны в базе данных РИНЦ (www.elibrary.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
Секретарь: Муромцева Т.С., тел.: 8 (499) 195-65-12, эл. почта: arhiv@imbp.ru

Сдано в набор 26.11.2019
Подписано в печать 10.12.2019
Формат 60 × 84 1/8
Гарнитура Tahoma
Печать офсетная
Усл. печ. л. 11,39
Тираж 180 экз
Заказ №

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

Содержание

Contents

Обзоры

Reviews

Кохан В.С. Дисбаланс глутамат/ГАМК в сравнительном анализе радиационного и травматического поражения коры головного мозга **5**

Kokhan V.S. Glutamate/GABA disbalance in comparative analysis of radiation and traumatic injury of the brain cortex

Аксельрод А.С., Пальман А.Д., Фимина Е.Д. Риск внезапной сердечной смерти: желудочковые аритмии, синдром обструктивного апноэ сна **11**

Akselrod A.S., Palman A.D., Fimina E.D. Risk of sudden cardiac death: ventricular arrhythmias, syndrome of obstructive sleep apnea

Дурыманов М.О., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Бирюков С.А., Горина Е.В., Фильков Г.И. Методические подходы для разработки технологии создания биомедицинского клеточного продукта с целью лечения пострадавшим с обморожениями в условиях Арктики **18**

Durymanov M.O., Boyarintsev V.V., Trofimenko A.V., Biryukov S.A., Gorina E.V., Filkov G.I. Methodological approaches to development of cell-based medicinal product for treatment of patients with cold injury in the Arctic

Экспериментальные и общетеоретические исследования

Experimental and Theoretical Investigations

Ильин Е.А., Ларина И.М., Носовский А.М. Содержание белка и основных белковых фракций крови у человека при годовом пребывании в условиях гипобарической гипоксии, гипокинезии и изоляции **26**

Ilyin E.A., Larina I.M., Nosovsky A.M. Levels of protein and main protein fractions in human blood during a year-long exposure to hypobaric hypoxia, hypokinesia and isolation

Иванова С.М., Лабетская О.И., Анисимов Н., Максимов Г.В. Морфофункциональные свойства эритроцитов и эффективность переноса кислорода гемоглобином у человека в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии **33**

Ivanova S.M., Labetskaya O.I., Anisimov N., Maksimov G.V. Morphofunctional properties of erythrocytes and effectiveness of oxygen transfer by hemoglobin in human subjects during 21-day dry immersion

Кузичкин Д.С., Маркин А.А., Журавлева О.А., Колотева М.И., Вострикова Л.В., Глебова Т.М., Логинов В.И. Связь характера подкожных кровоизлияний с изменениями системы плазменного гемостаза у космонавтов **38**

Kuzichkin D.S., Markin A.A., Zhuravleva O.A., Koloteva M.I., Vostrikova L.V., Glebova T.M., Loginov V.I. Relationship between the pattern of subcutaneous hemorrhages and changes in cosmonaut's system of plasmic hemostasis

Кутко О.В., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Калинин С.А., Шульгина С.М., Садова А.А., Орлова К.Д., Киселёва Д.Д., Васильева Г.Ю., Пономарёв С.А. Влияние 21-суточной «сухой» иммерсии на продукцию Т-лимфоцитами цитокинов, вовлеченных в регуляцию метаболизма костной ткани **42**

Kutko O.V., Rykova M.P., Antropova E.N., Kalinin S.A., Shulgina S.M., Sadova A.A., Orlova K.D., Smarov V.A., Vassilieva G.Y., Ponomarev S.A. The effect of 21-day dry immersion on the production of T-lymphocytes cytokines involved in the regulation of bone metabolism

- Николаев В.П., Суворов А.В., Семенцов В.Н. 47
 Николаев В.П., Суворов А.В., Сементсов В.Н.
 Specifics of saturation and desaturation of inert
 gases from human tissue under normal pressure
- Сухотерин А.Ф., Пащенко П.С. 54
 Sukhoterin A.F., Pashchenko P.S. Structural
 manifestations of the secretory process in the
 adenohipophysis on the background of gravitational
 stress modeling
- Васин А.Л., Шафиркин А.В., Гурфинкель Ю.И. 62
 Vasin A.L., Shafirkin A.V., Gurfinkel Yu.I. Effect
 of artificial alternating geomagnetic field in the
 millihertz range on the heart rate variability indices
- Цетлин В.В., Степанова Г.П. 70
 Tsetlin V.V., Stepanova G.P. Studies of the
 influence of environmental electromagnetic factors
 on water and internal medium of living organisms
- Дешевая Е.А., Беляев В.С., Бычков В.Б., 77
 Deshevaya E.A., Beliaev V.S., Bychkov V.B.,
 Чурило И.В., Шубралова Е.В. Microbiological, climatic
 and acoustic factors of the International space
 station Russian segment environment: relation to
 the destructive processes in the shell material
- Плотников Е.В., Константинова Н.А., 86
 Plotnikov E.V., Konstantinova N.A., Artamonov A.A.
 Thermodynamic relation of uncertainties in biophysics
 and radiobiology

Методики

Methods

- Лисюков А.Н., Измайлов А.А., Кузнецов М.С., 94
 Лисюков А.Н., Измаилов А.А., Кузнетсов М.С.,
 Давлеева М.А., Валеева Е.В., Нуруллин Л.Ф.,
 Davleeva M.A., Valeeva E.V., Nurullin L.F.,
 Исламов Р.Р., Шенкман Б.С., Козловская И.Б.
 Islamov R.R., Shenkman B.S., Kozlovskaya I.B.
 Нейропластичность спинного мозга мышей в
 условиях антиортостатического вывешивания
 Spinal marrow neuroplasticity in tail-suspended mice

ОБЗОРЫ

УДК 577.25

ДИСБАЛАНС ГЛУТАМАТ/ГАМК В СРАВНИТЕЛЬНОМ АНАЛИЗЕ РАДИАЦИОННОГО И ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Кохан В.С.

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

E-mail: viktor_kohan@hotmail.com

Обзор посвящен обобщению данных в отношении дисбаланса глутамат/ГАМК в ответ на повреждение мозга различного генеза. Многие непептидные нейромедиаторы обладают токсическим эффектом, а нарушение метаболизма этих нейромедиаторов тесно связано с развитием и распространением нейродегенеративного процесса. Эксайтотоксичность – один из примеров токсического действия нейромедиаторов, связанного с гиперактивностью N-метил-D-аспаратного (NMDA) и α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) рецепторов. Одним из эксайтотоксинов является глутамат – возбуждающий агент в пределах ЦНС. Другой нейромедиатор – γ-аминомасляная кислота (ГАМК) – метаболически связан с глутаматом и выступает в роли ингибирующего агента в пределах ЦНС. Глутамат/ГАМК-система доминирует в неокортексе и играет первостепенную роль в реализации когнитивных функций животных и творческой активности человека. Дисбаланс этой системы является ключевым фактором развития целого ряда психиатрических и нейродегенеративных расстройств, таких как аутизм, шизофрения, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз и др. Нарушение метаболизма глутамата, наряду с увеличением концентрации его свободной формы в цитоплазме и во внеклеточном пространстве под действием повреждающих факторов, выступает как основной фактор риска повреждения ЦНС.

Ключевые слова: глутамат, γ-аминомасляная кислота, травматическое повреждение коры, ионизирующее излучение.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 5–10.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-5-10

Независимо от первичных причин повреждения нервной ткани, картина вторичных повреждений представляется преимущественно одинаковой и включает в себя окислительный стресс, воспалительный процесс, нарушение функций гематоэнцефалического барьера, нарушение обмена веществ, нарушение нейро- и синаптогенеза,

ремоделирование нейросетей, гибель нейронов, а также специфическую нейротоксичность, вызванную патологическим высвобождением и накоплением целого ряда нейромедиаторов [1, 2]. Действительно, полагаясь на данные, свидетельствующие о том, что нейродегенеративный процесс распространяется по синаптическим терминалям [3], нейромедиатор-опосредованная токсичность приобретает особую значимость.

Среди моноаминов опосредованным токсическим действием обладают дофамин и серотонин. Известно, что нарушение метаболизма дофамина приводит к целому ряду психиатрических и нейродегенеративных состояний и часто сопровождается моторными нарушениями [4, 5], значительная роль в патогенезе которых отведена цитотоксическому действию нейромедиатора. Потеря дофаминергических нейронов является прямым [6] следствием нейротоксических эффектов окисленных форм дофамина: хиноновой и семихиноновой, образующихся, в частности, в ходе свободнорадикальных реакций – основного драйвера окислительного стресса. Другой нейромедиатор – серотонин – также чувствителен к свободным радикалам, и его индольная часть легко окисляется в присутствии гидроксильных радикалов с образованием нейротоксичных метаболитов [7]. Более того, индольная часть серотонина может подвергаться окислению индоламин-2,3-диоксигеназой с образованием кинуренина, который, в свою очередь, может быть метаболизирован в ряд нейротоксичных соединений, таких, как 3-гидроксикинурененин и хинолиновая кислота [8]. Патологическое преобладание катаболизма кинуренина по вышеописанному пути над катаболизмом с образованием кинуреновой кислоты вовлечено в нейродегенеративный процесс, сопряженный с патофизиологией депрессии [9]. Примечательно, что серотонинергическая система наиболее уязвима к действию ионизирующего излучения [10, 11], вызывающего окислительный стресс. Ацетилхолин (ACh) – еще один

потенциально токсичный нейромедиатор. Несмотря на то, что на сегодняшний день отсутствуют прямые доказательства его токсичности, существует ряд косвенных указателей на это. Так, чрезмерная стимуляция ACh-рецепторов в результате накопления ацетилхолина (различного генеза) приводит к нейротоксичному эффекту [12], который, среди прочего, может заключаться в высвобождении холина вследствие гидролиза фосфатидилхолина. Этот патологический процесс приводит к истощению пула фосфатидилхолина и ингибированию мускариновых ACh-рецепторов [13].

Наибольший интерес представляет глутаматопосредованная эксайтотоксичность. Эволюционная передача ведущей «возбуждающей» и «прокогнитивной» роли от ацетилхолина к глутамату – доминирующему возбуждающему нейромедиатору неокортекса – является неоспоримым аргументом в поддержку этого постулата. Исключительно тормозной нейромедиатор ГАМК синтезируется из перезавяченного синаптического глутамата. Подобные преобразования и ритмическая активация соответствующих рецепторов играют первостепенную роль в формировании гамма- и тета-волновой активности мозга – центрального звена тактирования актов мышления и ассоциации, связанных с реализацией когнитивных функций у животных и творческой активностью человека [14, 15]. Известно, что дисбаланс глутамат/ГАМК-системы сопровождается рядом психиатрических и нейродегенеративных заболеваний [16, 17]. Учитывая тесное взаимодействие дофаминергической, ацетилхолиновой, глутаматной, ГАМКергической нейромедиаторных систем и ключевую роль этих нейромедиаторных систем в реализации интегративных функций ЦНС [18], а также возрастающую роль (в ходе эволюции) неокортекса в реализации интегративных функций мозга, интерес к глутамат/ГАМК-системе очевиден.

Нейротоксический эффект глутамата реализуется посредством нескольких сценариев: эксайтотоксичности, вызванной гиперактивацией NMDA/AMPA-рецепторов [19], а также окислительной токсичности [20]. При реализации первого сценария гиперактивация рецепторов приводит к поступлению ионов Ca^{2+} в клетку, что, в свою очередь, активирует ряд ферментов (фосфолипаз, эндонуклеаз, протеаз кальпаин/кальпаистатиновой протеолитической системы), разрушающих цитозольные структуры. Такие изменения неизбежно ведут к апоптотическому сценарию гибели клетки. Второй сценарий включает в себя ингибирование импорта цистеина под влиянием высокой внеклеточной концентрации глутамата в результате работы цистеин/глутамат-антипорта, что приводит к дефициту глутатиона и окислительному повреждению нейрона. Поскольку обратный захват глутамата является энергозатратным процессом, включающим в себя

котранспорт ионов Na^+ , в условиях гипоксии работа транспортера изменяется, что, в свою очередь, приводит к росту концентрации внеклеточного глутамата и усилению нейротоксического эффекта [21]. Известно, что увеличение внеклеточного глутамата – ключевое звено в патофизиологии целого ряда заболеваний, включая инсульт, болезнь Гентингтона, болезнь Паркинсона и боковой амиотрофический склероз [22].

Травматическое поражение ЦНС

Травматическое поражение коры – структуры с доминирующим содержанием глутамат- и ГАМКергических нейронов – сопровождается длительным нарушением когнитивных способностей и психоэмоциональными расстройствами [23]. Необходимо отметить, что функции дорсолатеральной префронтальной коры у людей и обезьян, медиальной префронтальной коры у грызунов имеют решающее значение для функционирования рабочей, контекстуальной памяти и пространственного обучения. Неудивительно, что контролируемое поражение коры крыс вызывает стойкое (на протяжении 1 мес) нарушение обучения в водном лабиринте Морриса, а также увеличение содержания глутаматдекарбоксилазы (GAD67) в медиальной префронтальной коре [24], которое значимо выражено в срок до 4 мес после травмы [25]. Это обстоятельство косвенно указывает на увеличение содержания глутамата в ответ на травму. Было получено и другое свидетельство – увеличение активности глутаматергической системы. Так, электрографические исследования показали, что кортикальная ткань характеризуется спонтанной эпилептической активностью [26], которая высоко коррелирует с концентрацией глутамата [27]. Травматические поражения коры часто сопровождаются эпилептическими приступами. Латеральная жидкостно-перкуссионная травма коры мозга, напротив, приводит к снижению экспрессии GAD67 [28].

Дальнейшие исследования показали, что содержание внеклеточного глутамата (по данным микродиализа) действительно увеличивается в 1-е сутки от нанесения травмы [29] и удерживается на протяжении 4 сут. Рост концентрации свободного глутамата высоко коррелирует со смертностью после травмы [29]. Впоследствии эти данные нашли свое подтверждение и позволили выдвинуть гипотезу об ослаблении ГАМКергического контроля глутаматергической передачи, что способствует распространению нейродегенерации и формированию эпилептических очагов [30].

Магнитно-резонансная спектроскопия показывает снижение общего глутамата и одновременный рост глутамина в ответ на травму, и эти изменения фиксируются как минимум на протяжении 14 дней с момента травмы [31]. Примечательно, что

исследования пациентов после сотрясения мозга показали, что нормализация содержания глутамата в моторной коре наступает на 6-й месяц после травмы [32]. Несмотря на увеличение содержания глутамина, в первую неделю после травмы наблюдается снижение экспрессии EAAT2/GLT-1-транспортера, ответственного за обратный захват синаптического глутамата в астроциты для дальнейшего синтеза глутамина. На 2–7-ю неделю после травмы эти изменения нивелируются [33]. Следует отметить, что снижение экспрессии класса Na^+ -зависимых транспортеров глутамата сопряжено с депрессивно-подобным поведением грызунов [34].

Контролируемое поражение коры приводит к немедленному снижению содержания NR1-, NR2a- и NR2b-субъединиц NMDA-рецепторов. Латеральная жидкостно-перкуSSIONная травма коры мозга грызунов приводит к снижению как тотального содержания NR2b-субъединицы, так и ее фосфорилирования, что вызывает дестабилизацию NMDA-рецепторов [35]. При этом содержание NR2a-субъединицы снижается, а NR2b – растет в коре [36]. Увеличение экспрессии субъединицы NR2b весьма стойкое и отмечается даже спустя 5 мес после травмы [37]. Изменения в экспрессии субъединиц NMDA-рецепторов сопровождаются нарушением пространственного обучения и памяти у животных, подвергнутых травме [38].

В отношении экспрессии ГАМК-A-рецептора в ответ на травму наблюдаются разнонаправленные эффекты. Так, происходит ингибирование экспрессии субъединиц ($\alpha 1/\gamma 2$), ответственных за фазическое торможение, и усиление экспрессии субъединиц ($\alpha 4/\delta 1$), ответственных за тоническое торможение, и эти изменения нивелируются в 1-ю неделю после травмы [39]. Изучение отложенных эффектов показало увеличение опосредованного ГАМК-B-торможения у бессимптомных спортсменов с как минимум 2 сотрясениями в анамнезе спустя более 9 мес после травмы. Авторы делают вывод, что активация ГАМКергической системы может быть долгосрочным компенсаторным механизмом, направленным против эксайтотоксичности глутамата [40].

Радиационное поражение ЦНС

Действие ионизирующего излучения на функции ЦНС весьма разнообразно, что связано с большим количеством переменных (природа ионизирующего излучения, энергия, поглощенная доза, линейная передача энергии и т.д.). Разрушение и изменение химического состава биомолекул в результате ядерных реакций (при достаточной энергии электромагнитного излучения, нейтронов или заряженных частиц), в том числе одно- и двухцепочечные разрывы ДНК и таутомеризация канонических уотсон-криковских пар оснований, а также продукция

свободных радикалов являются первичными эффектами воздействия ионизирующего излучения на живую ткань. Эти эффекты носят стохастический характер. Вторичные эффекты весьма разнообразны и включают в себя окислительный стресс, гибель нейронов по апоптотическому и/или некротическому сценарию, воспаление, подавление нейрогенеза, нарушение синаптической передачи и метаболизма нейромедиаторов, что в конечном счете, приводит к функциональным нарушениям ЦНС [11]. Несмотря на устоявшуюся парадигму о негативном влиянии ионизирующего излучения, сравнительно недавно были получены данные о позитивном влиянии диагностического γ -излучения при ряде нейродегенеративных заболеваний [41]. Это относится к прокогнитивным эффектам умеренных доз облучения тяжелыми заряженными частицами (ТЗЧ), впервые продемонстрированные в 2013 г. [42]. Анксиолитический и антидепрессантный эффекты были выявлены при воздействии ионизирующего излучения на фоне стрессогенных факторов различного генеза [43, 44].

Исследования, направленные на определение влияния ионизирующего излучения на метаболизм глутамата и ГАМК, немногочисленны. Было показано, что действие γ -квантов в поглощенной дозе 45 Гр (дискретно на протяжении месяца) приводит к повышению экспрессии NR1- и NR2A-субъединиц NMDA-рецепторов в области CA1, но не CA3 гиппокампа [45]. Облучение γ -квантами ^{60}Co культур нейрональных клеток приводит к ингибированию активности глутаматдегидрогеназы [46]. В ходе исследования тканевых изолятов зубчатой извилины было показано, что γ -облучение приводит к сокращению экспрессии NMDA- и увеличению экспрессии ГАМК-A-рецепторов, что сопровождалось ингибированием долговременной потенциации. Это явление обращалось при использовании неконкурентного ингибитора NMDA рецепторов – мемантина [47]. Гамма-облучение приводит к увеличению экспрессии глутаматных транспортеров GLT-1 (0,5 Гр) и EAAT3 (0,1 and 0,5 Гр). Авторы постулируют, что ответ на γ -облучения носит затяжной характер с потенциальными отдаленными последствиями [48].

Облучение ТЗЧ (H^+ 250 МэВ, ^{12}C 290 МэВ, ^{56}Fe 1000 МэВ) в поглощенных дозах 0,1; 0,5 и 2 Гр нейронов и астроцитов (производных от терато-(эмбрио)-карциномных клеток человека) как в чистой, так и в смешанной культуре приводило к реципрокному эффекту в отношении обратного захвата глутамата. Так, активность обратного захвата глутамата нейронами возрастала, а астроцитами – падала (только при облучении ^{12}C и ^{56}Fe). Этот эффект сохранялся до 7 дней от момента облучения [49]. Не было выявлено изменений в экспрессии субъединиц $\alpha 2$, $\beta 3$ and $\gamma 2$ ГАМК-A-рецептора в ответ на облучение

H⁺ (150 МэВ) в диапазоне доз 0,1–1 Гр [50]. Таким образом, глутамат/ГАМК-система нейромедиаторов остается практически неисследованной, особенно в части умеренных доз ионизирующего излучения и ТЗЧ, в частности.

Выводы

1. Глутаматная эксайтотоксичность – один из центральных компонентов обширной картины патофизиологических изменений, сопровождающих травматическое поражение коры головного мозга. И немедленный рост концентрации синаптического глутамата на фоне пролонгированного подавления экспрессии EAAT-транспортёров прекрасно иллюстрируют эти изменения на молекулярном уровне. На этом фоне наблюдается снижение экспрессии NR1- и NR2a-субъединиц NMDA-рецептора. Однако, несмотря на паннейрональное снижение экспрессии, для NR2b-субъединицы был показан пролонгированный рост содержания в неокортексе, что реализуется в посттравматическом снижении соотношения NR2a/NR2b в коре головного мозга.

2. Снижение содержания ряда субъединиц NMDA-рецепторов и оверэкспрессия GAD67 могут рассматриваться в качестве нейроадаптивных реакций в ответ на повреждение нервной ткани.

3. Ряд исследований дополняет патофизиологическую картину травматического повреждения мозга данными об ослаблении ГАМКергического контроля глутаматергической передачи при снижении тотальной концентрации ГАМК и разнонаправленном эффекте на экспрессию различных субъединиц ГАМК-A-рецептора. Поведенческий анализ грызунов хорошо согласуется с этими данными, свидетельствуя о когнитивных нарушениях, эпилептической активности и депрессивноподобном поведении модельных животных.

4. Несмотря на общность вторичных повреждений (окислительный стресс, подавление нейрогенеза, гибель нейронов и т.д.), патофизиологическая картина ответа на действие ионизирующей радиации значительно отличается. Так, наблюдается оверэкспрессия EAAT-транспортёров, рост содержания NR1- и NR2a-субъединиц NMDA-рецептора, рост содержания ГАМК-A-рецептора. Эти данные хорошо согласуются с прокогнитивным, анксиолитическим и антидепрессантным эффектом ионизирующего излучения. Очевидно, эти эффекты наблюдаются в узком диапазоне доз и энергий частиц/электромагнитных волн.

5. Воздействие ионизирующего излучения может активировать неидентифицированный триггер, который приводит к ряду репарационных и компенсаторных изменений в нервной ткани, при определенных условиях возобладающих над прямым нейротоксичным действием радиации. Поиск этого

триггера является первостепенной задачей будущих исследований.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 17-04-00598.

Список литературы

1. Khan M., Sakakima H., Dhammu T.S. et al. S-nitrosoglutathione reduces oxidative injury and promotes mechanisms of neurorepair following traumatic brain injury in rats // J. Neuroinflammation. 2011. V. 8. P. 78.
2. Ward J.L., Harting M.T., Cox C.S. et al. Effects of ketamine on endotoxin and traumatic brain injury induced cytokine production in the rat // J. Trauma. 2011. V. 70. № 6. P. 1471–1479.
3. Greicius M.D., Kimmel D.L. Neuroimaging insights into network-based neurodegeneration // Curr. Opin. Neurol. 2012. V. 25. № 6. P. 727–734.
4. Caudle W.M., Richardson J.R., Wang M.Z. et al. Reduced vesicular storage of dopamine causes progressive nigrostriatal neurodegeneration // J. Neurosci. 2007. V. 27. № 30. P. 8138–8148.
5. Ashok A.H., Marques T.R., Jauhar S. et al. The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment // Mol. Psychiatry. 2017. V. 22. № 5. P. 666–679.
6. Bisaglia M., Greggio E., Beltramini M., Bubacco L. Dysfunction of dopamine homeostasis: clues in the hunt for novel Parkinson's disease therapies // FASEB J. 2013. V. 27. № 6. P. 2101–2110.
7. Jorgensen H., Degnes K.F., Dikiy A. et al. Insights into the evolution of macrolactam biosynthesis through cloning and comparative analysis of the biosynthetic gene cluster for a novel macrocyclic lactam, ML-449 // Appl. Environ. Microbiol. 2010. V. 76. № 1. P. 283–293.
8. Dantzer R., O'Connor J.C., Lawson M.A., Kelley K.W. Inflammation-associated depression: from serotonin to kynurenine // Psychoneuroendocrinol. 2011. V. 36. № 3. P. 426–436.
9. Wichers M.C., Koek G.H., Robaey G. et al. IDO and interferon-alpha-induced depressive symptoms: a shift in hypothesis from tryptophan depletion to neurotoxicity // Mol. Psychiatry. 2005. V. 10. № 6. P. 538–544.
10. Матвеева М.И., Штемберг А.С., Тимошенко Г.Н. и др. Влияние облучения ионами углерода ¹²C на обмен моноаминов в некоторых структурах мозга крыс // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 4. С. 343–348.
11. Matveeva M.I., Shtemberg A.S., Timoshenko G.N. et al. The effects of irradiation by ¹²C carbon ions on monoamine exchange in several rat brain structures // Neyrokhimiya. 2013. V. 30. № 4. P. 343–348.
11. Kokhan V.S., Matveeva M.I., Mukhametov A., Shtemberg A.S. Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions // Neurosci. Biobehav. Rev. 2016. V. 71. P. 621–632.

12. Pope C.N. Organophosphorus pesticides: do they all have the same mechanism of toxicity? // J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. 1999. V. 2. № 2. P. 161–181.
13. Dolezal V., Tucek S. Activation of muscarinic receptors stimulates the release of choline from brain slices // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1984. V. 120. № 3. P. 1002–1007.
14. Buzsaki G., Wang X.J. Mechanisms of gamma oscillations // Ann. Rev. Neurosci. 2012. V. 35. P. 203–225.
15. Budd J.M. Theta oscillations by synaptic excitation in a neocortical circuit model // Proc. Biol. Sci. 2005. V. 272. № 1558. P. 101–109.
16. Chiapponi C., Piras F., Piras F. et al. GABA system in schizophrenia and mood disorders: a mini review on third-generation imaging studies // Front. Psychiatry. 2016. V. 7. P. 61.
17. Lau A., Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration // Pflugers Arch. 2010. V. 460. № 2. P. 525–542.
18. Pokorski M. Neurotransmitter interactions and cognitive function. N.Y., 2015.
19. Parsons M.P., Raymond L.A. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders // Neuron. 2014. V. 82. № 2. P. 279–293.
20. Schubert D., Piasecki D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade // J. Neurosci. 2001. V. 21. № 19. P. 7455–7462.
21. Rossi D.J., Oshima T., Attwell D. Glutamate release in severe brain ischaemia is mainly by reversed uptake // Nature. 2000. V. 403. № 6767. P. 316–321.
22. Sheldon A.L., Robinson M.B. The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention // Neurochem. Int. 2007. V. 51. № 6–7. P. 333–355.
23. O'Neil D.A., Nicholas M.A., Lajud N. et al. Preclinical models of traumatic brain injury: emerging role of glutamate in the pathophysiology of depression // Front. Pharmacol. 2018. V. 9. P. 579.
24. Kobori N., Dash P.K. Reversal of brain injury-induced prefrontal glutamic acid decarboxylase expression and working memory deficits by D1 receptor antagonism // J. Neurosci. 2006. V. 26. № 16. P. 4236–4246.
25. Hoskison M.M., Moore A.N., Hu B. et al. Persistent working memory dysfunction following traumatic brain injury: evidence for a time-dependent mechanism // Neurosci. 2009. V. 159. № 2. P. 483–491.
26. Yang L., Afroz S., Michelson H.B. et al. Spontaneous epileptiform activity in rat neocortex after controlled cortical impact injury // J. Neurotrauma. 2010. V. 27. № 8. P. 1541–1548.
27. Barker-Haliski M., White H.S. Glutamatergic mechanisms associated with seizures and epilepsy // Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2015. V. 5. № 8. P. a022863.
28. Reger M.L., Poulos A.M., Buen F. et al. Concussive brain injury enhances fear learning and excitatory processes in the amygdala // Biol. Psychiatry. 2012. V. 71. № 4. P. 335–343.
29. Chamoun R., Suki D., Gopinath S.P. et al. Role of extracellular glutamate measured by cerebral microdialysis in severe traumatic brain injury // J. Neurosurg. 2010. V. 113. № 3. P. 564–570.
30. Cantu D., Walker K., Andresen L. et al. Traumatic brain injury increases cortical glutamate network activity by compromising GABAergic control // Cereb. Cortex. 2015. V. 25. № 8. P. 2306–2320.
31. Harris J.L., Yeh H.W., Choi I.Y. et al. Altered neurochemical profile after traumatic brain injury: (1)H-MRS biomarkers of pathological mechanisms // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2012. V. 32. № 12. P. 2122–2134.
32. Henry L.C., Tremblay S., Boulanger Y. et al. Neurometabolic changes in the acute phase after sports concussions correlate with symptom severity // J. Neurotrauma. 2010. V. 27. № 1. P. 65–76.
33. Guerriero R.M., Giza C.C., Rotenberg A. Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury // Curr. Neurol. Neurosci. Rep. 2015. V. 15. № 5. P. 27.
34. Gomez-Galan M., De Bundel D., Van Eeckhaut A. et al. Dysfunctional astrocytic regulation of glutamate transmission in a rat model of depression // Mol. Psychiatry. 2013. V. 18. № 5. P. 582–594.
35. Park Y., Luo T., Zhang F., Liu C. et al. Downregulation of Src-kinase and glutamate-receptor phosphorylation after traumatic brain injury // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2013. V. 33. № 10. P. 1642–1649.
36. Giza C.C., Maria N.S., Hovda D.A. N-methyl-D-aspartate receptor subunit changes after traumatic injury to the developing brain // J. Neurotrauma. 2006. V. 23. № 6. P. 950–961.
37. Kharlamov E.A., Lepsveridze E., Meparishvili M. et al. Alterations of GABA(A) and glutamate receptor subunits and heat shock protein in rat hippocampus following traumatic brain injury and in posttraumatic epilepsy // Epilepsy Res. 2011. V. 95. № 1–2. P. 20–34.
38. Giza C.C., Griesbach G.S., Hovda D.A. Experience-dependent behavioral plasticity is disturbed following traumatic injury to the immature brain // Behav. Brain Res. 2005. V. 157. № 1. P. 11–22.
39. Raible D.J., Frey L.C., Cruz Del Angel Y. et al. GABA(A) receptor regulation after experimental traumatic brain injury // J. Neurotrauma. 2012. V. 29. № 16. P. 2548–2554.
40. De Beaumont L., Tremblay S., Poirier J. et al. Altered bidirectional plasticity and reduced implicit motor learning in concussed athletes // Cereb. Cortex. 2012. V. 22. № 1. P. 112–121.
41. Bevelacqua J.J., Mortazavi S.M.J. Alzheimer's disease: possible mechanisms behind neurohormesis induced by exposure to low doses of ionizing radiation // J. Biomed. Phys. Eng. 2018. V. 8. № 2. P. 153–156.
42. Штемберг А.С., Базян А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б. и др. Влияние облучения протонами высокой энергии на поведение крыс: нейробиохимические механизмы // Авиакосм. и экол. мед. 2013. V. 47. № 6. P. 54–60.
43. Shtemberg A.S., Bazian A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B. et al. Effects of exposure to high-energy protons on rat's behavior and underlying neurochemical mechanisms // Aviakosmicheskaja i ekologicheskaja meditsina. 2013. V. 47. № 6. P. 54–60.

43. Wang B., Katsube T., Begum N., Neno M. Revisiting the health effects of psychological stress-its influence on susceptibility to ionizing radiation: a mini-review // J. Radiat. Res. 2016. V. 57. № 4. P. 325–335.

44. Kokhan V.S., Matveeva M.I., Bazyan A.S. et al. Combined effects of antiorthostatic suspension and ionizing radiation on the behaviour and neurotransmitters changes in different brain structures of rats // Behav. Brain Res. 2017. V. 320. P. 473–483.

45. Shi L., Adams M.M., Long A. et al. Spatial learning and memory deficits after whole-brain irradiation are associated with changes in NMDA receptor subunits in the hippocampus // Radiat. Res. 2006. V. 166. № 6. P. 892–899.

46. Abu El Failat R.R., Moore J.S., Davies J.V. The radiation inactivation of glutamate dehydrogenase // Ibid. 1983. V. 93. № 1. P. 62–70.

47. Wu P.H., Coultrap S., Pinnix C. et al. Radiation induces acute alterations in neuronal function // PLoS One. 2012. V. 7. № 5. P. e37677.

48. Sanchez M.C., Benitez A., Ortloff L., Green L.M. Alterations in glutamate uptake in NT2-derived neurons and astrocytes after exposure to gamma radiation // Radiat. Res. 2009. V. 171. № 1. P. 41–52.

49. Sanchez M.C., Nelson G.A., Green L.M. Effects of protons and HZE particles on glutamate transport in astrocytes, neurons and mixed cultures // Ibid.. 2010. V. 174. № 6. P. 669–678.

50. Marty V.N., Vlkolinsky R., Minassian N. et al. Radiation-induced alterations in synaptic neurotransmission of dentate granule cells depend on the dose and species of charged particles // Ibid. 2014. V. 182. № 6. P. 653–665.

Поступила 13.11.2018

GLUTAMATE/GABA DISBALANCE IN COMPARATIVE ANALYSIS OF RADIATION AND TRAUMATIC INJURY OF THE BRAIN CORTEX

Kokhan V.S.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

The review summates the data about glutamate/GABA disbalance in consequence of brain injury. Many non-peptide neurotransmitters have toxic effects and their metabolic disorders are known as a trigger of the neurodegenerative process. An example is excitotoxicity resulting from hyperactivity of N-methyl-D-aspartate (NMDA) and α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptors. One of the excitotoxins is glutamate, an exciting agent within CNS. Another neurotransmitters – γ -aminobutyric acid (GABA) – is metabolically associated with glutamate and acts as an inhibitor within CNS. The glutamate/GABA system dominates in the neocortex and is crucial to the cognitive functions in animals, as well as human creativity. Disbalance in this system is a key factor in development of psychiatric and neurodegenerative disorders including autism, schizophrenia, Alzheimer's disease, lateral amyotrophic sclerosis. Along with an increase in concentration of the glutamate free form in cytoplasm and extracellular space due to disturbing factors, disorders in glutamate metabolism are the main risk factor for CNS.

Key words: glutamate, γ -aminobutyric acid, traumatic cortex injury, ionizing radiation.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 5–10.

УДК 613.6

РИСК ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ: ЖЕЛУДОЧКОВЫЕ АРИТМИИ, СИНДРОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА

Аксельрод А.С., Пальман А.Д., Фими́на Е.Д.

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)
Минздрава России

E-mail: 7402898@mail.ru

В статье показано, что обструктивное апноэ значительно повышает риск сердечно-сосудистой смертности. При этом полисомнография и кардиреспираторное мониторирование, позволяющие верифицировать нарушения дыхания во время сна, не входят в стандарт медицинского обследования при определении профессиональной пригодности летного состава. Повышенная дневная сонливость, храп, усталость, расстройства настроения и когнитивные нарушения в сочетании с избыточным весом – это те симптомы, которые позволяют предположить ночные нарушения дыхания. Однако даже отсутствие большей части этих признаков не позволяет полностью исключить синдром обструктивного апноэ сна и его диагностика должна носить инструментальный характер.

Ключевые слова: синдром обструктивного апноэ сна, СИПАП-терапия, желудочковые аритмии, желудочковая тахикардия, внезапная сердечная смерть, преждевременные желудочковые сокращения.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 11–17.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-11-17

В настоящее время нарушения сердечного ритма по-прежнему являются одной из основных причин внезапной сердечной смерти (ВСС) пациентов с различными вариантами кардиопатии (ишемическая, дилатационная и гипертрофическая), приобретенными и некоторыми врожденными пороками сердца, а также при ряде других состояний (синдромы WPW, СОАС и др.). В соответствии со статистическими данными, представленными в российских Национальных рекомендациях по определению риска и профилактике ВСС в 2018 г., смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в России является одной из наиболее высоких в мире и составляет 614 случаев на 100 000 жителей в год, представляя собой равную совокупность случаев смерти от прогрессирования явлений сердечной недостаточности и собственно случаев ВСС. Под ВСС принято понимать ненасильственную смерть, развившуюся моментально или наступившую в течение часа с момента возникновения острых изменений в

клиническом статусе больного. Речь идет именно о внезапной смерти от сердечной причины, т.е. в данном случае не учитываются фатальные случаи тромбоэмболии легочной артерии и разрывов сосудистых мальформаций головного мозга, что в соответствии с данными статистики в 85 % случаев ассоциировано с желудочковыми тахикардиями, а в 15 % – с брадиаритмиями и асистолиями.

Одним из состояний, ассоциированных с ВСС, считается синдром обструктивного апноэ сна (СОАС). Распространенность СОАС в популяции высока, а сами дыхательные нарушения во время сна являются известным и доказанным фактором риска различных аритмий [1–3]. По поводу взаимосвязи СОАС и суправентрикулярных аритмий существует убедительная доказательная база [1–3]. Информация об ассоциации между обструктивным апноэ и жизнеугрожающими желудочковыми нарушениями сердечного ритма более противоречивая и по-прежнему остается предметом продолжающихся клинических исследований и дискуссий [3].

Совершенно отдельной проблемой является вопрос экспертной медицинской оценки лиц, управляющих движущимися средствами повышенной опасности. Необходимость регулярного медицинского осмотра профессиональных водителей транспортных средств (пилоты воздушных авиалиний, машинисты поездов, водители грузового автотранспорта и др.) для исключения риска ВСС также не вызывает сомнений: потенциальный индивидуальный риск фатальных сердечно-сосудистых событий у пилота сопряжен с риском массовой катастрофы и, следовательно, с потенциально большим количеством смертей пассажиров транспортного средства.

Гиподинамия пилота, длительно осуществляющего свои профессиональные обязанности (многолетние частые многочасовые перелеты, нередко в ночные часы), неизбежно способствует увеличению индекса массы тела. Имеющееся психоэмоциональное напряжение пилотов, безусловно, создает дополнительные патофизиологические условия, благоприятствующие постепенному и внезапному развитию электрической нестабильности миокарда

предсердий и желудочков. Эти же факторы риска потенциально способствуют возникновению синдрома СОАС.

Обструктивное апноэ значительно повышает риск сердечно-сосудистой смертности. Однако на сегодняшний день полисомнография и кардиореспираторное мониторирование, позволяющие верифицировать нарушения дыхания во время сна, не входят в стандарт медицинского обследования при определении профессиональной пригодности летного состава. Повышенная дневная сонливость, храп, усталость, расстройства настроения и когнитивные нарушения в сочетании с избыточным весом – именно те симптомы, которые позволяют предположить ночные нарушения дыхания, однако даже отсутствие большей части этих признаков не позволяет полностью исключить СОАС и его диагностика должна носить инструментальный характер.

Синдром обструктивного апноэ сна: основные понятия

Синдром обструктивного апноэ сна – патологическое состояние, характеризующееся повторяющимися эпизодами частичной или полной обструкции верхних дыхательных путей (так называемые гипопноэ и апноэ) при сохраняющихся дыхательных усилиях, которые вызывают нарушение нормальной структуры сна и часто сопровождаются снижением насыщения крови кислородом, что внешне проявляется храпом и дневной сонливостью.

Этот комплекс жалоб близких родственников пациента (рассказ о храпе и эпизодическом прекращении дыхания во сне) и самого больного (выраженная дневная сонливость) позволяет лечащему врачу заподозрить СОАС. Факторами риска такого состояния могут быть избыточный вес и большая окружность шеи, хронические заболевания ЛОР-органов, пол (СОАС чаще наблюдается у мужчин) и возраст старше 55 лет.

У 2 % женщин и 4 % мужчин в общей популяции имеются достоверные признаки этого синдрома различной степени выраженности [4]. Однако с учетом роста распространенности ожирения и доказанной ассоциации ожирения и СОАС актуальность проблемы будет возрастать в ближайшее десятилетие. И пилоты воздушных транспортных средств – это те лица, для которых гиподинамия на фоне выполнения профессиональных обязанностей является одной из типичных проблем и неизбежным фрагментом образа жизни.

В стандарты диагностики СОАС входят полисомнография или кардиореспираторное мониторирование, постановка данного диагноза, исходя только из клинических признаков, на сегодняшний день не считается корректной.

При проведении инструментальной диагностики основным параметром, используемым для

верификации СОАС и определения его тяжести, используется индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ), рассчитываемый как среднее число обструктивных респираторных событий в час сна.

В зависимости от значения ИАГ принято выделять 3 степени тяжести СОАС: легкая (от 5 до 15), средняя (от 15 до 30) и тяжелая (от 30 и выше) [5]. При выявлении СОАС средней степени тяжести и особенно тяжелой степени пациенту показана СИПАП-терапия – неинвазивная вентиляция с постоянным положительным давлением воздуха. Позитивное влияние такой терапии на качество жизни пациентов с СОАС неоднократно демонстрировалось в различных публикациях [6, 7], однако нерешенной проблемой остается низкая приверженность к лечению части таких больных [8, 9]. Выявление у пилотов СОАС средней и тяжелой формы, когда имеются явные клинические проявления, неизбежно делает их профессионально непригодными даже при дневном летном режиме.

Структура нарушений сердечного ритма и проводимости у пациентов с СОАС

Аритмии и блокады регистрируются у 30–60 % больных с СОАС по результатам различных исследований. Доказанными нарушениями сердечного ритма и проводимости, ассоциированными с обструктивным апноэ, являются атриовентрикулярная и синоатриальная блокады, фибрилляция и трепетание предсердий, одиночная и групповая наджелудочковая и желудочковая экстрасистолия, пароксизмальная неустойчивая и устойчивая желудочковая тахикардия, а также ВСС [10]. В работах [11, 12] показано, что с ростом величины индекса апноэ/гипопноэ и тяжести гипоксемии значительно увеличивается распространенность нарушений сердечного ритма и проводимости. Ряд работ [13, 14] демонстрируют высокую (около 75 %) распространенность частых желудочковых аритмий у пациентов с СОАС по сравнению с пациентами без нарушений дыхания во время сна. У большинства таких пациентов желудочковые аритмии (преимущественно одиночная и групповая желудочковая экстрасистолия) преобладают во время сна и совпадают с периодами апноэ [15]. В соответствии с российскими Национальными рекомендациями по определению риска и профилактике ВСС 2018 г. к дополнительным прогностическим критериям неблагоприятного прогноза относят возраст старше 60 лет, показатели сатурации кислорода во время сна (снижение среднего значения до 93 % и минимального значения до 78 %), значение ИАГ более 20 событий в час и наличие ассоциированных заболеваний (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недостаточность, желудочковые нарушения сердечного ритма).

Механизмы желудочковых аритмий у пациентов с СОАС

Механизмы развития электрической нестабильности миокарда желудочков у пациентов с СОАС могут быть разные. После респираторного события может возникнуть компенсаторная симпатическая активация, способствующая усилению автоматизма. Аритмогенными механизмами СОАС также являются гипоксия и гиперкапния, ацидемия и колебание внутригрудного давления (ВГД). К дополнительным аритмогенным механизмам можно отнести такие свойственные пациентам с СОАС процессы, как системное воспаление, окислительный процесс, усиленное протромботическое состояние и эндотелиальная дисфункция. В результате длительного существования описанных механизмов формируется артериальная гипертензия (АГ) и гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ) [16].

Апноэ и гипопноэ ухудшают газообмен, что приводит к гипоксемии. Гипоксемическая активация хеморецепторов в каротидном теле стимулирует легочную вентиляцию и генерирует симпатическую стимуляцию [17]. С другой стороны, гипоксия способствует периферической вазоконстрикции, изменяя процесс реполяризации желудочков и увеличивая экспрессию кальциевых каналов эндокарда левого желудочка [18].

Динамика ВГД у пациентов с СОАС играет важную роль в патофизиологии развития аритмий. У пациентов с СОАС неэффективные дыхательные попытки на фоне окклюзии верхних дыхательных путей создают значительное отрицательное ВГД, что неизбежно увеличивает венозный возврат к правым отделам сердца и перегрузку объемом.

Патофизиология СОАС такова, что с какого-то момента запускается непрерывная симпатическая активация, сопровождающаяся повышением частоты сердечных сокращений (ЧСС) и АД, что пролонгируется в период бодрствования. Гипертрофия и ремоделирование обоих желудочков с течением времени приводят к их систолической и диастолической дисфункции и электрической нестабильности [19].

Некоторые электрокардиографические параметры можно использовать в качестве аритмогенных предикторов у пациентов с СОАС: это интервал QT, скорректированный QT интервал (QTc), дисперсия QT. Также может определяться трансмуральная дисперсия реполяризации: время интервала от пика до окончания Т волны (интервал TrTe). Эти параметры ассоциируются с желудочковыми аритмиями и внезапной сердечной смертью [20], однако четкими прогностическими критериями не являются.

Варианты желудочковых аритмий у пациентов с СОАС по результатам исследований:

распространенность и терапевтическая тактика

У больных с СОАС аритмии наблюдаются преимущественно в ночные часы, что легко выявить при проведении суточного мониторинга ЭКГ.

Авторы работы [21] в 1983 г. впервые описали связь между аритмиями и обструктивным апноэ, проведя одномоментно 24-часовое холтеровское мониторирование ЭКГ и ночную полисомнографию у 400 пациентов с СОАС. Аритмии различной степени тяжести были выявлены у 48 % пациентов. Чаще всего регистрировались желудочковые экстрасистолы, остановка синусового узла продолжительностью от 2,5 до 13 с, реже – АВ-блокада 2-й степени и неустойчивая пароксизмальная желудочковая тахикардия. Эффективная коррекция СОАС была проведена 50 пациентам, после чего при контрольном холтеровском мониторировании регистрировались лишь одиночные желудочковые экстрасистолы.

Проспективное мультицентровое когортное исследование The Sleep Heart Health Study, проведенное Американским национальным институтом сердца, легких и крови в 1995 г., продемонстрировало, что СОАС – независимый фактор риска ночных аритмий [22]. Между группами пациентов с СОАС и без нарушений дыхания во время сна, независимо от возраста, пола, индекса массы тела и наличия сердечно-сосудистых заболеваний, в отношении шансов развития ночных аритмий были получены достоверные различия: они составили для мерцательной аритмии 4,02, для неустойчивой желудочковой тахикардии – 3,40, для желудочковой аллоаритмии – 1,74.

Анализ влияния фаз апноэ на аритмогенез также нашел свое отражение в ряде исследований. В работе [23] показано, что у пациентов с СОАС желудочковая экстрасистолия, как правило, регистрируется непосредственно во время фазы апноэ, тогда как у пациентов с центральными апноэ желудочковая экстрасистолия встречается чаще во время фазы компенсаторной гипервентиляции. Авторы исследований сделали вывод о непрерывной симпатической стимуляции как об основном механизме этих нарушений ритма.

В исследовании [24] у исходно здоровых лиц моделировались обструктивные нарушения дыхания, индуцировавшие желудочковую экстрасистолию. Авторы пришли к выводу, что наиболее вероятными аритмогенными механизмами при СОАС являются возрастание отрицательного ВГД, гиперкапния и гипоксия с последующим формированием непрерывной симпатической активации.

В исследовании [25] были зарегистрированы желудочковые экстрасистолы по типу аллоаритмии (би-, три- и квадригеминия) у 10,8 % пациентов с СОАС по сравнению с 2,3 % лиц, не страдающих апноэ ($p = 0,04$).

Схожие результаты продемонстрированы в работе [26], где анализировалась частота встречаемости нарушений сердечного ритма у пациентов с обструктивным апноэ сна: распространенность желудочковых аритмий у этих больных была почти в

2 раза выше с поправкой на возраст, пол, индекс массы тела и наличие ИБС. Также по результатам исследования [27] были выявлены желудочковые экстрасистолы у 10 из 15 пациентов с верифицированным СОАС.

Авторы большинства исследований склоняются к выводу, что для пациентов с СОАС нехарактерно наличие устойчивой пароксизмальной желудочковой тахикардии. Так, например, в работах [28–30] не было выявлено связи между наличием устойчивых пароксизмов желудочковой тахикардии и обструктивным апноэ: распространенность этой аритмии была практически одинаковой среди лиц контрольной группы и у пациентов с СОАС.

Исследования, посвященные изучению распространенности неустойчивой пароксизмальной желудочковой тахикардии, при которой продолжительность желудочковой аритмии не превышает 30 секунд, – немногочисленны. Лишь 3 работы были посвящены этому варианту желудочковой аритмии у пациентов с СОАС, и их результаты противоречивы. Так, согласно результатам исследования [31], распространенность неустойчивой пароксизмальной желудочковой тахикардии достоверно не различалась у пациентов с СОАС по сравнению с лицами контрольной группы и составила 0 % у пациентов без апноэ сна, 1 % – у пациентов с легкой формой апноэ, 1,5 % – с формой апноэ сна средней тяжести и 1,3 % у пациентов с тяжелой формой СОАС. Однако имеются исследования [32], в которых у пациентов с СОАС пароксизмы неустойчивой желудочковой тахикардии наблюдались достоверно чаще.

Наиболее интересными и практически значимыми являются работы, посвященные непосредственной взаимосвязи СОАС и ВСС. Первое исследование, демонстрирующее такую взаимосвязь, было выполнено Gamiet et al. в 2005 г. [33]. У 112 пациентов, у которых ранее проводилась полисомнография для верификации СОАС, была установлена ВСС. С 24.00 до 6.00 ВСС возникла у 46 % пациентов с СОАС, в то время, как в группе лиц, не страдающих апноэ, ВСС регистрировалась в 21 % ($p = 0,01$). Авторами был сделан вывод, что у людей с СОАС наблюдается большая вероятность ВСС во время ночного сна.

При первичной и вторичной профилактике ВСС для пациентов с СОАС может быть применена имплантация кардиовертера-дефибриллятора (ИКД). В доступной литературе отсутствуют исследования, посвященные анализу результатов имплантации этих устройств пациентам с обструктивным апноэ, что, по всей видимости, связано с отсутствием международных стандартов, рекомендаций по их использованию для этой категории больных. Однако имеются исследования более общего характера, посвященные пациентам с расстройствами дыхания

во сне различного генеза (в том числе с СОАС), указывающими на связь между «срабатыванием» ИКД и ночными нарушениями дыхания [34–36].

Результаты работы [37] свидетельствуют, что более половины (около 51 %) пациентов с впервые выявленными желудочковыми нарушениями ритма (неустойчивая желудочковая тахикардия, желудочковая экстрасистолия) с верифицированным ранее СОАС не имели явлений сердечной недостаточности, что позволило авторам сделать вывод о сильной взаимосвязи между СОАС и имеющимися желудочковыми нарушениями ритма.

Вопрос дальнейшей терапевтической тактики у пациентов с СОАС и желудочковыми нарушениями сердечного ритма остался нерешенным. СИПАП-терапия является основным по своей эффективности методом лечения пациентов с клинически значимым СОАС. Другие варианты лечения, такие, как снижение массы тела, хирургическая коррекция анатомических особенностей верхних дыхательных путей и др., являются спорными для большей части таких больных [38, 39]. Создание постоянного положительного давления в дыхательных путях устраняет их обструкцию во время сна и рушит патофизиологический каскад, предотвращая ремоделирование левого желудочка и, следовательно, значимо снижая электрическую нестабильность миокарда желудочков.

Так, в проспективное исследование в 2018 г. [40], было включено 80 пациентов с хронической сердечной недостаточностью и верифицированными средней и тяжелой формами СОАС, у 40 пациентов использовали СИПАП-терапию. При контрольном суточном мониторингировании ЭКГ выявлено, что у пациентов, использовавших СИПАП, достоверно реже регистрировались желудочковые нарушения сердечного ритма по сравнению с пациентами с СОАС, но без этой терапии. Сходные результаты продемонстрированы в исследовании 2015 г. [41], в котором принимали участие 15 пациентов с СОАС и желудочковой экстрасистолией. Были сформированы 2 небольшие группы пациентов: 8 из них проходили СИПАП и получали одновременно лекарственную терапию, 7 пациентов находились только на медикаментозном лечении. Спустя 6 мес пациенты, не получавшие СИПАП-терапию, имели большую распространенность желудочковых аритмий.

В настоящий момент также отсутствуют исследования, посвященные эффективности лекарственной терапии и выбору наиболее эффективного класса антиаритмических препаратов при желудочковых аритмиях у пациентов с СОАС.

Для пациентов с фибрилляцией предсердий и тяжелой формой СОАС считается доказанной меньшая терапевтическая эффективность профилактических антиаритмических препаратов и

хирургических методов лечения по сравнению с пациентами с легкой формой СОАС [42]. Аналогичные данные относительно желудочковых нарушений сердечного ритма в литературе отсутствуют.

В вопросе эффективности кислородотерапии для профилактики желудочковых аритмий у пациентов с СОАС также не существует единого мнения. Эти исследования немногочисленны, а сформированные группы не позволяют получить достоверные статистические различия [43, 44].

Выводы

1. СОАС является состоянием, ассоциированным с риском ВСС. Ввиду высокой распространенности обструктивного апноэ сна в популяции проблема первичной и вторичной профилактики ВСС у таких пациентов остается актуальной.

2. Особое внимание необходимо уделять риску СОАС у лиц, пилотирующих воздушные пассажирские транспортные средства. Наличие таких факторов риска, как регулярный храп, сонливость, избыточный вес, большая окружность шеи, артериальная гипертензия и т.д., является поводом для консультации пилота у профильного специалиста (пульмонолога или сомнолога) и проведения полисомнографии или кардиореспираторного мониторинга. При этом в группу повышенного риска ВСС необходимо включить категорию больных с тяжелой степенью СОАС.

3. По российским Национальным рекомендациям по определению риска и профилактике ВСС к дополнительным прогностическим критериям неблагоприятного прогноза относят возраст старше 60 лет, показатели сатурации кислорода во время сна (снижение среднего значения до 93 % и минимального значения до 78 %), а также значение ИАГ более 20 событий в час и наличие ассоциированных заболеваний (АГ, ИБС, хроническая сердечная недостаточность, желудочковые нарушения сердечного ритма).

Список литературы

1. Шляхто Е.В., Арутюнов Г.П., Беленков Ю.Н., Бойцов С.А. Национальные рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти. (2-е изд.). М., 2018.

Shlakhto E.V., Arutyunov G.P., Belenkov Yu.N., Boytsov S.A. National recommendations for risk determination and prevention of sudden cardiac death. (2nd ed.). Moscow, 2018.

2. Vizzard E., Sciatti E., Bonadei I. et al. Obstructive sleep apnoea-hypopnoea and arrhythmias: New updates // J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown). 2017. V. 18. № 7. P. 490–500.

3. Raghuram A., Clay R., Kumbam A. et al. Asystematic review of the association between obstructive sleep apnea and ventricular arrhythmias // J. Clin. Sleep Med. 2014. V. 10. № 10. P. 1155–1160.

4. Young T., Palta M., Dempsey J. et al. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults // N. Engl. J. Med. 1993. № 328. P. 1230–1235.

5. Sateia M.J. International classification of sleep disorders – third edition: highlights and modifications // Chest. 2014. № 146. P. 1387–1394.

6. Lamphere J., Roehrs T., Wittig R. et al. Recovery of alertness after CPAP in apnea // Ibid. 1989. V. 96. P. 1364–1367.

7. Pepin J.L., Krieger J., Rodenstein D. et al. Effective compliance during the first 3 months of continuous positive airway pressure. A European prospective study of 121 patients // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. V. 160. P. 1124–1129.

8. Antic N.A., Catcheside P., Buchan C. et al. The effect of CPAP in normalizing daytime sleepiness, quality of life, and neurocognitive function in patients with moderate to severe OSA // Sleep. 2011. V. 34. № 1. P. 111–119.

9. Weaver T.E., Maislin G., Dinges D.F. et al. Relationship between hours of CPAP use and achieving normal levels of sleepiness and daily functioning // Ibid. 2007. V. 30. № 6. P. 711–719.

10. Cintra F.D., Leite R.P., Storti L.J. et al. Sleep apnea and nocturnal cardiac arrhythmia: A populational study // Arq. Bras. Cardiol. 2014. V.103. №5. P. 368–374.

11. Selim B.J., Koo B.B., Qin L. et al. The association between nocturnal cardiac arrhythmias and sleep-disordered breathing: The DREAM Study // J. Clin. Sleep Med. 2016. V. 12. № 6. P. 829–837.

12. Gami A.S., Olson E.J., Shen W.K. et al. Obstructive sleep apnea and the risk of sudden cardiac death: A longitudinal study of 10,701 adults // J. Am. Coll. Cardiol. 2013. V. 62. № 7. P. 610–616.

13. Hoffstein V., Mateika S. Cardiac arrhythmias, snoring, and sleep apnea // Chest. 1994. V. 106. P. 466–471.

14. Ryan C.M., Juvet S., Leung R., Bradley T.D. Timing of nocturnal ventricular ectopy in heart failure patients with sleep apnea // Chest. 2008. V. 133. №4. P. 934–940.

15. Harbison J., O'Reilly P., McNicholas W.T. Cardiac rhythm disturbances in the obstructive sleep apnea syndrome: Effects of nasal continuous positive airway pressure therapy // Ibid. 2000. V. 118. № 3. P. 591–595.

16. May A.M., Van Wagoner D.R., Mehra R. Obstructive sleep apnea and cardiac arrhythmogenesis: Mechanistic insights // Ibid. 2017. V. 151. № 1. P. 225–241.

17. Souvannakitti D., Kumar G.K., Fox A., Prabhakar N.R. Contrasting effects of intermittent and continuous hypoxia on low O(2) evoked catecholamine secretion from neonatal rat chromaffin cells // Adv. Exp. Med. Biol. 2009. V. 648. P. 345–49.

18. Morand J., Arnaud C., Pepin J.L., Godin-Ribuot D. Chronic intermittently hypoxia promotes myocardial ischemia-related ventricular arrhythmias and sudden cardiac death // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 2997.

19. Zipes D. Autonomic modulation of cardiac arrhythmias // *Cardiac electrophysiology: From cell to bedside* / J. Jalife, D.P. Zipes, eds. 2nd ed. Philadelphia, 1995. P. 441–454.
20. Zhao X., Xie Z., Chu Y. et al. Association between Tp-e/QT ratio and prognosis in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction // *Clin. Cardiol.* 2012. V. 35. P. 559–564.
21. Guilleminault C., Connolly S.J., Winkle R.A. Cardiac arrhythmia and conduction disturbances during sleep in 400 patients with sleep apnea syndrome // *Am. J. Cardiol.* 1983. V. 52. № 5. P. 490–494.
22. Sleep Heart Health Study Research Group. Sleep heart health study reading center manual of operations. Seattle. WA: SHHS Coordinating Center. 1995.
23. Fichter J., Bauer D., Arampatzis S. et al. Sleep-related breathing disorders are associated with ventricular arrhythmias in patients with an implantable cardioverter-defibrillator // *Chest.* 2002. V. 122. № 2. P. 558–561.
24. Camen G., Clarenbach C.F., Stwhas A.C. et al. The effects of simulated obstructive apnea and hypopnea on arrhythmic potential in healthy subjects // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2013. V. 113. № 2. P. 489–496.
25. Almeneessier A.S., Alasousi N., Sharif M.M. et al. Prevalence and predictors of arrhythmia in patients with obstructive sleep apnea // *Sleep Sci.* 2017. V. 10. № 4. P. 142–146.
26. Mehra R., Stone K.L., Varosy P.D. et al. Nocturnal arrhythmias across a spectrum of obstructive and central sleep-disordered breathing in older men: outcomes of sleep disorders in older men (MrOS sleep) study // *Arch. Int. Med.* 2009. V. 169. P. 1147–1155.
27. Tilkian A.G., Guilleminault C., Schroeder J.S. et al. Sleep-induced apnea syndrome. Prevalence of cardiac arrhythmias and their reversal after tracheostomy // *Am. J. Med.* 1977. V. 63. P. 348–358.
28. Almeneessier A.S., Alasousi N., Sharif M.M. et al. Prevalence and predictors of arrhythmia in patients with obstructive sleep apnea // *Sleep Sci.* 2017. V. 10. № 4. P. 142–146.
29. Namtvedt S.K., Randby A., Einvik G. et al. Cardiac arrhythmias in obstructive sleep apnea (from the Akershus Sleep Apnea Project) // *Am. J. Cardiol.* 2011. V. 108. № 8. P. 1141–1146.
30. Tilkian A.G., Guilleminault C., Schroeder J.S. et al. Sleep-induced apnea syndrome. Prevalence of cardiac arrhythmias and their reversal after tracheostomy // *Am. J. Med.* 1977. V. 63. P. 348–358.
31. Abe H., Takahashi M., Yaegashi H. et al. Efficacy of continuous positive airway pressure on arrhythmias in obstructive sleep apnea patients // *Heart Vessels.* 2010. V. 25. P. 63–69.
32. Monahan K., Storfer-Isser A., Mehra R. et al. Triggering of nocturnal arrhythmias by sleep disordered breathing events // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009. V. 54. № 19. P. 1797.
33. Gami A.S., Howard D.E., Olson E.J., Somers V.K. Day-night pattern of sudden death in obstructive sleep apnea // *N. Engl. J. Med.* 2005. V. 352. № 12. P. 1206–1214.
34. Anselme F., Maounis T., Mantovani G. et al. Severity of sleep apnea syndrome correlates with burden of ventricular tachyarrhythmias in unselected ICD patients [abstract] // *Heart Rhythm.* 2013.
35. Bitter T., Fox H., Dimitriadis Z. et al. Circadian variation of defibrillator shocks in patients with chronic heart failure: the impact of Cheyne-Stokes respiration and obstructive sleep apnea // *Int. J. Cardiol.* 2014. V. 176. № 3. P. 1033–1035.
36. Zeidan-Shwiri T., Aronson D., Atalla K. et al. Circadian pattern of life-threatening ventricular arrhythmia in patients with sleep-disordered breathing and implantable cardioverter-defibrillators // *Heart Rhythm.* 2011. V. 8. № 5. P. 657–662.
37. Koshino Y., Satoh M., Katayose Y. et al. Sleep apnea and ventricular arrhythmias: Clinical outcome, electrophysiologic characteristics, and follow-up after catheter ablation // *J. Cardiol.* 2010. V. 55 № 2. P. 211–216.
38. Somers V.K., White D.P., Amin R. et al. Sleep apnea and cardiovascular disease // *Circulation.* 2008. V. 118. P. 1080–1111.
39. Kushida C.A., Littner M.R., Hirshkowitz M. et al. Practice parameters for the use of continuous and positive airway pressure devices to treat adult patients with sleep-related breathing disorders // *Sleep.* 2006. V. 29. № 3. P. 375–380.
40. Seyis S., Usalan A.K., Rencuzogullari I. et al. The effects of continuous positive airway pressure on premature ventricular contractions and ventricular wall stress in patients with heart failure and sleep apnea // *Can. Resp. J.* 2018. V. 3. P. 1–8.
41. Dediu G.N., Dumitrache-Rujinski S., Lungu R. et al. Positive pressure therapy in patients with cardiac arrhythmias and obstructive sleep apnea // *Pneumologia.* 2015. V. 64. № 1. P. 18–22.
42. Monahan K., Brewster J., Wang L. et al. Relation of the severity of obstructive sleep apnea in response to anti-arrhythmic drugs in patients with atrial fibrillation or atrial flutter // *Am. J. Cardiol.* 2012. V. 110. № 3. P. 369–372.
43. Franz M.R., Cima R., Wang D. et al. Electrophysiological effects of myocardial stretch and mechanical determinants of stretch-activated arrhythmias // *Circulation.* 1992. V. 86. P. 968–978.
44. Suzuki J., Ishihara T., Sakurai K. et al. Oxygen therapy prevents ventricular arrhythmias in patients with congestive heart failure and sleep apnea // *Circ. J.* 2006. V. 70. № 9. P. 1142–1147.

Поступила 23.07.2019

**RISK OF SUDDEN CARDIAC DEATH:
VENTRICULAR ARRHYTHMIAS, SYNDROME
OF OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA**

Akselrod A.S., Palman A.D., Fimina E.D.

Sechenov First Moscow State Medical University of the
Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov
University)

*The paper suggests that obstructive apnea increases
significantly the risk of cardiovascular death. However,
polysomnography and cardiorespiration monitoring as methods*

*of respiration disorders verification during sleep have not been
included in the pilot medical certification standard. Hypersomnia
in the daytime, snore, fatigue, mood swing and cognitive
disorders together with overweight are the symptoms of sleep
respiration disorders. Absence of even the majority of these
symptoms does not rule out fully the syndrome of obstructive
sleep apnea and the need of its instrumental diagnostics.*

Key words: syndrome of obstructive sleep apnea, CPAP-
therapy, ventricular arrhythmias, ventricular tachicardia,
sudden cardiac death, premature ventricular contractions.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2019. V. 53. № 6. P. 11–17.

УДК 616.5-001.19+616-08-065:576.5+57.085.23

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА С ЦЕЛЬЮ ЛЕЧЕНИЯ ПОСТРАДАВШИХ С ОБМОРОЖЕНИЯМИ В УСЛОВИЯХ АРКТИКИ

Дурыманов М.О., Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Бирюков С.А., Горина Е.В., Фильков Г.И.

Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный, Московская обл.

E-mail: dr.trofimenko@gmail.com

Обморожения являются одним из самых распространенных видов травм в условиях холодного климата Арктики. Восстановление после получения холодовой травмы занимает длительное время и нередко влечет потерю пострадавшей конечности. Одним из перспективных подходов для лечения обморожений может быть использование мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (МСК), которые в настоящее время применяются в медицине для различных задач. В данном обзоре проведен анализ возможности применения МСК для лечения холодовой травмы. Рассмотрены методические подходы и факторы, от которых зависит успех лечения.

Ключевые слова: обморожение, мезенхимальные стволовые клетки, генетическая модификация, 3D-культуры, матрикс.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 18–25.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-18-25

Решение медико-биологических проблем, связанных с освоением территории Крайнего Севера, является актуальной задачей реализации оборонных и социально-хозяйственных проектов правительства Российской Федерации. Воздействие крайне низких температур на организм человека в арктических условиях – важнейшая проблема, требующая пристального внимания медиков.

К наиболее частым видам травм, связанным с холодным климатом, относятся обморожения в сочетании с общим переохлаждением. Например, в Финляндии около 13 % взрослого населения ежегодно обращается за медицинской помощью в связи с легкими обморожениями, в то время как с серьезными холодовыми травмами поступает 1 % [1]. Основными повреждающими факторами при обморожениях являются прямое повреждение, связанное с формированием кристаллов льда внутри и вне клеток, а также нарушение микроциркуляции в тканях, результатом чего становится ишемическое повреждение [2]. Прямое повреждение ведет

к разрушению клеточных мембран, угнетению функционирования белков, нарушению внутриклеточного гомеостаза и в конечном счете к некрозу клетки. Результатом становится высвобождение медиаторов воспаления, таких, как гистамин, брадикинин и эйкозаноиды, которые при оттаивании ведут к отеку тканей и образованию наполненных жидкостью волдырей. Оттаивание тканей приводит к кратковременному восстановлению кровотока, после чего наступает реперфузионное повреждение, возникновение перемежающейся вазоконстрикции в комбинации с микроэмболией и тромбообразованием за счет гибели клеток эндотелия и формирования на их месте сгустков фибрина. Дальнейшее прекращение кровоснабжения участков тканей вследствие тромбоза сосудов ведет к длительной ишемии и постепенному отмиранию этих тканей [2].

Стандартная терапия обморожений ставит целью недопущение формирования тромбов и обширного некроза, снижение воспалительного ответа, препятствие инфицированию раны через поврежденные покровы и способствование скорейшему заживлению пострадавших тканей [3].

В настоящее время одним из перспективных методов лечения обширных повреждений мягких тканей является трансплантация пациенту аллогенных или аутологичных мезенхимальных стволовых/стромальных клеток (МСК), которые обладают выраженными иммуномодулирующими, антиапоптотическими, противовоспалительными и регенеративными свойствами [4]. Следует подчеркнуть, что разработанных технологий применения МСК для терапии обморожений к настоящему моменту не существует. Данный обзор посвящен анализу возможностей использования МСК для лечения холодовых травм, рассмотрению источников этих клеток и технологий, связанных с усовершенствованием их терапевтических свойств и безопасности использования.

Методы лечения холодовых травм и возможности использования МСК

Первая помощь при серьезных обморожениях включает транспортировку пострадавшего в теплое помещение, оттаивание поврежденной части тела путем погружения в ванну с теплой водой, введение физраствора, прием нестероидных противовоспалительных препаратов (ибупрофен, аспирин) для снижения риска агрегации тромбоцитов, а также для ингибирования продукции, вызывающей вазоконстрикцию медиаторов воспаления тромбоксанов [3]. Для этой же цели на пострадавшую часть тела наносят мазь «Алоэ вера». Для уменьшения болевого синдрома могут вводиться опиоидные анальгетики. Поскольку барьерные функции кожи при обморожениях нарушены, пациенту системно вводят антибиотики, а также противостолбнячные лекарственные препараты согласно стандартным рекомендациям. Далее проводится тромболитическая терапия: вводится тканевой активатор плазминогена (t-PA) с целью препятствия ишемическому повреждению тканей. Наибольшую эффективность тромболитическая терапия имеет в ранний период после получения холодовой травмы (до суток). Спустя 7–10 дней (чаще от нескольких недель до 3 мес) пострадавший проходит процедуру сцинтиграфии и/или МРТ для обнаружения имеющихся очагов некроза. По результатам этих исследований принимается решение об удалении отмерших тканей хирургическим путем [2]. Большая часть указанных выше стратегий направлена главным образом на уменьшение площади некроза, снижение воспалительной реакции и связанного с ней повреждения, а также способствование скорейшему ранозаживлению. Большую роль в процессе заживления ран играют МСК – клетки взрослого организма, способные дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях, обладающие способностью к адгезии к пластику и экспрессирующие на своей поверхности CD105, CD90 и CD73, но не CD45, CD34, и HLA-Dr [5].

Посредством паракринных факторов МСК снижают выраженность воспалительного ответа, который развивается при реперфузии тканей после оттаивания и вносит существенный вклад в дальнейшее повреждение за счет продукции активных форм кислорода и прямого цитотоксического действия клеток иммунной системы [6]. МСК вырабатывают целый ряд противовоспалительных молекул и цитокинов, включая простагландин E2 (PGE2), трансформирующий ростовой фактор бета (TGFβ), фактор роста гепатоцитов (HGF), интерлейкин-10 (IL-10) и др. [7]. Эти молекулы угнетают действие цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров (NK), способствуют дифференцировке моноцитов в M2 макрофаги и стимулируют образование Т-регуляторных клеток, что снижает

иммуноопосредованное повреждение тканей. Имеются многочисленные данные о снижении количества и продукции провоспалительных цитокинов и ускорении процесса заживления при обработке ран аллогенными МСК [8]. Помимо противовоспалительного эффекта, МСК экспрессируют антиапоптотические и проангиогенные факторы, включая фактор роста фибробластов (FGF-2), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и многие другие [7, 9]. Наконец, МСК способны подвергаться транскрипционной перестройке и замещать собой поврежденные клетки, хотя точный вклад этого процесса в заживление ран остается предметом дискуссии [4].

Выделение, культивирование и криохранение МСК проводятся достаточно простыми рутинными методами, что делает эту технологию доступной для широкого использования в медицине. МСК могут быть получены из многих органов и тканей, включая красный костный мозг, жировую ткань, амниотическую жидкость, пуповину, плаценту, менструальную кровь и пульпу зуба [5]. Интересно, что даже аллогенные МСК обладают невысокой иммуногенностью [5], что значительно расширяет возможности их применения, в том числе для экстренной терапии травм, когда времени на выделение и *ex vivo* размножение аутологичных МСК может быть недостаточно.

При планировании стратегий лечения обморожений стволовыми клетками важно определить способы и время их введения после получения холодовой травмы и определить количество вводимых клеток. Пожалуй, главные вопросы, которые предстоит решить, – время введения МСК после обморожения и показания к применению данного способа терапии. Наиболее привлекательным с точки зрения терапевтических эффектов представляется использование МСК для снижения уровня ишемически-реперфузионного повреждения (ИРП) при холодовой травме, поскольку терапевтический эффект МСК при лечении различных патологий, включающих данный синдром, был подтвержден многочисленными работами [10–13]. При обморожении ИРП развивается в первые часы после оттаивания, поэтому вопрос о возможном применении МСК должен решаться именно в этот интервал времени. По видимому, основным критерием применимости МСК может служить высокая вероятность потери конечности. Поскольку в ранний временной промежуток после получения криотравмы в условиях формирования отека и образования волдырей на кожных покровах достаточно сложно выявить границы поврежденных тканей и глубину повреждения, решение о возможном применении МСК должно приниматься специалистом, занимающимся лечением холодовых травм, исходя из информации о продолжительности воздействия низких температур, площади поверхности поврежденной части тела, возрасте, массе

тела пациента и т.д. Вторым возможным подходом может быть использование МСК для пластики отмёрших кожных покровов по аналогии с ожоговой травмой [14]. В этом случае решение о применении МСК может быть принято в упомянутый выше срок – от 7–10 дней, когда с помощью МРТ-диагностики можно четко определить границы некротизированных тканей. Вероятнее всего, основным критерием использования МСК для восстановления кожных покровов будет площадь поврежденной поверхности, как и в случае с терапией ожогов [14].

Еще одним важным вопросом является поиск оптимального способа введения МСК при холодовых травмах. Для лечения ран различного генеза, имеющих ряд общих патофизиологических особенностей с холодовыми повреждениями, в доклинических моделях применяется системное и локальное введение МСК [15]. МСК обладают молекулярной машинерией, необходимой для экстравазации в поврежденных тканях [16]. Этот механизм используется также аутологичными МСК красного костного мозга, которые при получении организмом ожоговой травмы покидают свою нишу, по сосудистому руслу достигают места повреждения, где выходят из сосудов в ткань и принимают участие в регенеративных процессах [17]. Внутривенное введение дополнительных количеств МСК может ускорить заживление ожоговых ран [18] и такой подход применим и для лечения холодовых травм. Однако этот метод имеет ряд ограничений. При внутривенном введении МСК могут быстро накапливаться в нецелевых тканях, прежде всего в легких, откуда они перераспределяются между другими тканями в течение последующих нескольких дней [19]. Для снижения этого эффекта в случае обморожений МСК могут вводиться внутриартериально в артерии, питающие пострадавшие конечности. Данным методом, например, вводят tPA для предотвращения тромбообразования при обморожениях [3]. Большое количество одновременно введенных в кровь МСК может привести к сосудистой эмболии, что было показано с помощью прижизненной флуоресцентной микроскопии [20]. Возможно, для предотвращения данного эффекта МСК следует вводить малыми дозами в течение более длительного времени.

Локальное введение МСК для возможного лечения обморожений может быть реализовано как на ранней стадии с целью уменьшения последствий ИРП, так и при кожной пластике. В ранний период после получения холодовой травмы отсутствует информация о глубине прямого повреждения ткани (некрозе) и границах тканей, где наблюдается ИРП. Как показал опыт лечения ожоговой травмы [21], введение МСК в область некротизированной ткани с высокой вероятностью приводит к их массовой гибели и полному отсутствию терапевтического эффекта. С другой стороны, локальное введение МСК

в область тканей с нарушенной микроциркуляцией чревато дополнительным механическим повреждением, которое может повлечь инъекция. Поэтому имеет смысл минимизировать объем вводимой суспензии МСК наряду с уменьшением диаметра используемой для инъекции иглы. Оценить терапевтический эффект такого метода помогут только экспериментальные исследования на релевантной животной модели криотравмы, в которой область подверженной ИРП ткани строго детерминирована в зависимости от продолжительности воздействия низкотемпературными агентами. При кожной пластике возможны различные варианты нанесения МСК, как и в случае с ожогами: поверхностное орошение очищенной раны суспензией МСК, подкожное введение либо наложение гидрогелей или матриц с МСК на поверхность раны [21]. Для проверки эффективности терапии повреждений кожи при холодовой травме с помощью МСК выбор животной модели, оптимальные дозы МСК (количество клеток на площадь раны), момент нанесения клеток после получения травмы и прочие параметры могут быть определены по аналогии лечения ожоговой травмы.

При применении МСК на ранней стадии обморожения для смягчения последствий ИРП необходимо проварьировать различные количества вводимых клеток и выбрать оптимальный вариант. В случае применения МСК для регенерации повреждений покровов тела можно ориентироваться на те количества, которые используются при терапии ожогов, т.е. от 200 до 1 000 000 клеток на см² [21]. Выбор достаточной дозы для получения максимального терапевтического эффекта в немалой степени зависит от функционального состояния используемых МСК, зависящего от источника, условий культивирования, генетических модификаций и других факторов.

Возможные источники МСК для терапии ран

Как отмечалось выше, свой клинический эффект МСК реализуют прежде всего за счет секреции множества цитокинов и хемокинов, которые обладают антиапоптотическим, иммуномодулирующим и проангиогенным эффектом. Однако источник получения МСК существенно влияет на их функциональную активность, и как следствие на клиническую эффективность их трансплантации.

Наиболее часто источник МСК – красный костный мозг. Ранозаживляющие эффекты полученных из костного мозга МСК (КМ-МСК) были продемонстрированы у разных видов подопытных животных на моделях повреждений, включающих в основном механические раны и ожоги (термические и радиационные). Среди наблюдаемых эффектов было отмечено снижение уровня CD45+ лейкоцитов и провоспалительных цитокинов в ране, улучшение

васкуляризации и увеличение скорости пролиферации клеток [22]. КМ-МСК могут улучшать заживление ран и ремоделировать ткань посредством высвобождения различных компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ). Наиболее распространенный секретируемый компонент ВКМ – коллаген альфа-1 (I), который играет важную роль в ангиогенезе, инвазии и заживлении ран [23]. КМ-МСК обладает высокой фибринолитической активностью. Данный эффект связан с секрецией тканевого активатора плазминогена, активатора плазминогена урокиназного типа, активатора плазминогена (CD87) и ингибитора активатора плазминогена, в результате чего наблюдается деградация сгустка фибрина *in vitro* [24]. КМ-МСК способны выделять экзосомы, участвующие в восстановлении повреждения ткани, что было показано на модели ожога кожи крыс. Wnt4, содержащийся в полученных экзосомах, стимулировал ядерную транслокацию и активность α -катенина, способствуя повторной эпителизации и пролиферации клеток [25]. Аллогенные КМ-МСК, полученные от молодых здоровых доноров, обладают преимуществом перед МСК из возрастных или подверженных системным заболеваниям аутологичных источников, так как возраст и системные заболевания могут существенно угнетать регенеративную активность МСК [26].

Другой перспективный источник МСК – жировая ткань. Ускорение ранозаживляющих эффектов при использовании МСК из жировой ткани (ЖТ-МСК), как и в случае с КМ-МСК, обусловлено противовоспалительными, проангиогенными и антиапоптотическими эффектами и ускорением пролиферации. В работе [27] было показано, что ЖТ-МСК и КМ-МСК были одинаково эффективны для предотвращения распространения некроза в зоне сосудистого стаза при ожоговой травме.

Богата стромальными клетками пуповинная кровь и различные компоненты пуповины, включая вартонов студень. МСК из вартонового студня (ВС-МСК) улучшают реакцию заживления на мышинной модели репарации кожи путем запуска ангиогенеза и продукции ВКМ без изменения воспалительного ответа. Этот эффект связан с повышенной экспрессией VEGF-A, ангиопоэтина-1 и FGF-2, которые непосредственно участвуют в ангиогенезе [28].

Амниотическая мембрана плода также может быть источником МСК для лечения ожогов и кожных ран. Такие клетки оказывают проангиогенный и антифиброзный эффекты. Данный тип МСК был использован для стимуляции ангиогенеза с целью ускорения заживления ран у диабетических крыс. В них наблюдалась повышенная экспрессия VEGF, HGF, FGF-2, TGF- β и инсулиноподобного фактора роста-1 [29]. МСК, полученные из амниотической мембраны или вартонового студня, демонстрировали иммунофенотипические и функциональные

характеристики, сходные с таковыми для МСК из костного мозга [30]. Они представляют собой теоретическую альтернативу КМ-МСК для восстановления и регенерации тканей, хотя вопросы по ряду аспектов, связанных с отбором доноров и условиями культивирования, пока еще не решены.

Технологии улучшения терапевтических свойств и безопасности МСК

Несмотря на оптимистичные результаты лечения ряда патологий с помощью стволовых клеток, их применение в регенеративной медицине несет в себе ряд проблем, связанных как с технологической стороной их использования, так и с долгосрочными побочными эффектами. Использование МСК из тканей плода требует также дополнительно решения этических вопросов.

Важным вопросом является функциональное состояние МСК, предназначенных для трансплантации пациенту. При *ex vivo* культивировании МСК могут терять регенеративные свойства. Происходит это из-за изменений в микроокружении и деактивации сигнальных путей, которые были активированы, когда клетки находились внутри донорской ткани. В результате при культивировании МСК наблюдаются изменения в процессах метилирования промоторов генов и снижение глобальной активности ДНК-метилтрансферазы, снижение экспрессии ряда рецепторов, цитокинов и факторов роста [31]. Второе ограничение, которое в немалой степени связано с функциональным состоянием МСК, – это низкая приживаемость в поврежденных тканях реципиента. Оказываясь при трансплантации, как правило, в окружении активированных клеток иммунной системы и в среде с высоким содержанием активных форм кислорода и воспалительных медиаторов, большая часть МСК гибнет. Например, при инфаркте миокарда в живых остается только 1 % вводимых в поврежденный участок МСК [32]. Еще одной проблемой МСК может быть низкая эффективность хоминга в места воспаления, что тоже, скорее всего, связано со снижением экспрессии рецепторов CXCR4 на этапе *ex vivo* культивирования [33]. Рассмотрим подходы, которые позволят улучшить регенеративные и иммуномодулирующие свойства МСК при терапии повреждений мягких тканей и лечения холодовой травмы.

Условия культивирования МСК, улучшающие их терапевтические свойства

Улучшить регенеративные свойства трансплантируемых МСК может подбор условий культивирования *ex vivo*. К таким подходам следует отнести культивирование клеток в условиях гипоксии, что имитирует условия, в которых находятся МСК в ткани донора, что приводит к активации Akt и HIF-1 α сигнальных путей, экспрессии рецепторов

к HGF, повышению продукции различных ростовых факторов. Длительное культивирование в условиях гипоксии ведет к поддержанию недифференцированного и мультипотентного статуса МСК [9].

Помимо использования гипоксии к среде выращивания МСК добавляются цитокины, ростовые факторы и гормоны. В качестве цитокинов могут быть использованы фактор некроза опухоли (TNF α), интерферон гамма и интерлейкин-1 бета. Инкубирование МСК с данными цитокинами вызывает их переход к иммуномодулирующему фенотипу и ответной выработке противовоспалительных цитокинов и ростовых факторов, что существенно улучшает заживление раневых поверхностей [34]. Стимулирование регенеративных свойств МСК достигается при их культивировании в среде с ростовыми факторами, включая трансформирующий фактор роста альфа (TGF- α), VEGF, FGF-2 и многие другие [35], а также с гормонами, например мелатонином [10].

Используемая среда для культивирования способна оказывать влияние на функциональное состояние МСК. Например, МСК из жировой ткани, выросшие в среде EGM-2, продуцировали в 100 раз большие количества HGF и улучшали ангиогенез органоидов эндотелиоцитов после трансплантации по сравнению с МСК, культивируемыми в среде α -MEM [36]. Даже содержание глюкозы в среде может оказывать существенное влияние на паракринную активность МСК. Так, удаление глюкозы из среды IMDM с 20%-ным содержанием сыворотки приводило к увеличению экспрессии IGF-1, FGF-2, VEGF и SDF-1 в МСК пожилых доноров и их успешному использованию для терапии инфаркта миокарда [13].

Данные подходы применимы для МСК, используемых с целью лечения обморожений. Перед имплантацией функциональная активность стволовых клеток должна быть экспериментально подтверждена.

Генетическая модификация МСК

Генетическая модификация МСК путем трансфекции различными генами служит для усовершенствования их регенеративных свойств. В качестве доставляемого генетического материала могут служить гены, кодирующие факторы роста. Например, IGF-1-трансфицированные МСК эффективнее уменьшали площадь инфаркта миокарда по сравнению с нетрансфицированными [11]. Помимо факторов роста для трансфекции МСК используют гены, кодирующие транскрипционные факторы v-Мус и Akt, которые активируют гены устойчивости к апоптозу и продукцию ростовых факторов, включая VEGF. Такие клетки проявляют большую жизнеспособность после трансплантации и гораздо эффективнее способствуют заживлению механической раны, чем нетрансфицированные МСК [37]. Для генетической модификации МСК используются

также гены, кодирующие рецепторы хемокинов, что обеспечивает миграцию МСК в места повреждений. Сами МСК экспрессируют рецепторы CXCR4, которые узнают хемокин SDF-1, вырабатываемый в местах повреждений и воспалений, но при *ex vivo* культивировании экспрессия этого рецептора в стволовых клетках сильно падает. Трансфекция МСК геном, кодирующим рецепторы CXCR4, приводит к сверхэкспрессии данного рецептора и обеспечивает более быстрое заживление радиационных повреждений кожи на мышинной модели за счет ускоренной миграции стволовых клеток к месту ожога [38]. Для изменения свойств МСК применяются и методы РНК-интерференции. Доставка в МСК коротких, образующих «шпильки» РНК против пролилгидроксилазы PHD-2, ограничивающей активацию гипоксия-индуцируемого фактора HIF1 α , приводит к сверхэкспрессии последнего. В результате HIF1 α усиливает экспрессию проангиогенных факторов МСК, что способствует ускоренному заживлению механических ран [39].

Поскольку описанные выше варианты генетической модификации МСК подразумевают временную трансфекцию или нокдаун генов, перспективным направлением усовершенствования этого подхода представляется использование CRISPR-Cas системы для получения стабильной экспрессии необходимых генов в МСК.

Полимерные биоматериалы для поддержания функционирования МСК

Поскольку МСК очень чувствительны к механическому окружению [40], для улучшения их приживаемости и детерминации пути дифференцировки в настоящее время используются различного рода биоматериалы на основе биodeградируемых полимеров и матриц на основе компонентов ВКМ.

Применяемые синтетические полимеры должны быть биосовместимыми, неиммунногенными и биodeградируемыми. Их основное преимущество связано с возможностью массового и недорогого производства [41]. Основными полимерами для создания гидрогелей, используемых для трансплантации МСК с целью ускорения заживления ран, являются полилактид и его сополимеры с гликолидом, плуроники, поликапролактон и др. Основные недостатки синтетических полимеров связаны со слабой биологической активностью, отсутствием сайтов клеточной адгезии для МСК и других клеток, возможным присутствием побочных продуктов, способных вызвать иммунный ответ [42]. Помимо синтетических естественные полимеры тоже активно используются для создания матриц, применяемых в комбинации с МСК для лечения ран. К таким полимерам относятся коллаген, ламинин, хитозан и др. К недостаткам матриц на основе биополимеров относятся сложность выделения и стерилизации, вариативность

состава и возможность контаминирования патогенами [42]. Еще одной категорией полимерных соединений для трансплантации МСК являются децеллюляризованные матриксы, для получения которых используют ферментную обработку, детергенты и кислоты. Несмотря на успешное применение данных матриксов в комбинации с МСК для заживления ран [43], их массовое производство, а также трудности со стерилизацией и удалением примесей после получения остаются основными ограничениями для клинического использования.

В последние годы наметилась тенденция на внедрение в состав гидрогелей различного рода наночастиц, помогающих улучшить свойства матриксов: наночастицы серебра, обладающие антибактериальными свойствами [44], полимерные наночастицы, несущие в своем составе факторы роста [45].

При криотравме матриксы с МСК применяются для восстановления покровов мягких тканей после удаления струпа. В этом случае для ускоренной эпителиализации поверхности ткани добавляются кератиноциты и фибробласты в состав матрикса, что активно практикуется для пластики кожи при ожогах [14].

3D-культуры МСК

В последние годы регенеративная медицина достигла значительных успехов в области использования 3D-клеточных культур стволовых клеток для терапии различного рода повреждений. Одним из преимуществ 3D-культур является наличие в них очагов гипоксии, что само по себе приводит к активации HIF1 α и усилению экспрессии проангиогенных цитокинов [46]. Кроме того, в составе 3D-культур МСК контактируют друг с другом, что обеспечивает их повышенную устойчивость к стрессовым воздействиям, особенно в случае трансплантации в ишемическую ткань, где активно идут воспалительные процессы, как в случае с холодовой травмой. Для терапии повреждений используют два типа 3D-культур МСК: сфероиды и клеточные пласты.

Сфероиды представляют собой тканеподобный агрегат клеток сферической формы, в котором клетки напрямую контактируют друг с другом. В сфероиде могут также присутствовать компоненты ВКМ [47]. Культивирование МСК в составе сфероидов повышает их проангиогенную активность и способствует ускоренному закрытию диабетических ран у мышей [48]. МСК в составе сфероидов демонстрируют иммуносупрессирующие свойства на модели колита [7].

Клеточные пласты состоят из нескольких слоев МСК и имеют толщину до 100 мкм. Как и сфероиды, они способны экспрессировать большие количества факторов роста и иммуномодулирующих цитокинов, что ведет к ускорению процессов ангиогенеза и регенерации [49]. Добавление в состав пластов МСК

других типов клеток, например, эндотелиоцитов, способно улучшить неоваскуляризацию поврежденной ткани, что показано на примере кожной механической раны [50]. Помимо данной модели, пласты из МСК продемонстрировали свою эффективность на моделях патологий различных тканей [12, 49].

Как и в случае с матриксами, 3D-культуры для лечения криотравмы применяются после стадии некрэктомии. Возможно, оптимальными методами нанесения 3D-культур МСК может быть комбинация с заменителями кожи или биоматериалами на основе гидрогелей, содержащих кератиноциты и фибробласты.

Выводы

1. В силу своих противовоспалительных, антиапоптотических и регенеративных свойств МСК имеют хороший потенциал для терапии холодовых травм.

2. Для улучшения свойств МСК возможно использование генетической модификации, измененных условий культивирования, матриксов и 3D-культур. Эти стратегии можно комбинировать друг с другом с целью получения более выраженного терапевтического эффекта.

Работа выполнена при поддержке гранта в форме субсидии по соглашению от 12 августа 2019 г. 075-15-2019-1328 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57518X0179), заключенному между Министерством науки и высшего образования Российской Федерации и ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».

Список литературы

1. Ikäheimo T.M., Hassi J. Frostbites in circumpolar areas // Glob. Health Action. 2011. V. 4. № 1. DOI:10.3402/gha.v4i0.8456.
2. Cochran A., Morris S.E. Cold-induced injury: frostbite // Total Burn Care (5th ed.) / D.N. Herndon, ed. 2018. P. 403–407. e2. DOI:10.1016/B978-0-323-47661-4.00038-1.
3. McIntosh S.E., Freer L., Grissom C.K. et al. Wilderness Medical Society Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Frostbite: 2019 Update // Wilderness & Environ. Med. 2019. DOI:10.1016/j.wem.2019.05.002.
4. Figueroa F.E., Carrión F., Villanueva S., Khoury M. Mesenchymal stem cell treatment for autoimmune diseases: a critical review // Biol. Res. 2012. V. 43. № 1. P. 269–277. DOI:10.4067/S0716-97602012000300008.
5. Park J.S., Suryaparakash S., Lao Y.-H., Leong K.W. Engineering mesenchymal stem cells for regenerative medicine and drug delivery // Methods. 2015. V. 84. P. 3–16.
6. Slegtenhorst B.R., Dor F.J.M.F. et al. Ischemia/reperfusion injury and its consequences on immunity

- and inflammation // *Curr. Transpl. Rep.* 2014. V. 1. № 3. P. 147–154. DOI:10.1007/s40472-014-0017-6.
7. Regmi S., Pathak S., Kim J.O. et al. Mesenchymal stem cell therapy for the treatment of inflammatory diseases: challenges, opportunities, and future perspectives // *Eur. J. of Cell Biol.* 2019. DOI: 10.1016/j.ejcb.2019.04.002
8. Kucharzewski M., Rojczyk E., Wilemska-Kucharzewska K. et al. Novel trends in application of stem cells in skin wound healing // *Eur. J. of Pharmacol.* 2019. V. 843. P. 307–315. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.12.012.
9. Андреева Е.Р., Буравкова Л.Б., Григорьев А.И. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки человека при «физиологической» гипоксии in vitro. М., 2016.
Andreeva E.P., Buravkova L.B., Grigoriev A.I. Human multipotent mesenchymal stromal cells under «physiological» hypoxia in vitro. Moscow, 2016.
10. Tang Y., Cai B., Yuan F. et al. Melatonin pretreatment improves the survival and function of transplanted mesenchymal stem cells after focal cerebral ischemia // *Cell Transpl.* 2014. V. 23. № 10. P. 1279–1291.
11. Jung S., Kim J.-H., Kim J.-H. et al. Therapeutic effects of a mesenchymal stem cell-based insulin-like growth factor-1/enhanced green fluorescent protein dual gene sorting system in a myocardial infarction rat model // *Mol. Med. Rep.* 2018. V. 18 № 6. P. 5563–5571. DOI:10.3892/mmr.2018.9561.
12. Tanaka Y., Shirasawa B., Takeuchi Y. et al. Autologous preconditioned mesenchymal stem cell sheets improve left ventricular function in a rabbit old myocardial infarction model // *Am. J. of Transl. Res.* 2016. V. 15. № 8. P. 2222–2233.
13. Choudhery M.S., Khan M., Mahmood R. et al. Mesenchymal stem cells conditioned with glucose depletion augments their ability to repair-infarcted myocardium // *J. of Cell. and Mol. Med.* 2012. V. 16. № 10. P. 2518–2529. DOI:10.1111/j.1582-4934.2012.01568.x.
14. Chua A.W.C., Khoo Y.C., Tan B.K. et al. Skin tissue engineering advances in severe burns: review and therapeutic applications // *Burns Trauma.* 2016. № 4. Art. № 3. DOI:10.1186/s41038-016-0027-y.
15. Rodgers K., Jadhav S.S. The application of mesenchymal stem cells to treat thermal and radiation burns // *Adv. Drug Delivery Rev.* 2018. V. 123. P. 75–81. DOI:10.1016/j.addr.2017.10.003.
16. Leng Teo G.S., Ankrum J.A., Martinelli R. et al. Mesenchymal stem cells transmigrate between and directly through tumor necrosis factor- α -activated endothelial cells via both leukocyte-like and novel mechanisms // *Stem Cells.* 2012. V. 30. № 11. P. 2472–2486.
17. Hu C., Yong X., Li C. et al. CXCL12/CXCR4 axis promotes mesenchymal stem cell mobilization to burn wounds and contributes to wound repair // *J. of Surg. Res.* 2013. V. 183. № 1. P. 427–434.
18. Foubert P., Liu M., Anderson S. et al. Preclinical assessment of safety and efficacy of intravenous delivery of autologous adipose-derived regenerative cells (ADRCs) in the treatment of severe thermal burns using a porcine model // *Burns.* 2018. V. 44. № 6. P. 1531–1542. DOI:10.1016/j.burns.2018.05.006.
19. Karp J.M., Leng Teo G.S. Mesenchymal stem cell homing: the devil is in the details // *Cell Stem Cell.* 2009. V. 4. № 3. P. 206–216. DOI:10.1016/j.stem.2009.02.001.
20. Furlani D., Ugurlucan M., Ong L. et al. Is the intravascular administration of mesenchymal stem cells safe? Mesenchymal stem cells and intravital microscopy // *Microvascular Res.* 2009. V. 77. № 3. P. 370–376.
21. Ozturk S., Karagoz H. Experimental stem cell therapies on burn wound: Do source, dose, timing and method matter? // *Burns.* 2015. V. 41. № 6. P. 1133–1139. DOI:10.1016/j.burns.2015.01.005.
22. Kuo Y.-R., Wang C.-T., Cheng J.-T. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhanced diabetic wound healing through recruitment of tissue regeneration in a rat model of streptozotocin-induced diabetes // *Plast. Reconstr. Surg.* 2011. V. 128. № 4. P. 872–880. DOI:10.1097/PRS.0b013e3182174329.
23. Casado J.G., Blazquez R., Jorge I. et al. Mesenchymal stem cell-coated sutures enhance collagen depositions in sutured tissues // *Wound Repair Regen.* 2014. V. 22. № 2. P. 256–264. DOI:10.1111/wrr.12153.
24. Neuss S., Schneider R.K.M., Tietze L. et al. Secretion of fibrinolytic enzymes facilitates human mesenchymal stem cell invasion into fibrin clots // *Cells Tissues Organs (Print).* 2010. V. 199. № 1. P. 36–46. DOI:10.1159/000215579.
25. Zhang B., Wang M., Gong A. et al. HucMSC-exosome mediated-Wnt4 signaling is required for cutaneous wound healing // *Stem Cells.* 2015. V. 33. № 7. P. 2158–2168.
26. Badiavas A.R., Badiavas E.V. Potential benefits of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells for wound healing // *Expert Opinion on Biol. Therapy.* 2011. V. 11. № 11. P. 1447–1454.
27. Abbas O.L., Özatik O., Gönen Z.B. et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and dental pulp as sources of cell therapy for zone of stasis burns // *J. of Invest. Surg.* 2018. V. 32. № 6. P. 1–14.
28. Edwards S.S., Zavala G., Prieto C.P. et al. Functional analysis reveals angiogenic potential of human mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in dermal regeneration // *Angiogenesis.* 2014. V. 17. № 4. P. 851–866. DOI:10.1007/s10456-014-9432-7.
29. Kong P., Xie X., Li F. et al. Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013. V. 438. № 2. P. 410–419. DOI:10.1016/j.bbrc.2013.07.088.
30. François S., Mouiseddine M., Mathieu N. et al. Human mesenchymal stem cells favour healing of the cutaneous radiation syndrome in a xenogenic transplant model. // *Ann. Hematol.* 2007. V. 86. № 1. P. 1–8. DOI:10.1007/s00277-006-0166-5.
31. Li Y., Wu Q., Wang Y. et al. Senescence of mesenchymal stem cells (Review) // *Int. J. of Mol. Med.* 2017. V. 39. № 4. P. 775–782. DOI:10.3892/ijmm.2017.2912.
32. Li L., Chen X., Wang W.E., Zeng C. How to improve the survival of transplanted mesenchymal stem cell in ischemic heart? // *Stem Cells Int.* 2016. DOI:10.1155/2016/9682757.

33. *Marquez-Curtis L.A., Janowska-Wieczorek A.* Enhancing the migration ability of mesenchymal stromal cells by targeting the SDF-1/CXCR4 axis // *BioMed. Res. Int.* 2013. V. 2013. DOI:10.1155/2013/561098.

34. *Maffioli E., Nonnis S., Angioni R. et al.* Proteomic analysis of the secretome of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells primed by pro-inflammatory cytokines // *J. of Proteomics.* 2017. V. 166. P. 115–126.

35. *Hahn J.-Y., Cho H.-J., Kang H.-J. et al.* Pre-treatment of mesenchymal stem cells with a combination of growth factors enhances gap junction formation, cytoprotective effect on cardiomyocytes, and therapeutic efficacy for myocardial infarction // *J. of the Am. College of Cardiol.* 2008. V. 51. № 9. P. 933–943.

36. *Souza L.E.B., Beckenkamp L.R., Sobral L.M. et al.* Pre-culture in endothelial growth medium enhances the angiogenic properties of adipose-derived stem/stromal cells // *Angiogenesis.* 2018. V. 21. № 1. P. 15–22. DOI:10.1007/s10456-017-9579-0.

37. *Song S.-H., Lee M.-O., Lee J.-S. et al.* Genetic modification of human adipose-derived stem cells for promoting wound healing // *J. of Dermatol. Sci.* 2012. V. 66. № 2. P. 98–107. DOI:10.1016/j.jdermsci.2012.02.010.

38. *Yang D., Sun S., Wang Z. et al.* Stromal cell-derived factor-1 receptor CXCR4-overexpressing bone marrow mesenchymal stem cells accelerate wound healing by migrating into skin injury areas // *Cell Reprogram.* 2013. V. 15. № 3. P. 206–215. DOI:10.1089/cell.2012.0046.

39. *Ko S.H., Nauta A.C., Morrison S.D. et al.* PHD-2 Suppression in mesenchymal stromal cells enhances wound healing // *Plast. Reconstr. Surg.* 2018. V. 141. № 1. P. 55e–67e. DOI:10.1097/PRS.0000000000003959.

40. Механизмы клеточной гравиточувствительности / Л.Б. Буравкова, ред. М., 2018.

Cell gravity sensitivity mechanisms / L.B. Buravkova, ed. Moscow, 2018.

41. *Ho J., Walsh C., Yue D. et al.* Current advancements and strategies in tissue engineering for wound healing: a comprehensive review // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2017. V. 6. № 6. P. 191–209. DOI:10.1089/wound.2016.0723.

42. *Dash B.C., Xu Z., Lin L. et al.* Stem cells and engineered scaffolds for regenerative wound healing // *Bioengineering.* 2018. V. 5. № 1. P. E23. DOI:10.3390/bioengineering5010023.

43. *Parmaksiz M., Elcin A.E., Elcin Y.M.* Decellularization of bovine small intestinal submucosa and its use for the healing of a critical-sized full-thickness skin defect, alone and in combination with stem cells, in a small rodent model // *J. of Tissue Engineering and Regenerative Med.* 2017. V. 11. № 6. P. 1754–1765. DOI:10.1002/term.2071.

44. *Pérez-Díaz M.A., Silva-Bermudez P., Jiménez-López B. et al.* Silver-pig skin nanocomposites and mesenchymal stem cells: suitable antibiofilm cellular dressings for wound healing // *J. Nanobiotechnol.* 2018. № 16. Art. № 2. DOI:10.1186/s12951-017-0331-0.

45. *Dong C.-L., Webb W.R., Peng Q. et al.* Sustained PDGF-BB release from PHBHHx loaded nanoparticles in 3D

hydrogel/stem cell model // *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2015. V. 103. № 1. P. 282–288. doi:10.1002/jbm.a.35149.

46. *Cesarz Z., Tamama K.* Spheroid culture of mesenchymal stem cells // *Stem Cells Int.* 2016. V. 2016. DOI:10.1155/2016/9176357.

47. *Bhang S.H., Cho S.-W., La W.-G. et al.* Angiogenesis in ischemic tissue produced by spheroid grafting of human adipose-derived stromal cells // *Biomaterials.* 2011. V. 32. № 11. P. 2734–2747.

48. *Amos P.J., Kapur S.K., Stapor P.C. et al.* Human adipose-derived stromal cells accelerate diabetic wound healing: impact of cell formulation and delivery // *Tissue Engineering Part A.* 2010. V. 16. № 5. P. 1595–1606.

49. *Chen M., Xu Y., Zhang T. et al.* Mesenchymal stem cell sheets: a new cell-based strategy for bone repair and regeneration // *Biotechnol. Lett.* 2019. V. 41. № 3. P. 305–318. DOI:10.1007/s10529-019-02649-7.

50. *Chen L., Xing Q., Zhai Q. et al.* Pre-vascularization enhances therapeutic effects of human mesenchymal stem cell sheets in full thickness skin wound repair // *Theranostics.* 2017. V. 7. № 1. P. 117–131.

Поступила 29.07.2019

METHODOLOGICAL APPROACHES TO DEVELOPMENT OF CELL-BASED MEDICINAL PRODUCT FOR TREATMENT OF PATIENTS WITH COLD INJURY IN THE ARCTIC

Durymanov M.O., Boyarintsev V.V., Trofimenko A.V., Biryukov S.A., Gorina E.V., Filkov G.I.

Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow region

Frostbite is the most common type of traumatic injuries in the cold climate of the Arctic. Post-traumatic recovery of the patients takes a long time and often leads to the loss of the damaged limb. A promising approach for frostbite therapy could be treatment with mesenchymal stem/stromal cells (MSCs), which are widely used in regenerative medicine for different applications. Here, we aimed to discuss the possibility of frostbite treatment with MSCs. The success of MSC use for therapy of different injuries depends on multiple factors including the source and functional state of MSCs. These aspects along with strategies for improvement of therapeutic effect of MSC treatment are also discussed in detail.

Key words: frostbite, mesenchymal stem cells, genetic modification, 3D-cultures, matrix.

Авиакосмическая и экологическая Медицина (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 18–25.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И ОБЩЕТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 621.1(001.891-923)

СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА И ОСНОВНЫХ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ КРОВИ У ЧЕЛОВЕКА ПРИ ГОДОВОМ ПРЕБЫВАНИИ В УСЛОВИЯХ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ, ГИПОКИНЕЗИИ И ИЗОЛЯЦИИ

Ильин Е.А., Ларина И.М., Носовский А.М.

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

E-mail: ilyine@imbp.ru

Венозную кровь для последующих биохимических исследований брали в динамике у 16 полярников во время годовой зимовки на научной станции «Восток» в Антарктиде. Физиологически значимыми факторами зимовки являлись: гипобарическая гипоксия ($p = 460$ мм рт. ст.) в связи с расположением станции на ледниковом куполе Центральной Антарктиды, гипокинезия, обусловленная длительным пребыванием в помещении из-за чрезвычайно низких температур за пределами станции, физическая и социальная изоляция от внешнего мира.

Обследуемые были разделены на 2 группы: экспериментальную, получавшую периодически витаминно-аминокислотный комплекс препаратов с целью профилактики и коррекции астении, и контрольную, получавшую плацебо.

Проведенные исследования показали, что во время годового пребывания в экстремальных условиях содержание белка и основных белковых фракций крови волнообразно колебалось, не выходя за пределы физиологической нормы. Начиная с 4-го месяца зимовки произошло статистически достоверное увеличение содержания γ - и β -глобулинов в крови, сохранившееся вплоть до 2-го месяца после ее завершения, что свидетельствовало о достаточном уровне резервных возможностей организма. Не выявлено различий в содержании исследуемых параметров между экспериментальной и контрольной группами обследуемых.

Высказано предположение о положительной роли гипобарической гипоксии в поддержании неспецифической резистентности организма при длительном нахождении в условиях гипокинезии и изоляции.

Ключевые слова: общий белок, альбумин, глобулины, хроническая гипоксия, гипокинезия, изоляция.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 26–32.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-26-32

Внутриконтинентальная станция «Восток», расположенная в Центральной Антарктиде ($78^{\circ}27'51''$ ю. ш.; $106^{\circ}50'14''$ в. д.), с точки зрения физиологов, представляет собой исследовательскую

лабораторию с наиболее экстремальными условиями жизни человека. Рекордно низкие температуры (до $-89,2^{\circ}$), годовая изоляция от внешнего мира, автономность (недоступность) в течение 10 мес делают ее одним из наиболее подходящих мест для исследований механизмов адаптации организма человека к комплексу экстремальных факторов.

Станция расположена на ледниковом куполе на высоте 3488 м над уровнем моря, однако из-за низкой температуры воздуха в районе станции барометрическое давление там составляет 460 мм рт. ст., т.е. как на высоте 4000 м, вследствие чего и содержание кислорода в атмосфере в районе станции эквивалентно таковому на высоте 4000 м ($95\text{--}100$ мм рт. ст.). В связи с низкими температурами воздуха полярники станции «Восток» выходят за пределы станции на непродолжительное время, что неизбежно приводит к тому, что годовая зимовка сопровождается длительным ограничением двигательной активности. Это еще один дополнительный неблагоприятный фактор зимовки при минимальном влиянии низких температур на организм.

Интерес к изучению механизмов приспособления здорового человека к жизни в столь суровых условиях диктуется необходимостью выявления и предотвращения медицинских рисков как для полярников, так и для космонавтов, сталкивающихся со сходным набором неблагоприятных факторов [1]. С этой целью в Институте медико-биологических проблем была разработана и выполнена во время нескольких годовых зимовок на станции «Восток» программа комплексных биомедицинских исследований, частью которых явились исследования некоторых биохимических параметров крови. Основываясь на представлении о важности функций основных белковых фракций крови в поддержании гомеостаза, в том числе неспецифической резистентности организма, было признано целесообразным исследовать их состояние при годовом пребывании человека в экстремальных условиях.

Методика

Обследуемые – участники годовой зимовки на станции «Восток» в 1968 г.: 16 практически здоровых мужчин в возрасте от 30 до 40 лет, лица разных профессий. Все они в соответствии с задачами научной программы были распределены на 2 близкие по возрасту и роду занятости группы: контрольную и экспериментальную, в каждую из которых входили 8 человек. За период зимовки ни у кого не отмечалось инфекционных или другого генеза заболеваний, а также изменений массы тела. Обследуемые экспериментальной группы во время 2 курсов фармакологической коррекции на 2-м и 8-м месяцах зимовки получали ежедневно на протяжении 2 и 3 нед соответственно профилактические комплексы препаратов. Первый комплекс был направлен на ускоренное восстановление функций ЦНС после завершения острого периода адаптации к условиям зимовки и включал аскорбиновую кислоту с глюкозой, глицерофосфат кальция, глутаминовую кислоту и транквилизатор элениум. Второй комплекс состоял из витаминов, минералов и аминокислот. Его принимали участники экспериментальной группы на 8-м месяце зимовки для профилактики и коррекции астении. Контрольная группа получала в те же сроки и с той же продолжительностью плацебо в таблетированной форме. Схема применения фармакологических препаратов и результаты подробно описаны ранее в работе [2].

Кровь для последующих биохимических исследований отбирали у каждого участника экспедиции в следующие месяцы от начала годовой зимовки: I исследование – 2-й месяц (февраль), II исследование – 4-й месяц (апрель), III исследование – 6-й месяц (июнь), IV исследование – 9-й месяц (сентябрь) и V исследование – 12-й месяц (декабрь). Шестую пробу крови отбирали через 2 мес после окончания зимовки (VI исследование).

Образцы получали венопункцией в асептических условиях проколом антекубитальной вены со сбором крови в пробирки для получения сыворотки.

Образцы сохранялись при низкой температуре и доставлялись в замороженном виде в лабораторию (г. Москва), где проводили анализ одновременно всех проб.

Общий белок определяли рефрактометрическим методом. Основные белковые фракции исследовали методом электрофореза на ацетатцеллюлозе. Пропердин определяли зимозановым методом, основанным на адсорбции пропердина на зимозан при пониженной температуре с последующим фракционированием на ДЭАЭ-целлюлозе.

Исследования проводили с соблюдением требований биомедицинской этики. Информированные согласия на участие полярников станции «Восток» в исследованиях были получены.

Результаты и обсуждение

Из таблицы следует, что содержание общего белка и основных белковых фракций крови во время годового пребывания полярников на антарктической станции «Восток» не выходило за пределы физиологической нормы ни в одной из групп обследуемых. В разные периоды зимовки величины исследуемых параметров менялись волнообразно.

Периодическое повышение альбуминовой фракции в обеих группах обследуемых свидетельствовало, по нашему мнению, о возможной гемоконцентрации вследствие изменения водного баланса, обусловленного увеличением экстраренальных влагопотерь из-за низкой относительной влажности воздуха в помещении станции (14–26 %) и пониженного барометрического давления. Клинически это проявлялось сухостью кожи, слизистой носа и ротовой полости.

Чтобы учесть возможное влияние изменений водного баланса организма на содержание основных белковых фракций крови обследуемых, при дальнейшем анализе содержание белковых фракций нормировали на альбумин. Ввиду отсутствия достоверных различий в исследуемых показателях между обеими группами обследуемых анализ

Таблица

Усредненные величины некоторых биохимических показателей крови полярников за весь цикл исследований во время годовой зимовки на антарктической станции «Восток»

Показатели	Норма	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Общий белок, г/л	65–85	75,16 ± 0,91	72,68 ± 1,24
Альбумины, г/дл	3,5–5,0	4,60 ± 0,07	4,53 ± 0,09
Гамма-глобулины, г/дл	0,7–1,6	1,37 ± 0,04	1,20 ± 0,03
Альфа-1-глобулины, г/дл	0,1–0,3	0,21 ± 0,02	0,20 ± 0,02
Альфа-2-глобулины, г/дл	0,5–1,0	0,49 ± 0,02	0,44 ± 0,02
Бета-глобулины, г/дл	0,7–1,2	0,88 ± 0,03	0,81 ± 0,03
Пропердин, ед./мл	20–80	19,75 ± 1,91	24,02 ± 1,91

проводили по усредненным нормированным величинам суммарно для всех полярников в каждом периоде исследований.

Гамма-глобулины

Как следует из данных, представленных на рис. 1, А, усредненные нормированные на альбумин величины γ -глобулинов достоверно повысились ($p < 0,05$) с 4-го месяца зимовки (II исследование) по сравнению с начальным периодом и оставались повышенными до окончания зимовки. Известно, что γ -глобулины в крови представлены основными классами антител А, G, М, D, Е и их уровень характеризует состояние гуморального звена неспецифической резистентности организма. Полученные данные о величинах фракции γ -глобулинов в крови свидетельствуют о том, что гуморальные факторы резистентности у обследуемых были активированы с началом полярной ночи (апрель) и оставались таковыми в последующие периоды зимовки.

При отсутствии острой или хронической патологии у полярников станции «Восток» некоторое повышение уровней γ -глобулинов в крови нельзя считать гипергаммаглобулинемией.

Альфа-1-глобулины

Как известно, фракция α -1-глобулинов, определяемая методом электрофореза, является комплексной и включает следующие основные компоненты: α -1-антитрипсин, α -1-антихимотрипсин, орозомукоид, α -фетопротеин (АФП), липопротеины высокой плотности. Альфа-1-антитрипсин (α -1-протеиназный ингибитор) – это гликопротеин, образующийся в печени, он является ингибитором протеиназ (трипсина, химотрипсина, калликреина, плазмина) и обуславливает 92–94 % общей антипротеолитической активности крови. Его концентрация вносит основной вклад в уровень всей фракции. Вторым по значимости во фракции стоит α -1-антихимотрипсин, гликопротеин, являющийся одним из первых белков-реактантов острой фазы (уровень его в сыворотке крови может удваиваться в течение нескольких часов). Однако он представляет собой хотя и специфический, но слабый ингибитор химотрипсина. На протяжении годового пребывания на станции «Восток» уровень фракции α -1-глобулинов в крови в основном колебался в пределах нормальных значений, однако имел большую вариабельность в контрольной группе. В этой группе только у 2 обследуемых концентрация фракции α -1-глобулинов незначительно повышалась за пределы нормального диапазона значений. В группе с фармакологической коррекцией у 4 обследуемых на отдельных сроках пребывания на станции уровни концентрации фракции α -1-глобулинов были выше нормальных значений, а у 2 – достоверно снижены. Динамика усредненных нормированных величин

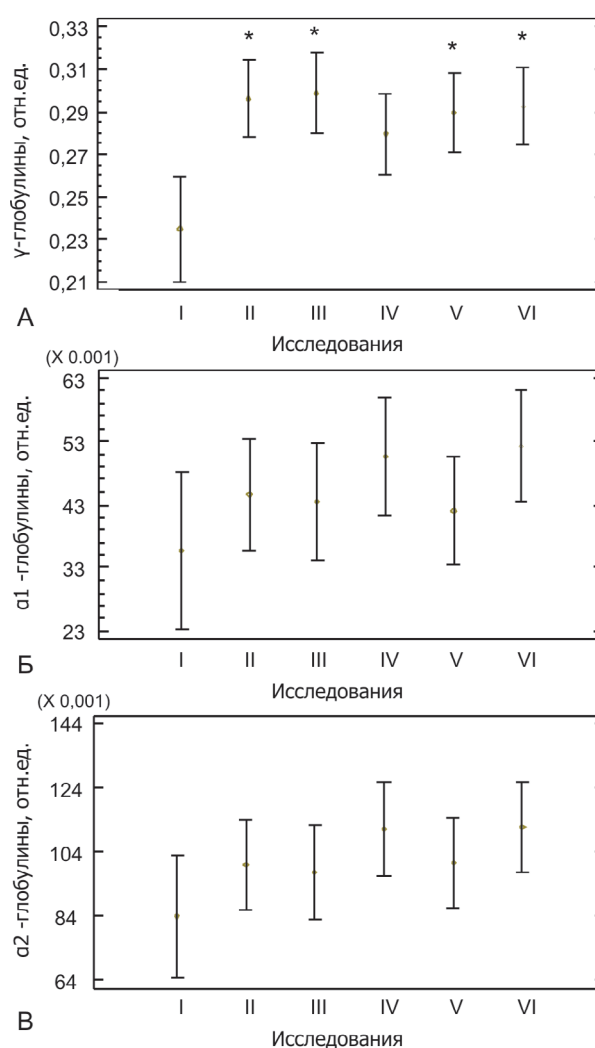


Рис. 1 Динамика усредненных нормированных на альбумин величин фракции белков в крови:

А – γ -глобулины; Б – α -1-глобулины; В – α -2-глобулины. Здесь и на рис. 2: * – различия величин по отношению к результатам I исследования достоверны, $p < 0,05$

(см. рис. 1, Б) тем не менее показала, что на 9-м месяце зимовки (IV исследование) и в период восстановления после ее окончания (VI исследование) отмечалась тенденция к увеличению уровня фракции α -1-глобулинов в крови полярников. Считается, что вклад фракции α -1-глобулинов в протеинограмму крови резко меняется при определенных заболеваниях, сопровождаемых деструктивными и воспалительными процессами, при травматических повреждениях тканей, аллергии и в стрессовых ситуациях. Изменения, отмеченные нами, очевидно, не имеют клинических оснований, так как являются незначительными и, скорее всего, связаны с общим возбуждением, обусловленным появлением солнца после 4-месячной полярной ночи и скорым окончанием зимовки.

Альфа-2-глобулины

Фракция α -2-глобулинов также является комбинаторной, включает белки острой фазы (их концентрации преобладают в группе, и поэтому они считаются основными). В состав фракции входит α -2-макроглобулин (главный белок данной группы), участвующий в иммунных реакциях при проникновении в организм инфекционных агентов и развитии воспалительных процессов. Другой компонент фракции гликопротеин – гаптоглобулин, образующий комплексное соединение с гемоглобином, который высвобождается из эритроцитов. Гаптоглобин защищает железо от потери организмом при его естественной экскреции, служит транспортным белком витамина B12. Во фракцию α -2-глобулинов входит также церулоплазмин – металлогликопротеин, специфически связывающий (до 96 %) и переносящий медь. Он обладает антиоксидантной способностью, а также оксидазной активностью в отношении витамина C, серотонина и норадреналина. В данной фракции присутствуют также аполипопротеин B – переносчик липопротеинов низкой плотности и транспортный белок витамина D, доставляющий его к тканям-мишеням.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что на протяжении годового пребывания на станции уровни фракции α -2-глобулинов у многих обследуемых были либо на нижней границе, либо несколько ниже физиологической нормы. В экспериментальной группе, по-видимому, в связи с приемом фармпрепаратов наблюдали во второй половине зимовки тенденцию к повышению уровней фракции α -2-глобулинов в крови.

Эта тенденция отразилась и в динамике усредненных нормированных на альбумин величин фракции α -2-глобулинов в крови для всей совокупной группы полярников. Из рис. 1, В следует, что по завершении острого периода адаптации к условиям пребывания на станции «Восток» наблюдали тенденцию к увеличению уровней α -2-глобулинов в крови.

Бета-глобулины

Уровни фракции β -глобулинов на протяжении годовой зимовки лишь изредка незначительно отклонялись от границ диапазона нормы и чаще всего – в сторону повышения концентрации. Динамика усредненных нормированных на альбумин величин фракции β -глобулинов в крови обследуемых представлена на рис. 2, из которого следует, что начиная с 4-го месяца зимовки (II исследование) уровни β -глобулинов в крови обследуемых повысились ($p < 0,05$). Резонно связать изменения концентрации данной фракции исключительно с трансферрином. Этот протеин является важным членом большой группы железорегуляторных белков, контролирующих гомеостаз железа. Трансферрин переносит

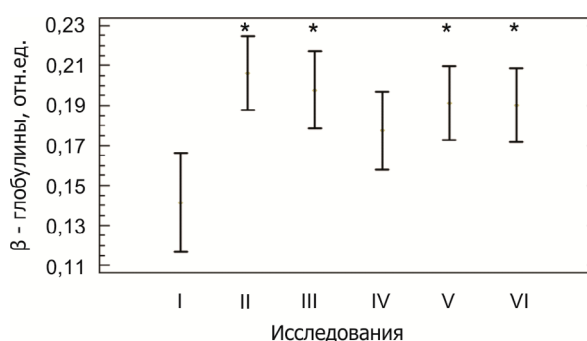


Рис. 2. Динамика усредненных нормированных на альбумин величин фракции β -глобулинов в крови зимовщиков

железо в ретикулоэндотелиальную систему, в паренхиматозные клетки печени и во все пролиферирующие клетки организма, где посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза приводит к поглощению железа клетками [3]. Изменение его синтеза считается признаком острофазной реакции. Острофазная реакция является основной физиологической защитной реакцией организма на тканевое/клеточное повреждение, направленной на устранение последствий повреждения и восстановление гомеостаза, в том числе при гипобарической гипоксии. Эта реакция опосредуется несколькими сигнальными каскадами и приводит к увеличению уровней в плазме ряда «положительных» белков острой фазы, включая белки свертывания крови, транспортные белки, антипротеазы и факторы комплемента, с параллельным снижением «отрицательных» белков, таких, как альбумин и трансферрин [4]. При острофазной реакции происходит также снижение уровня железа сыворотки [5].

Поскольку железо в организме является важным кофактором для транспорта кислорода, гемовых и негемовых железосодержащих белков, переноса электронов, синтеза нейротрансмиттеров, энергетического метаболизма и митохондриальной функции в органах [6], возможно предположить изменение уровня трансферринсодержащей фракции вследствие напряжения в кислородотранспортной системе организма. Действительно, значительная по величине гипобарическая гипоксия, являющаяся одним из неблагоприятных факторов зимовки на станции «Восток», закономерно должна была привести в процессе адаптации к ней к повышению уровня трансферрина и стимуляции эритропоэза.

Пропердин

Пропердин – белок глобулиновых фракций β и γ участвует в альтернативном пути активации комплемента. Пропердиновая система обладает антибактериальным действием в отношении многих патогенных и условно патогенных микроорганизмов, инактивирует вирусы герпеса и гриппа.

Содержание пропердина в крови в определенной мере отражает состояние неспецифической резистентности организма.

Следует отметить, что содержание пропердина в крови большинства полярников на всех этапах исследований находилось на нижней границе нормы. Динамика этого показателя у обследуемых обеих групп представлена на рис. 3. Обращает внимание тенденция, на грани достоверности, к повышению содержания пропердина в экспериментальной группе, тем более что в некоторые периоды исследований (I, II, IV) содержание пропердина в крови достоверно различалось между группами. Однако связать это различие с приемом фармакологических препаратов невозможно, так как даже в I обследовании, проведенном до начала фармакокоррекции, содержание пропердина в крови обследуемых экспериментальной группы было достоверно выше, чем у контрольной группы. Скорее всего, это отражение индивидуальных особенностей лиц, попавших в разные группы обследуемых.

Анализ результатов исследований общего содержания белка и основных белковых фракций крови свидетельствует о том, что при годовом пребывании человека в условиях комплексного воздействия на организм гипобарической гипоксии, гипокинезии и изоляции значения исследуемых параметров не выходили за пределы нормальных величин, хотя по таким параметрам, как γ -глобулины и β -глобулины, с 4-го месяца зимовки (II исследование) наблюдали статистически достоверные колебания уровней их содержания в основном в сторону увеличения. Аналогичные данные были получены в эксперименте с 370-суточным пребыванием обследуемых в условиях антиортостатической гипокинезии – эксперимент АНОГ [7]. В этом эксперименте не обнаружили

статистически достоверных изменений у обследуемых и по содержанию иммуноглобулинов [8].

Все эти данные свидетельствуют о достаточно высоком уровне резервных возможностей организма, в частности, о его неспецифической гуморальной резистентности в экстремальных условиях. Действительно, в условиях годовой зимовки на станции «Восток» и в 370-суточном эксперименте АНОГ не было отмечено ни инфекционных, ни каких-либо клинически значимых заболеваний. Не исключено, что в эксперименте с АНОГ фактором, поддерживающим неспецифическую резистентность, явилась физическая нагрузка, причем в группе с более интенсивной физической нагрузкой уровень резистентности был выше [8]. Можно предположить, что в условиях зимовки на станции «Восток» в основе механизмов, поддерживающих неспецифическую резистентность и иммунореактивность организма, лежали реакции, индуцируемые гипобарической гипоксией.

Известно, что хроническая гипобарическая гипоксия приводит к ряду реакций физиологической адаптации для поддержания гомеостаза O_2 , в их числе к метаболическому перепрограммированию клеток [9]. Реорганизация метаболического механизма, с преимущественным использованием глюкозы в качестве основного энергетического субстрата, необходима для снижения потребления кислорода и поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза при длительном дефиците кислорода. Многие физиологические реакции при длительно действующей хронической гипоксии опосредуются на уровне транскрипции, стимулируя множественные эффекты на клеточном и системном уровнях [10].

Изменения функций основных физиологических систем в условиях гипоксии отражаются и в многократно описанных биохимических признаках – отклонениях в концентрации гемоглобина [11, 12], лактата и свободных жирных кислот крови [13].

Модуляция гипоксией функций иммунокомпетентных клеток в их естественных нишах подтверждена рядом работ [14, 15]. На французско-итальянской антарктической станции «Конкордия», расположенной на высоте 3233 м, изучали реакции иммуномодуляции в организме человека в условиях гипобарической гипоксии. Выполненные *ex vivo* тесты на рецепторозависимые и рецепторнезависимые функциональные врожденные и адаптивные иммунные ответы свидетельствовали о динамической иммунной активации и реализации 2-этапной схемы эскалации/активации. Ранняя фаза характеризовалась умеренно сенсibilizированными глобальными иммунными реакциями, в то время как через 3–4 мес зимовки на станции «Конкордия» иммунные реакции были резко повышены. Эти функциональные наблюдения были

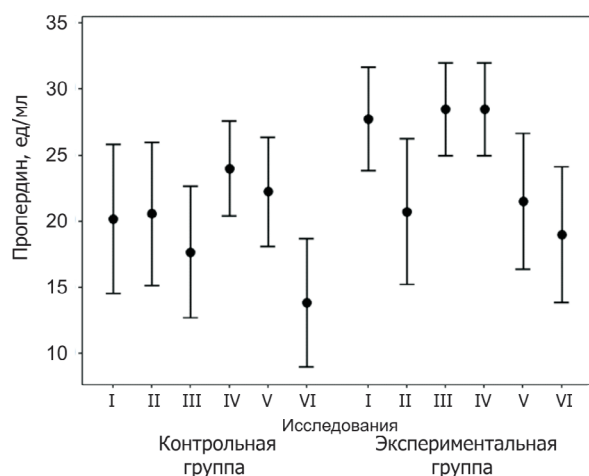


Рис. 3. Динамика изменений содержания пропердина у обследуемых контрольной и экспериментальной групп во время зимовки на станции «Восток»

отражены на уровне транскрипции генов, в частности, путем модуляции гипоксией индуцируемых путей. Следовательно, механизм адаптации иммунной системы в этих условиях был эпигенетическим [16, 17]. Эти данные находятся в согласии с нашими результатами исследований, свидетельствуя о некотором стимулирующем влиянии гипобарической гипоксии на состояние гуморальных факторов неспецифической резистентности организма.

Выводы

1. Регуляторные системы организма обеспечили поддержание нормальных физиологических уровней белка и основных белковых фракций крови на всем протяжении годового пребывания человека в условиях гипобарической гипоксии, гипокинезии и изоляции.

2. Начиная с 4-го месяца зимовки произошло статистически достоверное увеличение содержания γ - и β -глобулинов крови (в пределах нормативных величин), сохранившееся вплоть до 2-го месяца периода реадаптации.

3. Высказано предположение о положительном влиянии гипобарической гипоксии на гуморальные факторы неспецифической резистентности организма в условиях длительного ограничения двигательной активности и изоляции.

4. Не выявлено статистически значимых различий в результатах исследований между контрольной и экспериментальной группами обследуемых. Витаминно-аминокислотный комплекс препаратов, принимаемых с целью профилактики и коррекции психофизиологического статуса полярников, не оказал какого-либо значимого влияния на содержание общего белка и основных белковых фракций крови во время зимовки на станции «Восток».

Работа выполнена по программе фундаментальных исследований РАН. Тема 64.1 РАН.

Список литературы

1. Ильин Е.А. Годовое пребывание на станции «Восток» в Антарктиде как аналог длительного космического полета // Космическая медицина и биология. 2013. С. 517–535.

Ilyin E.A. Annual stay at Antarctic «Vostok» station as an analogous of long duration space flight // Space medicine and biology. 2013. С. 517–535.

2. Ильин Е.А. Психологический статус полярников и его фармакокоррекция в условиях годовой изоляции на станции «Восток» в Антарктиде // Авиакосм. и экол. мед. 2017. Т. 51. № 4. С. 5–11.

Ilyin E.A. Psychological status of polar explorers and its pharmacocorrection in conditions of annual isolation

at «Vostok» station in Antarctica // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2017. V. 51. № 4. P. 5–11.

3. Anderson G.J., Frazer D.M. Hepatic iron metabolism // Semin. Liver Dis. 2005. V. 25. № 4. P. 420–432.

4. Ramadori G., Christ B. Cytokines and the hepatic acute-phase response // Ibid. 1999. V. 19. P. 141–155.

5. Sheikh J., Weller P.F. Clinical overview of hyper-eosinophilic syndromes // Immunol. Allergy Clin. North Am. 2007. V. 27. № 3. P. 333–355.

6. Camaschella C. Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders // Blood. 2005. V. 106. № 12. P. 3710–3717. Review.

7. Маркин А.А., Журавлева О.А., Попова И.А. и др. Обмен веществ // Годичная антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) – физиологическая модель межпланетного космического полета. 2018. Ч. 2. С. 120–166.

Markin A.A., Zhuravleva O.A., Popova I.A. et al. Metabolism // One-year head-down bed rest is a physiological model of interplanetary space flight. 2018. Pt. 2. P. 120–126.

8. Рыкова М.П., Антропова Е.Н. Иммунологические исследования // Там же. Ч. 3. С. 234–250.

Rykova M.P., Antropova E.N. Immunological studies // Ibid. Pt. 3. P. 234–250.

9. Prabhakar N.R., Semenza G.L. Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2 // Physiol. Rev. 2012. V. 92. P. 967–1003.

10. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // Cell. 2012. V. 148. P. 399–408.

11. Yi X., Liang Y., Huerta-Sanchez E. et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude // Science. 2010. V. 329. P. 75–78.

12. Beall C.M., Cavalleri G.L., Deng L. et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2 α) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 11459–11464.

13. Udpa N., Ronen R., Zhou D. et al. Whole genome sequencing of Ethiopian highlanders reveals conserved hypoxia tolerance genes // Genome Biol. 2014. V. 15. P. R36.

14. Taylor C.T., Doherty G., Fallon P.G., Cummins E.P. Hypoxia-dependent regulation of inflammatory pathways in immune cells // J. Clin. Invest. 2016. V. 126. № 10. P. 3716–3724.

15. Ooi B.K., Goh B.H., Yap W.H. Oxidative stress in cardiovascular diseases: involvement of Nrf2 antioxidant redox signaling in macrophage foam cells formation // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 11. P. E2336.

16. Feurecker M., Crucian B., Salam A.P. et al. Early adaption to the Antarctic environment at dome C: consequences on stress-sensitive innate immune functions // High Alt. Med. Biol. 2014. V. 15. № 3. P. 341–348.

17. Feurecker M., Crucian B.E., Quintens R. et al. Immune sensitization during 1 year in the Antarctic high-altitude Concordia Environment // Allergy. 2019. V. 74. № 1. P. 64–77.

Поступила 03.07.2019

LEVELS OF PROTEIN AND MAIN PROTEIN FRACTIONS IN HUMAN BLOOD DURING A YEAR-LONG EXPOSURE TO HYPOBARIC HYPOXIA, HYPOKINESIA AND ISOLATION

Ilyin E.A., Larina I.M., Nosovsky A.M.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences

Venous blood samples were collected for biochemical analyses from 16 members of a year-long expedition to scientific station Vostok in Antarctica. The physiologically important factors were hypobaric hypoxia ($p = 460$ mm Hg) in the station location (Central ice dome), hypokinesia due to the indoor life, physical and social isolation from the outer world.

The participants were divided into 2 groups: one was experimental, i.e. periodically consumed vitamins and amino

acids preparations to prevent asthenia, and the other – control that received placebo.

Biochemical investigations revealed undulating blood levels of protein and main protein fractions within the physiological norm. Starting from month 4 of the expedition, concentrations of γ - and β -globulins showed a statistical increase. The fact that this increase persisted 2 months after the expedition points to sufficient body reserves in its members. There was not difference in concentrations between the experimental and control groups.

It was speculated that hypobaric hypoxia had a positive role in maintaining non-specific body resistance in the year-long period of life in isolation and hypokinesia.

Key words: total protein, albumin, globulins, chronic hypoxia, hypokinesia, isolation.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 26–32.

УДК 629.786+612.11

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕРЕНОСА КИСЛОРОДА ГЕМОГЛОБИНОМ У ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ

Иванова С.М.¹, Лабецкая О.И.¹, Анисимов Н.¹, Максимов Г.В.²

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

²Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

E-mail: andre_markine@mail.ru

В эксперименте с участием здоровых мужчин-добровольцев, пребывающих в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии, определяли количество клеток красной крови, метаболические показатели, характеризующие энергообrazующие и восстановительные процессы в эритроцитах, а также эффективность связывания и сброса кислорода гемоглобином. Исследование проводили до эксперимента, на 7-е, 21-е сутки иммерсии и в период восстановления – на 7-е сутки после иммерсии.

При воздействии «сухой» иммерсии у обследуемых наблюдали достоверное повышение эритроцитов, обусловленное феноменом гемоконцентрации в ранние сроки иммерсионного ограничения подвижности. Исследование метаболических процессов в эритроцитах показало достоверное снижение уровня АТФ, возможно связанное с увеличением его расхода на мембранном уровне для поддержания процессов энергозависимого транспорта и фосфорилирования белков и липидов. При проведении «сухой» иммерсии отмечена тенденция к снижению оксигемоглобина и повышению сродства гемоглобина к кислороду, что может свидетельствовать о возможном риске развития гипоксии.

На 7-е сутки после иммерсии все показатели соответствовали нормальным величинам.

Ключевые слова: «сухая» иммерсия, испыталители-добровольцы, аденозинтрифосфорная кислота, восстановленный глутатион, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, гемоглобин, сродство гемоглобина к кислороду.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 33–37.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-33-37

В настоящее время установлено, что длительные (до 200 сут) космические полеты (КП) вызывают изменения морфологических и структурно-функциональных свойств эритроцитов, что приводит к сдвигам в состоянии плазматической мембраны (увеличение ее вязкости и селективной проницаемости) [1]. У космонавтов, совершивших длительные КП наблюдали изменения гемопротеидов гемоглобина и повышение сродства гемоглобина к кислороду,

что является показателем риска развития гипоксического состояния [2]. Ранее была выявлена зависимость между состоянием клеточной мембраны и эффективностью переноса кислорода гемоглобином, что в значительной мере может определять механизмы формирования клеточной гипоксии у человека [3].

В основном данные о влиянии реальной невесомости на организм были получены при обследовании космонавтов после завершения длительных КП. В то же время имеющаяся информация о раннем воздействии невесомости (начиная с 1-х суток) на показатели красной крови человека недостаточна и не позволяет делать заключений о механизмах адаптации системы красной крови к условиям КП [1].

В связи с этим существенное значение приобретают наземные эксперименты, моделирующие факторы КП. Для моделирования влияния действия невесомости на Земле в качестве модели физиологических эффектов невесомости признанным методом является «сухая» иммерсия, воспроизводящая в организме человека сердечно-сосудистые, двигательные и другие изменения, обусловленные невесомостью в КП [4]. Метод состоит в погружении испытуемого в иммерсионную ванну с водой, при этом тело от воды отделяет водонепроницаемая тонкая ткань, площадью существенно превышающая зеркало воды [5].

Ранее проведенные исследования по влиянию условий 5- и 7-суточной «сухой» иммерсии на показатели метаболизма и функциональное состояние эритроцитов человека выявили на 1-е сутки после завершения экспериментов повышение количества клеток красной крови (эритроцитов, гемоглобина и величины гематокрита), снижение уровня АТФ и восстановленного глутатиона, а также изменение структурного состояния мембраны эритроцитов [6, 7]. Последнее выражалось в снижении фракции фосфолипидов при неизменном содержании холестерина, увеличении содержания неэстерифицированных жирных кислот и триглицеридов. Полученное увеличение отношения ХС/ФЛ является

показателем изменения фазового состояния мембраны – увеличением ее микровязкости. Следует отметить, что в данных экспериментах наибольшие изменения изучаемых показателей были получены при действии моделируемой невесомости в течение 5 сут.

Исследование эффективности кислородотранспортной функции гемоглобина, проведенное в этом же эксперименте по исследованию влияния 7-суточной «сухой» иммерсии показало, что раннее воздействие моделированной невесомости приводит к снижению содержания оксигемоглобина в крови человека в 1-е сутки после завершения эксперимента, а способность к десорбции кислорода остается пониженной в течение 1-й недели реадaptации, что может свидетельствовать о некотором риске развития тканевой гипоксии у обследуемых. На 13-е сутки периода реадaptации все изучаемые показатели не отличались от фоновых величин [7].

Цель исследования – изучение влияния «сухой» иммерсии в течение 21 сут на количество клеток красной крови, биохимические и функциональные свойства эритроцитов человека, пребывающего в условиях в «сухой» иммерсии и последующего восстановления организма к обычным условиям.

Задачи данного эксперимента:

- изучение количества эритроцитов, содержания гемоглобина и величины гематокрита;
- исследование показателей метаболизма эритроцитов – содержание АТФ и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), характеризующих энергетический обмен в клетке;
- уровень восстановленного глутатиона и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД), ответственных за окислительно-восстановительные процессы в эритроцитах;
- изучение изменений конформации гемопорфиринов гемоглобина и эффективность переноса кислорода гемоглобином.

Методика

В эксперименте участвовали здоровые мужчины-добровольцы (6 человек) в возрасте от 20 до 35 лет, прошедшие медицинское обследование. Для моделирования воздействия факторов микрогравитации на организм человека добровольцев погружали в ванну с водой, при этом тело было отгорожено от жидкости пленкой.

Исследование изучаемых показателей проводили в эритроцитах, выделенных из венозной крови, взятой у обследуемых до начала эксперимента, на 7-е, 21-е сутки в условиях «сухой» иммерсии и на 7-е сутки периода реадaptации.

Количество клеток красной крови определяли на гематологическом счетчике Celltac фирмы Nihon Kohden (Япония).

Показатели метаболизма эритроцитов изучали энзимоспектрофотометрическими методами [8].

Конформацию гемоглобина исследовали с помощью резонансной спектроскопии комбинационного рассеяния [9].

Результаты исследования были обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Условия «сухой» иммерсии привели к достоверному увеличению количества эритроцитов, тенденции к повышению содержания гемоглобина и величины гематокрита на 7-е и 21-е сутки эксперимента (табл. 1). Как и в случае с исследованиями, проведенными ранее в экспериментах с 5- и 7-суточной «сухой» иммерсией [6, 7], обнаруженные изменения свидетельствуют о наличии гемоконцентрации, характерной для ранней адаптации организма к условиям реальной и моделируемой невесомости и связанной со снижением уровня общей воды тела и объема внеклеточной жидкости [10]. На 7-е сутки реадaptационного периода было отмечено достоверное снижение количества эритроцитов, при этом остальные показатели соответствовали фоновым значениям.

Фазные изменения показателей красной крови были обнаружены и в условиях реальной невесомости у космонавтов, совершивших длительные КП. В этих КП гематологические исследования, проводимые врачом-космонавтом В.В. Поляковым в течение почти 15-месячного КП, выявили увеличение величины гематокрита на 3–6-е сутки полета и последующее снижение этого показателя на 16-е сутки КП, а также количества эритроцитов и концентрации гемоглобина, начиная с 30–50-х суток КП [1]. Механизмами развития эритроцитопенического синдрома невесомости, наряду со снижением интенсивности эритропоэза, могут рассматриваться обнаруженные изменения показателей метаболизма эритроцитов и дестабилизация клеточной мембраны, выявленные в условиях КП и сразу после завершения и приводящие к возможному появлению популяции эритроцитов с укороченным сроком жизни, подлежащие преждевременной элиминации. Не исключается также влияние искусственного состава атмосферы, режима использования профилактических средств, стрессогенные ситуации [11].

Результаты исследований уровня АТФ в эритроцитах обследуемых представлены в табл. 2. Из данных таблицы следует, что в условиях эксперимента происходило статистически достоверное уменьшение содержания АТФ, более выраженное на 7-е сутки «сухой» иммерсии. На 7-е сутки восстановительного периода уровень АТФ соответствовал фоновым значениям.

Таблица 1

Показатели красной крови в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии и в период восстановления

Показатели	Фон	Сроки «сухой» иммерсии (сутки)		Сутки восстановления
		7-е	21-е	7-е
Эритроциты, 10 ⁶ /mL	5,02 ± 0,14	5,66 ± 0,23*	5,46 ± 0,11*	4,62 ± 0,09*
Гемоглобин, g/dL	143 ± 6	162 ± 12	153 ± 7	135 ± 12
Гематокрит, %	41,4 ± 1,3	45,7 ± 2,2	44,7 ± 1,5	38,4 ± 1,3

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – p < 0,05.

Таблица 2

Показатели энергообразующей и окислительно-восстановительной системы в эритроцитах в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии и в период восстановления

Показатели (мкМоль/г Нв)	Фон	Сроки «сухой» иммерсии (сутки)		Сутки восстановления
		7-е	21-е	7-е
АТФ	4,04 ± 0,09	3,48 ± 0,13*	3,81 ± 0,06*	3,96 ± 0,06
ЛДГ	43,19 ± 0,48	42,93 ± 1,16	44,12 ± 0,54	43,30 ± 0,95
Г-6-ФД	5,27 ± 0,28	4,28 ± 0,33	4,05 ± 0,26*	4,09 ± 0,16*
Восстановленный глутатион	7,70 ± 0,39	7,38 ± 0,39	7,07 ± 0,32	7,45 ± 0,37

При исследовании активности гликолитического фермента ЛДГ (см. табл. 2) не было получено достоверных изменений, что может свидетельствовать о неизменности интенсивности гликолиза и о возможном повышенном расходе АТФ на мембранном уровне для процессов энергозависимого транспорта, связанных с работой Na⁺, K⁺ и Ca⁺⁺-АТФаз и для фосфорилирования белков и липидов.

При изучении показателей окислительно-восстановительной системы в эритроцитах было обнаружено некоторое снижение содержания восстановленного глутатиона на 21-е сутки «сухой» иммерсии, которое обусловлено существенным и достоверным уменьшением активности фермента Г-6-ФДГ. На 7-е сутки реадaptации значения данных показателей находились в пределах нормальных величин (см. табл. 2).

Известно, что восстановленный глутатион является ингибитором активных форм кислорода, нормализует окислительно-восстановительные процессы и стабилизирует клеточные мембраны [12]. Уменьшение его содержания создает условия для окисления SH-групп гемоглобина, что резко нарушает его кислородотранспортную функцию. Снижение концентрации глутатиона ослабляет устойчивость организма к гипоксии как за счет инактивации ферментов пентозомонофосфатного цикла, так и за счет ингибирования тиоферментов тканевого

дыхания. Из-за дефицита восстановленного глутатиона нарушается механизм переноса электронов в рамках тканевого дыхания, при этом уменьшается утилизация кислорода тканями, что усугубляет метаболические нарушения в клетках.

В настоящее время доказана роль физико-химических свойств плазматической мембраны в регуляции эффективности переноса гемоглобина кислородом и развития клеточной гипоксии при сердечно-сосудистой патологии [13].

Ранее было показано, что воздействие 7-суточной «сухой» иммерсии приводит к достоверным изменениям показателей, характеризующих кислородотранспортную функцию эритроцитов, обусловленную изменениями фосфолипидных фракций, указывающих на дестабилизацию внешнего слоя плазматической мембраны [8].

В данном эксперименте исследование эффективности транспорта кислорода по показателям содержания оксигемоглобина в крови и сродства гемоглобина к кислороду из-за значительного разброса индивидуальных данных не выявило достоверных изменений изучаемых показателей (рис. 1, 2). Возможно, это связано с индивидуальным воздействием условий эксперимента на добровольцев. В то же время была отмечена тенденция к снижению оксигемоглобина на 21-е сутки «сухой» иммерсии, при этом сродство гемоглобина к кислороду было

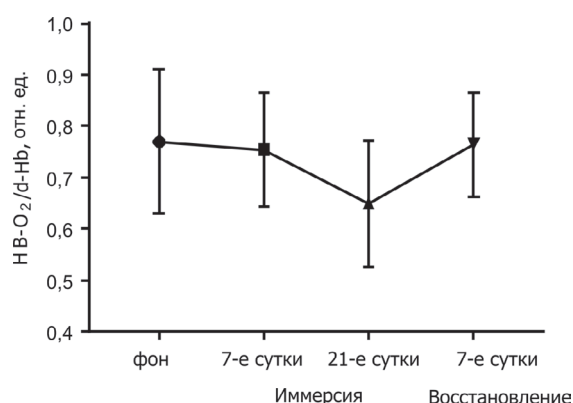


Рис. 1. Относительное содержание оксигемоглобина в условиях 21-суточной иммерсии и в период восстановления

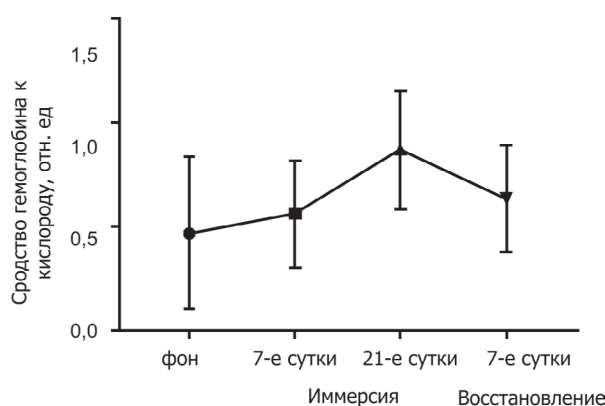


Рис. 2. Сродство гемоглобина к кислороду в условиях 21-суточной иммерсии и в период восстановления

повышено как в условиях эксперимента (21-е сутки), так и в период восстановления. На основании этих данных можно сделать предположение о возможном риске развития тканевой гипоксии.

Выводы

1. При воздействии условий 21-суточной «сухой» иммерсии у обследуемых обнаружены достоверные изменения количественного состава красной крови и показателей метаболизма эритроцитов. Аналогичные по своей направленности изменения были выявлены у космонавтов на 3–6-е сутки КП, что может указывать на адекватность используемой методики, имитирующей состояние реальной невесомости.

2. Выявленные сдвиги в красной крови не имеют серьезной клинической направленности, но входят в комплекс адаптивных реакций, о чем свидетельствует нормализация, а также тенденция к ней практически всех исследованных показателей, и отражают процессы адаптации организма как к

условиям моделированной невесомости, так и последующей реадaptации к обычным условиям.

Список литературы

1. Браже Н.А., Байжуманов А.А., Паршина Е.Ю. и др. Исследование состояния антиоксидантной системы крови и кислородтранспортных свойств эритроцитов человека в условиях 105-суточной изоляции // *Авиакосм. и экол. мед.* 2011. Т. 45. № 1. С. 40–45.
2. Brazhe N.A., Baizhumanov A.A., Parshina E.Yu. et al. Study of the antioxidant system of blood and oxygen transport properties of human erythrocytes in conditions of 105-day isolation // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2011. V. 45. № 1. P. 40–45.
3. Grigoriev A.I., Maksimov G.V., Morukov B.V. et al. Investigation of erythrocyte shape, plasma membrane fluidity and conformation of hemoglobin hemoporphyrin under the influence of long-term space flight // *J. of Gravit. Physiol.* 2004. V. 11. № 2. P. 79–80.
4. Morukov B.V., Ivanova S.M., Yarlikova Yu.V. et al. Physicalchemical properties of plasma membrane and function of erythrocytes of cosmonauts after long-term space flight // *Acta Astronaut.* 2011. V. 68. № 9–10. P. 1517–1522.
5. Шульженко Е.Б., Виль-Вильямс И.Ф. Имитация детренированности организма методом «сухого» погружения // *Труды чтений К.Э. Циолковского. М., 1975. С. 39–47.*
6. Shulzhenko E.B., Wil-Williams I.F. Imitation of body detraining by «dry» immersion // *Proc. of K.E. Tsiolkovsky readings. Moscow, 1975. P. 39–47.*
7. Томиловская Е.С. Эксперимент с 5-суточной иммерсией: задачи, объем, структура исследований, особенности методических подходов // *Авиакосм. и экол. мед.* 2011. Т. 45. № 6. С. 3–7.
8. Tomilovskaya E.S. Experiment with 5-day immersion: problems, volume, structure of studies, features of methodological approaches // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2011. V. 45. № 6. P. 3–7.
9. Иванова С.М., Моруков Б.В., Лабетская О.И., Ярлыкова Ю.В. Морфофункциональные свойства клеток красной крови у человека в условиях 5-суточной иммерсии // *Там же.* С. 49–51.
10. Ivanova S.M., Morukov B.V., Labetskaya O.I., Yarlykova Yu.V. Morphological and functional properties of red blood cells in humans in a 5-day immersion // *Ibid.* P. 49–51.
11. Иванова С.М., Моруков Б.В., Максимов Г.В. и др. Исследование морфофункциональных свойств клеток красной крови у человека в условиях 7-суточной сухой иммерсии // *Там же.* 2009. Т. 43. № 1. С. 43–47.
12. Ivanova S.M., Morukov B.V., Maximov G.V. et al. Study of morphofunctional properties of red blood cells in humans under 7-day dry immersion // *Ibid.* 2011. V. 43. № 1. P. 43–47.
13. Beutler M.D. Red cell metabolism // *A Manual of Biochemical Methods.* London, 1971. P. 11–45, 96–100.

9. Максимов Г.В., Максимова Н.В., Чурин А.А. и др. Исследование изменений конформации порфирина гемоглобина при первичной гипертензии // Биохимия. 2000. Т. 66. Вып. 3. С. 365–370.

Maximov G.V., Maksimova N.V., Churin A.A. et al. Investigation of changes in the conformation of porphyrin hemoglobin in primary hypertension // Biokhimiya. 2000. V. 66. Suppl. 3. P. 365–370.

10. Григорьев А.И., Егоров А.Д. Феноменология и механизмы изменений основных функций организма в невесомости // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1988. Т. 22. № 6. С. 4–17.

Grigoriev A.I., Egorov A.D. Phenomenology and mechanisms of changes in basic body functions in zero gravity // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1988. V. 22. № 6. P. 4–17.

11. Tavassoli M. Anemia of space flight // Blood. 1982. V. 60. № 5. P. 1059–1067.

12. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.П. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи медицинской химии. 1985. Т. 54 (9). С. 1540–1558.

Burlakova E.B., Khrapova N.P. Membrane lipid peroxidation and natural antioxidants // Uspekhi meditsinskoy khimii. 1985. V. 54. № 9. P. 1540–1558.

13. Luneva O.G., Brazhe N.A., Maksimova N.V. et al. Ion transport, membrane fluidity and haemoglobin conformation in erythrocyte from patients with cardiovascular diseases: role of augmented plasma cholesterol // Pathophysiol. 2007. № 14. P. 41–46.

MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF ERHYTHROCYTES AND EFFECTIVENESS OF OXYGEN TRANSFER BY HEMOGLOBIN IN HUMAN SUBJECTS DURING 21-DAY DRY IMMERSION

Ivanova S.M.¹, Labetskaya O.I.¹, Anisimov N.¹, Maksimov G.V.²

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

²Lomonosov Moscow State University

Red blood cells count, energy metabolism, erythrocytes recovery, as well as oxygen binding and release by hemoglobin were investigated in blood of healthy male subjects at the beginning and end of an experiment with 21-day dry immersion.

Concentration of erythrocytes rose significantly in consequence of hemoconcentration in the early period of locomotion restraint. A considerable ATP reduction might be connected with its elevated expenditure on the energy-demanding transport and phosphorylation of proteins and lipids. The downward trend in oxyhemoglobin and the upward trend in hemoglobin affinity for oxygen during immersion can imply a risk of hypoxia development. All indices returned to normal values by day 7 of post-immersion recovery.

Key words: dry immersion, human subjects, adenosine triphosphate acid, reduced glutathione, glucose-6-phosphate dehydrogenase activity, hemoglobin, hemoglobin affinity for oxygen.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 33–37.

Поступила 06.06.2019

УДК 612.115

СВЯЗЬ ХАРАКТЕРА ПОДКОЖНЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ С ИЗМЕНЕНИЯМИ СИСТЕМЫ ПЛАЗМЕННОГО ГЕМОСТАЗА У КОСМОНАВТОВ

Кузичкин Д.С., Маркин А.А., Журавлева О.А., Колотева М.И., Вострикова Л.В.,
Глебова Т.М., Логинов В.И.

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

E-mail: andre_markine@mail.ru

В цитратной плазме космонавтов за 30 сут до старта, а также на 1-е и 7-е сутки послеполетного периода определяли концентрацию фибриногена (ФБГ), пламиногена и Д-димера (ДД); тромбиновое время (ТВ), активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), международное нормализованное отношение; концентрации антитромбина III (АТIII), протеина С (ПС) и α -2-антиплазмина (АП).

При визуальном осмотре космонавтов после завершения длительных космических экспедиций у многих из них были выявлены петехиальные кровоизлияния и подкожные экхимозы. Их появление ожидаемо приводило к повышению уровня фибринообразования и фибринолиза, причем повышение прокоагулянтного потенциала коагуляционного каскада отмечалось независимо от наличия подкожных кровоизлияний. Согласно результатам данного исследования, адаптивные возможности системы гемостаза космонавтов, у которых после спуска с орбиты кровоизлияния не наблюдались, были выше, что, по-видимому, способствовало снижению риска возникновения значительных кровоизлияний.

Ключевые слова: авиакосмическая медицина, гемостаз, космонавты, петехии, экхимозы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 38–41.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-38-41

Одним из факторов космического полета являются перегрузки при выведении космического аппарата на орбиту и спуска с нее. Воздействия перегрузок на организм человека могут проявляться в повышении проницаемости сосудистых стенок, что, наряду с нарушением гемодинамики, приводит к расстройству процессов обмена веществ между кровью и тканями. Избыточный гемодинамический стресс, наблюдаемый при перегрузках, может вызывать повреждение эндотелиальных клеток, вплоть до их отслоения, происходят морфологические и функциональные изменения, которые вызывают значительное увеличение проницаемости сосудов, способствуют интраваскулярной агрегации тромбоцитов и накоплению липидов в стенке сосуда [1].

К острым сосудистым нарушениям относятся случаи капиллярного и венозного полнокровия, переходящие иногда в состояние стаза с растяжением сосудистых стенок со спазмом артерий и разрывами мелких тонкостенных сосудов типа капилляров и вен со слабо развитой мышечной оболочкой. У космонавтов в послеполетном периоде такие изменения сопровождаются образованием петехий и экхимозов с разной степенью выраженности [2]. В аналоговом эксперименте с 7-суточной «сухой» иммерсией наблюдали увеличение в крови количества циркулирующих эндотелиальных частиц со значительным снижением уровня васкулоэндотелиального фактора роста, что отражает развитие микрососудистых нарушений и эндотелиальной дисфункции в условиях гиподинамии [3].

Основную роль в процессе предотвращения и устранения кровотечений играет система гемостаза, большое значение имеет согласованное функционирование ее компонентов в механизме заживления ран [4]. К настоящему времени установлено, что факторы космического полета оказывают существенное влияние на коагуляционный баланс и систему гемостаза в целом. После кратковременных (до 15 сут) космических полетов увеличивается концентрация фибриногена [5], а после длительных (более 90 сут) наблюдается ускорение процесса свертывания по внутреннему механизму [6]. Установлено, что космические полеты сопровождаются эндотелиальной дисфункцией *in vivo* [7] и снижением уровня васкулоэндотелиального фактора роста [8]. В условиях гипергравитации повышается скорость агрегации тромбоцитов и адгезии фактора Виллебранда [9]. Данные изменения, как правило, соответствуют повышению прокоагулянтного потенциала, что в условиях многократного и длительного воздействия факторов космического полета может привести к истощению компенсаторных возможностей системы гемостаза.

В 2017 г. был зарегистрирован патент РФ (№ 2624860 от 07.07.2017) в котором показано, что космонавты, допущенные к полетам,

характеризуются повышенным, относительно российской популяции в целом, содержанием в гено- типе активных рибосомных генов, определяющих адаптивные способности организма. Было установ- лено, что космонавты, являясь особой профессио- нальной группой, имеют суженный референтный диапазон показателей гемостаза относительно среднепопуляционного. Верхняя граница рефе- рентного диапазона космонавтов по 3 показателям (АЧТВ, антитромбин III, протеин С) существенно превышает верхнюю границу среднепопуляцион- ного интервала, указывая на снижение тромбогенного и повышение антикоагулянтного потенциала систе- мы гемостаза [10].

Цель данной работы – оценка потенциальных возможностей системы плазменного гемостаза в процессе предотвращения и устранения кровоте- чений, наблюдающихся у космонавтов после завер- шения космических экспедиций.

Методика

В исследовании принимали участие 27 космо- навтов мужского пола в возрасте от 37 до 60 лет. Взятие венозной крови осуществлялось в соответ- ствии с экспертной программой клинко-физио- логического обследования экипажей за 30 сут до старта, на 1-е и 7-е сутки послеполетного периода. Выборку космонавтов разделили на 3 группы по характеру наблюдаемых после полета подкожных кровоизлияний (1-я группа – без видимых кро- воизлияний; во 2-й группе наблюдались петехи- альные кровоизлияния; в 3-й группе отмечались подкожные экхимозы различной локализации). В цитратной плазме космонавтов клоттинговыми, иммунологическими и хромогенными методами на автоматическом коагулометре Sysmex CA-1500 определяли концентрацию фибриногена (ФБГ), плазминогена и Д-димера (ДД); тромбиновое вре- мя (ТВ), активированное парциальное тромбопла- стинное время (АПТВ), протромбиновое время (международное нормализованное отношение); концентрации антитромбина III (АТIII), протеи- на С (ПС) и α-2-антиплазмина (АП). Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows (США). Выявление межгрупповых различий проводилось с помощью U-критерия Манна – Уитни; оценка динамики в ходе до- и послеполетных обследований внутри групп выполнялась с использованием критерия Уилкоксона [11].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований представлены в таблице.

Таблица

Показатели плазменного гемостаза у космонавтов с различным характером петехий и экхимозов после орбитального полета

Показатели	Референтные значения	1-я группа			2-я группа			3-я группа		
		Фон	+1-е сутки	+7-е сутки	Фон	+1-е сутки	+7-е сутки	Фон	+1-е сутки	+7-е сутки
АПТВ, с	32,9–47,9	39,5(35,7–44,5)	33,3(30,4–36,35)*	36,1(33,3–38,1)*	36,6(35,5–39,7)	32,2(30,2–34,3)*	33,6(32,4–39,9)*	40,6(35–42,8)	34,1(30,1–36,3)*	34,3(32,8–37,3)*
МНО, ед	0,960–1,13	1,025(0,975–1,12)	1,04(1,04–1,09)	1,03(0,955–1,05)	1,04(1,01–1,07)	1,05(1,02–1,07)	1,03(1–1,11)	1,04(1,02–1,13)	1,06(1–1,11)	1,05(0,957–1,09)
ТВ, с	17,5–20	18,5(17,8–19,3)	18,4(17,9–18,6)	18,5(17,5–20,2)	18,9(18,4–19,7)	18,4(17,8–18,7)*	18,4(17,6–18,9)	19,4(18,8–19,8)	19,4(17,9–19,7)*	18,9(17,9–19,7)
Фибриноген, г/л	1,90–2,63	2,17(2,1–2,45)	2,37(2,2–2,53)	2,2(2,04–2,27)	2,05(1,97–2,17)	2,1(2,08–2,21)#	1,99(1,91–2,17)	2,05(1,97–2,27)	2,09(2,01–2,21)\$	2,15(1,99–2,23)
Д-димер, мкг/л	0–550	125(83,2–154)	133(89–183)	108(46,6–152)	209(75,2–239)	190(116–218)	123(64–209)	118(99–182)	150(109–215)	200(137–363)\$
ФБА, с	310–504	325(317–358)	359(318–393)	392(320–429)	356(320–420)	332(316–402)	332(318–393)	340(314–397)	360(335–396)	354(328–425)
Плазминоген, %	92,5–142	118(111–145)	111(101–128)	110(106–126)	114(104–125)	119(104–127)	110(92,2–122)	115(98,7–124)	106(94,9–116)	110(97,1–124)
Антиплазмин, %	91,0–123	115(111–120)	96,4(90,4–119)	108(99,2–109)*	105(91,8–115)#	104(97,8–111)	106(98,3–112)	105(97,5–113)\$	98,3(95,4–113)	97,75(92,225–108)
Антитромбин III, %	96,9–131	122(102–124)	119,5(113,5–127)	107(103–109)*	113(105–116)	123(105–125)	107(101–120)	112(101–118)	111(100–123)	109(96,6–120)
Протеин С, %	97,5–160	121(115–150)	133(123–145)	122(115–148)	121(114–147)	139(109–144)	129(102–139)	118(112–134)	126(115–140)	119(102–126)

Примечание. Ме (qr25–qr75); n = 9; * – различия с фоном (по Уилкоксоу), p < 0,05; # – различие между 1-й и 2-й группами (по Манну – Уитни, p < 0,05); \$ – различие между 1-й и 3-й группами (по Манну – Уитни, p < 0,05).

При сравнении 3 исследованных групп до полета выявлено различие активности АП между 1-й и 2-й (в 1-й группе выше на 9,5 %; $p = 0,032$), а также 1-й и 3-й группами (в 1-й группе выше на 10,0 %; $p = 0,006$). На 1-е сутки после полета обнаружено различие концентрации ФБГ в плазме между 1-й и 2-й (в 1-й группе выше на 11,4 %; $p = 0,0117$), а также 1-й и 3-й группами (в 1-й группе выше на 12,0 %; $p = 0,0018$). На 7-е сутки наблюдалось отличие плазменного уровня ДД между 1-й и 3-й группами (в 3-й группе выше на 85 %; $p = 0,033$).

При сравнении послеполетных значений исследуемых показателей и перед полетом у космонавтов во всех группах во все сроки периода восстановления обнаружено укорочение АПТВ (до 16,1 %; $p < 0,05$). При этом в 1-й группе на 7-е сутки после полета наблюдалось снижение концентрации АТIII на 12,3 % ($p = 0,0096$), уменьшение содержания АП на 6,1 % ($p = 0,026$). На 1-е сутки периода восстановления обнаружено умеренное (до 2,7 %) укорочение ТВ во 2-й ($p = 0,035$) и 3-й ($p = 0,028$) группах относительно уровня, наблюдаемого до полета. Статистически достоверных различий по остальным показателям между группами не выявлено.

В ходе исследований обнаружено, что во всех группах наблюдается сходная динамика изменений активированного парциального тромбопластинового времени: статистически значимое укорочение на 1-е сутки после полета с последующей тенденцией к возвращению значений этого показателя к дополетному уровню на 7-е сутки периода восстановления. Известно, что активация данного механизма приводит не к более быстрому образованию тромба, а скорее к повышению стабильности фибринового сгустка [12]. Данный эффект свидетельствует о том, что прокоагулянтный потенциал после полета повышается независимо от наличия и характера кровотечений.

Различия значений АП между группами до полета указывают на повышенный адаптивный потенциал в 1-й группе, так как при этом уменьшается фибринолитическая активность плазмина и увеличивает время на формирование и стабилизацию тромба, снижается вероятность повторных кровоизлияний, что особенно важно в условиях повышенного риска повреждения сосудов. АП обладает широкой специфичностью, подавляя активность не только плазмина, но и других протеаз, участвующих в свертывании крови: плазменного калликреина, тромбина, факторов Ха, XIa, XIIa [13]. Снижение уровня АП совместно со снижением АТIII относительно фона в 1-й группе на 7-е сутки после полета может указывать на повышение фибринолитического потенциала при относительно низком и стабильном уровне фибринообразования.

Однако на 1-е сутки после полета обнаружено различие концентрации фибриногена в плазме

между 1-й и 2-й, 1-й и 3-й группами. Наблюдаемый эффект, вероятно, указывает на потребление фибриногена вследствие усиления фибринообразования при нарушении проницаемости или целостности сосудистых стенок. Это подтверждается статистически значимым укорочением ТВ. Повышенный уровень ДД в 3-й группе указывает на усиление фибринообразования и фибринолиза, что соответствует характеру наблюдаемых в 3-й группе подкожных кровоизлияний.

Выводы

1. Нарушение целостности сосудов и появление подкожных кровоизлияний у космонавтов после полета ожидаемо сопровождалось повышением уровня фибринообразования и фибринолиза.
2. Прокоагулянтный потенциал плазменного звена системы гемостаза повышался независимо от наличия подкожных кровоизлияний.
3. Адаптивные возможности системы гемостаза космонавтов, у которых после спуска с орбиты кровоизлияния не наблюдались, были выше, что, по-видимому, способствовало снижению риска возникновения значительных кровоизлияний.
4. Полученные результаты указывают на необходимость мониторинга системы гемостаза не только на этапах отбора, подготовки к полету, но и в ходе космической экспедиции, так как своевременная диагностика и контролируемая терапия изменений позволит значительно повысить устойчивость организма к действию факторов космического полета и предотвратить их неблагоприятные эффекты.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0130-2014-0006, темы 65.1 (№ гос. регистрации 01201370667).

Список литературы

1. Федулова Г.А. Особенности системы гемостаза при воздействии факторов летного труда // Косм. биол. и авиакосм. мед. 1988. Т. 22. № 3. С. 15–21.
2. Fedulova G.A. Hemostasis system features under flight labor factors exposure // Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina. 1988. V. 22. № 3. P. 15–21.
3. Котовский Е.Ф., Шимкевич Л.Л. Функциональная морфология при экстремальных воздействиях. М., 1971.
4. Kotovsky E.F., Shimkevich L.L. Functional morphology under extreme conditions. Moscow, 1971.
5. Navasiolava N.M., Dignat-George F., Sabatier F. et al. Enforced physical inactivity increases endothelial microparticle levels in healthy volunteers // Am. J. of Physiol. Heart and Circ. Physiol. 2010. V. 299. № 2. P. 248–256.
6. Долгов В.В., Свирин П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М., 2005.

Dolgov V.V., Svirin P.V. Laboratory diagnosis of hemostatic disorders. Moscow, 2005.

5. Stein T.P., Schluter M.D. Plasma protein synthesis after spaceflight // *Aviat. Space and Environ. Med.* 2006. V. 77. № 7. P. 745–748.

6. Кузичкин Д.С., Маркин А.А., Моруков Б.В. Показатели системы гемостаза после длительных космических полетов // *Авиакосм. и экол. мед.* 2010. Т. 44. № 2. С. 68.

Kuzichkin D.S., Markin A.A., Morukov B.V. Hemostasis system indices after long-term space flights // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2010. V. 44. № 2. P. 68.

7. Rowe W.J. The Apollo-15 space syndrome // *Circulation*. 1998. V. 97. P. 119–120.

8. Gunsilius E., Petzer A.L., Gasti G. Space flight and growth factors // *Lancet*. 1999. V. 353. P. 1529.

9. Dai K., Wang Y., Yan R. et al. Effects of microgravity and hypergravity on platelet functions // *Thromb. Haemost.* 2009. V. 101. P. 902–910.

10. Кузичкин Д.С., Маркин А.А., Журавлева О.А. и др. Референтные значения показателей системы гемостаза у космонавтов // *Физиология человека*. 2017. Т. 43. № 1. С. 126–129.

Kuzichkin D.S., Markin A.A., Zhuravlyova O.A. et al. Reference values of indicators of the hemostasis system in cosmonauts // *Fiziologiya cheloveka*. 2017. V. 43. № 1. P. 126–129.

11. Реброва Р.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М., 2006.

Rebrova R.Yu. Medical data statistical analysis. Moscow, 2006.

12. Pauer H.U., Renne T., Hemmerlein B. et al. Targeted deletion of murine coagulation factor XII gene—a model for contact phase activation in vivo // *Thromb. Haemost.* 2004. V. 92. P. 503–508.

13. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. Киев, 1993.

Bratchik A.M. Clinical problems of fibrinolysis. Kiev, 1993.

RELATIONSHIP BETWEEN THE PATTERN OF SUBCUTANEOUS HEMORRHAGES AND CHANGES IN COSMONAUT'S SYSTEM OF PLASMIC HEMOSTASIS

Kuzichkin D.S., Markin A.A., Zhuravleva O.A., Koloteva M.I., Vostrikova L.V., Glebova T.M., Loginov V.I.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

In cosmonauts' citrated blood plasma sampled 30 day before launch as well as 1st and 7th days of recovery period the next hemostasis indices were analyzed: fibrinogen (FBG), plasminogen and D-dimer (DD) concentrations; thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (aPPT), international normed ratio; antithrombin III (ATIII), protein C (PC) and α -2-antiplasmin (AP) levels.

During the cosmonauts' visual survey after f long-term space expeditions completion, many of them were revealed petechial hemorrhages and subcutaneous ecchymoses. Their appearance is expected to lead to an increase in the level of fibrin formation and fibrinolysis, wherein the increase in the procoagulant potential of the coagulation cascade was noted regardless of subcutaneous hemorrhages presence. According to the results of this study, the hemostasis system adaptive capacities of the cosmonauts without any hemorrhages after the descent from orbit were higher, which apparently contributed to reducing the risk of significant hemorrhages.

Key words: aerospace medicine, hemostasis, cosmonauts, petechia, ecchymoses.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 38–41.

Поступила 18.04.2019

УДК 612.017.2

ВЛИЯНИЕ 21-СУТОЧНОЙ «СУХОЙ» ИММЕРСИИ НА ПРОДУКЦИЮ Т-ЛИМФОЦИТАМИ ЦИТОКИНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕГУЛЯЦИЮ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

Кутько О.В., Рыкова М.П., Антропова Е.Н., Калинин С.А., Шульгина С.М., Садова А.А., Орлова К.Д., Киселёва Д.Д., Шмаров В.А., Васильева Г.Ю., Пономарёв С.А.

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

E-mail: cd147@bk.ru

Представлены результаты изучения синтеза цитокинов, влияющих на метаболизм костной ткани и способствующих поддержанию ее физиологического гомеостаза, активированными Т-лимфоцитами периферической крови 6 испытуемых-добровольцев, участников эксперимента с 21-суточной «сухой» иммерсией (СИ). Показано, что длительное ограничение двигательных нагрузок приводит к увеличению содержания в периферической крови активированных Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD25^+$ и изменению синтеза цитокинов *in vitro* в 24-часовых стимулированных комплексом анти-CD2/CD3/CD28 монокультурах $CD3^+$ -клеток, выделенных из периферической крови. Продемонстрировано два разных типа реагирования активированных Т-лимфоцитов на длительное пребывание в условиях СИ: или повышение, или снижение секреции цитокинов, стимулирующих повышенную костную резорбцию (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ФНО- α , GM-CSF) и ослабляющих остеокластогенез (ИФН- γ , ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13).

Ключевые слова: «сухая» иммерсия, иммунная система, цитокины, Т-лимфоциты.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 42–46.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-42-46

Гравитация является основным фактором, определяющим особенности структурно-функциональной организации опорно-двигательной системы. Результаты многолетних исследований костной системы у членов экипажей длительных экспедиций на орбитальной станции «Мир» и Международной космической станции показали, что в условиях микрогравитации происходит перестройка костной ткани [1]. Но, несмотря на то, что к настоящему времени довольно детально изучены реакции костной системы на изменения гравитационной среды, пусковые механизмы процессов ремоделирования кости остаются во многом неясными. В последнее десятилетие большое внимание уделяется роли иммунной системы в регуляции метаболизма костной ткани [2]. Клетки иммунной системы могут как усиливать процессы костной резорбции, так и оказывать

антиостеокластогенное действие посредством синтезируемых медиаторов, а развитие дисбаланса в продукции оппозитных цитокинов при дисфункции иммунной системы может опосредовать нарушения остеοформирующего и резорбтивного компонентов костной ткани [3].

Уникальную возможность для разработки проблемы взаимосвязи состояния опорно-двигательной системы организма человека, в особенности ее костной части, и системы иммунитета в условиях микрогравитации представляют исследования в комплексных наземных модельных экспериментах, в первую очередь, в экспериментах с «сухой» иммерсией (СИ), позволяющей моделировать опорную разгрузку, гиподинамию и перераспределение жидкостей в организме человека [4].

Цель данной работы – изучение влияния 21-суточной СИ на синтез цитокинов, участвующих в процессах моделирования и ремоделирования костной ткани активированными Т-лимфоцитами периферической крови испытуемых-добровольцев.

Методика

Эксперимент с 21-суточной СИ без применения средств профилактики был проведен с участием практически здоровых мужчин в возрасте от 24 до 32 лет, получивших допуск врачебно-экспертной комиссии и подписавших Информированное согласие на участие в эксперименте в соответствии с Хельсинкской декларацией. Программа исследования была утверждена на заседании Ученого совета (протокол № 6 от 27.06.2018 г.) и одобрена Комиссией по биомедицинской этике при ГНЦ РФ-ИМБП РАН (протокол № 483 от 03.08.2018 г.). Взятие проб венозной крови для исследований цитокинпродуцирующей способности Т-лимфоцитов проводили у шести испытуемых-добровольцев натощак в утренние часы за 2 сут до начала СИ, на 21-е сутки экспериментального воздействия, а также на 7-е сутки периода восстановления.

Определение содержания лейкоцитов, абсолютного и относительного количества лимфоцитов в периферической крови выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Celltac-α MEK 6318K (Япония).

Содержание в периферической крови Т-лимфоцитов оценивали мультипараметрическим методом иммунофлюоресцентного анализа с использованием панели моноклональных антител, в состав которой входили моноклональные антитела к CD3, CD4, CD8, CD25 (eBioscience, США). Анализ результатов исследований проводили методом проточной лазерной цитометрии на цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) в программе CellQuest Pro.

Мононуклеарные лейкоциты выделяли из гепаринизированной венозной крови путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла ($\rho = 1,077$). Монокультуры Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток) получали методом иммуномагнитной сепарации с использованием технологии MACS (Miltenyi Biotec, Германия) из суспензии мононуклеаров периферической крови.

Продукцию CD3⁺-лимфоцитами цитокинов в системе *in vitro* изучали в 24-часовых клеточных культурах. В качестве активатора Т-лимфоцитов использовался T-Cell Activation/Expansion Kit human (Ac/Exp) (Miltenyi Biotec, Германия) – частицы MACSiBead, покрытые антителами к CD2, CD3, CD28 человека. В надосадочных жидкостях клеточных культур определяли содержание цитокинов: интерлейкины (ИЛ)-1 β , ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-17A, ИФН- γ , ФНО- α , GM-CSF с использованием коммерческого набора Human Cytokine/Chemokine Panel I (Millipore, Германия) для определения цитокинов методом мультиплексного анализа согласно инструкциям производителя.

Результаты эксперимента были обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica v.10.0 for Microsoft Windows и представлены в виде медианы (Me) и интерквартильной ширины (q25–q75). Достоверность полученных результатов оценивалась при помощи непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты и обсуждение

Исследования, выполненные в 21-суточной СИ показали, что на 21-е сутки экспериментального воздействия и 7-е сутки восстановительного периода абсолютное и относительное содержание лимфоцитов в периферической крови испытуемых-добровольцев не отличалось от фоновых значений ($p > 0,05$). Анализ количественных характеристик Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток) и двух основных субпопуляций Т-лимфоцитов – CD8⁺- и CD4⁺-Т-клеток, играющих не только ключевую роль в реализации феноменов адаптивного иммунитета, но и в продукции факторов контроля остеогенеза, также не выявил статистически значимых изменений (табл. 1). Следует отметить, что на заключительном этапе пребывания в условиях СИ у испытуемых-добровольцев наблюдалось некоторое повышение содержания в периферической крови Т-клеток, экспрессирующих активационный маркер CD25.

Как известно, активированные Т-лимфоциты синтезируют цитокины, стимулирующие повышенную костную резорбцию (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17A, ФНО- α , ГМ-КСФ) и ослабляющие остеокластогенез (ИФН- γ , ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13) [5, 6]. Таким образом, клетки Th17 выполняют функции иммуномодуляторов деятельности остеокластов. При этом Т-лимфоциты активируют формирование остеокластов непосредственно через выработку

Таблица 1

Показатели иммунограммы испытуемых-добровольцев, участников проекта с 21-суточной «сухой» иммерсией Me (q25–q75)

Показатели, кл. $\times 10^9/\text{л}$	Время обследования		
	-2-е сутки	21-е сутки	+7-е сутки
Лейкоциты	5,40 (3,60–6,10)	5,40 (4,20–6,40)	4,95 (4,10–5,80)
Лимфоциты	1,70 (1,10–2,40)	1,70 (1,50–2,00)	1,45 (1,20–1,70)
CD3 ⁺ -лимфоциты	1,23 (0,85–1,74)	1,24 (1,11–1,41)	1,03 (0,87–1,20)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -лимфоциты	0,80 (0,54–1,08)	0,78 (0,66–0,91)	0,62 (0,58–0,91)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -лимфоциты	0,39 (0,27–0,60)	0,41 (0,33–0,42)	0,33 (0,30–0,39)
CD3 ⁺ CD25 ⁺ -лимфоциты	0,06 (0,04–0,08)	0,08 (0,06–0,09)	0,05 (0,04–0,08)

Таблица 2

Продукция цитокинов CD3⁺-Т-лимфоцитами периферической крови испыателей-добровольцев, участников проекта с 21-суточной «сухой» иммерсией Me (q25–q75)

Цитокины, пг/мл	Время обследования		
	-2-е сутки	21-е сутки	+7-е сутки
ИЛ-1β	0,81 (0,56–1,67)	0,68 (0,40–0,74)	0,52 (0,48–0,56)*
ИЛ-3	7,53 (6,97–26,09)	12,65 (3,08–18,48)	11,90 (3,88–22,19)
ИЛ-4	247,34 (61,42–1042,84)	222,95 (135,74–1300,37)	328,87 (207,70–4714,35)
ИЛ-6	65,21 (18,16–94,43)	19,93 (9,79–54,93)*	32,68 (4,10–39,39)
ИЛ-8	77,76 (57,00–138,72)	30,64 (28,12–41,87)*	22,96 (17,51–51,42)*
ИЛ-10	8006,14 (4721,6112968,18)	5529,96 (4880,95–6123,90)	10405,63 (6120,70–11399,99)
ИЛ-13	115,43 (96,7–205,69)	83,10 (61,97–174,85)	150,53 (44,57–229,50)
ИЛ-17A	123,59 (111,59–4726,71)	83,20 (62,49–588,29)*	163,18 (59,95–2170,79)
ИФН-γ	19260,07 (10467,37–36985,10)	11501,81 (11227,77–12065,83)	14378,43 (13489,22–17013,28)
ФНОα	12501,46 (11973,63–16671,58)	10433,84 (9954,69–10466,80)	12112,79 (7471,83–12622,07)
GM-CSF	241,88 (143,82–394,12)	114,12 (107,10–2567,90)	287,86 (67,66–2232,42)

Примечание. * – достоверные различия с -2-ми сутками (p < 0,05).

белка RANKL, ключевого регулятора ремоделирования костной ткани, и других провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-17), которые, в свою очередь, способствуют выработке остеобластами и фибробластами RANKL, что также стимулирует образование остеокластов [7].

При изучении особенностей продукции цитокинов CD3⁺-лимфоцитами периферической крови на фоне CD2/CD3/CD28-антигеннезависимой стимуляции в системе in vitro было отмечено, что на 21-е сутки экспериментального воздействия и на 7-е сутки восстановительного периода наблюдалось существенное снижение содержания ИЛ-8 в супернатантах клеточных культур (табл. 2). Кроме того, по усредненным показателям через неделю после завершения СИ было выявлено достоверное снижение способности CD3⁺-лимфоцитов продуцировать ИЛ-1β. Достоверных изменений синтеза других цитокинов, которые могут оказывать влияние на метаболизм костной ткани, в условиях СИ обнаружено не было.

Рассмотрение частоты случаев изменения цитокинпродуцирующей способности активированных Т-лимфоцитов и динамики индивидуальных показателей позволило выявить, по крайней мере, два разных типа реагирования этой популяции иммунокомпетентных клеток на моделируемые условия (рисунок). Стоит отметить, что у одного из обследуемых (испытатель А) на заключительной стадии гипогравитационного воздействия и в восстановительном периоде наблюдалось повышение секреции ряда медиаторов, регулирующих дифференцировку остеокластических прекурсоров в зрелые остеокласты (ИЛ-6), усиливающих экспансию прекурсоров остеокластов в костной ткани (GM-CSF), способствующих выработке остеобластами и фибробластами

белка RANKL (ИЛ-17A) и стимулирующих индуцируемый RANKL остеокластогенез путем активации TRAF2/5 и MAPKs (ФНОα) [8–11]. У этого обследуемого наряду с усилением продукции цитокинов с проостеокластогенной активностью произошло и увеличение уровней продукции цитокинов, подавляющих RANKL- и ФНОα-индуцированную дифференцировку остеокластов (ИФН-γ), оказывающих прямой ингибирующий эффект на остеокластогенез (ИЛ-10), усиливающих способность остеобластов к синтезу остеопротегерина (ИЛ-4, ИЛ-13), подавляющих c-Fms, c-Fos и TNFR экспрессию (ИЛ-3) [12–16]. В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что адаптация к новым условиям окружающей среды в условиях космического полета, таким как длительное действие невесомости, психоэмоциональный стресс, изоляция, обеспечивается благодаря активной работе такой гомеостатической системы, как система иммунитета. По-видимому, отмеченное значительное повышение цитокинпродуцирующей способности Т-лимфоцитов является признаком перестройки функционирования иммунной системы на уровень, соответствующий новым условиям окружающей среды.

В то же время у другого обследуемого, напротив, наблюдалось угнетение индуцибельной продукции Т-лимфоцитами цитокинов, способствующих поддержанию физиологического гомеостаза костной ткани (испытатель Б). Можно предположить, что отмеченное у данного обследуемого снижение функциональных резервов эффекторных клеток Т-звена адаптивного иммунитета является признаком перенапряжения системы иммунитета в условиях СИ.

У остальных 4 испыателей-добровольцев после 21-суточного пребывания в условиях СИ были обнаружены такие изменения секреции цитокинов

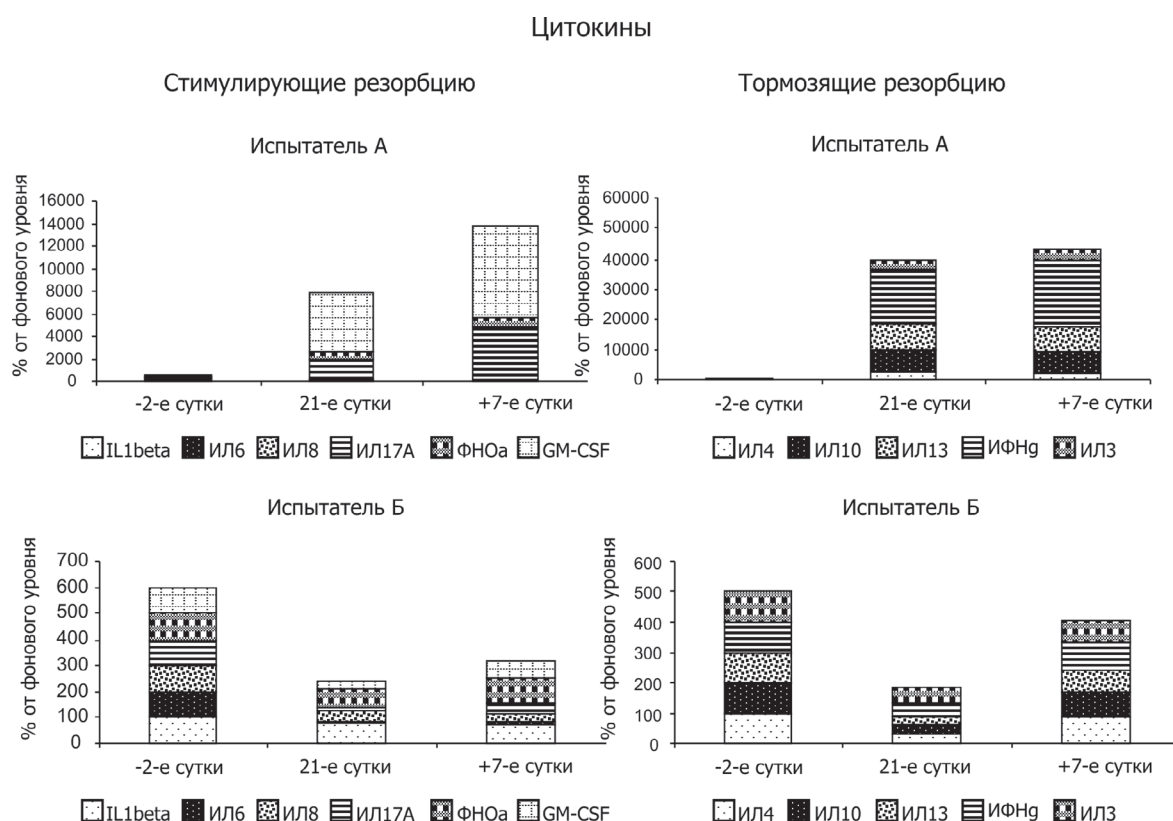


Рисунок. Типы цитокинпродуцирующей способности CD3⁺-Т-лимфоцитов периферической крови испыателей-добровольцев, участников проекта с 21-суточной «сухой» иммерсией (индивидуальные данные)

активированными комплексом анти-CD2/CD3/CD28 CD3⁺-лимфоцитами, как снижение синтеза ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ИЛ-3, ИЛ-13, и выраженные индивидуальные флуктуации в стороны повышения или снижения синтеза ИЛ-1β, GM-CSF, ИФН-γ, ИЛ-4, ИЛ-10.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что индивидуальные особенности, несомненно, играют важнейшую роль в развитии изменений способности Т-лимфоцитов синтезировать спектр цитокинов, играющих ключевую роль во взаимодействии клеток костного дифферона и иммунной системы. Дальнейшие исследования, направленные на изучение таких особенностей при воздействии на организм человека факторов космического полета, позволят получить более детальную информацию, которая важна не только для исследовательских целей, но и для прогноза, а возможно и для отбора «устойчивых» к воздействию невесомости космонавтов, в первую очередь, для осуществления межпланетного перелета [17].

Выводы

1. 21-суточная СИ приводит к увеличению содержания в периферической крови испыателей-добровольцев активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺/CD25⁺.

2. На 21-е сутки СИ и 7-е сутки восстановительного периода изучение цитокинпродуцирующей способности CD3⁺-лимфоцитов периферической крови, активированных комплексом анти-CD2/CD3/CD28, показало значительную индивидуальную вариабельность степени и направленности сдвигов уровней секреции цитокинов, стимулирующих повышенную костную резорбцию (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17А, ФНОα, GM-CSF) и ослабляющих остеокластогенез (ИФН-γ, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13). Выявлены два разных типа реагирования активированных Т-лимфоцитов на длительное пребывание в условиях СИ: или повышение, или снижение секреции цитокинов, играющих ключевую роль во взаимодействии между клетками костного дифферона и иммунной системы.

Работа выполнена при поддержке Программы научных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» на 2018–2020 гг.: «Фундаментальные исследования для технологий профилактики заболеваний, реабилитации человека и целевого повышения устойчивости к неблагоприятным факторам» и базовой тематике 65.1 в рамках Государственного задания ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

Список литературы

1. Оганов В.С., Григорьев А.И. О механизмах остеопении и особенностях метаболизма костной ткани человека в условиях невесомости // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. 2012. Т. 98. № 3. С. 91–105.
Oganov V.S., Grigoriev A.I. On mechanisms of osteopenia and specific features of metabolism of human bony tissue under conditions of weightlessness // Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova. 2012. V. 98. № 3. P. 91–105.
2. Caetano-Lopes J., Canhão H., Fonseca J.E. Osteoimmunology – the hidden immune regulation of bone // Autoimmun Rev. 2009. V. 8. P. 250–255.
3. Коршунова Е.Ю., Дмитриева Л.А., Лебедев В.Ф. Цитокиновая регуляция метаболизма костной ткани // Политравма. 2012. № 3. С. 82–86.
Korshunova E.Yu., Dmitrieva L.A., Lebedev V.F. Cytokine regulation of metabolism in bone tissue // Politravma. 2012. № 3. P. 82–86.
4. Козловская И.Б. Фундаментальные и прикладные задачи иммерсионных исследований // Авиакосм. и экол. мед. 2008. Т. 42. № 5. С. 3–7.
Kozlovskaya I.B. Fundamental and applied tasks of immersion studies // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2008. V. 42. № 5. P. 3–7.
5. Ponzetti M., Rucci N. Updates on osteoimmunology: what's new on the cross-talk between bone and immune system // Front. Endocrinol. (Lausanne). 2019. V. 10. P. 236. DOI: 10.3389/fendo.2019.00236.
6. Amarasekara D.S., Yun H., Kim S. et al. Regulation of osteoclast differentiation by cytokine networks // Immune Network. 2018. 18. 10.4110/in.2018.18.e8.
7. Sagalovsky S. Bone remodeling: cellular-molecular biology and cytokine RANKL-RANK-Osteoprotegerin (OPG) system and growth factors // Crimean J. Exp. Clin. Med. 2013. V. 3. P. 36.
8. Blanchard F., Duplomb L., Baud'huin M., Brounais B. The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors // Cytokine Growth Factor Rev. 2009. V. 20. P. 9–28.
9. Lapidot T., Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells // Exp. Hematol. 2002. V. 30. P. 973–981.
10. Lubberts E., Koenders M.I., van den Berg W.B. The role of T-cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models // Arthritis Res. Ther. 2005. V. 7. P. 29–37.
11. Boyce B.F., Xing L. Functions of RANKL/ RANK/OPG in bone modeling and remodeling // Arch. Biochem. Biophys. 2008. V. 473. P.139–146.
12. Kohara H., Kitaura H., Fujimura Y. et al. IFN- γ directly inhibits TNF- α -induced osteoclastogenesis in vitro and in vivo and induces apoptosis mediated by Fas/Fas ligand interactions // Immunol. Lett. 2011. V. 137. P. 53–61.
13. Evans K.E., Fox S.W. Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus // BMC Cell Biol. 2007. DOI: 10.1186/1471-2121-8-4.
14. Cheng J., Liu J., Shi Z. et al. Interleukin-4 inhibits RANKL-induced NFATc1 expression via STAT6: a novel mechanism mediating its blockade of osteoclastogenesis // J. Cell Biochem. 2011. V. 112. P. 3385–3392.
15. Yamada A., Takami M., Kawawa T. et al. Interleukin-4 inhibition of osteoclast differentiation is stronger than that of interleukin-13 and they are equivalent for induction of osteoprotegerin production from osteoblasts // Immunol. 2007. V. 120. P. 573–579.
16. Gupta N., Barhanpurkar A.P., Tomar G.B. et al. IL-3 inhibits human osteoclastogenesis and bone resorption through downregulation of c-Fms and diverts the cells to dendritic cell lineage // J. Immunol. 2010. V. 185. P. 2261–2272.
17. Morukov B.V., Rykova M.P., Antropova E.N. et al. Immunological aspects of a space flight to Mars // Human Physiol. 2013. V. 39. Is. 2. P. 126–135.

Поступила 24.10.2019

THE EFFECT OF 21-DAY DRY IMMERSION ON THE PRODUCTION OF T-LYMPHOCYTES CYTOKINES INVOLVED IN THE REGULATION OF BONE METABOLISM

Kutko O.V., Rykova M.P., Antropova E.N., Kalinin S.A., Shulgina S.M., Sadova A.A., Orlova K.D., Smarov V.A., Vassilieva G.Y., Ponomarev S.A.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

The results of studying the synthesis of cytokines affecting the metabolism of bone tissue and contributing to the maintenance of its physiological homeostasis by activated T-lymphocytes of peripheral blood of 6 test volunteers, participants of the experiment with 21-day dry immersion (DI), are presented. Studies have shown that prolonged restriction of motor loads leads to an increase in the content of peripheral blood activated T-lymphocytes with phenotype CD3⁺CD25⁺ and changes in the synthesis of cytokines in vitro in 24-hour stimulated complex anti-CD2/CD3/CD28 monocultures CD3⁺-cells isolated from peripheral blood. Two different types of response of activated T-lymphocytes to long-term stay in the conditions of DI, either increase or decrease in the secretion of cytokines stimulating increased bone resorption (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, TNF α , GM-CSF) and weakening osteoclastogenesis (IFN- γ , IL-3, IL-4, IL-10, IL-13) were demonstrated.

Keywords: dry immersion, immune system, cytokines, T-lymphocytes.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 42–46.

УДК 613.6.02:66.027

СПЕЦИФИКА САТУРАЦИИ И ДЕСАТУРАЦИИ ИНЕРТНЫХ ГАЗОВ ИЗ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА ПРИ НОРМАЛЬНОМ ДАВЛЕНИИ

Николаев В.П.¹, Суворов А.В.¹, Семенцов В.Н.^{1, 2}

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

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

E-mail: viknik@imbp.ru

Проведено математическое моделирование насыщения тканей человека инертными газами (He, Ar, Kr, Xe) нормоксических дыхательных смесей при нормальном давлении и последующей элиминации этих газов при дыхании воздухом. На начальной стадии процесса десатурации этих газов происходит сравнительно быстрое снижение содержания этих газов в выдыхаемом воздухе в результате сравнительно быстрого их вымывания из хорошо перфузируемых тканей. При десатурации криптона и ксенона из частично насыщенных ими тканей концентрация этих газов в выдыхаемом воздухе снижается до уровня 0,001 % (10 ppm) через 250 мин после начала этого процесса, а при десатурации гелия его концентрация в выдыхаемом воздухе более быстро снижается до нулевого уровня. При десатурации аргона его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается лишь до уровня его концентрации в атмосферном воздухе (0,934 %).

Ключевые слова: инертные газы, сатурация, десатурация, математическое моделирование.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 47–53.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-47-53

У физиологов сложилось твердое убеждение, что азот воздуха и инертные газы (гелий, аргон, криптон, ксенон) искусственных дыхательных смесей не участвуют в процессах метаболизма в организме. Тем не менее азот, аргон и криптон вызывают наркотическое состояние в условиях гипербарии, а ксенон даже при нормальном давлении окружающей среды. В последние годы широкое распространение получили гипотезы о возможной биологической активности инертных газов. Результаты практического использования дыхательных смесей с этими газами показали их действие как средств повышения физической работоспособности [1], коррекции стрессовых состояний [2] и их антиоксидантные свойства [3]. Некоторые исследователи полагают, что аргон является катализатором метаболических процессов в организме в условиях гипоксии [4]. Результаты многих экспериментальных исследований показывают, что дыхание смесями

с инертными газами способствует восстановлению клеток мозга, сердца и печени после их поражения в результате травмы, действия гипоксии или недостатка поступления к ним глюкозы [5–8]. Другие исследователи сомневаются в действии этих газов как органопротекторов [9–11].

Все вышеизложенное указывает на необходимость более глубокого изучения влияния инертных газов на жизнедеятельность человека с учетом динамики процессов сатурации и десатурации инертных газов из тканей организма, протекающих совместно с процессами обмена респираторными газами между организмом и внешней средой в результате действия механизмов функционирования кардиореспираторной системы. В работе [12] было показано, что при замене в дыхательной смеси инертного газа другим, лучше растворимым в крови и тканях газом, происходит преходящее увеличение инспираторной вентиляции легких и поглощения в них кислорода относительно их стационарных значений. Наоборот, эти показатели газообмена снижаются при замене исходного инертного газа дыхательной смеси хуже растворимым газом. Вполне естественно, что процессы сатурации и десатурации инертных газов из тканей организма должны учитываться и при изучении биологического действия этих газов на клеточном уровне.

В данной работе представлено математическое моделирование процессов насыщения тканей человека инертными газами нормоксической дыхательной смеси и динамики их последующей элиминации после перехода на дыхание воздухом. Особое внимание было уделено оценке концентрации инертных газов в выдыхаемом воздухе в процессе их десатурации из организма.

Методика

Согласно теории сатурации и десатурации инертных газов дыхательной смеси из организма [13], скорость этих процессов в каждой ткани

Таблица 1

Состав и кровоснабжение тканей человека с массой тела 70 кг и объемом 67,8 л при сердечном выбросе в состоянии покоя 5,8 л/мин и периоды их полунасыщения и полурассыщения от азота, аргона, криптона, ксенона и гелия

№ группы тканей	Ткань	Объем, см ³	Относительный объем	Перфузия, л _к ·л _т ⁻¹ ·мин ⁻¹	Суммарный кровоток, л·мин ⁻¹	α_t/α_k	$T_{1/2}$, мин
0	Легочная ткань	1200		4,85	5,8		
I	Мышцы, связки, кости, кожа	50 000	0,751	0,076–0,0115 (0,04)	2,0	1	⁰ 9–60 (17)
II	Жировая ткань	10 000	0,15	0,017–0,0085 (0,01)	0,1	5,1 5,3 9,6 20 1,7	¹ 208–416 (353) ² 210–432 (367) ³ 390–780 (665) ⁴ 815–1630 (1385) ⁵ 70–140 (118)
III	Головной мозг	1400	0,021	0,54	0,756	1–5,1 1–5,3 1–9,6 1–20 1–1,7	¹ 1–6 (3) ² 1–7 (4) ³ 1–12 (6) ⁴ 1–26 (13) ⁵ 1–2 (2)
IV	Костный мозг	1400	0,021	0,21	0,294	1–5,1 1–5,3 1–9,6 1–20 1–1,7	¹ 3–17 (10) ² 3–18 (11) ³ 3–32 (17) ⁴ 3–66 (35) ⁵ 3–6 (4)
V	Почки	270	0,004	4,9	1,323	1	0,14
VI	Сердце	300	0,0045	0,5	0,15	1	1,4
VII	Простата	80	0,0012	1,0	0,08	1	0,7
VIII	Желудочно-кишечный тракт	3145	0,047	0,47–0,37	1,258	1	1,7

Примечание. Верхние левые индексы параметров $T_{1/2}$ указывают их значения для: 0 – всех газов, 1 – азота, 2 – аргона, 3 – криптона, 4 – ксенона, 5 – гелия. В скобках указаны их средневзвешенные значения.

зависит от величины периода ее полунасыщения и полурассыщения от этих газов:

$$T_{1/2} = 0,693 \cdot \alpha_t / (\alpha_k q_t), \quad (1)$$

где α_t и α_k – растворимость инертного газа в ткани и крови, мл_{газа}·мл_{ткани}⁻¹·(101,3 кПа)⁻¹ и мл_{газа}·мл_{крови}⁻¹·(101,3 кПа)⁻¹; q_t – перфузия ткани кровью (удельное кровоснабжение ткани), мл_{крови}⁻¹·мл_{ткани}⁻¹·мин⁻¹. Известные данные о составе и кровоснабжении тканей стандартного человека [14] и рассчитанные нами их параметры $T_{1/2}$ для азота, аргона, криптона, ксенона и гелия представлены в табл. 1. Параметры $T_{1/2}$ тканей группы I одинаковы для всех инертных газов, поскольку их растворимость в этих тканях (α_t) практически равна их растворимости в крови (α_k). Однако эти параметры тканей группы II различны для разных газов из-за различия их растворимости в жировых тканях. Различия кровоснабжения разных участков тканей групп I и II предопределяют различия присущих им параметров $T_{1/2}$, а некоторая вариабельность этих параметров у тканей групп III и IV (в головном и спинном мозге) обусловлена наличием в их составе липидов.

Замена вдыхаемого воздуха смесью с другим инертным компонентом приводит к возникновению нестационарного состояния газообмена организма с внешней средой, при котором напряжение (парциальное давление) инертного газа G в ткани, P_{TG} , с заданным значением параметра $T_{1/2}$ изменяется в соответствии с уравнением

$$P_{TG}(t) = P_{AG}(t)[1 - \exp(-0,693t/T_{1/2})], \quad (2)$$

где $P_{AG}(t)$ – парциальное давление инертного газа в альвеолярном воздухе и артериальной крови; t – время, отсчитываемое с момента начала дыхания смесью с этим газом.

Начальное значение $P_{AG}(t)$ равно нулю, и теоретически его величина достигает своего стационарного уровня, P_{AG} , лишь после полного насыщения инертным газом всех тканей организма. В течение первых 3 мин спонтанного дыхания смесью с инертным газом $P_{AG}(t)$ достигает P_{AG} [12]. За время $t = S \geq 30$ мин ткани насыщаются этим газом до уровня:

$$P_{TG}(S) = P_{AG}[1 - \exp(-0,693S/T_{1/2})]. \quad (3)$$

Количество (объем, л ВТПС) инертного газа, поглощенного тканью, составляет

$$w = a_T [P_{TG}(S)/760] V_T \quad (4)$$

где V_T – объем ткани; a_T – коэффициент растворимости в ней инертного газа.

Ткани человека принято разделять на тощие по своей консистенции ткани типа L, жировые ткани типа F и ткани типа M. К типу L относятся указанные в табл. 1 ткани группы I, к типу F – ткани группы II и к типу M – ткани групп III–VIII. Всю совокупность тканей типа M можно считать тощими тканями. В тканях типа L и M растворимость любого инертного газа, a_{TL} и a_{TM} , одинакова с его растворимостью в крови, a_K , а в тканях типа F его растворимость, a_{TF} , значительно превышает a_K . Согласно данным табл. 1, суммарные объемы тканей этих 3 типов у стандартного человека равны соответственно $V_L = 50$ л, $V_F = 10$ л и $V_M = 6,66$ л. Суммарное поглощение инертного газа тканями человека за время $t = S$ можно оценить уравнением

$$W_S = a_{TM} [P_{MG}(S)/760] V_M + a_{TL} [P_{LG}(S)/760] V_L + a_{TF} [P_{FG}(S)/760] V_F \quad (5)$$

где $P_{MG}(S)$, $P_{LG}(S)$ и $P_{FG}(S)$ – напряжение инертного газа в тканях M, L и F, у которых параметр $T_{1/2}$ имеет средневзвешенные значения $T_{1/2M}$, $T_{1/2L}$ и $T_{1/2F}$.

Как показано в табл. 1, параметры $T_{1/2}$ тканей типа M и L расположены в сравнительно узких диапазонах малых значений этого параметра, а параметры $T_{1/2}$ тканей типа F расположены в широком диапазоне их больших значений. Средневзвешенная величина параметров $T_{1/2}$ всех тканей типа L имеет одинаковое для всех инертных газов значение $T_{1/2L} = 17$ мин, и при дыхании смесями с любым инертным газом эти ткани насыщаются до одинакового уровня $P_{LG}(S)$. Ткани типа M также насыщаются до одинакового для всех инертных газов уровня $P_{MG}(S)$ при средневзвешенной величине параметра $T_{1/2M} = 2$ мин. Однако параметры $T_{1/2}$ тканей F различны для разных инертных газов, и средневзвешенные величины $T_{1/2F}$ этих тканей для гелия, аргона, криптона и ксенона имеют значения 118, 367, 665 и 1385 мин соответственно. При дыхании смесями с этими газами ткани этого типа насыщаются до разных уровней $P_{FG}(S)$.

При десатурации организма от поглощенного ранее инертного газа, происходящей после перехода на дыхание воздухом, его напряжение в тканях и оттекающей от них венозной крови определяется уравнением

$$P_{TG}(t) = P_{TG}(S) \exp(-0,693t/T_{1/2}), \quad (6)$$

где t – время, отсчитываемое с момента начала дыхания воздухом.

При этом количество инертного газа, вносимого каждой тканью в смешанную венозную кровь, определяется величиной объема оттекающей от нее крови. Поэтому напряжение этого газа в смешанной венозной крови, $P_{VG}(t)$, изменяется с течением времени в соответствии с уравнением

$$P_{VG}(t) = R_M P_{MG}(S) \exp(-0,693t/T_{1/2M}) + R_L P_{LG}(S) \exp(-0,693t/T_{1/2L}) + R_F P_{FG}(S) \exp(-0,693t/T_{1/2F}), \quad (7)$$

где R_M , R_L и R_F – относительные величины кровотока через ткани M, L и F. При указанных в табл. 1 абсолютных величинах кровотока через эти ткани их относительные величины имеют значения $R_M = 0,638$; $R_L = 0,345$ и $R_F = 0,017$.

Согласно общепризнанным математическим моделям газообмена в легких, количество инертного газа, диффундирующего из венозной крови в легкие, равно количеству этого газа, удаляемого из них в атмосферу с выдыхаемым воздухом:

$$Q \lambda [P_{VG}(t) - P_{AG}(t)] = V_A P_{AG}(t), \quad (8)$$

где Q – легочный кровоток; V_A – альвеолярная вентиляция; $\lambda = a_{KG}$.

Из этого уравнения следует, что в процессе десатурации из организма инертного газа его парциальное давление в альвеолярном воздухе изменяется с течением времени в соответствии с уравнением

$$P_{AG}(t) = P_{VG}(t) [\lambda / (\lambda + V_A/Q)], \quad (9)$$

и его элиминация из легких происходит со скоростью (л ВТПС/мин)

$$u(t) = V_A [P_{VG}(t)/760] [\lambda / (\lambda + V_A/Q)]. \quad (10)$$

Объем инертного газа (л ВТПС), удаляемого из легких за время t , равен

$$W(t) = \int_0^t u(t) dt \quad (11)$$

и в течение очень длительного периода времени достигает величины суммарного объема поглощенного тканями газа W_S , определяемого уравнением (5).

Результаты и обсуждение

В данной работе был проведен сравнительный анализ процесса насыщения тканей человека гелием, аргонном, криптоном и ксеноном при дыхании

нормоксическими смесями с этими газами и процесса последующего вымывания этих газов при возобновлении дыхания воздухом.

Насыщение тканей инертными газами
дыхательной смеси

На рис. 1 наглядно проиллюстрирована специфика процессов сатурации тканей человека инертными газами. Построенные здесь кривые *a*, *b*, *c* определяют рассчитанные по уравнению (3) уровни насыщения тканей с теоретическими величинами параметра $T_{1/2}$ любым инертным газом нормоксической дыхательной смеси за время 30 мин, 3 ч и более 3 дней. При оценке совокупного поглощения инертного газа реальными тканями человека были отождествлены каждый из 3 типов его тканей (М, L и F) с единичными тканями, имеющими соответствующие суммарные объемы и средневзвешенные величины параметра $T_{1/2}$. Как было отмечено выше, средневзвешенные параметры $T_{1/2}$ тканей типа М и L имеют одинаковые для всех инертных газов значения $T_{1/2M} = 2$ мин и $T_{1/2L} = 17$ мин. В то же время параметры $T_{1/2}$ тканей типа F различны для разных газов и их средневзвешенные параметры $T_{1/2F}$ для гелия, аргона, криптона и ксенона имеют значения 118, 367, 665 и 1385 мин соответственно. Положение параметров $T_{1/2L}$ и $T_{1/2F}$ тканей типа L и F на оси значений $T_{1/2}$ показано на рис. 1.

Согласно уравнению (3), при сатурации организма инертным газом дыхательной смеси его напряжение в любой ткани возрастает за время $t = S$ до

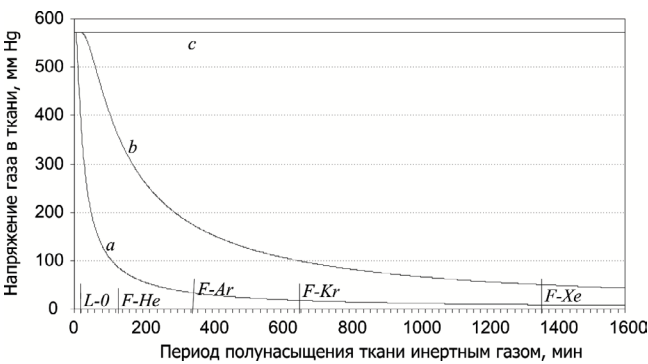


Рис. 1. Насыщение теоретических тканей инертными газами нормоксической дыхательной смеси при парциальном давлении 573 мм рт.ст. в течение: *a* – 30 мин; *b* – 3 ч; *c* – более 3 дней

уровня $P_{TG}(S)$, определяемого величиной ее параметра $T_{1/2}$. В табл. 2 представлены рассчитанные по этому уравнению уровни напряжения гелия, аргона, криптона и ксенона $P_{FG}(S)$, $P_{LG}(S)$ и $P_{FG}(S)$ в тканях М, L и F при сатурации организма этими газами в течение 30 мин, 3 ч и более 3 дней. Величины напряжения этих газов в тканях являются точками построенных на рис. 1 кривых *a*, *b*, *c*, соответствующим указанным на оси абсцисс параметрам $T_{1/2M}$, $T_{1/2L}$ и $T_{1/2F}$ тканей.

Уравнение (5) определяет объем (л ВТПС) инертного газа, поглощенного ранее тканями человека, как сумму 3 компонентов: $W_M = a_{TM}[P_{MG}(S)/760]V_M$,

Таблица 2

Насыщение тканей человека гелием, аргонном, криптоном и ксеноном нормоксической дыхательной смеси в зависимости от длительности сатурации

Длительность сатурации	Напряжение любого инертного газа, мм рт.ст.		Напряжение газа в тканях типа F, мм рт.ст.			
	в тканях М	в тканях L	He	Ar	Kr	Xe
30 мин	573	404	93	31	18	8
3 ч	573	572	376	165	98	49
> 3 дней	573	573	573	573	573	573

Таблица 3

Объемы гелия, аргона, криптона и ксенона, поглощенных тканями человека при дыхании нормоксическими смесями с этими газами в течение 30 мин, 3 ч и > 3 дней

Газ	Объем поглощенного газа, л ВТПС, за время $t = 30$ мин в тканях			Объем поглощенного газа, л ВТПС, за время $t = 3$ ч в тканях			Объем поглощенного газа, л ВТПС, за время $t > 3$ дней в тканях		
	М	L	F	М	L	F	М	L	F
He	0,043	0,229	0,018	0,043	0,323	0,072	0,043	0,324	0,11
Ar	0,131	0,691	0,056	0,131	0,978	0,305	0,131	0,98	1,039
Kr	0,226	1,196	0,102	0,226	1,693	0,557	0,226	1,696	3,257
Xe	0,427	2,259	0,179	0,427	3,199	1,096	0,427	3,204	12,82

$W_L = a_{TL}[P_{LG}(S)/760]V_L$ и $W_F = a_{TF}[P_{FG}(S)/760]V_F$. Результаты расчетов W_M , W_L и W_F для рассматриваемой нами ситуации представлены в табл. 3. При выполнении этих расчетов использовали представленные табл. 2 величины напряжения инертных газов в тканях М, L и F и считали: 1) объемы V_M , V_L и V_F этих тканей равны соответственно 6,66; 50 и 10 л и 2) коэффициенты растворимости гелия, аргона, криптона и ксенона в воде, крови и тканях типа М и L равны соответственно 0,0086, 0,026, 0,045 и 0,085, а в тканях типа F они увеличены соответственно в 1,7; 5,3; 9,6 и 20 раз [15].

Десатурация из организма ранее поглощенного инертного газа

Вполне очевидно, что при дыхании человека воздухом происходит полное очищение его тканей от ранее поглощенного гелия, аргона, криптона и ксенона. Этот процесс реализуется в результате вымывания этих газов из тканей артериальной кровью и последующей его элиминации из смешанной венозной крови в атмосферу через легкие. В табл. 3 показано, что исходный суммарный объем этих газов во всех тканях организма (W_S) при их насыщении этими газами в течение 30 мин составляет 0,29; 0,88; 1,52 и 2,87 л, а при полном их насыщении – 0,46; 2,15; 5,18 и 16,45 л соответственно. Специфика десатурации гелия, аргона, криптона и ксенона из тканей человека в этих двух ситуациях отображена на рис. 2 и 3. Построенные здесь кривые динамики снижения парциального давления этих газов в альвеолярном воздухе, $P_{AG}(t)$, и их элиминации из легких в атмосферу, $W(t)$, в диапазоне времени до 1500 мин рассчитаны по уравнениям (7) – (11). При проведении этих расчетов использовали представленные в таблице 2 уровни исходного напряжения газов в тканях М, L и F и считали, что при легочном кровотоке $Q = 5,8 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1}$ и стандартном для человека отношении $V_A/Q = 0,8$ альвеолярная вентиляция имеет значение $V_A = 4,64 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1}$. Необходимо отметить, что представленные здесь кривые $P_{AG}(t)$ и $W(t)$ для аргона рассчитаны при условии, что десатурация этого газа из тканей происходит при дыхании человека очищенным от него воздухом.

На рис. 2, А и 3, А показано, что на начальной стадии десатурации инертных газов из организма происходит быстрое снижение их парциального давления в альвеолярном воздухе (P_{AG}) в результате сравнительно быстрого вымывания этих газов из тканей М и L, вносящих основной вклад в величину их исходного напряжения в смешанной венозной крови. При десатурации гелия, аргона, криптона и ксенона из частично насыщенных ими тканей в течение 30 мин их величины P_{AG} снижаются от исходных уровней до 1 мм Нг в течение первых 14, 40, 52 и 67 мин соответственно. При десатурации этих газов из полностью насыщенных ими тканей их

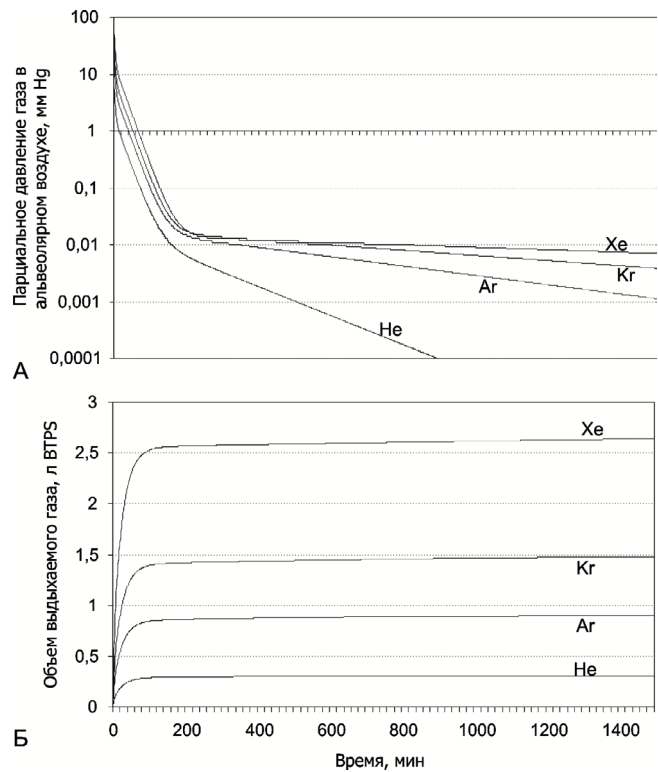


Рис. 2. Десатурация гелия, аргона, криптона и ксенона из тканей человека после насыщения их этими газами при парциальном давлении 573 мм Нг в течение 30 мин. А – динамика изменения парциального давления газов в альвеолярном воздухе; Б – элиминация газов в атмосферу с выдыхаемым воздухом

величины P_{AG} снижаются до 1 мм Нг за более длительное время (в течение 24, 57, 80 и 168 мин соответственно). Отметим, что концентрация этих газов в альвеолярном воздухе при парциальном давлении 1 мм Нг составляет 0,1316 %, но их концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,1 % в результате смешивания альвеолярного воздуха с атмосферным воздухом мертвого пространства легких. Дальнейшее снижение P_{AG} и концентрации этих газов в выдыхаемом воздухе лимитируется скоростью их вымывания из тканей F.

При десатурации аргона, криптона и ксенона из частично насыщенных ими тканей их концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,001 % (P_{AG} снижается до уровня 0,01 мм Нг) через 250 мин и продолжает снижаться со сравнительно малой скоростью. При десатурации этих газов из полностью насыщенных ими тканей их концентрация в выдыхаемом воздухе снижается лишь до 0,022–0,095 % и в дальнейшем снижается с более высокой скоростью. Однако при десатурации гелия его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,001 % (10 ppm) за более короткое время и продолжает сравнительно быстро снижаться до нуля.

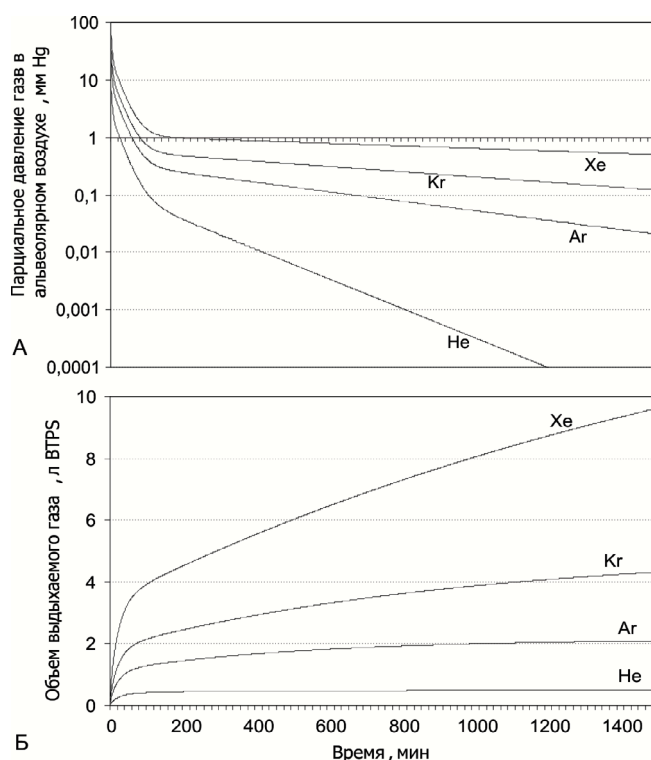


Рис. 3. Десатурация гелия, аргона, криптона и ксенона из тканей человека после полного насыщения их этими газами при парциальном давлении 573 мм Hg.

А – динамика изменения парциального давления газов в альвеолярном воздухе; Б – элиминация газов в атмосферу с выдыхаемым воздухом

По мере снижения парциального давления инертных газов в альвеолярном воздухе от высокого начального уровня происходит снижение скорости их элиминации из легких в атмосферу, что приводит к резкому уменьшению наклона кривых $W(t)$, отображающих на рис. 2, В и 3, В динамику десатурации этих газов из организма. Рост $W(t)$ до величины объема инертных газов, поглощенных ранее всеми тканями, W_s , завершается лишь после полного их вымывания из тканей F , имеющих наибольшее значение параметра $T_{1/2}$ (наименьшее удельное кровоснабжение q_r), что происходит далеко за пределами указанного здесь диапазона времени. $W(t)$ достигает величины W_s при снижении $P_{AG}(t)$ ниже уровня 0,0005 мм Hg, при котором скорость элиминации инертных газов из легких в атмосферу становится ничтожно малой величиной. Гелий, имеющий сравнительно малую растворимость в крови и тканях, полностью вымывается из организма в обеих рассматриваемых ситуациях за время менее суток, тогда как вымывание аргона, криптона и ксенона продолжается в более широком диапазоне времени.

В заключение отметим, что при дыхании человека чистым кислородом и происходящей десатурации

содержащегося в тканях азота кривые динамики его парциального давления в альвеолярном воздухе и элиминации из легких в атмосферу располагаются на рис. 3, А и 3, В между кривыми $P_{AG}(t)$ и $W(t)$ для гелия и аргона. В действительности же, при десатурации аргона из насыщенных им тканей при дыхании человека атмосферным воздухом парциальное давление в альвеолярном воздухе снижается лишь до уровня 7 мм Hg и его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,934 % (уровня естественной концентрации аргона в воздухе). Отметим также различия концентрации криптона и ксенона в выдыхаемом воздухе в процессе их десатурации из тканей человека, насыщенных этими газами до различных уровней. Как показано на рис. 2, А, при десатурации этих газов из насыщенных ими тканей при парциальном давлении 573 мм Hg в течение 30 мин концентрация криптона и ксенона в выдыхаемом воздухе снижается до уровня 0,001 % (10 ppm) через 250 мин после начала этого процесса. Если же ткани насыщались этими газами при парциальном давлении 287 мм Hg, то их концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,0007 % (7 ppm) через 200 мин после начала их десатурации и продолжает снижаться со сравнительно малой скоростью. При десатурации гелия его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,0003 % (3 ppm) и продолжает быстро снижаться до нулевого уровня.

Выводы

1. Представленное в статье математическое моделирование сатурации и десатурации инертных газов (He, Ar, Kr, Xe) из организма наглядно иллюстрирует различия динамики этих процессов для разных газов.

2. Концентрация этих газов в выдыхаемом воздухе сравнительно быстро снижается на начальной стадии их десатурации из организма в результате сравнительно быстрого их вымывания из хорошо перфузируемых тканей, а дальнейшее медленное ее снижение обусловлено малой скоростью вымывания этих газов из слабо перфузируемых жировых тканей.

3. При десатурации криптона и ксенона из насыщенных ими тканей организма при парциальном давлении 287 мм Hg в течение 30 мин концентрация этих газов в выдыхаемом воздухе снижается практически до одинакового уровня 0,0007 % (7 ppm) через 200 мин после начала этого процесса.

4. При десатурации гелия его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается за это же время до уровня 0,0003 % (3 ppm).

5. При десатурации аргона его концентрация в выдыхаемом воздухе снижается до 0,934 % (уровня его естественной концентрации в атмосферном

воздухе) в течение первых 5 мин и в дальнейшем остается практически неизменной.

Работа выполнена в рамках фундаментальных исследований по базовой тематике РАН № 64.1 на 2013–2020 гг.

Список литературы

1. Левшин И.В., Поликарпочкин А.Н. Перспективы применения кислородно-гелиевых смесей в спорте высших достижений // Ученые записки. 2010. № 4 (60). С. 45–49.
Levshin I.V., Polikarpochkin A.N. Application prospects for oxygen-helium mixes in elite sports // Uchenye zapiski. 2010. № 4 (60). P. 45–49.
2. Бубеев Ю.А., Кальманов А.С., Котровская Т.И. Влияние ксенона на клетки и рецепторы // Технологии живых систем. 2010. Т. 7. № 8. С. 58–63.
Bubeev Yu.A., Kalmanov A.S., Kotrovskaya T.I. Effect of xenon on cells and receptors // Tekhnologii zhivyykh sistem. 2010. V. 7. № 8. P. 58–63.
3. Nakao A., Sugimoto R., Billiar T.R., McCurry K.R. Therapeutic antioxidant medical gas // J. Clin. Biochem. Nutr. 2009. V. 44. P. 1–13.
4. Шулагин Ю.А., Дьяченко А.И., Павлов Б.Н. Влияние аргона на потребление кислорода человеком при физнагрузке в условиях гипоксии // Физиология человека. 2001. Т. 27. № 1. С. 84–90.
Shulagin Yu.A., Dyachenko A.I., Pavlov B.N. Effect of argon on oxygen consumption in man during exercise in hypoxia // Fiziologiya cheloveka. 2001. V. 27. № 1. P. 84–90.
5. Jawad N., Rizvi M., Gu J. et al. Neuroprotection (and lack of neuroprotection) afforded by a series of noble gases in an in vitro model of neuronal injury // Neurosci. Lett. 2009. V. 460. P. 232–236.
6. Rizvi M., Jawad N., Li Y. et al. Effect of noble gases on oxygen and glucose deprived injury in human tubular kidney cells // Exp. Biol. Med. (Maywood). 2010. V. 235. P. 886–891.
7. Ryang Y.M., Fahlenkamp A.V. et al. Neuroprotective effects of argon in an in vivo model of transient middle cerebral artery occlusion in rats // Crit. Care Med. 2011. V. 39. P. 1448–1453.
8. Zhuang L., Yang T., Zhao H. et al. The protective profile of argon, helium and xenon in a model of neonatal asphyxia in rats // Ibid. 2012. V. 40. P. 1724–1730.
9. Fries M., Weis J., Rossaint R. Is xenon really neuroprotective after cardiac arrest? // Anesthesiol. 2006. V. 104 (1). P. 211.
10. Dworschak M. Pharmacologic neuroprotection—is xenon the light at the end of the tunnel? // Crit. Care Med. 2008. V. 36. P. 2477–2479.
11. Deng J., Lei C., Chen Y. et al. Neuroprotective gases – fantasy or reality for clinical use? // Prog. Neurobiol. 2014. V. 115 P. 210–245.
12. Николаев В.П. Специфика газообмена в легких при изменении инертного компонента дыхательной смеси // Доклады Академии наук. 2015. Т. 461. № 1. С. 114–117.
Nikolaev V.P. Specifics of pulmonary gas exchange after replacing the inert components of inspired mixtures // Doklady Akademii nauk. 2015. V. 461. № 1. P. 69–72.
13. Boycott A.E., Damant G., Haldane J.S. The prevention of compressed air illness // J. Hyg. 1908. V. 8. P. 343–443.
14. Shilling C.W., Werts M.F., Schandelmeier N.R. The underwater handbook: A guide to physiology and performance for the engineer. London, 1976.
15. Roth E. Gas physiology in space operations // New Engl. J. Med. 1966. V. 275 P. 144–154, 195–203, 255–263.

Поступила 20.05.2019

SPECIFICS OF SATURATION AND DESATURATION OF INERT GASES FROM HUMAN TISSUE UNDER NORMAL PRESSURE

Nikolaev V.P.¹, Suvorov A.V.¹,
Sementsov V.N.^{1,2}

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

²Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)

Mathematical modeling of human tissue saturation with inert gases (He, Ar, Kr, Xe) in normoxic breathing mixtures under normal pressure and elimination of these gases by breathing air showed that desaturation starts with a comparatively rapid decrease in concentration of expired gases owing to their rapid washout from well-perfused tissues. Concentrations of expired krypton and xenon eliminated from partly saturated tissues decrease to 0.001 % (10 ppm) in 250 min. Concentration of expired helium goes to zero more rapidly. Concentration of desaturated argon falls only to its atmospheric level (0.934 %).

Key words: inert gases, saturation, desaturation, mathematical modeling.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 47–53.

УДК 613.6

СТРУКТУРНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СЕКРЕТОРНОГО ПРОЦЕССА В АДЕНОГИПОФИЗЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГРАВИТАЦИОННОГО СТРЕССА

Сухотерин А.Ф.¹, Пашенко П.С.^{2, 3}

¹Филиал № 3 ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского»,
г. Одинцово, Московская обл.

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Санкт-Петербургский государственный политехнический университет

E-mail: a.suhoterin@mail.ru

Статья посвящена изучению структурных преобразований, происходящих в железе-регуляторе аденогипофиза при моделировании острого и хронического гравитационного стресса. Воздействия перегрузок осуществляли по апробированной методике (П.С. Пашенко, 1995). Исследование, проведенное на белых беспородных крысах-самцах, включало световую и электронную микроскопию, морфометрическую обработку и статистический анализ. При остром гравитационном стрессе отмечали преимущественно первично-реактивные изменения в соматотропocyтaх и адренотропocyтaх и переполнение форменными элементами просвета капилляров железы. В условиях хронического гравитационного стресса, вызванного систематическим воздействием перегрузок +Gz на протяжении 26 нед, была выявлена кумуляция деструктивных преобразований в аденотропocyтaх и стенке капилляров аденогипофиза, что может приводить к нарушению гипофиз-адренотропocyтальной системы в целом.

Ключевые слова: аденогипофиз, перегрузки +Gz.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 54–61.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-54-61

Важнейшей задачей фундаментальных биологических наук, в том числе и морфологии, является исследование структурных проявлений адаптации в органах регуляторных систем организма при воздействии экстремальных факторов внешней среды.

Если мощное, даже однократное, воздействие нередко вызывает в организме острый стресс, то пролонгированные по времени повторяющиеся воздействия факторов, нередко связанных с профессиональной деятельностью человека в экстремальных условиях, могут способствовать постепенному развитию хронического стресса. Принято считать, что хронический стресс является состоянием организма, развивающимся с возрастом. Он играет существенную роль в механизме старения [1].

Формирование развитой картины хронического стресса в организме происходит постепенно, проходя при этом состояние, именуемое предстрессом.

Предложены комплексы морфологических и цитохимических показателей крови, позволяющих дифференцировать состояние предстресса от развитого хронического стресса у человека.

Показано, что систематическое воздействие комплекса экстремальных факторов может ускорить онтогенетическую программу развития клеток и тканей, привести к преждевременной клеточной дезадаптации, которая укладывается в картину хронического стресса [2].

Одним из экстремальных профессиональных факторов следует считать перегрузки, которые у молодых летчиков при выполнении фигур пилотажа могут способствовать развитию острой стрессорной реакции, а у лиц этой же профессии, но в возрасте старше 40 лет, имеющих время налета на летательных аппаратах более 1500 ч – хронического стресса. Сами же перегрузки нередко сопровождают деятельность летчиков на протяжении всей их профессиональной жизни (иногда 2–3 десятилетия).

Есть сведения о развитии при длительном действии перегрузок адренотропocyтальной недостаточности, а у некоторой категории летчиков на фоне вегетативной дистонии выявлено снижение секреции адренотропocyтального гормона на 37 %, а соматотропного гормона на 57 % [3]. Известно, что эти гормоны продуцируются клетками железистого эпителия передней доли гипофиза (аденогипофиза). Они оказывают регуляторное влияние на функцию кортикоцитов надпочечника в том числе и при стрессе.

В современной отечественной и зарубежной литературе имеются экспериментальные данные, раскрывающие в целом механизм секреции аденотропocyтaми передней доли гипофиза [4–9].

Эти механизмы стереотипны при воздействии стресс-факторов (действие токсических веществ, длительные вынужденные изменения ортостатического положения животных и др.) [4, 9]. Однако как качественные, так и количественные характеристики стрессоров, а также их продолжительность

заметно влияют на конечный эндокринный ответ [8]. При этом не все типы тропоцитов в одинаковой степени вовлекаются в реакцию на действие стресс-фактора. В частности, при продолжительных воздействиях одного и того же стресс-фактора – лишение опорных нагрузок, были выявлены существенные изменения в соматотропных клетках, в то время как в гонадотропных клетках таковых не обнаружено [4]. Установлена значительная роль соматотропного гормона в регуляции костного скелета у молодых особей и в белковом обмене. Именно система «нуклеиновые кислоты – белок» лежит в основе адаптации организма к стрессу [10].

Эти данные послужили одной из причин того, что соматотропоциты, наряду с кортикотропоцитами, были использованы нами в качестве объекта исследования в условиях воздействия перегрузок.

Перегрузки с вектором +Gz (голова – таз, или же краниокаудального направления) являются стресс-фактором, вызывающим в организме значительные гемодинамические сдвиги, а смещения мягких органов и тканей приводят к возникновению необычной афферентной импульсации в центры головного мозга, требующей в реальных полетах специальной защиты летчика [11]. Обычно мозговые нарушения во время действия перегрузок связывают с недостаточным кислородным обеспечением нейронов головного мозга. В этой связи представляет интерес определение состояния капиллярного русла аденогипофиза, являющегося частью гипоталамо-гипофизарной сосудистой воротной системы, имеющей особенности строения, отличные от других отделов головного мозга. Эти данные можно было бы использовать для дальнейшего измерения региональной гемодинамики головного мозга при воздействии перегрузок.

В доступной литературе отсутствуют работы, в которых исследования капиллярного русла в динамике развития хронического гравитационного стресса сочетались с определением структурных (ультраструктурные) проявлений компенсаторно-приспособительных процессов в аденоцитах, в частности, соматотропных и адренокортикотропных клетках. Такие сведения позволили бы определить структурные резервы клеток, в частности, сроки начала развития дистрофических и деструктивных изменений, особенности компенсаторных процессов в аденогипофизе.

Цель работы – исследование состояния структурных компонентов аденоцитов и капилляров передней доли гипофиза (аденогипофиза) при моделировании гравитационного стресса в эксперименте.

Методика

В исследованиях использовались 96 белых беспородных крыс в возрасте от 8 до 34 нед, 36 из

которых составили контрольную группу, а остальные 60 подверглись воздействиям в соответствии с методикой моделирования перегрузок. Были сформированы 3 контрольные группы (по 12 животных в каждой), отличающиеся по возрасту: 8, 26 и 34 нед, что соответствовало возрасту экспериментальных животных (3 группы по 20 крыс). В I серии – острый гравитационный стресс (ОГС), во II – развивающийся гравитационный стресс, в III серии – развитый гравитационный стресс. Разделение животных на 3 группы обусловлено наличием особенностей ультраструктуры аденоцитов у крыс-самцов различного возраста [12]. Контрольные животные содержались в тех же условиях, что и экспериментальные, но действию перегрузок не подвергались.

Моделирование перегрузок осуществлялось путем вращения животных на центрифуге радиусом плеча 1,5 м [2]. На каждом плече центрифуги было установлено по 10 контейнеров (по 5 в 2 этажа) на стальных пластинах с помощью болтов. Специальной балкой и 2 стержнями контейнеры укреплялись дополнительно после помещения в них животных. Размеры пластин были больше, чем площадь, занимаемая контейнерами, что дало возможность перед помещением в них животных оставлять их на несколько минут на пластине для угасания ориентировочных реакций агрессии. Изнутри каждый контейнер был оклеен поролоном, препятствующим травме животных в процессе вращения. Крышка контейнера закрывалась на специальную защелку, на задней стенке имелось отверстие для хвоста. График воздействия перегрузок включал 11 «площадок» продолжительностью от 3 до 60 с. Величина создаваемой перегрузки составляла от 4,0 до 6,0 ед., градиент нарастания и спада 0,4–0,6 ед./с. Между 3-й, 4-й, 5-й, 6-й, 7-й и 8-й «площадками» были предусмотрены остановки центрифуги на протяжении 10 с.

Экспериментальная неделя включала 3 экспериментальных дня и дни, свободные от вращений, в которые проводились прогулки, взвешивание, контроль за состоянием животных. В день эксперимента вращение осуществлялось трижды, с 2 перерывами по 20 мин, что соответствовало регламентации летной работы при 3 полетах в смену. Эксперимент состоял из 3 серий опытов: острой, и 2 хронических на протяжении 13 и 26 нед. Исследования проводились в соответствии с программами Комиссии по биоэтике и с соблюдением основных биоэтических правил.

Животных забивали декапитацией в условиях наркоза через 20 мин после окончания воздействия (времени, необходимого для оценки поведенческих реакций, после вращения на центрифуге).

Забор материала проводили сразу после забоя животных под бинокулярной лупой, предварительно разрушив твердую мозговую оболочку в области диафрагмы турецкого седла.

Для электронной микроскопии кусочки аденогипофиза фиксировали в четырехокиси осмия по Конфилду, а затем заливали в смесь метилбутилкрилаты (1:4) и аралдит. Полутонкие и ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме LKB-5. Из гистологических методик были использованы окраски полутонких срезов гематоксилином, метиленовым синим, а также трехцветная окраска (метиленовый синий, основной фуксин, азур II) [13]. Полутонкие срезы изучали под световым микроскопом Opton. Ультратонкие срезы изучали на электронных микроскопах JEM-100 и Hitachi в трансмиссионном режиме. Ультраструктуру секреторных клеток и стенки капилляров железы исследовали с использованием электронных микроскопов. Стереометрические исследования площади, занимаемой сосудами аденогипофиза, проводили с помощью комбинированной сетки по общепринятой методике на окрашенных полутонких срезах [14]. Цифровой материал подвергался статистической обработке с помощью параметрических методов.

Результаты и обсуждение

Светооптически в аденогипофизе крыс контрольной группы были выявлены аденоциты, а также кровеносные капилляры, описанные в литературе, как сосуды синусоидного типа. Степень окраски аденоцитов значительно варьировалась. Замечено, что ядра и цитоплазма клеток, находящихся в непосредственной близости к стенке капилляров, чаще окрашивались более интенсивно, чем у аденоцитов, находящихся на удалении от сосудов. Встречались клетки, в цитоплазме которых гранулы были единичны или же совсем не выявлялись (агранулярные клетки). Цитоплазма отдельных аденоцитов изобилвала интенсивно окрашенными гранулами.

В просвете капилляров аденогипофиза животных выявлялись единичные клетки крови (преимущественно эритроциты). Часть сосудов находилась в «спавшемся» состоянии, их узкий просвет лишен клеточных элементов крови, из-за чего в подобном состоянии их трудно было причислить к синусоидам (рис. 1, А).

Для типирования аденоцитов передней доли гипофиза использовали полученные данные электронной микроскопии клеток железы. Наиболее надежными ультраструктурными признаками являлись форма клетки и ядра, а также размеры зрелых секреторных гранул.

В соответствии с целью данной работы обращали внимание преимущественно на соматотропные (соматотропоциты) и аденокортикотропные (адренокортикотропоциты) клетки, которые обладали отчетливыми ультраструктурными цитотипическими признаками, описанными в исследованиях отечественных и зарубежных авторов у человека и различных животных [12, 15].

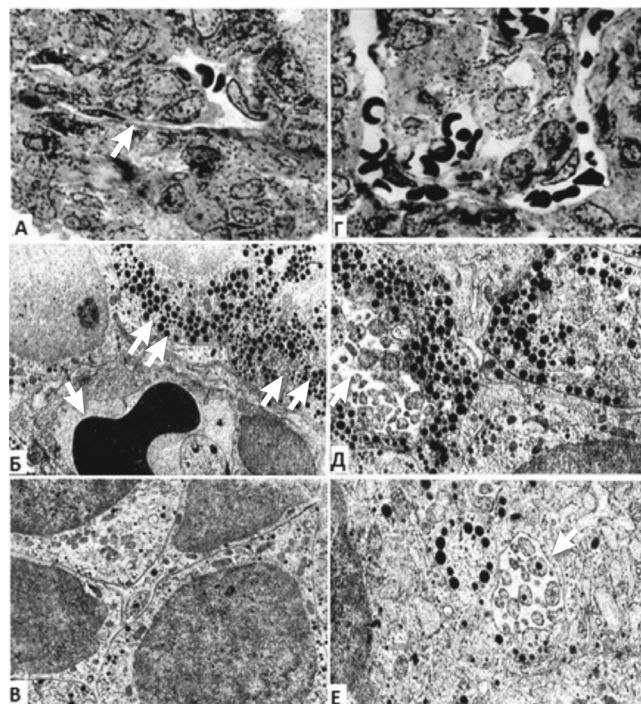


Рис. 1. Сосуды и аденотропоциты гипофиза крысы (А–В – контроль; В–Д – острое воздействие перегрузок). А – капилляр с узким просветом, «спавшийся» (стрелка), x 400; Б – просвет капилляра (стрелка) и фрагменты соматотропоцитов (стрелки), x 8 000; В – группа аденокортикотропоцитов гипофиза, x 8 000; Г – капилляры с широким просветом («раскрытые»), заполненные эритроцитами, x 400; Д – фрагмент цитоплазмы соматотропоцита с признаками гипертрофии комплекса Гольджи (стрелки), x 8 000; Е – интрацеллюлярная полость в цитоплазме аденокортикотропоцита, содержащая просекреторные гранулы (стрелка), а также полость со зрелыми секреторными гранулами, x 8 000

Соматотропоциты крыс имеют округлую или овальную форму. Цитолеммы соседних аденоцитов разделены очень узкими, а поэтому слабо различимыми межклеточными щелями, как правило, лишенными секреторных гранул. Ядра таких клеток сферические, иногда продолговатые, ядрышко расположено в центральной части кариолеммы или эксцентрично. В цитоплазме секреторные гранулы крупные, преимущественно электронно-плотные, с четкими контурами, лишь единичные из них более мелкие, будучи частично растворимыми, имели размытые края. Гранулы занимают как центральные, так и периферические отделы цитоплазмы, между ними располагаются митохондрии, имеющие округлую, овальную или палочковидную формы (см. рис. 1, Б). Комплекс Гольджи слабо развит.

В отличие от соматотропных клеток, аденокортикотропоциты – клетки преимущественно звездной формы. Их цитоплазма нередко продолжается

Таблица

Площадь сосудов аденогипофиза после воздействия ГП ($X \pm x_m$, %)

Серия	Эксперимент	Контроль
I – острое воздействие	26,9 ± 1,9	7,6 ± 0,53**
II – хроническое воздействие 13 нед	32,4 ± 2,4	5,3 ± 0,41**
III – хроническое воздействие 26 нед	12,7 ± 0,58	6,2 ± 0,44*

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

в отростки. Эти клетки одноядерные, ядерный хроматин равномерно распределен в кариоплазме – эухроматин. Цитоплазматический матрикс обладает умеренной электронной плотностью или же светлый. Комплекс Гольджи выявляется в виде светлых единичных вакуолей. Наиболее многочисленными органеллами являются митохондрии. Они содержат компактно упакованные кристы достаточно высокой электронной плотности. Секреторные гранулы таких клеток мелкие, малочисленные, располагаются преимущественно по периферии цитоплазмы (см. рис. 1, В) Такие же секреторные гранулы видны на ультратонких срезах отростков аденоцитов. Гранулярная сеть слабо развита, свободные рибосомы располагаются в цитоплазме, местами образуя малочисленные розетки. Мультивезикулярные тельца единичные, без электронно-плотного содержимого. Стенка капилляров представлена клетками эндотелия фенестрированного типа, расположенными на базальной мембране (см. рис. 1, Б).

Все животные I серии опытов после вращения на центрифуге (острое воздействие) остались живы. У большинства крыс были отмечены проходящие явления атаксии и дрожание конечностей. В этой же серии выявили раскрытие и расширение просвета капилляров аденогипофиза, а также наполнение их просвета эритроцитами (см. рис. 1, Г). При этом площадь, занимаемая капиллярами железы, оказалась увеличенной более чем в 3,5 раза по сравнению со значением данного показателя у контрольных животных (таблица).

В структурах аденоцитов при светооптическом исследовании наблюдали частичную дегрануляцию цитоплазмы клеток, находящихся в непосредственной близости к капиллярам.

При проведении электронной микроскопии выявили признаки гипертрофии комплекса Гольджи, преимущественно в цитоплазме соматотропоцитов, наличие в его структурах просекреторных гранул. Периферические отделы цитоплазмы содержали значительное количество секреторных гранул, а также митохондрии, по форме и размерам не отличающиеся от таковых у контрольных животных (см. рис. 1, Д).

В отдельных аденоцитах комплекс Гольджи был особенно гипертрофирован, он располагался в центре цитоплазмы или же смещен к ее периферии. В

структурах комплекса образовались широкие пространства – полости, заполненные просекреторными гранулами. Промежутки между гранулами имели низкую электронную плотность. Другие полости были заполнены зрелыми электронно-плотными гранулами различных размеров и распыленным между ними мелкозернистым содержимым. Такие полости, вероятно, являются интрацеллюлярными депо секреторного материала, частично растворенного и пригодного для выведения из цитоплазмы. Малочисленные секреторные гранулы, находящиеся вне структур комплекса Гольджи, отчетливо контурируют на фоне расширенных канальцев эндоплазматической сети. Как и у контрольных животных, в перикапиллярном пространстве аденогипофиза крыс I серии секреторные гранулы единичны.

Выявленные изменения на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях расцениваем в качестве первично-оперативной реакции на воздействия относительно кратковременного стрессорного фактора. Выраженных деструктивных изменений в аденогипофизе у животных I серии обнаружено не было.

При воздействии перегрузок в течение 13 нед (II серия) все животные остались живы, однако, как правило, у них отмечали заторможенность, адинамию, понижение интереса к пище в первые 2–3 ч после эксперимента.

Как и в предыдущей серии, площадь, занимаемая сосудами железы оказалась увеличенной (см. табл.). Однако, в отличие от острой серии, было выявлено расширение межклеточных щелей, а также выход в их просвет электронноплотных секреторных гранул путем экзоцитоза. Часть из них контурировалась четкими краями, другие же, как правило, более мелкие, находились в состоянии растворения (рис. 2, А). Такие межклеточные щели, по нашему мнению, являются дополнительными путями транспорта секрета в перикапиллярные пространства. Подобные процессы, направленные на усиление выведения секреторного материала из аденоцитов, вероятно, можно расценивать в качестве одного из ультраструктурных проявлений развивающегося стресса. Наряду с этим полученные в работе данные позволили прийти к предположению, что секреторный процесс сводится не только к экзоцитозу (т.е. выведению секрета из клетки в межклеточные щели или

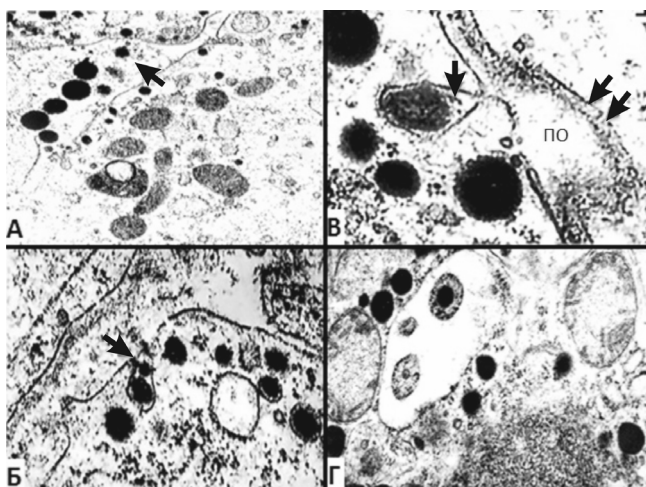


Рис. 2. Аденогипофиз крысы после воздействия перегрузок на протяжении 13 нед.

А – интерцеллюлярная щель между аденоцитомы гипофиза, содержащая гранулы различных размеров (стрелка), х 8 000; Б – секреторные гранулы (стрелки) в инвагинации цитолеммы с открытым входом, х 8 000; В – секреторная гранула в цитоплазме аденоцита, окруженная мембраной (стрелка), связанной с цитолеммой, ПО – перикапиллярный отек, базальная мембрана (стрелка), х 10 000; Г – полость в цитоплазме аденоцита с единичными просекреторными гранулами. Редукция крист митохондрий, х 10 000

непосредственно в перикапиллярное пространство). Неоднократно приходилось наблюдать в ультратонких срезах картины обратного транспорта секреторных гранул из перикапиллярного пространства в цитоплазму аденоцитов. В одних случаях гранулы (иногда частично растворенные) выявлялись в углублениях цитолеммы, направленных в строму цитоплазмы, но не изолированных от перикапиллярного пространства (см. рис. 2, Б). В других случаях вход в углубления был закрыт вследствие смыкания краев цитолеммы аденоцита в зоне инвагинации (см. рис. 2, В). Таким образом, сама гранула оказывается в цитоплазме заключенной в мембрану, образованную участком цитолеммы секреторной клетки. В доступной литературе отсутствуют подобные описания эндоцитоза секреторных гранул в клетки аденогипофиза, имеются лишь предположения о том, что такой процесс нельзя исключить. Трактовка данного явления затруднена из-за отсутствия информации. При этом следует отметить одну особенность – описанные картины чаще встречались в участках, где имеются ультраструктурные признаки локального перикапиллярного отека.

В самих аденоцитах изменения были полиморфны. Встречались адренокортикотропоциты, в цитоплазме которых гранулы немногочисленны, они находились вблизи внутренней поверхности

цитолеммы. В этих же клетках отмечали бесструктурные участки, матрикс цитоплазмы в целом по сравнению с контролем имел более низкую электронную плотность.

В цитоплазме обнаружили наполовину пустые интрацеллюлярные полости с единичными просекреторными гранулами в их просвете. Отмечали частичную деструкцию и гомогенизацию их крист, а также наружной мембраны митохондрий (см. рис. 2, Г).

В отдельных соматотропоцитах контуры ядра были локально размыты, ядерный хроматин представлен гомогенной мелкозернистой массой. Цитоплазма таких клеток была деструктивно изменена, по ее периферии встречались бесструктурные участки. Подобные изменения аденоцитов нельзя назвать первично-реактивными, скорее они укладываются в картину паранекроза. Вследствие деструкции части митохондрий клетка, вероятно, потеряла способность освободиться от секреторных гранул, часть из которых обводнены, края их нечеткие.

В III серии (вращение животных на протяжении 26 нед) было установлено снижение переносимости животными перегрузок. Шесть крыс данной серии погибли во время вращений, начиная с 21-й по 26-ю неделю. У животных, которые остались живы после вращений, наблюдались вегетативные проявления в виде уриаций и дефекаций, дрожание конечностей, малая подвижность, а также снижение интереса к окружающей обстановке, что особенно было несвойственно для крыс с исходно высокой энтропией поведения.

В аденогипофизе доживших до конца эксперимента животных, как и в предыдущих сериях, выявили более высокие значения показателя площади, занимаемой капиллярами по сравнению с контролем (см. табл.). В отличие от животных I и II серий, впервые были обнаружены ультраструктурные проявления деструкции цитолеммы эндотелиоцитов капилляров, обусловленные снижением их резистентности к воздействиям перегрузок. Чаще такие изменения занимают ограниченные участки цитолеммы (рис. 3, А). Обращает внимание, что ультраструктура цитоплазмы такой клетки, и в частности митохондрии, у места повреждений, не претерпела существенных изменений. Этот факт позволяет предположить, что локальное понижение резистентности цитолеммы от перегрузок может проявиться не только при жизни животного, но также и в процессе подготовки материала к электронной микроскопии.

Наряду с описанным вариантом локальной деструкции цитолеммы эндотелиоцитов, наблюдали более обширные разрушения участка цитоплазмы на всю глубину, вплоть до базальной мембраны. Последняя выглядела утолщенной и отечной. В прилежащих к измененной базальной мембране

аденоцитах отмечали бесструктурные участки цитоплазмы, а также частично растворенные секреторные гранулы (см. рис. 3, Б).

В цитоплазме отдельных аденоцитов были выявлены лизосомы, связанные с каплями липидов (см. рис. 3, В). Вокруг таких комплексов обнаруживались лишенные структур и электронной плотности участки, чередующиеся со скученными и частично разрушенными митохондриями. Такие бесструктурные участки являются свидетельством внутриклеточного аутолиза, вызванного действием лизосомальных ферментов, вышедших через поврежденные лизосомальные мембраны.

При светооптическом исследовании (окраска срезов трехцветной окраской) были определены группы аденоцитов с гидропическими изменениями. Светлые вакуоли различных размеров, сливаясь, образовывали внутриклеточные полости, занимающие большую часть площади цитоплазмы (см. рис. 3, Г). Рядом с измененными клетками можно было видеть аденоциты с обычной структурой ядра и цитоплазмы.

Результаты экспериментального исследования, вскрывшие динамику преобразований капиллярного русла аденогипофиза крыс в условиях моделирования гравитационного стресса, показали, что во всех 3 стадиях эксперимента площадь, занимаемая сосудами аденогипофиза, превышала контрольный уровень. При этом расширенный просвет сосудов практически всегда изобилует форменными элементами крови, что свидетельствует о полнокровии гипофиза.

Изменения аденоцитов в условиях острого гравитационного стресса можно расценить как первично-реактивные. Другие авторы при относительно непродолжительном действии стрессоров наблюдали ультраструктурные изменения в аденоцитах (кортикотропocyтах), напоминающие описанные нами при ОГС [9]. Существует точка зрения, что при остром стрессе после первоначального стимулирующего эффекта обнаруживается ингибирование всех гормонов передней доли гипофиза, кроме адренокортикотропного гормона (АКТГ), который проявляет в этих условиях активность и вместе с пролактином отражает истинную картину стресса [8]. При сопоставлении этих данных с результатами ультраструктурных изменений в кортикотропocyтах, можно предположить, что острый стресс сопровождается преимущественно адаптивными изменениями в этих клетках.

В отличие от острого гравитационного стресса, при развивающемся и особенно развитом стрессе помимо полнокровия капилляров встречаются картины деструкции цитолеммы эндотелиоцитов стенки этих сосудов, обусловленной снижением ее резистентности в процессе систематического воздействия перегрузок. Этими нарушениями объясняется

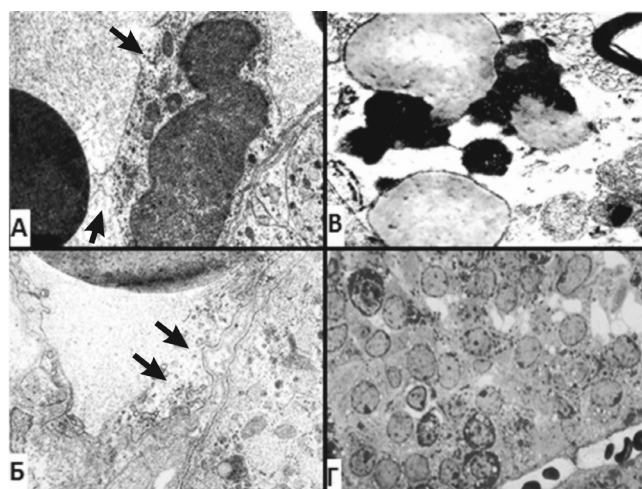


Рис. 3. Состояние стенки капилляров аденогипофиза крысы после воздействия перегрузок на протяжении 26 нед. А – локальная деструкция цитолеммы эндотелиоцита капилляра (стрелки), $\times 10\,000$; Б – деструкция цитолеммы и цитоплазмы эндотелиоцита (стрелка), $\times 12\,000$; В – лизосомы (аутофагосомы), связанные с каплями липидов в цитоплазме аденоцита, $\times 12\,000$; Г – вакуолизация цитоплазмы аденоцитов, $\times 400$

развитие субэндотелиального и перикапиллярного отека и как следствие внутриклеточной гипоксии, способствующей частичной деструкции митохондрий, а также лизосом, связанных с появившимися в цитолемме клеток аденогипофиза капель липидов. Разрушение лизосом неизбежно приводит к высвобождению гидролитических ферментов, что становится в свою очередь причиной разрушения мембран цитоплазматических органелл, и как следствие внутриклеточному метаболическому отеку [16]. Следствием внутриклеточной гипоксии объясняется и появление признаков гидропической (вакуольной) дистрофии в аденоцитах, выявленной нами при хроническом гравитационном стрессе.

Факт развития дистрофии и даже гибели аденоцитов в передней доле гипофиза в условиях хронического гравитационного стресса (ХГС) согласуется с результатами исследований авторов, которые наблюдали подобные изменения в соматотропocyтах и кортикотропocyтах при продолжительных стрессорных воздействиях [4, 9]. Было доказано, что именно уровень АКТГ снижается после повторных воздействий одного и того же (гомотипического) фактора [11]. Поэтому есть основания предположить, что уменьшение уровня гормона может быть следствием снижения надежности структурных резервов аденоцитов и оси гипоталамус – гипофиз – надпочечник в целом.

Поскольку такие изменения развиваются в процессе систематического воздействия перегрузок, следует считать их кумулятивными, способствующими

нарушению нормальной жизнедеятельности клеток, торможению синтеза секреторных гранул в них. Наряду с отмеченными деструктивными изменениями части эндотелиальных и железистых клеток, все же большая часть из них имеют обычное строение.

Выводы

1. При моделировании острого гравитационного стресса в передней доле гипофиза установлено увеличение площади сосудистого русла в 3,5 раза по сравнению с контролем, обусловленное раскрытием просвета части капилляров железы и наполнением их форменными элементами крови.

В кортикоцитах и соматотропоцитах развиваются первично-реактивные изменения (гипертрофия) комплекса Гольджи, расширение канальцев эндоплазматического сети, отражающие начальные ультраструктурные проявления адаптации на клеточном уровне. Выраженных деструктивных изменений в стенке капилляров и исследованных аденоцитах при ОГС не обнаружено, что, вероятно, является закономерным явлением для острых реакций, вызванных также другими стрессовыми факторами.

2. Хронический гравитационный стресс сопровождается широким диапазоном компенсаторных и декомпенсаторных структурных преобразований в стенке переполненных кровью капилляров и аденоцитах железы. При развивающемся ХГС (II серия) в части соматотропоцитов и кортикотропоцитов изменения ядра и цитоплазмы соответствуют картине паранекроза (локальные повреждения кариолеммы, мелкозернистая тотальная гомогенизация ядерного хроматина, деструкция митохондрий). Выявленные структурные изменения вызывают комплекс компенсаторных преобразований на клеточном, межклеточном, органном уровнях. К ним в первую очередь относим выведение секреторных гранул из цитоплазмы аденоцитов в просвет уже расширенных межклеточных щелей и их дальнейший транспорт в перикапиллярное пространство. Структура других аденоцитов данного ряда изменена незначительно, что отражает их структурную устойчивость к действию стрессора.

Развитой ХГС (III серия) вызвал сочетание резкого снижения переносимости животными перегрузок, появление отличных от I и II серий деструктивных изменений в виде разрушения цитоплазмы эндотелиоцитов стенки отдельных капилляров, перикапиллярного отека, обеднения цитоплазмы аденоцитов секреторными гранулоцитами, вплоть до их полного исчезновения, развитие в цитоплазме аутолитических и гидролитических процессов, что в целом может способствовать снижению надежности структурных резервов железы.

3. Результаты данного экспериментального исследования должны учитываться при объяснении механизмов снижения концентрации гормонов

аденогипофиза у лиц, систематически подвергающихся воздействию перегрузок. При этом следует иметь в виду то обстоятельство, что хронический стресс сопровождается не только функциональными, но также существенными дезадаптивными структурными изменениями в железе-регуляторе, обусловленными кумуляцией нарушений от систематического воздействия перегрузок.

Список литературы

1. Дильман В.М. Большие биологические часы. 2-е изд. М., 1986.
Dil'man V.M. Big biological clock. 2nd ed. Moscow, 1986.
2. Пащенко П.С. Регуляторные системы организма в условиях гравитационного стресса (морфофункциональный аспект). СПб.; Салехард, 2007.
Pashchenko P.S. Regulatory systems of the body in conditions of gravitational stress (morpho-functional aspect). St. Petersburg; Salekhard, 2007.
3. Воронин Т.С., Власов В.Д. Вегетативная дистония в практике врачебно-лётной экспертизы // Медицина и авиация. М., 1997. С. 11–19.
Voronin T.S., Vlasov V.D. Vegetative dystonia in the practice of medical flight examination // Medicine and aviation. Moscow, 1997. P. 11–19.
4. Алексеев Е.И. Морфофункциональные изменения в аденогипофизе вывешенных крыс под влиянием опорных нагрузок // Авиакосм. и экол. мед. 2002. Т. 36. № 4. С. 47–50.
Alekseev E.I. Morpho-functional changes in the anterior pituitary of rats posted under the influence of bearing loads // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2002. V. 36. № 4. P. 47–50.
5. Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? // CNS Neurol. Disord. Drug Targets. 2006. V. 5 (5) P. 485–501.
6. Armario A., Vallès A., Dal-Zotto S. et al. A single exposure to severe stressors causes long-term desensitisation of the physiological response to the homotypic stressor // Stress. 2004. V. 7 (3). P. 157–72.
7. Bao A.M., Meynen G., Swaab D.F. The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus // Brain Res. Rev. 2008. V. 57 (2). P. 531–553.
8. Martí O., Armario A. Anterior pituitary response to stress: time-related changes and adaptation // Int. J. Dev. Neurosci. 1998. V. 16 (3–4). P. 241–260.
9. Рожков И.Н., Борецкий Г.Г. Ультраструктурные изменения кортикотропных аденоцитов гипофиза при длительном действии красного шлама // Вестник Авиценны. 2017. Т. 19. № 2. С. 240–244.
Rozhkov I.N., Boretsky G.G. Ultrastructural changes corticotrophin adenocytes of the pituitary gland with prolonged action of red mud // Vestnik Avitsenny. 2017. V. 19. № 2. P. 240–244.
10. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М., 1988.

Meyerson F.Z., Pshennikova M.G. Adaptation to stressful situations and physical loads. Moscow, 1988.

11. Котовская А.Р. Признаки негативных эффектов кумуляции у человека и животных при действии перегрузок разного направления применительно к практике авиационных и космических полётов // Авиакосм. и экол. мед. 2015. Т. 49. № 6. С. 14–18.

Kotovskaya A.R. Signs of negative effects of cumulation in humans and animals under the action of overloads of different directions in relation to the practice of aviation and space flights // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2015. V. 49. № 6. P. 14–18.

12. Бобрышева И.Н. Ультраструктурная характеристика аденогипофиза белых крыс на разных этапах постнатального развития // Морфология. 2013. Т. VII. № 3. С. 27–32.

Bobrysheva I.N. Ultrastructural characteristic of adenohypophysis of white rats at different stages of postnatal development // Morfologiya. 2013. V. VII. № 3. P. 27–32.

13. Humphrey D.C., Pittman F.E. A simple methylene blue – azure II – basic fuchsin stain for epoxy – embedded tissue sections // Stain Technol. 1974. V. 49. № 1. P. 9–14.

14. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. М., 1980.

Avtandilov G.G. Introduction to quantitative pathological morphology. Moscow, 1980.

15. Гордиенко В.М., Козырницкий В.Г. Ультраструктура желез эндокринной системы. Киев, 1978.

Gordienko V.M., Kozyrnitskiy V.G. Ultrastructure of the glands of the endocrine system. Kiev, 1978.

16. Цыган В.Н., Камилова Т.А., Скальный А.В. и др. Патофизиология клетки. СПб., 2014.

Tsygan V.N., Kamilova T.A., Skal'ny A.V. et al. Pathophysiology of cell. St. Petersburg, 2014.

STRUCTURAL MANIFESTATIONS OF THE SECRETORY PROCESS IN THE ADENOHYPOPHYSIS ON THE BACKGROUND OF GRAVITATIONAL STRESS MODELING

Sukhoterin A.F.¹, Pashchenko P.S.^{2, 3}

¹Branch No. 3 of the FSBI «3 Central military clinical hospital of A.A.Vishnevsky»

²Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg

³St. Petersburg Polytechnic University

The paper discusses structural transformations in the iron controlling adenohypophysis on the background of modeled acute and chronic hypergravitational stress. The effects of overloads were carried out according to the proven method (P.S. Pashchenko, 1995). Tissues from white outbred male rats were subject to light and electron microscopy and morphometry; the resulted data were analyzed statistically. Acute gravitational stress manifested itself predominantly by changes on the pattern of primary reaction in somatotropocytes and adrenocorticotropocytes, and overflow of the gland capillary lumens with corpuscles. Chronic gravitational stress from systematic exposure to +Gz loads over 26 weeks entailed cumulation of destructive transformations in adenocytes and walls of adenohypophysis capillaries that can lead to impairment of the whole hypophysis-adrenocortical system.

Key words: adenohypophysis, +Gz loads.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 54–61.

Поступила 06.05.2019

УДК 537.632/.636+537.852.3+612.087+612.171.1+612.172.2

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ПЕРИОДИЧЕСКОГО ГЕОМАГНИТНОГО ПОЛЯ МИЛЛИГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Васин А.Л.¹, Шафиркин А.В.¹, Гурфинкель Ю.И.^{2, 3}

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

²Медицинский научно-образовательный центр Московского государственного университета

им. М.В. Ломоносова

³Институт космических исследований РАН, Москва

E-mail: alvasin07@rambler.ru

Представлены результаты исследования влияния искусственного переменного геомагнитного поля (ГМП) на частотах 1,11 и 1,67 мГц на показатели variability сердечного ритма (ВСР). В исследовании участвовали 3 группы мужчин-добровольцев по 10 человек в каждой, средний возраст от 32 до 35 лет. Для создания компенсированного ГМП использовалась установка с заданными характеристиками по одной компоненте. Регистрацию и анализ ВСР проводили с помощью аппаратуры комплекса телеметрической регистрации «Астрокард® – Телеметрия» холтеровского мониторинга электрокардиограммы.

При экспозиции в переменном ГМП наблюдали возрастание значений ряда показателей ВСР на 5–30 % от уровня до экспозиции. Данное возрастание зависело от исходных значений показателей. Всего 1-часовое пребывание человека в изменяющемся ГМП от естественных до нулевых значений приводило к активации регуляторных механизмов сердечного ритма вплоть до неудовлетворительной адаптации по отдельным показателям ВСР.

Ключевые слова: гипомагнитные условия, геомагнитное поле, variability сердечного ритма.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 62–69.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-62-69

Одной из проблем, связанных с обеспечением безопасности и сохранением здоровья членов экипажа при дальних космических полетах, в частности к Луне и Марсу, является отсутствие естественного для жизни на Земле геомагнитного поля (ГМП). В связи с планированием новых экспедиций эта проблема приобретает повышенную актуальность. Ближайшие экспедиции на Луну будут работать в магнитных полях (МП) с плотностью от единиц нТл на трассе полета до десятков нТл на поверхности Луны. На настоящий момент достоверно установлен факт биологической рецепции полей уровня 1000 нТл [1]. Предлагаемые модели взаимодействия МП с биологическими структурами кроме постоянной компоненты включают

также амплитуду и частоту переменной компоненты. Влияние переменной компоненты в земных условиях происходит в периоды геомагнитных вариаций и обусловлено солнечной активностью, создающей потоки заряженных частиц, изменяющих состояние земной магнитосферы. Наличие геомагнитных вариаций в естественных земных условиях может оказывать значимым для процессов жизнедеятельности живых систем. Например, в работе [2] отмечается, что в составе исследованного сигнала геомагнитной бури наибольшей биологической эффективностью обладали медленные флуктуации в диапазоне до 1 мГц (0,001 Гц), соответствующие главной фазе магнитной бури.

Наибольший интерес с точки зрения обеспечения безопасных магнитных условий при космических полетах к Луне и Марсу представляет влияние постоянных и переменных гипомагнитных условий (ГМУ) на сердечно-сосудистую систему человека. Интерес связан с тем, что в случае применения защитных средств от гипомагнитных условий при дальних космических полетах необходимы знания минимально необходимых амплитудных и временных параметров искусственного МП, создаваемого системами защитных средств. В земных условиях МП подвержено геомагнитным пульсациям, которые по физической природе являются гидромагнитными волнами, возбуждаемыми в магнитосфере Земли и в солнечном ветре. В большинстве случаев генерация устойчивых геомагнитных пульсаций типа Pc2–Pc5 связана с возбуждением резонансных колебаний силовых линий ГМП. Четкой связью с развитием геомагнитных суббурь обладают пульсации Pc5, которые имеют наибольшую амплитуду до 400 нТл, на частотах до 6 мГц. Наиболее часто резонансные колебания регистрируются на устойчивых дискретных частотах: 1,3; 1,9; 2,6 и 3,4 мГц [3]. При этом геомагнитные пульсации регистрируются и в ближнем космосе [4]. В связи с планированием космических полетов к Луне и Марсу возрастает

интерес к МП вне земной магнитосферы и их влиянию на здоровье будущих экипажей.

В работе [5] было показано, что уменьшение основного вектора МП до уровня 10 нТл в течение 1 ч увеличивало скорость капиллярного кровотока и длительность кардиоинтервалов. Однако на настоящий момент нет четких данных о влиянии длительно-периодических изменений естественного МП на сердечно-сосудистую систему (ССС) человека.

Целью данного исследования являлось определение влияния искусственного переменного геомагнитного поля (ПГП) на частотах, близких к геомагнитным пульсациям P_{c5}, на показатели вариабельности сердечного ритма (ВСР). Исследование было проведено в инициативном порядке в 2013 г. на базе Научного клинического центра (НКЦ) ОАО «РЖД» с ориентацией на План фундаментальных научных исследований Российской академии наук на 2013–2020 гг. по биологическим наукам, в части изучения механизмов воздействия МП, в том числе естественного ГМП, на различные биологические объекты.

Методика

Установка моделирования магнитных полей. Искусственное МП создавалось с помощью установки «Арфа». Система моделирования МП «Арфа» была создана в НКЦ ОАО «РЖД» в 2011 г., совместно с сотрудниками Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН на основе системы магнитной экспозиции человека [6].

Характеристики установки «Арфа» позволяют в течение нескольких часов давать либо стабильный уровень МП, либо заданное (записанное) воздействие по одной, продольной Z оси экспозиционного бокса. Установка может обеспечивать в том числе и компенсацию ГМП по этой оси (гипомагнитные условия). В рабочем положении угол наклона Z оси устройства равен локальному магнитному наклону, при этом вектор ГМП параллелен продольной оси сидящего обследуемого. Система дает возможность записывать и воспроизводить МП по Z оси до 50 мкТл. Заданный уровень МП поддерживается с точностью ± 10 нТл. Рабочий объем устройства экранирован от статического и низкочастотного электрического поля. Экран выполнен в виде натянутой параллельными рядами металлической изолированной проволоки с шагом 3 см.

Регистрация МП внутри системы «Арфа» осуществляется при помощи трехкомпонентного датчика (FL3-100, производитель Stefan Mayer Instruments), входящего в состав системы, и расположенного за спинкой кресла в области плечевого пояса обследуемого. Датчик совместно с аналого-цифровым преобразователем (АЦП) позволяет измерять индукцию МП с точностью $\pm 0,01$ мкТл.

Измеряемые значения индукции МП отображаются в рабочем окне программного обеспечения системы. В эксперименте регистрация МП по 3 компонентам проводилась непрерывно с частотой 1 кГц, с записью измерений в соответствующий текстовый файл, а также записывались средние значения магнитного поля за 1 с.

Параметры экспонирования устанавливаются заранее в соответствии с намеченным исследованием. Таймер устройства обеспечивает автоматическое отключение программы по истечении заданного времени.

Режимы воздействия. Согласно циклограмме обследуемый в течение исследования находился в 3 последовательно сменяемых режимах воздействующего ГМП. Это режимы: до изменения ГМП – режим Д; режим экспозиции переменного ГМП – режим Э; режим после экспозиции – режим П.

Режим Д начинался от момента размещения обследуемого в кресле установки до начала экспозиции, его длительность составляла 55 мин. Режим экспозиции (Э) длился 60 мин, режим после экспозиции (П) – 25 мин. Режимы Д и П – режимы естественного ГМП в день исследования, среднегрупповые значения которых, по Z компоненте равны $48,16 \pm 0,09$ мкТл. При анализе данных усреднение значений МП проводилось по результатам записи МП в режиме Д после выставления установки в рабочее положение.

В режиме экспозиции происходило гармоническое косинусоидальное изменение ГМП по Z компоненте с амплитудой от естественного значения 48 мкТл до 20 нТл. Амплитуда воздействия была одинакова для всех обследуемых в группе и воспроизводилась установкой «Арфа» из предварительно созданного файла.

Выбор частот воздействующего ГМП был обусловлен возможностью пребывания испытуемых-добровольцев в установке «Арфа» при 1-часовой экспозиции, а также с учетом известных фактов влияния геомагнитных бурь на здоровье человека. В эксперименте были выбраны 2 частоты, одна из которых является граничной частотой пульсации P_{c5} – 1,67 мГц (600 с), а вторая принадлежит пульсации P_{c6} на частоте 1,11 мГц (900 с). Первая частота 1,67 мГц соответствует длительности периода 10 мин, т.е. 6 периодов за 1-часовую экспозицию, – группа испытуемых 6П. Вторая частота 1,11 мГц соответствует длительности периода 15 мин, т.е. за 60 мин экспозиции происходит 4 периода изменения ГМП, группа испытуемых 4П.

Условия экспонирования для обеих частот по Z компоненте:

- максимум $48,22 \pm 0,47$ мкТл, $\sigma = 1,33$ мкТл;
- минимум $-0,02 \pm 0,00$ мкТл, $\sigma = 0,001$ мкТл.

Для контрольной группы экспозиция являлась мнимой, при которой изменения ГМП не было.

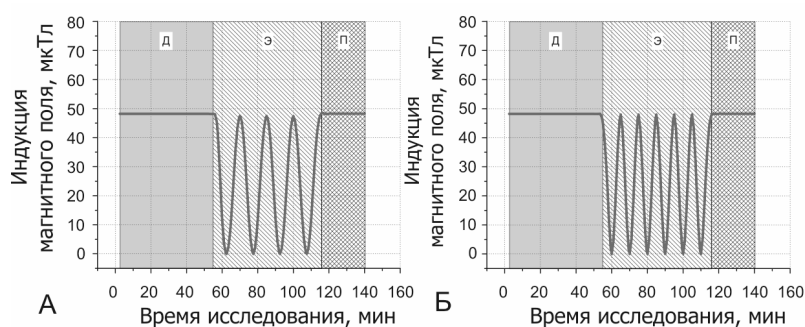


Рис. 1. Изменения Z компоненты ГМП в процессе исследования: А – для группы 4П (4 периода); Б – для группы 6П (6 периодов)

На рис. 1 представлено изменение МП Д – Э – П в исследовании по Z компоненте для 2 частот, усредненное по своей группе обследуемых.

Испытатели-добровольцы. В исследовании участвовали 3 группы добровольцев (группы 4П, 6П и К – контроль) по 10 человек, мужчины. Первые 2 группы (экспериментальные) были задействованы в исследовании воздействия переменных ГМУ на одной из 2 указанных выше частот. Группа 4П, средний возраст $33,5 \pm 7,9$ года, группа 6П, средний возраст $35,4 \pm 15,1$ года, средний возраст группы К (контроль) $32,2 \pm 6,7$ года.

Перед началом исследования каждому добровольцу была предоставлена информация о сути эксперимента. Однако о наличии или отсутствии воздействующего МП испыталы не были информированы, с тем чтобы эти сведения не могли сказаться на результатах. Каждый участник эксперимента подписал Информированное согласие, одобренное Комиссией по биомедицинской этике Научного клинического центра ОАО «РЖД».

Экспериментальные условия в исследовании. Положение испыталы в системе «Арфа» – сидя в кресле. Общее время исследования с момента наложения электродов холтеровского мониторинга около 140 мин.

Регистрация ЭКГ. Данные вариабельности сердечного ритма получены после обработки электрокардиограммы (ЭКГ) холтеровского мониторинга испыталы-добровольца. ЭКГ регистрировалась с помощью комплекса телеметрической регистрации «Астрокард® – Телеметрия» (ЗАО «Медитек», Россия). Комплекс предназначен для беспроводного непрерывного мониторинга ЭКГ в режиме реального времени. Комплекс включает в себя центральную станцию и носимый блок усилителей биопотенциалов. Телеметрическая центральная мониторинговая станция состоит из 2 специализированных компьютеров и позволяет:

- непрерывно отображать на экране ЭКГ испыталы;

- анализировать получаемую информацию с подачей сигналов тревоги на важнейшие нарушения ритма, проводимости, динамики ST;

- оперативно распечатывать фрагменты ЭКГ испыталы;

- сохранять записи всех испыталы в полном объеме в базе данных с возможностью последующей детальной ретроспективной обработки с использованием программ комплекса.

Аналитический блок «Астрокарда» после обработки данных записывал в текстовый файл данные 13 показателей ВСР – временные ряды средних значений. Средние значения определялись по 5-минутным периодам со скольжением в 2,5 мин. За 60 мин экспозиции анализировались 24 точки данных ВСР, а за все время исследования – 56 точек.

Исследуемые показатели ВСР. Были рассмотрены временные и частотные показатели ВСР, которые включали:

- среднюю величину нормального кардиоинтервала (КИ): – MeanNN;
- стандартное отклонение КИ – SDNN;
- среднеквадратическое отклонение между соседними интервалами – RMSSD;
- процент соседних интервалов с длительностью более 50 мс – pNN50.
- суммарную мощность спектра TP (Total Power);
- среднее значение очень низких частот – VLF (Very Low Frequency);
- значение низких частот – LF (Low Frequency);
- значение высоких частот – HF (High Frequency);
- отношение LF/HF.

Для каждого испыталы анализировались значения 9 показателей в каждом режиме для 3 групп.

Обработка данных. Сравнение результатов между группами проводили по средним значениям показателей ВСР с применением дисперсионного анализа ANOVA, с уровнем значимости $p < 0,05$.

Влияние отдельных частот гармонического ГМП также оценивали по уровню спектральной плотности мощности (СПМ) показателей ВСР для 3 режимов воздействия, в диапазоне, включающем исследуемые частоты.

Спектры вычислялись с помощью дискретного преобразования Фурье, при этом четное количество точек записи дополняли нулями до 64 для получения большего количества точек в спектре. Итоговый спектр рассчитывался при вычете из временного ряда линейного тренда и среднего значения рассматриваемой выборки. Сглаживание проводилось с помощью окна Хемминга по 5 точкам. Для каждого показателя ВСР был получен частотный спектр, содержащий 32 точки в диапазоне от

0,104 до 3,333 мГц для всех исследуемых режимов. Поскольку в режиме П (после экспозиции) регистрация ЭКГ ограничивалась 25 мин (10 точек измерений), то для адекватного сравнения средних значений спектров всех 3 режимов усреднение проводилось по значениям СПМ в частотном диапазоне 0,833–3,333 мГц (диапазон периодов 5–20 мин), который тем не менее включал частоты воздействующего ГМП. Сравнение режимов по спектрам также проводили на основе дисперсионного анализа с повторными измерениями с $p < 0,05$.

Полученные спектры показателей ВСР позволяли в динамике смены режимов воздействия до экспозиции – экспозиция – после экспозиции (Д–Э–П) – получить индивидуальные характеристики их изменений по отдельным частотам, провести кросс-спектральный анализ с переменным магнитным полем, что в дальнейшем анализе результатов ведет к определению индивидуальной чувствительности испытуемых к переменному ГМП.

Результаты и обсуждение

Ограничение подвижности испытуемого в процессе исследования в течение 140 мин в положении сидя в кресле установки априори влияет на сердечный ритм. Очевидно, что данные группы К в процессе смены режимов Д – Э – П отражали динамику изменений показателей ВСР в условиях гиподинамии. При нормировании значений ВСР всех групп на значения в режиме Д контроля была получена наглядная картина динамики изменений значений ВСР.

На рис. 2 (А, Б) представлены значения показателей BCP для всех 3 групп в процентных единицах от их уровня в контрольной группе режима Д. Из рисунка видно, что для группы К, при применении мнимой экспозиции, смена режимов Д – Э – П приводила к последовательному увеличению почти всех значений показателей BCP. Практически неизменным оставался лишь показатель MeanNN.

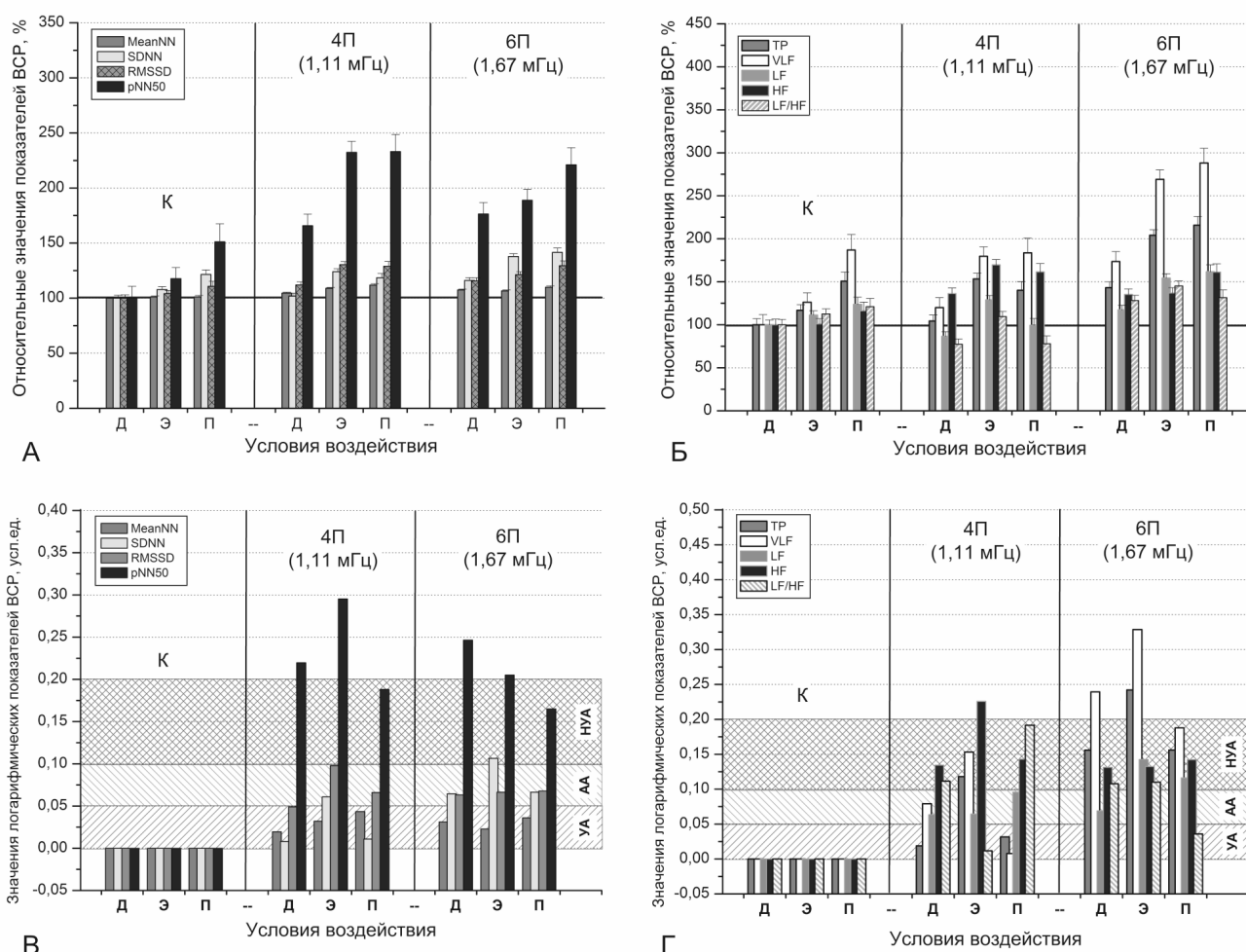


Рис. 2. Средние амплитудных значений показателей ВСП, нормированные относительно 100%-ного уровня контроля в режиме Д (%): А – для группы 4П (4 периода); Б – для группы 6П (6 периодов); В – логарифмический показатель в 3 режимах воздействия МП для временных показателей ВСП; Г – логарифмический показатель для спектральных показателей ВСП. УА – удовлетворительная адаптация; АА – активная адаптация; НУА – неудовлетворительная адаптация

Группы с воздействием гармонического МП показывали схожую динамику показателей, что предполагает влияние гиподинамии на результаты в этих группах. Вместе с тем значения показателей в экспериментальных группах даже в режиме Д (до воздействия) оказались для многих показателей выше, чем в контрольной группе. Это явилось свидетельством различия групп по степени адаптации к окружающим условиям.

Была проведена количественная оценка уровня адаптации экспериментальных групп по всем показателям ВСР по сравнению с нормальной или удовлетворительной адаптацией (УА) на основе степени выраженности напряжения регуляторных систем [7, 8]. Состояние адаптации групп к внешним условиям оценивали по обобщенному логарифмическому показателю (ОЛП) среднегрупповых значений [9, 10]. Логарифмический показатель показывает отклонение измеряемого показателя от его «нормального» значения, которое часто определяют по большой выборке здоровых людей того же возраста в нормальных окружающих условиях. Очевидно, что значение в норме отражает нормальную адаптацию, оптимальную, без напряжения, работу регуляторных механизмов. Превышение значения показателя выше определенного уровня свидетельствует о нарастании напряжения в его регуляции и переходу к активной адаптации (АА) или даже к неудовлетворительной адаптации (НУА) по отдельным показателям ВСР. В нашем случае для расчета ОЛП использовали средние значения показателей контрольной группы, причем, чтобы учесть «нормальное» изменение показателей в эксперименте при переходе от одного режима к другому, выбирали соответствующую норму в контрольной группе для каждого режима отдельно (см. рис. 2, В, Г).

При такой нормировке для контрольной группы (с нормальной УА) ОЛП равен нулю для каждого режима. Здесь выбор нормы обусловлен тем, что условия эксперимента для испытуемого в любом случае являются некоторым психологическим стрессом и влияют на «входные» показатели ВСР.

На рис. 2, В и Г выделены границы удовлетворительной, активной и неудовлетворительной адаптации (УА, АА, НУА). Градация уровней адаптации проведена на основе анализа границ, представленных в работах [9, 10]. Для средних амплитудных значений (см. рис. 2, В) у экспериментальных групп до экспозиции имеет место УА, поскольку значения временных показателей ВСР близки к контрольным, кроме рNN50, который демонстрирует изначально повышенный тонус парасимпатического звена регуляции, т.е. увеличенное напряжение этого регуляторного звена.

Для спектральных показателей (см. рис. 2, Г) имелись различия по группам до экспозиции. В группе 4П удовлетворительной адаптации соответствовали TP, VLF, LF, а в группе 6П – лишь LF.

То есть можно заключить, что на начальном этапе исследования (режим Д) группа 4П имела повышенную активность парасимпатического звена регуляции сердечного ритма по показателям рNN50 и HF, что в режиме экспозиции, видимо, способствовало дальнейшему увеличению активности парасимпатического звена регуляции сердечного ритма, а группа 6П имела повышенную активность всей вегетативной системы регуляции как парасимпатического, так и симпатического звена (особенно по показателям рNN50, TP, VLF, HF). По ходу исследования именно показатели TP и VLF выявили повышенную степень напряжения регуляции симпатического звена, превышающую границу активной адаптации. Для группы 6П экспозиция и период после экспозиции демонстрировали тенденцию к уменьшению напряжения регуляторных механизмов по рNN50.

Представленные на рис. 2 (А, Б) результаты не дают возможности в полной мере оценить влияние гармонического МП на вариабельность сердечного ритма из-за процессов, связанных с гиподинамией. Для учета изменений ВСР при гиподинамии было проведено двойное нормирование результатов по группам. Сначала было проведено нормирование на значения ВСР в контроле со 100%-ным уровнем в каждом режиме, что позволило учесть профиль отклика в исследовании при минимуме воздействия, так же как при расчете ОЛП, а затем нормирование на значения в режиме Д для каждой группы, что позволяло учитывать начальное состояние испытуемых в каждой группе. Результаты представлены на рис. 3 (А, Б).

Проведенное двойное нормирование дало возможность наблюдать в 2 группах эффект экспозиции гармонического МП. При этом видно, что в период экспозиции происходило увеличение показателей ВСР, а прекращение экспозиции вызывало снижение значений и приближение их к уровню до экспозиции. Наибольшее увеличение в группе 4П демонстрировал временной показатель рNN50 – 119 % и спектральный показатель LF – 134 %. Увеличение рNN50 указывает на усиление тонуса парасимпатического звена регуляции сердечного ритма, а показатель LF характеризует состояние симпатического отдела ВНС и отражает процесс контроля сосудистого тонуса вазомоторным центром [11]. То есть происходила активация обоих отделов ВНС, что, следовательно, должно было отражаться на вагосимпатическом балансе.

В группе 6П максимально увеличивались показатели SDNN – 110 % и VLF – 123 %. Показатель SDNN тестирует функцию разброса уровня функционирования синусового узла – разброс MeanNN. Показатель VLF отражает церебральное эрготропное влияние высших отделов коры головного мозга на регуляцию сердечного ритма, является чувствительным индикатором управления метаболическими

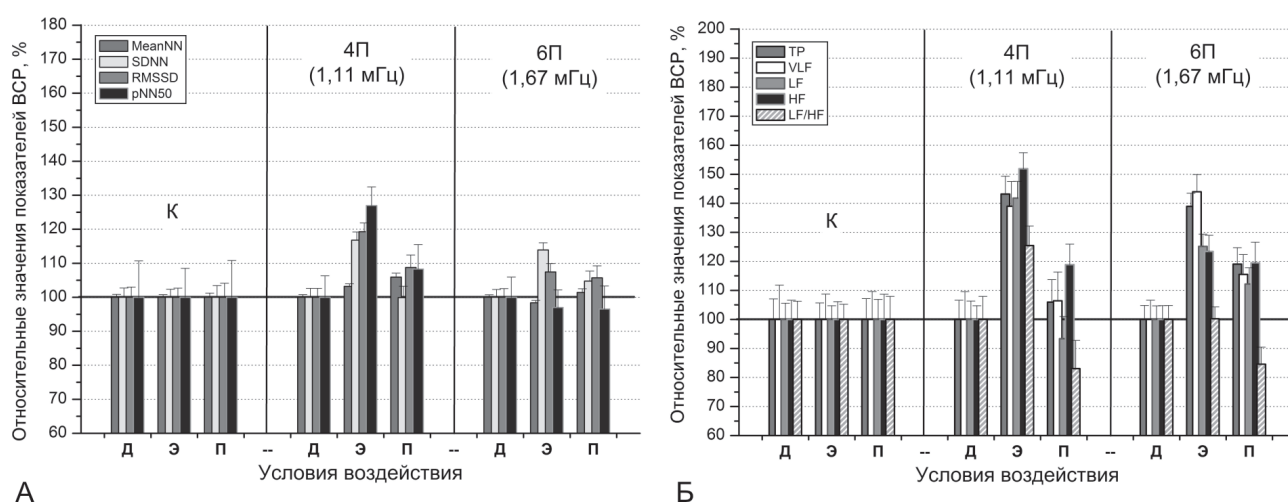


Рис. 3. Средние значения показателей ВСР в 3 режимах исследования Д – Э – П, нормированные относительно 100%-ного уровня контроля и уровня в режиме Д в каждой группе (%): А – временные показатели; Б – спектральные показатели

процессами и хорошо отражает энергодефицитные состояния [7, 8].

Таким образом, наблюдается статистически значимый эффект в группах испытуемых-добровольцев по отдельным показателям ВСР в сторону их увеличения при 1-часовой экспозиции в периодически изменяющихся ГМУ. Абсолютный эффект зависит от начального состояния ССС, т.е. активности регуляторных механизмов, и подобен адаптационной реакции на изменение внешних условий по типу общего адаптационного синдрома.

Полученные результаты влияния периодического ГМП на ВСР хорошо согласуются с известными данными литературы. Так, в работе [1], в которой анализируется биологическое действие слабых переменных МП, связанных с солнечной и геомагнитной активностью, утверждается, что «геомагнитные возмущения могут вызывать в человеческом организме неспецифическую реакцию по типу общего адаптационного синдрома, возникающего при воздействии любых внешних факторов, вызывающих стресс».

Дополнительно нами проведен частотный анализ показателей ВСР для каждого испытуемого в диапазоне 0,833–3,333 мГц, близком к пульсациям P_{с5}–P_{с6}. Значение СПМ соответствует квадрату амплитуды колебаний и отражает энергетические траты системы, возбуждающей колебания, т.е. активность (функциональное состояние) механизмов регуляции, для конкретного показателя. Спектральные плотности мощности были рассчитаны для всех показателей ВСР для каждого испытуемого во всех 3 группах. Усреднение спектральных значений проводилось по группе испытуемых и по указанному диапазону частот в соответствии с разделом обработки данных. Для сравнения групп спектры показателей были нормированы на

соответствующее значение в контрольной группе для каждого режима. Результаты анализа представлены на рис. 4 (А, Б).

Результаты по спектрам показали, что имеющиеся колебания длительности КИ (MeanNN) в экспериментальных группах в режиме экспозиции имели тенденцию к увеличению по сравнению с условиями до экспозиции. То есть при воздействующих геомагнитных колебаниях наблюдали тенденцию к увеличению спектральных значений MeanNN для 6П.

Размах колебаний других показателей (кроме показателя LF/HF) по уровню СПМ в режиме Э меньше или почти не изменялся в сравнении с режимом Д (до экспозиции). Особенностью рассмотренных спектров отдельных показателей проявлялось в значительном увеличении уровня спектра вегетативного баланса LF/HF при экспозиции МП, что подтверждает высказанное нами ранее предположение о влиянии на этот показатель активации обеих звеньев вегетативной регуляции сердечного ритма. По нашему мнению, повышение СПМ колебаний этого показателя свидетельствует об активной перестройке (подстройке) контуров регуляции сердечного ритма для адаптации к изменению МП. После завершения экспозиции активность перестройки заканчивается, уровень СПМ колебаний показателей падает ниже исходных значений, кроме показателя LF, характеризующего активность вазомоторного центра, т.е. сосудистая колебательная реакция системы кровообращения на периодичность МП более запаздывающая по сравнению с другими показателями ВСР.

Выводы

1. По среднегрупповым значениям ВСР выявлена реакция сердечного ритма на периодически

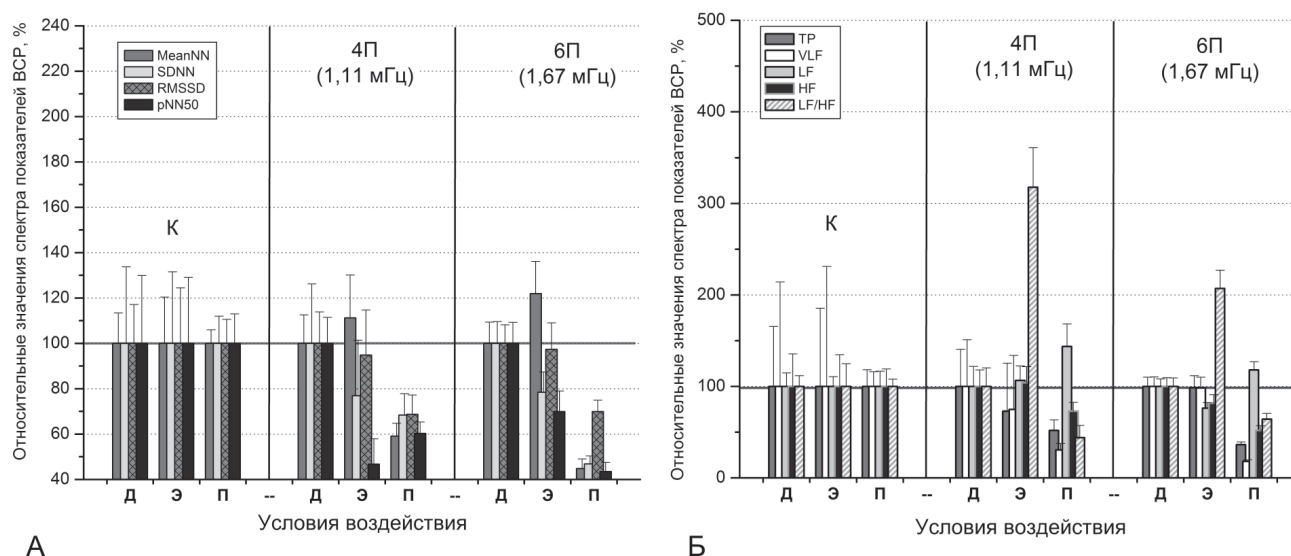


Рис. 4. Средние значения спектров показателей ВСР в диапазоне 0,833–3,333 мГц в 3 режимах исследования Д – Э – П, нормированные относительно 100%-ного уровня контроля и уровня в режиме Д в каждой группе (%): А – временные показатели; Б – спектральные показатели

меняющееся ГМП. В режиме экспозиции значения показателей ВСР возрастали на 5–30 % от уровня до экспозиции. Изменения абсолютных значений показателей в процессе смены экспериментальных режимов зависели от начальных значений до экспозиции, т.е. от среднего уровня групповой адаптации к внешним условиям.

2. Всего 1-часовое пребывание человека в ГМП, изменяющемся от естественных до нулевых значений, приводило к активации регуляторных механизмов сердечного ритма, вплоть до неудовлетворительной адаптации по отдельным показателям ВСР. После прекращения воздействия показатели постепенно (с разной скоростью) возвращались к исходным значениям.

3. Полученные результаты не позволили определить индивидуальные особенности изменений показателей ВСР на воздействие периодического ГМП.

4. Влияние короткопериодных экспозиций не дает представления об изменении состояния ССС при длительном воздействии ГМУ, характерных для дальних космических полетов. Для уточнения влияния длительной экспозиции переменных ГМУ необходимо проведение дальнейших исследований и в этом направлении.

Работа проведена в соответствии с программой фундаментальных исследований РАН.

Список литературы

1. Бреус Т.К., Бинги В.Н., Петрукович А.А. Магнитный фактор солнечно-земных связей и его влияние

на человека: физические проблемы и перспективы // Успехи физических наук. 2016. Т. 186. № 5. С. 568–576.

Breus T.K., Bingi V.N., Petrukovich A.A. Magnetic factor of solar-terrestrial connections and its influence on the person: physical problems and prospects // Uspekhi fizicheskikh nauk. 2016. V. 186. № 5. P. 568–576.

2. Крылов В.В. Биологические эффекты геомагнитной активности: наблюдения, эксперименты и возможные механизмы // Труды Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН. 2018. Вып. 82 (85). С. 5–30.

Krylov V.V. Biological effects of geomagnetic activity: observations, experiments and possible mechanisms // Transactions of Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS. 2018. Is. 82 (85). P. 5–30.

3. Клейменова Н.Г. Геомагнитные пульсации // Модели космоса / М.И. Панасюк, ред. М., 2007. Т. 1. С. 511–627.

Kleymenova N.G. Geomagnetic pulsations // Model space / M.I. Panasyuk, ed. Moscow, 2007. V. 1. P. 511–627.

4. Воронин А.А. Идентификация геомагнитных пульсаций PC-5 в точке стояния метеорологического геостационарного спутника «Электро» // Гелиогеофизические исследования. 2013. Вып. 3. С. 12–18.

Voronin A.A. Identification of PC-5 geomagnetic pulsations at the stand-point of the «Electro» meteorological geostationary satellite // Geliogeofizicheskie issledovaniya. 2013. Is. 3. P. 12–18.

5. Gurfinkel Yu.I., At'kov O.Yu., Vasin A.L. et al. Effect of zero magnetic field on cardiovascular system and microcirculation // Life Sci. in Space Res. 2016, V. 8. P. 1–7.

6. Саримов Р.М., Бинги В.Н., Милев В.А. Влияние компенсации геомагнитного поля на когнитивные процессы человека // Биофизика. 2008. Т. 53. Вып. 5. С. 856–866.

Sarimov R.M., Bingi V.N., Milyaev V.A. Effect of geomagnetic field compensation on human cognitive processes // Biofizika. 2008. V. 53. Is. 5. P. 856–866.

7. 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.

8. Баевский Р.М., Иванов Г.Г., Чирейкин Л.В. и др. Анализ вариабельности 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.

9. Васин А.Л., Шафиркин А.В., Сасонко М.Л. Метод анализа напряжения регуляции сердечного ритма с помощью обобщенного логарифмического показателя при холтеровском мониторировании электрокардиограммы // Авиакосм. и экол. мед. 2016. Т. 50. № 4. С. 54–62.

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 // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2013. V. 50. № 4. P. 54–62.

10. Васин А.Л., Шафиркин А.В. Количественные критерии перехода от нормы к патологии при хроническом действии физических факторов // Рад. биол. Радиоэкол. 2006. Т. 46. № 4. С. 498–507.

Vasin A.L., Shafirkin A.V. Quantitative criteria of transition from norm to pathology under chronic action of physical factors // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2006. V. 46. № 4. P. 498–507.

11. Национальные российские рекомендации по применению методики холтеровского мониторирования в клинической практике // Рос. кардиол. журнал. 2014. № 2 (106). С. 6–71.

National Russian guidelines on application of the methods of Holter monitoring in clinical practice // Rossiyskiy kardiologicheskyy zhurnal. 2014. № 2 (106). P. 6–71.

Поступила 24.12.2018

EFFECT OF ARTIFICIAL ALTERNATING GEOMAGNETIC FIELD IN THE MILLIHERTZ RANGE ON THE HEART RATE VARIABILITY INDICES

Vasin A.L.¹, Shafirkin A.V.¹, Gurfinkel Yu.I.^{2,3}

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

²Medical Scientific and Educational Centre of Lomonosov Moscow State University

³Space Research Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Investigations into the effect of artificial alternating geomagnetic field (GMF) with frequencies 1.11 and 1.67 mHz on cardiac rhythm variability (CRV) were performed with participation of 3 groups of 32–35 y.o. male subjects (n = 10 in each). GMF was compensated by an installation with one given component. Holter monitor and system Astrocard®-Telemetry were applied in CRV recording and analysis. The 5 to 30 % increase of CRV indices in alternating GMF correlated with initial values. Even 1 hour exposure in GMF alternating from natural to zero frequencies caused activation of the cardiac rhythm regulatory mechanisms.

Key words: hypomagnetic environment, geomagnetic field, cardiac rhythm variability.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 62–69.

УДК 550.388.2:556.114

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ВОДУ И ВНУТРЕНнюю СРЕДУ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Цетлин В.В., Степанова Г.П.

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

E-mail: v_tsetlin@mail.ru

Работа посвящена анализу динамики состояния воды высокой очистки, вызванной воздействием электромагнитного излучения (ЭМИ) окружающей среды.

Согласно наблюдениям доминирующим космофизическим фактором, воздействующим на земные живые системы, является ЭМИ ионосферной плазмы. Экспериментально установлено, что наблюдаемые окислительно-восстановительные реакции, протекающие в воде и различных коллоидных системах водной среды живых организмов, происходят в результате активации (возбуждения) молекул воды преимущественно под действием ЭМИ широкополосного ВЧ-диапазона от 100 кГц до ~50 МГц, которое может образовываться в ионосферной плазме. Мощность электромагнитного излучения ионосферной плазмы в ВЧ-диапазоне на несколько порядков выше мощности излучения солнечного происхождения, а земная атмосфера обладает достаточно высокой прозрачностью (превышающей 95–99 %) к ЭМИ в указанном частотном диапазоне.

Временная и пространственная вариабельности интенсивности излучения ионосферы могут быть связаны с изменением электронной плотности ионосферной плазмы. Не под воздействием таких параметров солнечной активности, как заряженные частицы солнечного ветра, рост числа активных областей на поверхности Солнца, описываемых числами Вольфа, и других комических факторов.

Ключевые слова: солнечная активность, электромагнитное излучение ионосферной плазмы, суточная и недельная вариабельность, окислительно-восстановительные реакции.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 70–76.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-70-76

Рассмотрена физико-химическая природа воздействия факторов окружающей среды на биосферу Земли. Следуя представлениям А.Л. Чижевского в природе биологических процессов, происходящих в земной биоте под влиянием факторов солнечной активности, лежат окислительно-восстановительные реакции. А.Л. Чижевский предполагал, что влияние космоса на биосферу может происходить в результате воздействия электромагнитного

излучения (ЭМИ), возникающего на поверхности Солнца из пятнообразующих активных областей [1]. Наряду с изучением закономерностей солнечно-земных связей влияния факторов окружающей среды на биоту [2], А.Л. Чижевский и последующие исследователи [3] при попытках решить проблему отыскания природного источника ЭМИ, столкнулись с безуспешными поисками «резонансных» частот солнечного ЭМИ. Причины возникшего неприятия идей А.Л. Чижевского о влиянии космоса на биосферу Земли непредвзято настроенными учеными, по мнению С.Э. Шноля [4], состояли в следующем: «...пренебрежимо малы изменения светового потока от Солнца к Земле при изменении числа и характера пятен. Пренебрежимо малыми оказались флуктуации межпланетного поля по сравнению с геомагнитным, даже при сильных магнитных бурях. Трудно было, да и сейчас трудно принять, что этими слабыми возмущениями могут быть обусловлены ощутимые изменения климата и других характеристик биосферы или физиологического состояния животных и растений».

Согласно наблюдениям последних лет, получено, что возможным доминирующим космофизическим фактором, воздействующим на земные живые системы, является ЭМИ ионосферной плазмы. Экспериментально установлено, что наблюдаемые окислительно-восстановительные реакции, протекающие в воде, и в том числе, естественно, в различных коллоидных системах водной среды живых организмов, происходят в результате активации (возбуждения) молекул воды преимущественно под действием ЭМИ широкополосного ВЧ-диапазона от 100 кГц до ~50 МГц, которое может образовываться в ионосферной плазме [5, 6]. Мощность ЭМИ ионосферной плазмы в ВЧ-диапазоне на несколько порядков выше мощности излучения солнечного происхождения, а земная атмосфера обладает достаточно высокой прозрачностью (превышающей 95–99 %) к ЭМИ в указанном частотном диапазоне. Временная и пространственная вариабельности интенсивности излучения ионосферы могут быть связаны с изменением электронной плотности

ионосферной плазмы Ne под воздействием таких параметров солнечной активности, как заряженные частицы солнечного ветра, рост числа активных областей на поверхности Солнца, описываемых числами Вольфа, и других космических факторов. Согласно фактам, накопленным в наших многолетних экспериментальных и теоретических исследованиях, показано, что влияние космоса на биосферу может происходить не только напрямую через воздействие ЭМИ, излучаемого, как предполагал А.Л. Чижевский, из пятнообразующих активных областей на поверхности Солнца.

По-видимому, в достижении понимания этого процесса заключена разгадка эффекта Чижевского. Отметим, что земная атмосфера обладает достаточной прозрачностью для ЭМИ радиодиапазона, которое постоянно регистрируют в окружающем околоземном космическом пространстве и даже у поверхности Земли. Так, в Национальном исследовательском центре Томского государственного университета круглосуточно измеряют потоки и спектр излучения ЭМИ в диапазоне от 1 до 30 МГц [7]. Опираясь на представления о процессах генерации ЭМИ этого диапазона частот, которые происходят в авроральной области ионосферной плазмы и верхних слоях земной атмосферы, а также учитывая высокую прозрачность атмосферы для такого излучения, можно сделать еще один шаг, необходимый для раскрытия происходящих в окружающем нас мире биофизических механизмов, прозорливо замеченных нашими выдающимися соотечественниками – академиком В.И. Вернадским и А.Л. Чижевским.

Из факторов, воздействующих на земную биосферу, практически только ЭМИ, образуемое преимущественно ионами и электронами ионосферной плазмы, по нашему мнению, может иметь прямое космическое происхождение, и в ближнем околоземном космическом пространстве у поверхности Земли только оно обладает свойством биотропности, т.е. определяющим возможность существования живых организмов. Кроме того, возрос энергетический вклад излучения фоновых техногенных источников, например, от ретрансляционных генераторов и приемно-передающих антенн, повсеместно расставленных не только вблизи домов населенных пунктов, но и в тайге и на открытых степных просторах, может на 1–2 порядка и более превосходить природный фон ЭМИ. Хотя, согласно нормативным документам, такие условия считаются безопасными, а само ЭМИ относят к неионизирующему, в действительности такое представление неточно отражает существо явления поглощения ЭМИ в водных средах. Несмотря на то что частотный диапазон космического и фонового ЭМИ лежит в далеком от больших резонансов в ВЧ-диапазоне, в водной среде организмов может происходить диссоциация молекул и образование

в значительных концентрациях таких оксидантов, как H^+ , H_3O^+ , H_2O_2 , $OH^\bullet$ и других продуктов их дальнейших реакций [8, 9]. Так, изменение водородного параметра pH может достигать 0,1–0,15, а окислительно-восстановительный потенциал может как возрасти, так и уменьшиться на 10–50 мВ [10]. Ограниченное время существования с момента возникновения ионы водорода могут заметно влиять на подвижность форменных элементов крови и состояние белков, в частности, их агрегатирование, скорость оседания крови и образование тромбов [11]. Повышение концентрации оксидантов в водной среде организмов неизбежно влияет, как известно, на иммунную систему, работоспособность человека и может вызывать много других неблагоприятных реакций на оксидантное «заражение» [11]. Исследования, проведенные в научном отделе медико-биологических проблем Кольского научного центра РАН (г. Апатиты Мурманской обл.), выявили, что свойства воды отражают индивидуальные показатели вариабельности сердечного ритма (BCP), а также психоэмоциональное состояние человека [12]. Разумеется, каждый живой организм имеет возможность снижать физиологические последствия возрастания концентрации положительных ионов в крови, мозге и других отделах, органах и тканях человека. Однако резервы индивидуальной антиоксидантной защиты организмов и возможности противостоять усиливающемуся в настоящее время окислительному прессингу факторов окружающей среды оказываются недостаточными.

Данная работа посвящена анализу динамики состояния воды высокой очистки, вызванной воздействием ЭМИ окружающей среды и измеренной в лабораторных условиях в Институте медико-биологических проблем РАН в Москве в период с 7 по 24 ноября 2017 г., и выполнена в рамках темы «СИРИУС».

Цель исследования: мониторинг воздействия электромагнитного фона окружающей среды на воду как дисперсионную среду всевозможных коллоидных растворов, составляющих основу жидких сред организма человека.

Задачи исследования: определение динамики влияния воздействия электромагнитных полей окружающей среды на биотропные (окислительно-восстановительные) свойства воды и внутренней водной среды организма живых систем в условиях изоляции и синхронные измерения свойств воды в нативных (нормальных) условиях вне изолирующего объема камер.

Методика

Методика мониторинга окислительно-восстановительных свойств воды и водной среды организма отрабатывалась в модельных исследованиях с

использованием комплекса аппаратуры, обычно применяемой в электрохимии и физической химии. В основу экспериментальных исследований положены круглосуточные измерения суточной динамики окислительных характеристик воды: электрических токов в электрохимических ячейках, водородного параметра pH и окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) воды, заполняющей стеклянные сосуды, установленные внутри лаборатории института вблизи помещений, в которых находились испыталители.

В состав аппаратуры для мониторинга радиационных условий среды обитания испыталителей входило устройство для измерения электрических токов в двухэлектродных электрохимических ячейках [10]. Электрохимические ячейки, представляющие собой стеклянные сосуды – бюксы, заполненные водой высокой очистки и имеющие притертые крышки для ограничения влияния циркуляции внешнего воздуха, содержали 2 металлических электрода, соединенные с источником постоянного тока и измерительной цепью, включающей блок усиления, аналого-цифровой преобразователь и персональный компьютер. Необходимо отметить, что, согласно представлениям, принятым в амперометрии (раздел электрохимии), электрические токи, протекающие в растворе, характеризуют скорости химических реакций, вызываемых воздействием фотонов ЭМИ, поступающих из окружающей среды.

В состав комплекса приборов, предназначенных для измерения окислительно-восстановительных свойств воды, входят промышленно выпускаемые ионометры марки И-160 МИ, включающие измерительные электроды, предназначенные для определения водородного параметра pH и ОВП воды. Каждый электрод, соединенный с ионометром с помощью специального кабеля, помещен в сосуд с исследуемой водой. Для записи данных измерений ионометры снабжены встроенными программами, которые позволяют проводить накопление данных измерений на жестких носителях персонального компьютера (ПК), а также построение графиков без участия операторов. Возможности метода допускают располагать в исследуемом объеме помещения только измерительную ячейку, состоящую из сосуда с водой и измерительного электрода. Два ионометра типа И-160 МИ снабжены комбинированными электродами для измерения ОВП или водородного параметра pH воды, помещены в сосуд с водой высокой очистки (исходная электропроводность воды 0,3 мкСм/см). Вода по замыслу постановщиков исследований на протяжении всего эксперимента служит сенсором, в котором измеряются характеристики процессов, моделирующих в электрохимических ячейках отклик живых систем на воздействие окружающей среды.

Приводимые ниже результаты исследований динамики окислительных свойств воды получены

в условиях, когда измерительные ячейки размещались на лабораторном столе без дополнительного специального металлического экрана. Практически, вода в ячейках подвергалась воздействию электромагнитных полей как природного, так и техногенного происхождения из окружающей среды.

Результаты исследований и обсуждение

Результаты непрерывных измерений токов и ОВП воды представлены на рис. 1 и 2.

Из данных, приведенных на рис. 1 и 2, видно, что при поглощении ЭМИ, поступающего в воду в межэлектродном промежутке из окружающей среды, происходит активация – повышение реакционной способности молекул воды, которая проявляется в непрерывном изменении окислительных свойств воды, в частности, в изменении концентрации основных ионов H^+ и OH^- . Необходимо отметить заметные отличия между характером кривых в выходные дни 11–13 и 18–19 ноября 2017 г. и в иные (рабочие) дни. В частности, в рабочие дни были заметны значительные вариации токов и окислительных параметров pH и ОВП. Предварительный анализ показывает, что в будние (рабочие) дни, когда в окружающем пространстве усиливается воздействие достаточно интенсивных техногенных источников ЭМИ, в ячейках увеличивается доля молекул воды, испытавших активацию. По-видимому, наличие дополнительно возбужденных молекул H_2O приводит к повышению чувствительности воды к воздействиям космофизических факторов, например, ЭМИ ВЧ-диапазона околоземной ионосферной плазмы. Активация молекул воды, вызванная поглощением в воде и водной среде живых систем фотонов ВЧ диапазона, может приводить к возбуждению электронных оболочек водных молекул, и, как показано в монографии [9], более частые столкновения активированных молекул воды с равновесными (неактивированными) молекулами могут сопровождаться передачей электронов и как следствие могут вызывать их диссоциацию, т.е. временное повышение концентрации H^+ и OH^- .

В период с 7 по 24 ноября 6 человек (3 мужчин и 3 женщины) участвовали в эксперименте с изоляцией при постоянном наблюдении за их состоянием, как физическим, так и психологическим. В замкнутом пространстве помещений, в которых располагались испыталители, проводились различные нагрузочные тесты. В это время в магнитосфере Земли возникали магнитные возмущения, отображенные на рис. 3.

Обращает на себя внимание, что наиболее сильные возмущения магнитного поля (МП) произошли в период 7–11 и 21–22 ноября 2017 г.

Как показали данные измерений состояния магнитосферной плазмы (сайт <ftp://swpc.noaa.gov/>),



Рис. 1. Динамика токов в э/х ячейках и pH в воде, измеренных в период с 7 по 24 ноября 2017 г.



Рис. 2. Динамика ОВП и pH в воде, измеренная в период с 7 по 24 ноября 2017 г.

возмущения межпланетного МП вызывали высыпания частиц из авроральной области магнитосферы.

На рис. 4 представлены данные электронных потоков, воздействовавших на околоземную ионосферу на высоте 60–300 км. Такие потоки возникают в авроральной области магнитосферы после возмущений МП Земли, вызванных взаимодействием с плазмой солнечного ветра [5].

В свою очередь, в результате магнитной бури в ионосферной плазме происходило увеличение электронной концентрации, которое приводило к увеличению потоков ЭМИ, генерируемого в ионосферной плазме вблизи поверхности Земли.

Безусловный интерес представляет вопрос о системе, способной непосредственно воспринимать ЭМИ или те изменения, которые возникают в жидких средах организма в ответ на ЭМИ, и обеспечивать соответствующие эндокринные и гуморальные изменения в живом организме. Предваряя будущие экспериментальные исследования, можно высказать некоторые общетеоретические представления. Такими возможностями, конечно, обладает гипоталамус – «вегетативный центр организма» [13]. Следует отметить, что гипоталамус имеет наибольшее число кровеносных сосудов на единицу объема

по сравнению с любыми другими центрами в любой управляющей или исполнительных системах организма. Через него в течение 2–5 мин проходит вся циркулирующая кровь, получающая гуморальные модулирующие влияния ядер гипоталамуса. В частности, контроль pH крови и ее стабилизация – одна из функций гипоталамуса. Через систему статинов и либеринов гипоталамус модулирует активность гипофиза и эндокринной системы. В гипоталамусе имеются рецепторы, воспринимающие гуморальную информацию от цереброспинальной жидкости.

Гипоталамус является центральным звеном лимбической системы, представляющей собой одну из самых «старых» структур головного мозга [14]. Обширные связи с корой головного мозга и стволовыми структурами, в частности с ретикулярной формацией, обеспечивают лимбической системе активирующее и модулирующее влияние на корковые, подкорковые и периферические процессы в ЦНС, иммунную систему организма. Именно лимбическая система активно участвует в формировании эмоций, адаптивного поведения человека, в том числе социального. Наличие аналога лимбической системы у млекопитающих [15] и выполнение части ее функций порто-, дейта-, и тритоцеребрумом

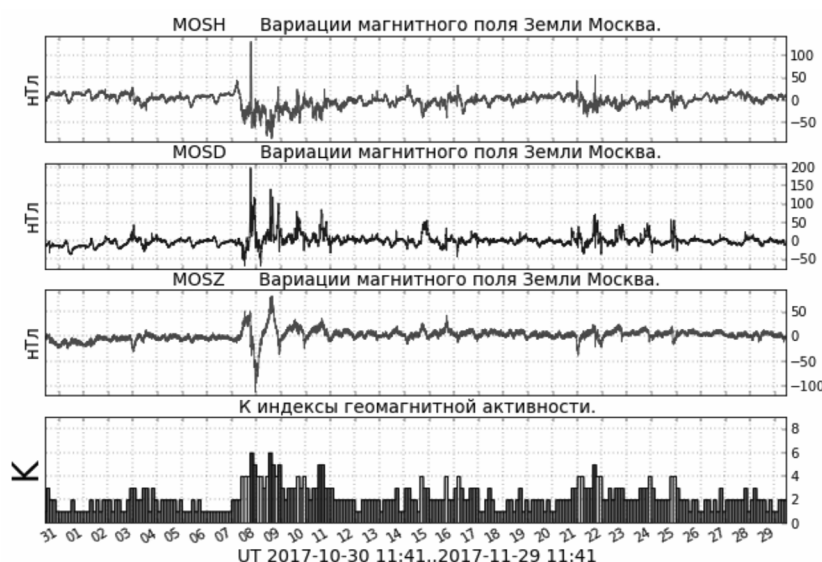


Рис. 3. Возмущения H, D и Z компонентов магнитного поля Земли и K индекса в ноябре 2017 г.

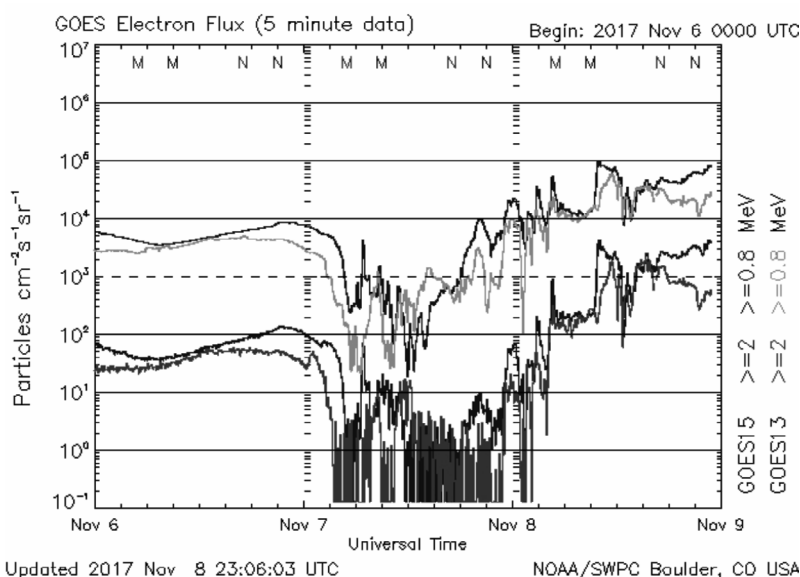


Рис. 4. Высыпание авроральных электронов в атмосферу Земли в начале эксперимента «СИРИУС»

насекомых дают возможность предположить, что именно лимбическая система способна воспринимать и реализовывать ЭМИ влияния на организм.

ЭМИ может пронизывать все живое и биосферу благодаря тому, что длины волн излучения лежат в слабо поглощаемом земной атмосферой метровом диапазоне. Непосредственное влияние факторов окружающего пространства на живые системы вызывается изменением окислительно-восстановительных свойств водной среды организмов под воздействием поглощенного «геофизического» ЭМИ, что приводит к изменениям регуляторных,

обменных и других процессов в био-объектах [16].

Необходимо отметить, обнаружено еще одно проявление вариаций ЭМИ, когда в окружающей среде имеет место сильное техногенное электромагнитное загрязнение от источников сотовой связи и других передающих систем. Оказалось, что в зависимости от режима работы радиосвязи городской сети фон ЭМИ может по рабочим дням в период с 8 по 20 ч увеличиться на 1–2 порядка и усилить реакцию водной среды, включая внутреннюю среду организмов, на воздействие флуктуаций ионосферного фона ЭМИ (см. рис. 2). Наряду с уже доказанной связью между свойствами воды и вариациями геофизических агентов, была экспериментально установлена корреляция между флуктуациями свойств воды и динамикой функционального состояния организма человека. При возрастании окислительного потенциала воды возрастает частота сердечных сокращений и снижается чувство ситуативной и личностной тревожности у людей [12].

В последующем целью наших исследований будет проведение комплексных гормональных и психофизиологических экспериментов, направленных на расшифровку механизмов действия ЭМИ на организм человека и животных. Предполагается, что на основании анализа результатов космических и модельных лабораторных исследований будет разработан ряд профилактических мер по усилению антиоксидантной защиты не только в острых случаях, но ежедневно или во время каких-либо природных катастроф: землетрясений,

солнечных затмений, при смене фаз луны. Многим известны явления лунатизма, иммунных эпидемий и т.п. По нашему мнению, в этих явлениях просматриваются физико-химические процессы, происходящие в воде и внутренней среде организмов под влиянием хронического фракционного воздействия ЭМИ, протекающего в окружающей среде.

Предварительный анализ результатов наблюдений динамики космофизических факторов в период изоляции и данных измерений окислительно-восстановительных воды в электрохимических ячейках показал тесную функциональную зависимость

состояния водной среды живых систем и факторов окружающей среды.

Выводы

1. Техногенный электромагнитный фон, возрастающий в рабочие дни, может вызывать в геомагнитный полдень увеличение окислительно-восстановительных реакций воды на воздействие усиливающихся потоков электромагнитного фона с одновременным повышением вклада фотонов с большей частотой.

2. Возможным доминирующим космофизическим фактором, воздействующим на земные живые системы, является ЭМИ ионосферной плазмы, главным образом из слоя E.

3. Предположительно, трансформация частотного спектра ЭМИ сопутствует увеличению поглощения ЭМИ и возрастанию биофизических эффектов излучения, включая активацию функций гипоталамуса мозга облучаемых животных.

Список литературы

1. Чижевский А.Л. Физико-химические реакции как индикаторы космических явлений // Космический пульс жизни. М., 1995.

Chizhevsky A.L. Physical and chemical changes as indicators of the space phenomena // Space pulse of life. Moscow, 1995.

2. Чижевский А.Л. Об одном виде специфически биоактивного или Z-излучения Солнца // Там же. М., 1995.

Chizhevsky A.L. About one look specifically bioactive or Z-radiation of the Sun // Ibid. Moscow, 1995.

3. Горшков Э.С., Иванов В.В., Соколовский В.В. Редокс реакции в космобиологии. СПб, 2014.

Gorshkov E.S., Ivanov V.V., Sokolovsky V.V. Redox of reaction in space biology. St. Petersburg, 2014.

4. Шноль С.Э. Герои, злодеи, конформисты отечественной науки. М., 2012.

Shnol' S.E. Heroes, villains, conformists of domestic science. Moscow, 2012.

5. Будько Н., Зайцев А., Карпачев А. и др. Космическая среда вокруг нас / А.Н. Зайцев, ред. Троицк, 2006.

Bud'ko N., Zaytsev A., Karpachev A. et al. The space environment around us / A.N. Zaytsev, ed. Troitsk, 2006.

6. Энциклопедия низкотемпературной плазмы. Ионосферная плазма. М., 2008. Т. 1–3. Разд. II. Гл. 1. С. 103–163.

Encyclopedia of low-temperature plasma. Ionospheric plasma. Moscow, 2008. V. 1–3. Sect. II. Ch. 1. P. 103–163.

7. Website <http://sosrff.tsu.ru>.

8. Беловолова Л.В., Горшков М.В. Физико-химические особенности сильно разбавленных водных систем, обусловленные присутствием атмосферных газов // Науч.

труды VIII «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». Т. 8. (С.-Петербург, 10–14 сентября, 2018).

Belovolova L.V., Gorshkov M.V. Physical and chemical features of strongly diluted water systems caused by presence of atmospheric gases // Scientific works of VIII «Weak and superweak fields and radiations in biology and medicine». V. 8. (St. Petersburg, Sept. 10–14, 2018).

9. Рассадкин В.П. Вода обыкновенная и необыкновенная. М., 2008.

Rassadkin V.P. Water ordinary and unusual. Moscow, 2008.

10. Цетлин В.В., Файнштейн Г.С. О влиянии космофизических и радиационных факторов на электрофизические и биологические свойства воды // Метафизика. 2012. № 2. С. 81–99.

Tsetlin V.V., Faynshteyn G.S. On the effect of the cosmophysical and radiation factors on electrophysical and biological properties of water // Metafizika. 2012. № 2. P. 81–99.

11. Бладергрэн В. Физическая химия в медицине и биологии. М., 1951.

Bladergren V. Physical chemistry in medicine and biology. Moscow, 1951.

12. Цетлин В.В., Белишева Н.К., Муравьев В.С. и др. Сопреженность динамики свойств воды с психофизиологическим состоянием человека и вариациями космофизических агентов – основа для детекции условий полета посредством сенсорных свойств воды // Тезисы XVI конференции по космической биологии и медицине с междунар. участием. (Москва, 5–8 декабря 2016). Авиакосмическая и экологическая медицина. 2016. Т. 50. № 5. С. 254–256.

Tsetlin V.V., Belisheva N.K., Muravyev V.S. et al. Associativity of dynamics of properties of water to a psychophysiological condition of the person and variations the cosmophysical agents – a basis for detection of flight conditions by means of touch properties of water // Abstr. of XVI Conference on bioastronautics and medicine with the international participation. (Moscow, Dec. 5–8, 2016). Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina. 2016. V. 50. № 5. p. 254–256.

13. Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме, применение в клинике. [Электронный ресурс]. СПб., 2007. URL: <http://bono-esse.ru/blizzard/Farma/Melatonin/melatonin.html>.

Anisimov V.N. Melatonin: a role in an organism, use in clinic. [Electronic resource]. St. Petersburg, 2007. URL: <http://bono-esse.ru/blizzard/Farma/Melatonin/melatonin.html>.

14. Сазонов В.Ф. Гипоталамус. [Электронный ресурс]. URL: kineziolog.bodhy.ru [сайт]. URL: <http://kineziolog.bodhy.ru/content/gipotalamus>.

Sazonov V.F. Hypothalamus [Electronic resource]. URL: kineziolog.bodhy.ru [website]. URL: <http://kineziolog.bodhy.ru/content/gipotalamus>.

15. Ермолаев И.И. Возрастная физиология. М., 2001.

Yermolaev I.I. Age physiology. Moscow, 2001.

16. Moisa S.S., Tsetlin V.V., Levinskikh M.A., Nefedova E.L. Low doses of ionized radiation and hypomagnetic field alter redox properties of water and physiological characteristics of seeds of the highest plants // J. of Biomed. Sci. and Engineering. 2016. V. 9. P. 410–418. URL: <https://doi.org/10.4236/jbise.2016.98036>.

Поступила 07.05.2019

STUDIES OF THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL ELECTROMAGNETIC FACTORS ON WATER AND INTERNAL MEDIUM OF LIVING ORGANISMS

Tsetlin V.V., Stepanova G.P.

Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

The paper is focused on analysis of highly purified water dynamics in electromagnetic environment.

It has been observed that the dominating cosmophysical factor for living systems on Earth is electromagnetic radiation of ionospheric plasma. Experiments showed that redox reactions taking place in water and colloid systems in living organism liquids are a result of water molecules activation (excitation) primarily by HF ranging from 100 kHz to ~50 MHz generated in ionospheric plasma. The electromagnetic radiation power in this HF range is several orders greater than the solar radiation power, while the Earth's atmosphere is rather transparent (95–99 %) for this spectrum.

Temporal and spatial variability of radiation intensity can reflect changes in electron density of ionospheric plasma Ne induced by such solar activity attributes as charged particles of the solar wind, growth in the number of active regions on the Sun described by the Wolf number and other space factors.

Key words: solar activity, electromagnetic radiation of ionospheric plasma, daily and weekly variability, redox reactions.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 70–76.

УДК 579.65:620.197

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ, КЛИМАТИЧЕСКИЙ И АКУСТИЧЕСКИЙ ФАКТОРЫ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ РОССИЙСКОГО СЕГМЕНТА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ: СВЯЗЬ С ДЕСТРУКТИВНЫМИ ПРОЦЕССАМИ МАТЕРИАЛА ГЕРМОКОРПУСА

Дешева Е.А.¹, Беляев В.С.², Бычков В.Б.^{2,3}, Чурило И.В.⁴, Шубрало Е.В.⁵

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

²Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических и радиотехнических измерений, пгт Менделеево, Московская обл.

³Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской Академии наук, Москва

⁴Ракетно-космическая корпорация «Энергия» им. С.П. Королева, г. Королев, Московская обл.

⁵Центральный научно-исследовательский институт машиностроения, Москва

E-mail: deshevaya@imbp.ru

Сопоставление данных микробиологических исследований с отдельными физическими факторами (климатическим и акустическим) позволило определить роль каждого фактора в развитии коррозионных процессов на поверхности обечайки гермокорпуса служебного модуля Международной космической станции. Максимальный рост микроорганизмов чаще обнаруживался в зонах, относящихся к «холодным», в которых была высока вероятность выпадения конденсата атмосферной влаги. Выявлены зоны гермокорпуса, требующие регулярного приборного, визуального и микробиологического контроля возможного развития микрокоррозионных процессов в них. Приведены микрофотографии отдельных участков коррозионных поражений.

Ключевые слова: микроорганизмы, тепловлажностные параметры среды обитания, ультразвуковой фон, поверхность обечайки, поверхности гермокорпуса, материал обечайки, очаги коррозии.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 77–85.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-77-85

Микробиологическая обстановка и физические факторы среды обитания космонавтов являются объектами пристального внимания исследователей на протяжении последних десятилетий, начиная с первых длительных полетов. Были нормативно закреплены допустимые значения параметров этих факторов [1], в обитаемых отсеках орбитальных станций (ОС) проводились необходимые измерения. Биоконтаминация воздушной среды и поверхностей модулей ОС «Мир» и Международной космической станции (МКС) была представлена в работе [2]. В этом труде и других работах [3–4] отмечалось наличие микроорганизмов-биодеструкторов, способствующих возникновению коррозионных процессов на поверхностях оборудования и гермокорпуса. Указывалось на опасность

развития этих процессов, вплоть до возможной разгерметизации корпуса модуля со всеми вытекающими из этого последствиями для членов экипажа станции. В работах [5–6] исследовалось разрушающее воздействие грибов, выделенных из среды российского сегмента (РС) МКС, конкретно на сплав АМг6Н – конструктивный материал обечайки гермокорпуса модулей станции. Учеными ГНЦ РФ – ИМБП РАН, ФГУП ВИАМ и ФГУП ЦНИИмаш было показано, что присутствие воздушного ультразвукового фона с уровнями около 50 дБ существенно ускоряет процесс коррозии, особенно если он усугубляется наличием контаминации поверхности микроорганизмами (в 5–10 раз по критерию потери массы) [6–7].

В 2008–2015 гг. на РС МКС выполнялись космические эксперименты (КЭ) «Бар» и «Эксперт», направленные на обеспечение безопасности МКС в части отработки средств и методов обнаружения утечек, причиной которых может являться в том числе микродеструкция гермокорпуса. На РС МКС был доставлен комплект научной аппаратуры «Бар», предназначенной для поиска мест разгерметизации модулей МКС на основе анализа контролируемых параметров окружающей среды. Отметим, что поиск мест утечки как в российском, так и в американском сегментах станции основан на использовании средств пассивной ультразвуковой локализации. В ходе КЭ «Бар» и «Эксперт» был отработан метод выявления потенциально опасных зон возможного развития процесса микродеструкции гермокорпуса, включающий:

– измерение параметров акустического фона, температуры и влажности в модулях станции с целью поиска зон возможного выпадения конденсата, неудовлетворительного обдува гермокорпуса, повышенных уровней ультразвуковых колебаний, значительно ускоряющих коррозию;

– отбор проб для анализа микрофлоры на поверхностях конструктивных элементов и гермокорпуса служебного модуля (СМ) в выявленных зонах в рамках сеансов КЭ «Эксперт».

В ходе КЭ «БАР» были проведены измерения низкочастотного шума, ультразвукового фона и климатических параметров среды более чем в 200 зонах РС МКС, включая запанельное пространство. Анализ полученных данных выявил около 40 зон, в которых зарегистрирован повышенный уровень ультразвуковых колебаний и возможно либо выпадение конденсата, либо неудовлетворительный обдув [6–7]. В ходе КЭ «Эксперт» в 50 % проб выявлены грибы и бактерии, установлено превышение норм, закрепленных в ГОСТ Р 50804 и в ISS MORD [1, 8], в ряде зон запанельного пространства достигающее до 3–4 порядков. В результате экспериментов, выполненных в ходе 16–22 основных экспедиций МКС, список потенциально опасных зон (56 зон расположения конструктивных элементов, соединенных с вакуумом) был дополнен 30 зонами возможного развития процесса микродеструкции гермокорпуса, подлежащих регулярному контролю.

В 2010 г. после доставки на РС МКС пироэндоскопа «Пирэн-В», входящего в состав комплекта «Бар», в выявленных потенциально опасных зонах космонавты проводили инструментальную инспекцию (микроскопирование с увеличением в 70 раз) наличия коррозионных поражений и контаминации микроорганизмов-технофилов на гермокорпусе. Результаты в виде микрофотографий частично приводились в публикации [9]. Исследовалось также влияние циркуляции воздушных потоков в запанельном пространстве и рабочей зоне СМ на топологию обрастания конструкции СМ микрофлорой.

В данной статье, на основе обработки данных многочисленных измерений, выполненных на борту станции, впервые проводится комплексный анализ проблемы индуцированной микродеструкции внутренней поверхности гермокорпуса РС МКС, с учетом влияния факторов среды обитания:

- микробиологической обстановки;
- климатических параметров (температура, влажность, скорость вентиляционного потока);
- уровней акустического фона (ультразвук, низкочастотный шум).

Методика

Исследования микробиологического состояния среды обитания РС МКС проводились по методикам МВИ-12-05.02/2012 и МВИ-12-05.01/2012 [10, 11].

Измерения климатических параметров выполнялись с использованием комплекта диагностической аппаратуры «Бар», который включал следующие приборы [12]:

- дистанционный ИК термометр «Кельвин-видео» с возможностью видеорегистрации места

измерения температуры поверхности для обнаружения мест негерметичности по локальному понижению температуры поверхности гермокорпуса;

- переносной термогигрометр «Ива-6А» для измерения температуры воздуха, влажности и определения точки росы и выявления мест выпадения конденсата;

- термоанемометр «ТТМ-2» для измерения скорости воздушного потока, уточнения места негерметичности и выявления застойных зон.

Пироэндоскоп «Пирэн-В» использовался для мониторинга температуры поверхности в труднодоступных местах гермокорпуса и контроля микросостояния поверхности (раннего выявления зон микродеструкции материала гермокорпуса станции) с микрофотографированием. Было зарегистрировано более 150 локальных участков коррозии внутренней поверхности гермокорпуса в модулях СМ, ФГБ, МИМ-1, сведенных специалистами ЦНИИмаш в базу данных «Коррозия».

Для исследования акустического фона применялся специализированный шумомер – анализатор ультразвука АУ-1. С его помощью экипажами космических экспедиций в период 2008–2015 гг. были измерены спектры фоновых шумов модулей РС МКС в диапазоне частот 12,5–100 000 Гц, в том числе в запанельном пространстве вблизи зарегистрированных пироэндоскопом очагов коррозии гермокорпуса. Методика и результаты измерений подробно описаны в работах [12–14].

В итоге был накоплен значительный объем сведений, включая микрофотографии коррозионных очагов, штаммы присутствующих микроорганизмов, значения температуры воздуха и обечайки, скорости движения воздушных потоков, уровни фонового ультразвука и шума звукового диапазона. В данной работе была проведена комплексная обработка этих данных. Она заключалась в подборе из множества разрозненных данных по микробиологическим и физическим факторам среды тех, которые были зафиксированы в зонах запанельного пространства с замеченными признаками микродеструкции. По акустическому фону вычислялись узкополосные спектры в диапазоне ультразвуковых частот и третьоктавные спектры акустического фона во всем диапазоне рабочих частот прибора АУ-1. Третьоктавные спектры не дают детального описания ультразвуковой области частот, однако содержат достаточно информативные сведения о спектре низкочастотного шума в отсеке. Следовательно, они дают возможность косвенно оценить на качественном уровне параметры вибраций корпуса. Очевидно, что распространяющиеся по обечайке вибрации имеют спектральный состав, аналогичный воздушному шуму, поскольку создаются одними и теми же механизмами. Повышенные уровни вибраций, как известно [15], являются

также одним из факторов, способствующих развитию коррозионных процессов. Таким образом, были получены акустические характеристики потенциально опасных с точки зрения возможной разгерметизации зон гермокорпуса.

Результаты и обсуждение

Всего по результатам анализа базы данных «Коррозия» в рассмотрение были приняты 27 зон модулей СМ, ФГБ, МИМ-1, содержащих в совокупности 131 локальную (6 х 5 кв. мм, по размеру кадра микрофотографии пироэндоскопа) область

микродеструкции (ОМД). Из них по 11 зонам модулей СМ (6 зон), ФГБ (3) и МИМ-1 (2), в которых было замечено в общей сложности 19 ОМД, данные по влияющим факторам отсутствовали или были признаны недостоверными. Количество ОМД в этих зонах невелико (14 % от общего числа, в среднем менее 2 на зону), и масштабы развития коррозионных процессов можно считать незначительными. В то же время 16 зон СМ, общее количество ОМД в которых составило 112, заслуживают пристального внимания. Данные по этим 16 зонам (полученные для каждой из зон по ряду фотосессий 2010–2011 гг.) сведены в таблицу.

Таблица

Зоны СМ с очагами коррозии, климатическими, микробиологическими и акустическими факторами

№ п/п	Местонахождение	Кол-во ОМД	Климатические условия/ температура	Бактерии КОЕ на 100 см ²	Грибы КОЕ на 100 см ²	Ультразвук, макс., дБ	Н/ч звук, макс., дБ
1	За панелью 131	10	«Холодная» зона/ 8–10	Макс. 3,7х10 ^{4*}	Макс. 2,4х10 ^{6*}	52	75 (50 Гц)
2	За панелью 134	11	Удовлетворительные/ 14	Макс. 1,0х10 ²	Макс. 3,0х10 ²	49	76 (50, 250 Гц)
3	За панелью 135	7	«Холодная» зона/ 8	Макс. 2,3х10 ^{4*}	Макс. 5,5х10 ^{3*}	61	72 (50 Гц)
4	За панелью 228	3	«Холодная» зона/ 10	Макс. 8,5х10 ^{5*}	Макс. 1,0х10 ²	36	
5	За панелью 250	5	2009 – «холодная» зона, 2010 – «условно холодная» / 8–16	Не обнаружены	Макс. 2,2х10 ^{3*}	Ниже 35	74 (50 Гц)
6	За панелями 334–335	6	«Условно холодная»/ 12	Макс. 3,1х10 ^{6*}	Макс. 1,2х10 ^{6*}	44	69 (250 Гц)
7	АСУ зона потолка	8	«Холодная зона/ 10	Макс. 2,5х10 ^{6*}	Макс. 4,2х10 ^{6*}	43	61
8	АСУ за панелью 139	8	«Условно холодная»/ 12	Не обнаружены	Макс. 6,0х10 ²	Ниже 35	69 (250 Гц)
9	ПрК за панелью 140	8	«Условно холодная»/ 12	Макс. 1,0х10 ²	Макс. 5,0х10 ¹	Ниже 35	Ниже 60
10	ПрК около гермоплат СТР	9	«Холодная» зона/ 8	Макс. 1,4х10 ^{6*}	Макс. 9,0х10 ^{6*}	Ниже 35	61
11	ПрК в зоне открытого люка у панели 251	11	Данные отсутствуют	Обнаружены, нет количественных данных		Ниже 35	Данные отсутствуют
12	ПрК в зоне заглушек Б35-Б36	4	«Условно холодная»/ 9–12			46	60
13	ПрК зона сварного шва	2	«Условно холодная»/ 10	Данные отсутствуют		Данные отсутствуют	
14	Иллюминатор № 3 (СМ)	5	«Холодная» зона/ 7	Не обнаружены	Макс. 1,5х10 ²	39	Ниже 61–62
15	Иллюминатор № 5 (СМ)	9	«Холодная» зона/ 6–8	Не обнаружены		Ниже 35	Ниже 61–62
16	Иллюминатор № 14 (ПХО)	4	«Холодная» зона/ 2–5	Не обнаружены	Макс. 5,5х10 ^{5*}	Ниже 35	Ниже 61–62

Примечание. Температура – значения температуры поверхностей обечайки гермокорпуса, °С; Макс. – максимальное значение; макс., дБ – максимальное значение уровня звукового давления, в децибелах; н/ч звук – низкочастотный звук; «условно холодная» – зона, в которой вероятно выпадение конденсата; * – параметры микробиологической обстановки превышали действующие нормы.

Примеры микрофотографий ОМД из базы данных «Коррозия» приведены на рис. 1 (7 микрофотографий получено на борту МКС, 8-я – в наземном эксперименте, подробно описанном в статье [6]). На рис. 2 представлена иллюстрация локализации коррозионных поражений для 4 плоскостей модуля СМ.

Охарактеризуем теперь более подробно несколько зон, относящихся к числу наиболее опасных по коррозионной ситуации.

За панелью 131 СМ обнаружено 10 ОМД, фотография одной из них приведена на рис. 1. Проанализируем имеющиеся данные о влияющих на возникновение и развитие коррозии факторах.

На поверхности обечайки за панелью 131 выявлена контаминация грибами вида *Aspergillus sp.* группы *A.versicolor*, известными [5] как одни из биодеструкторов в условиях орбитальных станций, с уровнем микробной нагрузки $2,4 \times 10^6$ колониеобразующих единиц (КОЕ/100 см²). Это на 4 порядка превышает допустимые нормы, установленные нормативным документом [8]. Обнаружен также микромицет *Geotrichum candidum* ($4,0 \times 10^2$ КОЕ). Процессы биокоррозии здесь должны проявляться достаточно активно.

Климатические параметры в этой зоне измерялись многократно экипажами космических экспедиций 2009–2012 гг. Температура воздуха была зафиксирована в интервале 23,7...25,7 °С. Температура поверхности обечайки находилась, как правило, в пределах 8,0...15,0 °С. Отмеченные значения температуры точки росы – 9,4...11,5 °С. Вентиляционная система создавала за панелью 131 обдув со скоростью воздушного потока, имевшей в большинстве случаев значения 0,08–0,157 м/с (данные ряда замеров 2009 г.). В отдельные моменты времени скорость потока доходила до 0,25 м/с и даже 0,5 м/с. Однако проведенный измерительный сеанс 13.03.2012 в штатной комплектации постоянно размещаемых за панелью грузов дал результаты от 0 до 0,027 м/с, причем в 5 измерительных точках имели место нулевые значения. В целом по климатическим характеристикам область за панелью 131 следует отнести к числу «холодных» зон, с высокой вероятностью выпадения конденсата.

На рис. 3 приведены спектры акустического фона, измеренные в этой зоне. В узкополосном спектре ультразвукового диапазона (вверху) отмечены значительные уровни 2 гармонических составляющих: 52 дБ на частоте 20,8 кГц и 48 дБ на частоте 41,5 кГц. Третьоктавный спектр низкочастотного шума также содержит высокие уровни – соответственно 75, 70 и 72 дБ в третьоктавах со средними частотами 50; 250 и 1250 Гц. Отсюда может быть сделан вывод о значительной вибрационной нагрузке обечайки в этой области, проявляющейся на указанных частотах. Заметим, что за панелью 131 расположен блок БСПН и охлаждающий его

вентилятор, электронные и механические узлы которых являются источниками соответственно ультразвука и низкочастотного шума.

По совокупности имеющихся данных по параметрам влияющих факторов и количеству зарегистрированных ОМД зона за панелью 131 СМ должна быть отнесена к числу наиболее опасных с точки зрения развития процессов микродеструкции материала обечайки.

За панелью 135 обнаружено и зарегистрировано 7 ОМД. Выявлены признаки роста микрофлоры: контаминация поверхности обечайки грибами вида *Aspergillus flavus* с числом КОЕ $5,5 \times 10^3$. Микробиологический фактор носил негативный характер.

Климатические характеристики области СМ за панелью 135 измерялись в 2 сеансах – 21.04.2009 и 18.05.2010. По температуре и влажности здесь наблюдалось определенное сходство с описанной выше зоной за панелью 131: значения температуры воздуха находилось в пределах 22,1...26,8 °С, точки росы – 8,1...10,6 °С; температура поверхности обечайки в среднем ниже и лежала в интервале 5,7...12,7 °С. Зафиксированная в специальном измерительном сеансе 13.03.2012 скорость вентиляционного потока в различных точках отсека принимала значения от 0 до 0,183 м/с, причем в 2/3 случаев скорость ниже 0,1 м/с; в сеансе 21.04.2009 было получено значение 0,09 м/с. Зона относилась к числу «холодных», с высокой вероятностью присутствия конденсата.

Узкополосный спектр ультразвукового фона показывал наличие тех же 2 гармоник с частотами 20,8 и 41,5 кГц, причем уровни их составляли соответственно 61 и 51 дБ. В звуковом диапазоне частот отмечали высокие уровни шума: 72 и 69 дБ на частотах 50 и 250 Гц; форма спектра аналогична описанному выше. Высокие уровни ультразвука и шума были характерны и для зоны за панелью 135, с теми же возможными последствиями. Отметим, что уровень 61 дБ в ультразвуке являлся, пожалуй, наиболее высоким из наблюдавшихся в РС МКС за все годы измерений.

В анализируемой области параметры всех 3 влияющих на развитие коррозии факторов – климатического, микробиологического и акустического – способствовали процессам микродеструкции материала обечайки. Поэтому зону СМ за панелью 135, содержащую 7 ОМД, следует признать опасной в рассматриваемом аспекте.

Неблагоприятная коррозионная обстановка сложилась в переходной камере (ПрК), где в 5 зонах обнаружили ОМД (4 ОМД показаны на рис. 1). Поражения хорошо заметны даже на фотографии общего плана, сделанной за панелью 140 (рис. 4). Химический анализ показал повышенное количество магния и алюминия в пробах, взятых

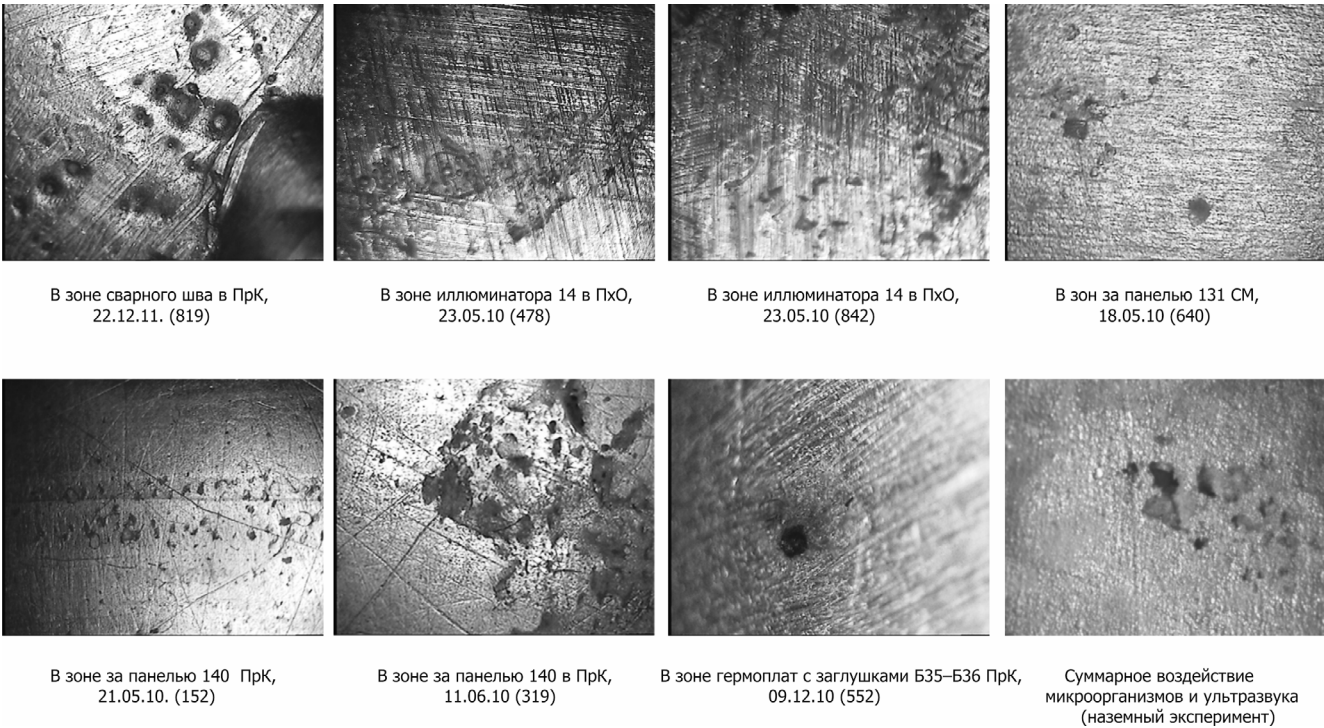


Рис. 1. Коррозионная деструкция

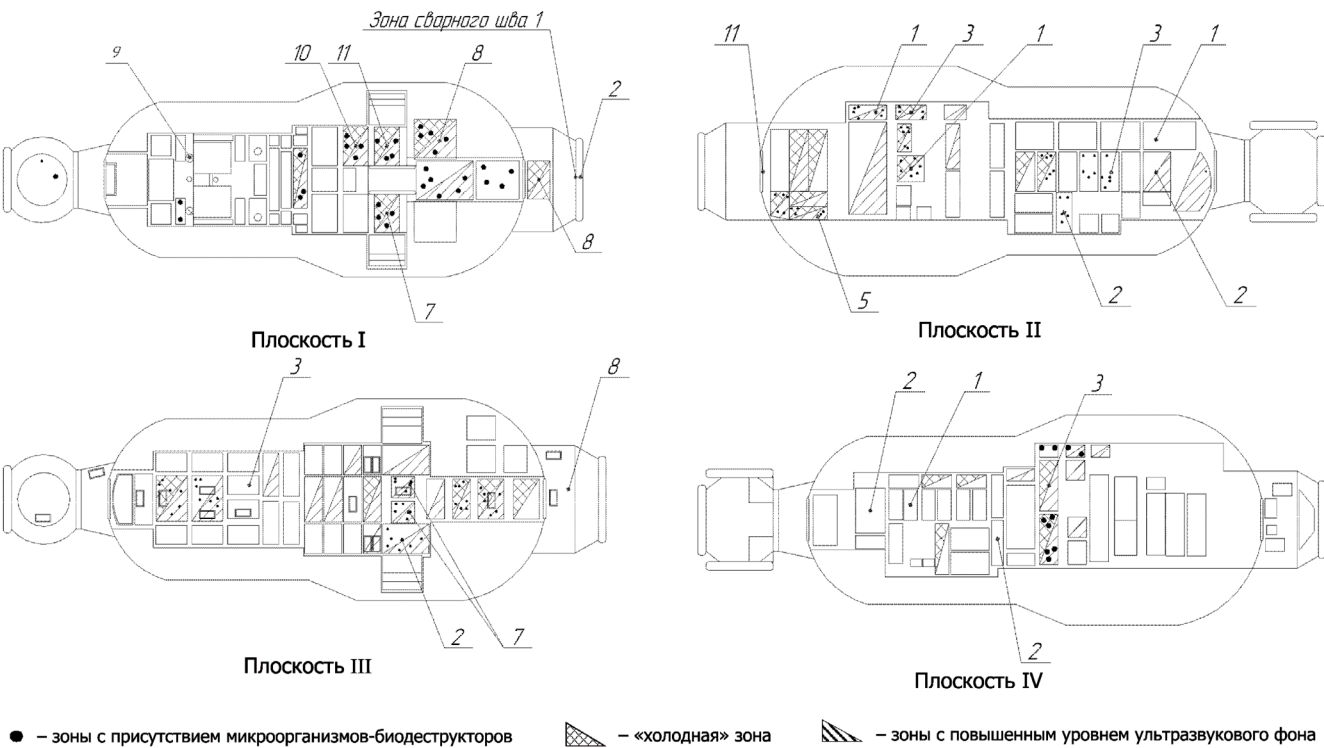


Рис. 2. Распределение очагов коррозии по гермокорпусу модуля СМ. Цифры на выносках – количество коррозионных очагов

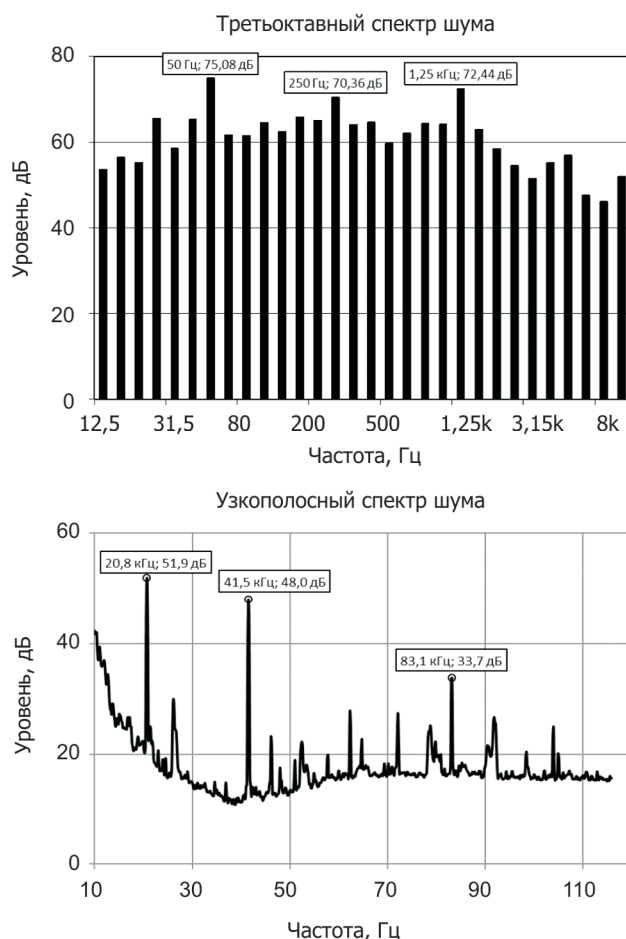


Рис. 3. Спектры акустического фона за панелью 131 СМ

за панелью 140 на поверхности гермокорпуса, что является характерным признаком наличия коррозионных процессов.

Вблизи гермоплат системы терморегулирования (СТР) зафиксировали 9 ОМД (одна из которых показана на рис. 1). В этой зоне было выявлено $9,0 \times 10^6$ КОЕ/100см² жизнеспособных фрагментов грибов видов *Aspergillus sp.* группы *A. versicolor* и *Penicillium glabrum* – весьма значительное количество микроорганизмов-деструкторов, на четыре порядка превышающее предельно допустимое для обитаемых отсеков космических станций. Температура поверхности обечайки изменялась в пределах от 2,0...6,7 °С на свету до 2,0...3,9 °С в тени, т.е. существенно ниже точки росы 9,1...12,5 °С, что создавало предпосылки для образования конденсата; скорость воздушного потока составляла от 0 до 0,01 м/с (в измерительных сеансах 02.10.08 и 13.04.10 соответственно). Имеются все признаки «холодной» зоны вблизи гермоплат СТР.

Зона открытого люка в ПрК у панели 251, как и вообще ПрК заметно поражена коррозией. Области микродеструкции поверхности гермокорпуса в этой зоне зафиксированы на 8 микрофотографиях.



Рис. 4. Фото за панелью 140 СМ (ПрК)

Характеризуя обстановку в ПрК, нельзя обойти вниманием ОМД в зоне сварного шва (см. рис. 1). На зафиксированное здесь множество крупных, размером порядка 1 мм, поражений указывалось в докладе [13].

Уровни ультразвука и шума в ПрК вообще низкие; исключением является лишь уровень 46 дБ в ультразвуковой области, замеренный в зоне заглушек Б35-Б36, в которой выявлено 4 ОМД. Следует, на наш взгляд, обратить внимание, на одиночный очаг коррозии, изображенный на рис. 1. Он имеет размеры около 0,5–0,7 мм и выделяется этим среди множества примеров микродеструкции, содержащихся в базе данных «Коррозия». Этот очаг коррозии расположен внутри пятна с рыжеватой окраской, сбор биоматериала с поверхности которого показал присутствие грибов 2 видов – *Ulocladium botrytis* и *Cladosporium cladosporioides*. Информации по количественному содержанию грибов, а также данных климатических измерений и параметров вентиляционного обдува не обнаружено. Среди участков возможного образования конденсата, выявлявшихся в КЭ «Эксперт», эта зона не отмечена.

Учитывая все изложенное о ситуации в ПрК, можно рекомендовать вести постоянный (или хотя бы регулярный) контроль над коррозионной обстановкой в ПрК, используя для этого фотографирование крупным планом штатной фотокамерой «Никон».

Резюмируем теперь результаты комплексной обработки данных о коррозионных поражениях в СМ, выполненной с учетом указанных влияющих факторов.

В 8 зонах из 16 было сосредоточено 74 пораженных коррозией участка гермокорпуса. Это зоны за панелями 131, 134, две зоны в АСУ, три зоны ПрК и зона иллюминатора № 5. В каждой из этих зон находится 8 и более ОМД. В половине из 16 анализируемых зон СМ содержали две трети зафиксированных ОМД.

Параметры микробиологической обстановки превышали действующие нормы [8] в ряде исследованных мест (см. табл.). В частности, по содержанию грибов превышение установлено в 7 зонах, причем в 5 превышение составляло 3–4 порядка; по количеству бактерий – в 6 зонах, а превышение на 3–4 порядка наблюдалось в 4 из них. Не были обнаружены микроорганизмы только в открытой, хорошо обдуваемой вафельной зоне иллюминатора № 5, а в зоне сварного шва ПрК, имеющего значительное коррозионное повреждение, пробы микрофлоры не брались (при этом установлено присутствие микроорганизмов в 4 других зонах ПрК).

В отношении климатического фактора – неблагоприятны 8 «холодных» зон: за панелями 131, 135, 228, потолок АСУ, вблизи гермоплат СТР в ПрК и зоны 3 иллюминаторов. Две зоны (за панелью 250 и в АСУ за панелью 139) можно охарактеризовать как «условно холодные», с вероятностью появления конденсата. Акустический фон в ультразвуковом диапазоне частот превышает уровень 45 дБ в 4 зонах: за панелями 131, 134, 135 и в ПрК около заглушек Б35-Б36. В диапазоне низких частот (до 250 Гц) третьоктавные уровни звукового давления принимают значения 61 дБ и выше в 8 зонах.

Необходимо отметить, что даже без наличия конденсата влаги на процесс развития коррозии влияет адсорбция молекул воды поверхностью гермокорпуса, усугубляемая напряженным состоянием оболочки, связанным с воздействием внутреннего атмосферного давления.

Масштаб коррозионных повреждений и угроза разгерметизации обитаемых модулей определили необходимость разработки средств мониторинга выявленных коррозионных повреждений гермокорпуса и процесса контроля остаточной толщины гермокорпуса. Проведенные в рамках КЭ «Бар» лабораторные эксперименты с имитацией ускоренного роста коррозии на нагруженных образцах (пластины из АмГ6 толщиной 3 мм), с установленными на них датчиками акустической эмиссии (АЭ) показали, что рост глубины коррозионной язвы сопровождается увеличением числа импульсов АЭ, превысивших определенный порог, в последовательно во времени полученных реализациях, соответствующих постепенному углублению до 1,8 мм коррозионной каверны и уменьшению остаточной толщины пластины в очаге коррозии. Учитывая важность контроля процессов развития коррозии обечайки гермокорпуса, было принято решение о создании для этой цели аппаратуры акустико-эмиссионного контроля. В настоящее время ФГУП ВНИИФТРИ в рамках подготовки КЭ «Эмиссия» выполняет разработку и изготовление такой аппаратуры. Проведение эксперимента обеспечит выявление предаварийной ситуации, создающей угрозу разгерметизации в обитаемых отсеках.

Выводы

1. Выполнен анализ данных проведенных в российском сегменте МКС в рамках КЭ «Бар» и «Эксперт» исследований коррозионных процессов, происходящих на борту станции, преимущественно на обечайке гермокорпуса СМ. При этом учитывались результаты измерений параметров микробиологической обстановки и физических факторов внутренней среды (температура, влажность, акустический фон).

2. В 16 зонах СМ зарегистрировано 110 локальных областей коррозионной микродеструкции – именно они были предметом внимания авторов статьи. Другие 11 зон РС МКС (6 зон в СМ, 3 в ФГБ, 2 в МИМ-1), в которых обнаружен 21 участок с коррозионными очагами, в данной работе не анализировались из-за отсутствия или недостатка информации о влияющих факторах.

3. Восемь зон СМ: в рабочем отсеке (РО) – за панелями 131, 135, за панелью 139 и в зоне потолка АСУ, у иллюминаторов № 3 и 5; в ПрК около гермоплат СТР; в ПхО вблизи иллюминатора № 14 – по результатам проведенного анализа отнесены к числу наиболее опасных в аспекте развития коррозионных повреждений гермокорпуса.

В 4 зонах (за панелями 134, 228, 250 и 140) коррозионная обстановка признана неблагоприятной и требует регулярного контроля, приборного и визуального. Еще в 4 зонах необходимо визуальное наблюдение.

4. Создание аппаратуры акустико-эмиссионного контроля и выполнение КЭ «Эмиссия» обеспечит выявление предаварийной ситуации, создающей угрозу разгерметизации в обитаемых отсеках.

Работа выполнялась в рамках договора № 0725-1034/305-2009 «Оценка составляющих компонентов микрофлоры, отобранной в локальных зонах СМ МКС в ходе КЭ «Эксперт». Шифр темы «ИМБП-МКС».

Список литературы

1. ГОСТ Р 50804-95. Среда обитания космонавта в пилотируемом космическом аппарате. Общие медико-технические требования. М., 1995.

GOST 50804-95. Astronaut habitat in manned spacecraft. General medical and technical requirements. Moscow, 1995.

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 environment of manned orbital vehicles – problems, methods of control and correction: Avtoreferat dissertatsii ... doktora biologicheskikh nauk. Moscow, 2002.

3. *Klintworth R., Reher H.J., Viktorov A.N., Bohle D.* Biological induced corrosion of materials II: new test method and experiences from MIR station // *Acta Astronaut.* 1999. V. 44. P. 569–578.
4. *Поддубко С.В.* Обоснование путей и способов защиты оборудования орбитальных станций от микробиологических повреждений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2007.
Poddubko S.V. Justification of ways and methods of protection of the equipment of orbital stations from microbiological damages: Avtoreferat dissertatsii ... kandidata biologicheskikh nauk. Moscow, 2007.
5. *Павловская Т.Г., Дешевая Е.А., Зайцев С.Н. и др.* Коррозионная стойкость алюминиевых сплавов в условиях, имитирующих факторы космического полета // *Труды ВИАМ.* 2016. № 3 (39). С. 11. DOI: dx.doi.org/10.18577/2307-6046-2016-0-3-11-11.
6. *Павловская Т.Г., Дешевая Е.А., Козлов И.А. et al.* Corrosion resistance of aluminum alloys in conditions simulating space flight // *Trudy VIAM.* 2016. № 3 (39). P. 11. DOI: dx.doi.org/10.18577/2307-6046-2016-0-3-11-11.
7. *Борисов В.В., Лукьященко В.И., Маколкин Е.В. и др.* Перспективы применения дистанционных средств для обнаружения мест негерметичности конструкций Международной космической станции // *Космонавтика и ракетостроение.* 2007. № 4 (49). С. 164–167.
8. *Борисов В.В., Лукьященко В.И., Маколкин Е.В. et al.* Prospects for the use of remote means to detect leakage in structures of the International space station // *Kosmonavtika i raketostroenie.* 2007. № 4 (49). P. 164–167.
9. *Дешевая Е.А., Шубралова Е.В., Новикова Н.Д., Поликарпов Н.А.* Результаты исследований влияния внутрикорабельной среды на состояние гермокорпуса, выполненных в космических экспериментах «Бар» и «Эксперт» на РС МКС в 2008–2011 гг. // *Космический форум-2011, посвященный 50-летию полета Ю.А. Гагарина.* (Москва, 18–21 октября 2011 г.).
10. *Дешевая Е.А., Шубралова Е.В., Новикова Н.Д., Поликарпов Н.А.* The results of studies of the influence of the in-vehicle environment on the state of the space hermetic frame carried out in the space experiments «BAR» and «Expert» at the ISS RS in 2008–2011 // *Space Forum-2011 of the 50th anniversary of the flight of Gagarin.* (Moscow, October 18–21, 2011).
11. *International Space Station Medical Operations Requirements Documents (ISS MORD) / International Space Station Program, Revision B – NASA.* Aug. 2003.
12. *Дешевая Е.А., Шубралова Е.В., Борисов В.В. и др.* Основные итоги выполнения космических экспериментов «Бар» и «Эксперт» на РС МКС // *Материалы 35-х академических чтений по космонавтике.* (Москва, январь 2011) С. 575–577.
13. *Дешевая Е.А., Шубралова Е.В., Борисов В.В. et al.* Main results of the implementation of space experiments «BAR» and «Expert» to the ISS RS // *Proceedings 35th academic readings on cosmonautics.* (Moscow, January 2011. P. 575–577.
14. МВИ-12-05.02/2012 «Методика определения количественного и видового состава микроорганизмов внутренних поверхностей обитаемых замкнутых объектов».
15. МВИ-12-05.02/2012 «Method of determination of quantitative and species composition of microorganisms of internal surfaces of inhabited closed objects».
16. МВИ-12-05.01/2012 «Методика определения количественного и видового состава микроорганизмов в воздушной среде обитаемых замкнутых объектов».
17. МВИ-12-05.01/2012 «Methods of determining the quantitative and species composition of microorganisms in the air of inhabited closed objects».
18. *Кутина И.В., Бычков В.Б., Дешевая Е.А., Шубралова Е.В.* О снижении уровня шума в российском сегменте Международной космической станции // *Авиакосм. и экол. мед.* 2017. Т. 51. № 2. С. 5–12.
19. *Kutina I.V., Bychkov V.B., Deshevaya E.A., Shubralova E.V.* On noise level control in the Russian segment of the International space station // *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya meditsina.* 2017. V. 51. № 2. P. 5–12.
20. *Шубралова Е.В.* Результаты проведения эксперимента «БАР» на РС МКС в 2009–2011 годах экипажами основных экспедиций МКС-19 – МКС-26: Научная конференция ТИМ 8А4. (Королев, 16–20 мая 2011 г.).
21. *Shubralova E.V.* Results of the «BAR» experiment on the ISS RS in 2009–2011 by the crews of the ISS-19 – ISS-26 main missions: Scientific conference TIM 8A4. (Korolev, 16–20 May 2011).
22. *Афанасьев А.В., Бычков В.Б., Куцев В.Н., Шубралова Е.В.* Акустический фон российского сегмента Международной космической станции: результаты измерений и проблемы его снижения // *Космонавтика и ракетостроение.* 2015. № 5 (84). С. 61–69.
23. *Afanasyev A.V., Bychkov V.B., Kushchev V.N., Shubralova E.V.* Acoustic background of the Russian segment of the International space station: measurement results and problems of its reduction // *Kosmonavtika i raketostroenie.* 2015. № 5 (84). P. 61–69.
24. *Кузукوف А.М., Арhipов О.Г., Куликов Д.А., Липко Г.В.* Strength of austenite steels at the combined action of vibration and corrosion // *XIII International Colloquium «Mechanical fatigue of metals».* Section 4. P. 431–435.

Поступила 26.12.2018

**MICROBIOLOGICAL, CLIMATIC
AND ACOUSTIC FACTORS OF THE
INTERNATIONAL SPACE STATION RUSSIAN
SEGMENT ENVIRONMENT: RELATION TO
THE DESTRUCTIVE PROCESSES IN THE
SHELL MATERIAL**

**Deshevaya E.A.¹, Beliaev V.S.², Bychkov V.B.^{2,3},
Churilo I.V.⁴, Shubralova E.V.⁵**

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy
of Sciences, Moscow

²Russian Metrological Institute of Technical Physics and
Radio Engineering, Mendeleevo, Moscow region

³Prokhorov General Physics Institute of the Russian
Academy of Sciences, Moscow

⁴S.P. Korolev Rocket and Space Corporation Energia, Korolev,
Moscow region

⁵Central Research Institute for Machine Building, Moscow

Correlation of microbiological monitoring data with the physical factors of climate and acoustics led to determination of the input of each one into the corrosion processes on the internal surfaces of the ISS Service Module. Maximal microbial growth has been detected mostly in cold zones where deposition of atmospheric condensate was highly probable. There are certain zones in the module that need systematic instrumental, visual and microbiological monitoring for timely detection of microcorrosions.

Key words: microorganisms, thermal and humidity parameters, ultrasonic background, internal vehicle surfaces, shell material, corrosion sites.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia).
2019. V. 53. № 6. P. 77–85.

УДК 538.953 536.11 539.1.09

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКОЕ СООТНОШЕНИЕ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЕЙ В БИОФИЗИКЕ И РАДИОБИОЛОГИИ

Плотников Е.В.¹, Константинова Н.А.², Артамонов А.А.³

¹Национальный исследовательский Томский политехнический университет

²Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

³Научно-исследовательский институт космической медицины ФМБА, Москва

E-mail: anton.art.an@gmail.com

В статье рассматриваются термодинамические флуктуации температуры и энергии. Данные флуктуации в силу своей взаимосвязи могут влиять на различные микро- и макросистемы. В работе показано, что термодинамическое соотношение неопределенности должно учитываться в биофизике, радиационной биологии, где флуктуации энергии и температуры играют критически важную роль. Приведено теоретическое обоснование справедливости термодинамического соотношения неопределенностей. Это соотношение связывает флуктуации температуры и энергии системы. Представлены результаты, полученные на основе исследования транспортных свойств полупроводниковых приборов – транзисторов на едином кремниевом кристалле: для определения флуктуаций температуры и оценки флуктуаций энергии. Экспериментальные исследования подтверждают справедливость термодинамического соотношения неопределенностей.

Ключевые слова: квантовая термодинамика, термодинамическое соотношение неопределенности, флуктуации температуры, флуктуации энергии, термодинамика, биологические молекулярные процессы, энзимы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 86–93.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-86-93

Биологические процессы на молекулярном уровне, как правило, находятся в состоянии равновесия и диссипативны, причем связанное с этим потребление свободной энергии чаще всего происходит в результате гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ).

Химические реакции, катализируемые ферментами, имеют важнейшее значение для многих клеточных процессов. Яркими примерами являются молекулярные двигатели [1–4], которые преобразуют свободную химическую энергию из АТФ в механическую работу. В этом аспекте ферментативная кинетика – показательная область исследований, где физическим результатом является число молекул продуктов, генерируемых ферментативной реакцией. Для описания этого процесса хорошо подходит схема Михаэлиса – Ментена (Michaelis – Menten) [4].

Химические реакции хорошо описываются случайными процессами. Эксперименты с одной молекулой [5–7] дают подробные количественные данные о таких случайных величинах. Результаты химических реакций определяются через измерение скорости израсходованных молекул субстрата, которая подвержена тепловым флуктуациям. Так, фактор Фано (Fano) позволяет узнать нижнюю границу для числа состояний, участвующих в ферментативном цикле [8, 9]. Однако ограничение на объем химических реакций приносит фундаментальное термодинамическое соотношение неопределенности. В связи с этим поднимается важнейший вопрос квантовой термодинамики – справедливо ли термодинамическое соотношение неопределенности? Спор об этом длится уже более ста лет. В ряде работ критикуется идея о справедливости данной концепции [10–13]. Последние экспериментальные работы авторов [14, 15] – попытка подтверждения справедливости термодинамического соотношения неопределенностей.

Цель данной работы – представить теоретические и экспериментальные подходы, подтверждающие справедливость термодинамического аналога соотношения неопределенностей и показать роль этого явления в биофизике и радиобиологии.

Теоретические исследования термодинамического соотношения неопределенностей

Объединение макротeorии (равновесной термодинамики) и микротeorии (квантовой механики) – одна из важных тенденций современного развития физики [16]. Современным исследователям предстоит решить проблему, которая не позволяет объединить эти две теории. Проблема заключается в различных подходах к описанию системы. Так, в квантовой статистической механике для описания макрообъекта используется так называемый ансамбль (assembly) Больцмана, который представляет собой совокупность конечного числа микрообъектов. В свою очередь, статистическая термодинамика основана на понятии ensemble Гиббса,

где описание макрообъекта связано с его набором процессов. Основы статистической термодинамики были заложены Дж. Гиббсом в его знаменитом труде [17], а в дальнейшем эта работа получила свое развитие в работе А. Эйнштейна [18]. В отличие от стандартной термодинамики, оперирующей лишь со средними величинами $\langle A \rangle$, в этой теории рассматриваются спонтанные отклонения характеристик от их средних значений, называемые флуктуациями. Результаты применения такого подхода приведены в работе [19].

Остановимся на физическом смысле и роли постоянной Больцмана. Постоянная Больцмана k_B – переводной коэффициент между единицами измерения тепловой энергии и температуры. Так привыкли воспринимать эту фундаментальную постоянную многие поколения физиков. Однако стоит напомнить, что Макс Планк ввел сразу две постоянные [20], которые впоследствии названы постоянной Планка и Больцмана. Математическое описание постоянной Больцмана дано формулой

$$k_B = \frac{(\Delta E)^2}{T_0^2 C_V}, \quad (1)$$

где $(\Delta E)^2$ – дисперсия энергии; C_V – теплоемкость макроскопического объекта при постоянном объеме; T_0 – температура термостата, в котором находится исследуемый макроскопический объект (считается, что в условиях термодинамического равновесия соответствует температуре макроскопического объекта, помещенного в термостат). Это соотношение относится к различным типам макроскопических объектов (не только для газов, но и для конденсированных сред [21]).

Дисперсия энергии воспринимается как мера тепловой устойчивости системы: чем больше дисперсия, тем менее устойчивая система, а сама постоянная Больцмана характеризует тепловое воздействие на макрообъект [22]. Из формулы (1) вычисляются физические ограничения для тепловой устойчивости системы, которые в простом виде описываются 2 соотношениями:

$$(\Delta E)^2 \geq \langle E \rangle^2 \quad \text{– соотношение для энергии,} \quad (2)$$

$$(\Delta T)^2 \geq \langle T \rangle^2 \quad \text{– соотношение для температуры.} \quad (3)$$

Эти соотношения показали важные границы термодинамики, к которым особенно чувствительны объекты из низкотемпературной физики и низкотемпературные и мезоскопические системы [23]. Именно такие системы лежат в основе всей микроэлектроники. Тенденция такова, что постоянно происходит уменьшение размеров систем, и термодинамические эффекты, подобные квантово-механическим эффектам, начинают больше проявлять себя [24–26].

Соотношение флуктуации температуры и внутренней энергии – это краеугольный камень новой науки – квантовой термодинамики [27–29]. В данный момент идут научные споры об одной из основ квантовой термодинамики – термодинамическом аналоге соотношения неопределенностей [30]. Для стандартного отклонения энергии и температуры оно имеет вид [31, 32]:

$$\Delta T \Delta E = k_B T_0^2. \quad (4)$$

Уравнение (4) выполняется в случае термодинамического равновесия, однако в отсутствие его правильно записать следующую форму (с учетом того, что при $\Delta T \ll T_0$ можно записать $\Delta(1/T) \approx \Delta T/T_0^2$) в виде соотношения неопределенностей (СН)

$$(\Delta E)^2 \Delta \left(\frac{1}{T} \right)^2 \geq \left\{ \Delta \left(\frac{1}{T} \right) \Delta E \right\}^2 = k_B^2. \quad (5)$$

Соотношение (5) в некотором роде аналогично СН Гейзенберга [33, 34] в квантовой механике:

$$\Delta q \Delta p \geq \frac{\hbar}{2}. \quad (6)$$

Соотношение неопределенности Гейзенберга и СН в термодинамике – частные реализации более общего СН, предложенного Шредингером [35], являющееся прямым следствием неравенства Коши – Буняковского – Шварца в Гильбертовом пространстве [36].

$$\overline{(\Delta A)^2} \overline{(\Delta B)^2} \geq \overline{(\Delta A \Delta B)^2}. \quad (7)$$

где A и B – наблюдаемые величины, которым соответствуют эрмитовы операторы.

Значение данного СН состоит в том, что оно позволяет установить физический смысл правых частей неравенств (5) и (6). Из сопоставления этих выражений с (7) можно сделать вывод, что постоянная Планка (в случае нулевой температуры, при квантовых флуктуациях) и постоянная Больцмана (для теплового окружения, при тепловых флуктуациях) выполняют функции корреляторов соответствующих дисперсий. При определенных условиях, когда квантовые и тепловые флуктуации возникают совместно и не аддитивно, коррелятор в неравенстве (5) имеет более сложный вид, определяемый обеими постоянными одновременно.

В выражении (5) в левой части находится произведение дисперсий энергии и обратной температуры, которое вычисляется независимо как самостоятельная величина, называемая UP (uncertainties product).

Насыщение выражений (5) и (6), т.е. обращение их в равенства, происходит в случаях нахождения

системы в стационарном квантовом состоянии или же в состоянии теплового равновесия соответственно. Независимые определения левой (в форме UP) и правой (в форме коррелятора) частей неравенства (5) позволяют делать заключения о характере состояния системы в зависимости от того, выполняется равенство или неравенство этих величин.

Рассмотрим наиболее важные моменты основных теоретических подходов, которые направлены на исследования соотношения между флуктуациями температуры и энергией.

Первые работы обозначили цель – теоретическими исследованиями доказать справедливость термодинамического соотношения неопределенностей. Одной из них была работа [37], в которой соотношение неопределенности записано в виде уравнения

$$\sigma_E \sigma_\beta \geq k_B, \quad (8)$$

где флуктуации энергии и обратной температуры (σ_E и σ_β) находятся в соотношении с температурой термостата – T_0 , в которой находится исследуемая система, и ее теплоемкостью при постоянном объеме C_V следующим образом:

$$\sigma_\beta^2 = \frac{k_B}{T_0^2 C_V} \quad (9)$$

и

$$\sigma_E^2 \geq k_B T_0^2 C_V. \quad (10)$$

Как правильно замечает автор работ [38, 39], если обратить внимание на сходство формулы (8) с формулой (6), то становится понятна фундаментальность постоянной Больцмана, которая играет такую же роль, как и постоянная Планка.

В работе [40] рассмотрен случай идеального газа с постоянным и переменным числом частиц. Для газа из N свободных частиц теоретически была представлена неопределенность вида

$$\frac{(\Delta E)^2}{\langle E \rangle^2} + \frac{(\Delta \beta)^2}{\langle \beta \rangle^2} \geq \frac{2}{3} N. \quad (11)$$

где $\beta = 1/k_B T$.

В случае если число частиц N может меняться, то уравнение видоизменяется:

$$\frac{(\Delta N)^2}{\langle N \rangle^2} + \frac{(\Delta \mu)^2}{(k_B T)^2} \geq \frac{1}{\langle N \rangle}. \quad (12)$$

где μ – химический потенциал.

Более пригодное для практического применения соотношение между флуктуациями температуры и энергии описывается формулой с использованием теплоемкости системы – C [41–43]:

$$(\Delta E)^2 + C^2 (\Delta T)^2 = k_B T^2 C, \quad (13)$$

где теплоемкость системы может быть найдена как $\partial E / \partial T$.

Реализация подхода, основанного на статистической механике, приведена в работе [44]. В результате получился довольно интересный результат:

$$\Delta \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_m} \right) \Delta E \geq k_B, \quad (14)$$

где T – температура объекта; T_m – измеряемая температура. В дополнении к этому соотношению приведено еще одно:

$$\Delta \left(\frac{p}{T} - \frac{p_m}{T_m} \right) \Delta V \geq k_B, \quad (15)$$

где V – объем газа; p и p_m – давление в газе и измеряемое давление в газе соответственно.

Немного видоизмененные соотношения для жидкости [45] и идеального газа были получены через вариации объема и давления в работе [36]:

$$\Delta P \Delta V = k_B T \left(\frac{K_T}{K_S} \right)^{1/2} \geq k_B T, \quad (16)$$

где K_T и K_S – сжимаемость (compressibility) жидкости.

$$\Delta S \Delta T = k_B T \left(\frac{C_p}{C_v} \right)^{1/2} \geq k_B T, \quad (17)$$

где S – энтропия системы, C_p , C_v – теплоемкость жидкости при постоянном давлении и объеме соответственно.

Близкий к описанному выше методу был использован в работах [46, 47]. В результате было найдено следующее соотношение неопределенностей:

$$\Delta X \Delta \left(\frac{Y_w}{T_w} - \frac{Y_s}{T_s} \right) \geq 1, \quad (18)$$

где X – обобщенная координата; Y_w , Y_s – обобщенная внешняя и внутренняя (системы) сила; T_w , T_s – внешняя температура и температура системы.

Ценность данных работ заключается в том, что результаты были проверены численно.

В другом представлении [48] обобщенное соотношение неопределенности по температуре и энергии выглядит следующим образом:

$$\omega_E^2 + \omega_T^2 = \frac{1}{\langle n \rangle} \quad (19)$$

в формуле $\omega_E^2 = \text{Var}(E)/\langle E \rangle^2$ и $\omega_T^2 = \text{Var}(T)/\langle T \rangle^2$, а n – есть множественность системы (multiplicity). При $\text{Var}(T) = 0$ и $\text{Var}(E) = 1/\langle n \rangle$ система описывается каноническим ансамблем (ensemble), но уже при $\text{Var}(T) = 1/\langle n \rangle$ и $\text{Var}(E) = 0$ система может рассматриваться как микроканонический ансамбль (ensemble). Надо заметить, что этот подход находит свое косвенное подтверждение в ядерной физике и физике элементарных частиц [49].

Безусловно, термодинамический аналог соотношения неопределенностей играет важнейшую роль в биохимии. На это обращено внимание в работе [50], где соотношение неопределенности записано в следующем виде:

$$A \coth\left(\frac{A}{2k_B T}\right) \geq 2k_B T \quad (20)$$

где A – химическое сродство между химически взаимодействующими элементами системы.

С химической точки зрения величину A можно описать формулой

$$\frac{k^+}{k^-} = \exp\left(\frac{A}{k_B T}\right), \quad (21)$$

где k^+ , k^- – скорость прямой и обратной химической реакции.

Мы сделали обзор основных теоретических подходов, которые развивались различными исследователями за последние 40 лет. Однако реальные экспериментальные результаты показали необходимость адаптировать теорию к реальным расчетам, что было проделано в работе авторов [14]. На практике эксперимент подтвердил справедливость термодинамического соотношения неопределенностей.

При конструировании экспериментальной установки руководствовались следующими наводящими соображениями. В качестве основного рабочего элемента был выбран транзистор. Как известно, ток коллектора I_k , протекающий через транзистор, пропорционален относительной доле электронов, энергия которых в потенциальной яме больше энергии потенциального барьера эмиттер-база. Соотношение между током коллектора I_k и напряжением между эмиттером и базой – U_{in} имеет вид

$$I_k \sim \exp\left\{\frac{eU_{in}}{k_B T}\right\}, \quad (22)$$

где e – заряд электрона; T – абсолютная температура транзистора.

С другой стороны, ток коллектора I_k пропорционален напряжению между базой и коллектором U_{out} :

$$I_k = \frac{U_{out}}{R}, \quad (23)$$

где R некое эталонное сопротивление, на котором измеряется U_{out} .

Используя выражения (22) с учетом (23), получим выражение для логарифма напряжения U_{out} :

$$\ln(U_{out}) = \text{const}' + \frac{eU_{in}}{k_B T}. \quad (24)$$

Из выражения (24) видно, что при постоянной температуре зависимость $\ln(U_{out})$ от U_{in} линейна и ее угловой коэффициент $\alpha = e/k_B T$. Нахождение углового коэффициента α из экспериментальных данных по измерению U_{out} и U_{in} и последующий расчет постоянной Больцмана может служить тестом для определения надежности экспериментальной установки путем сравнения полученных результатов с ее табличным значением, равным $1,3806488(13) \times 10^{-23}$ Дж/К. Тестирование данной установки осуществлялось в термостате, стабилизирующем температуру с точностью до 0,1 К. Вместе с тем существенно, что величина U_{in} принимает случайные значения, обусловленные флуктуациями температуры, так что открывается возможность определять стандартные отклонения этих характеристик и сопоставлять их произведение с величиной их коррелятора.

В работе использовался полупроводниковый прибор BC847BS, состоящий из 2 транзисторов размером 1×1 мм. Оба транзистора образуют единый полупроводниковый прибор с общим полупроводниковым кристаллом (рис. 1).

В экспериментальной установке помимо описанного выше полупроводникового прибора также использовался DAC – цифроаналоговый преобразователь (позволяющий задавать напряжение на транзисторах), ADC – аналого-цифровой преобразователь (позволяющий регистрировать выходящий ток и напряжение). Образцовое напряжение U_{ref} – поддерживалось постоянным (с высоким уровнем стабилизации), равным +4,096 В.

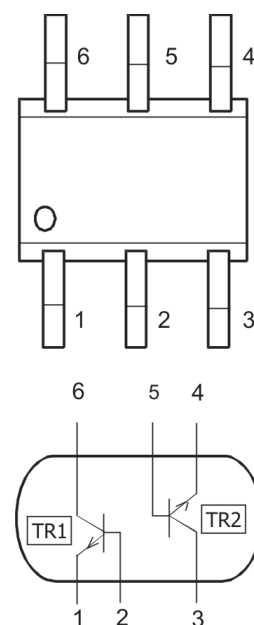


Рис. 1. Схема устройства полупроводникового прибора BC847BS

На экспериментальной установке проводились измерения исследуемых характеристик, связанных с токами и разностями потенциалов на первом транзисторе полупроводникового прибора (будем называть эти характеристики электронно-транспортными характеристиками транзистора). Регистрация температуры кристалла полупроводникового прибора осуществлялась на втором транзисторе.

Исходное (до включения тока) равновесие по температуре между транзисторами нарушалось вследствие пропускания тока, однако предполагали, что в силу особенностей конструкции прибора (оба этих транзистора представляют собой единую термодинамическую систему) оно успевало восстановиться за время, предшествовавшее началу измерений электронно-транспортных характеристик (14 мс), предполагая равенство температур на обоих транзисторах в момент измерений.

В набор измеряемых экспериментальных результатов входили:

- ток, I , протекающий между эмиттером и коллектором;
- напряжение U_{DAC} – разность потенциалов между ЦАП и источником образцового напряжения U_{ref} ;
- напряжение U_{out} – разность потенциалов между базой и коллектором;
- напряжение U_{in} – разность потенциалов между базой и эмиттером.

Вычисление мощности P , выделяемой на первом транзисторе, проводилось по формуле (6)

$$P = \left(\frac{(U_{DAC} - U_{in})}{R_2} U_{in} - \frac{U_{out}^2}{R_3} \right). \quad (25)$$

Полупроводниковый прибор помещался в стеклянный капилляр с предварительно запаянным концом. Полупроводниковый прибор соприкасался с запаянным концом капилляра. Капилляр с полупроводниковым прибором помещался в термостат.

Температура T , измерялась на втором транзисторе в кодах АЦП. Для перевода кода АЦП в температуру использовали градуировочный температурный датчик. Датчик и стеклянный капилляр с транзисторами помещались в термостат. Предварительно производилась оценка константы Больцмана k_B в соответствии с формулой (7). На рис. 2 представлен график зависимости $U_{in} - \ln(U_{out})$ для серии экспериментов при температуре $T = 0,31 \pm 0,001$ °С. Аналогичные зависимости были получены также для температур $T = 0,31; 2,65; 5,08; 7,53; 10,20; 12,3; 14,42; 17,09; 19,70; 22,51; 26,10$ °С.

На рис. 2 представлены экспериментальные данные зависимости $U_{in} - \ln(U_{out})$ и отмечены аппроксимирующие прямые L1, L2. Как видно из рис. 2, существуют 2 области с разным наклоном аппроксимирующих прямых. Для первой области,

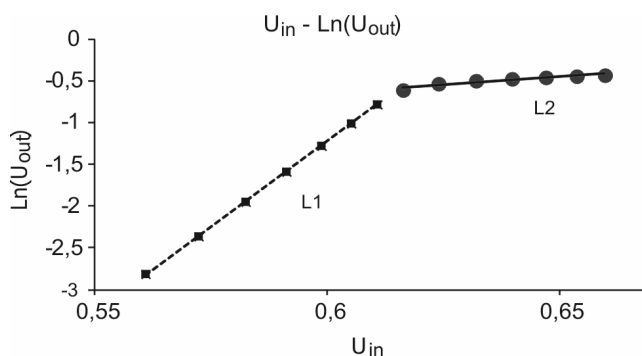


Рис. 2. Зависимость $U_{in} - \ln(U_{out})$. Серия экспериментов при температуре $T = 0,4$ °С

отмеченной на рис. 2 штрихпунктирной линией и обозначенной L1, значения входящего напряжения ниже, чем значения потенциального барьера эмиттер – база. Именно угловой коэффициент α этой аппроксимирующей прямой L1 используется для расчета по формуле (24) численного значения константы Больцмана. Для второй области, обозначенной на рис. 2 как L2, значения входящего напряжения выше потенциального барьера, поэтому в этой области значений входящего потенциала не может быть описана формулами (22–24).

Во всех сериях эксперимента обе области зависимости $U_{in} - \ln(U_{out})$ с достаточной точностью аппроксимировались линейной зависимостью.

В таблице приведены значения константы Больцмана, вычисленной по результатам серии экспериментов, выполненных при различных постоянных температурах. Численные значения константы Больцмана рассчитывались для первой области (L1) зависимости $U_{in} - \ln(U_{out})$ с помощью уравнения (24).

Удовлетворительное соответствие между найденным из эксперимента значением константы Больцмана и ее численным стандартным значением свидетельствует о надежности получаемых экспериментальных данных и о надежности измерений. Как видно из таблицы, существует определенный сдвиг в найденной количественной оценке константы Больцмана (при температурах ниже 26,1 °С). Этот сдвиг связан с тем, что термостат с температурой ниже температуры окружающей среды выходит из состояния термодинамического равновесия, что приводит к накоплению неучтенных в эксперименте слабых воздействий со стороны термостата на измерительную систему.

Экспериментальное определение произведения неопределенностей для переменных «энергия – обратная температура» $U_{E,1/T}$ потребовало более 10 000 экспериментов при разных температурах. Было выполнено сопоставление полученных значений с численным значением константы Больцмана. Среднее значение произведения флуктуации

Таблица

Численное значение константы Больцмана, полученное по экспериментальным данным при различных температурах

Температура серии экспериментов, °C	Численное значение константы Больцмана, рассчитанное с использованием данных эксперимента, $\times 10^{-23}$ Дж/К
0,31 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,01
2,65 $\pm$ 0,06	1,42 $\pm$ 0,03
5,08 $\pm$ 0,01	1,42 $\pm$ 0,01
7,53 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,02
10,20 $\pm$ 0,04	1,44 $\pm$ 0,02
12,3 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,02
14,42 $\pm$ 0,01	1,44 $\pm$ 0,01
17,09 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,03
19,70 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,07
22,51 $\pm$ 0,01	1,43 $\pm$ 0,02
26,10 $\pm$ 0,16	1,38 $\pm$ 0,01

обратной температуры и энергии в эксперименте равно $4,52 \pm 0,26 \times 10^{-23}$ Дж/К. Полученные результаты доказывают справедливость термодинамического соотношения неопределенностей.

Выводы

1. Экспериментальное доказательство справедливости частной реализации СН Шредингера в форме СН для флуктуаций энергии и температуры, в состоянии теплового равновесия открывает возможность объединения квантовой механики и статистической термодинамики. Общей платформой для дальнейшего объединения может стать универсальное СН Шредингера. В отличие от квантовой механики, появление которой обязано различием между экспериментом и классической теорией, проводимой экспериментальной работе предшествовали теоретические предпосылки, основанные на глубоком анализе универсального СН Шредингера.

2. Для биофизики и радиобиологии открываются новые возможности для теоретического описания проходящих в живых системах процессах. Вопросы флуктуаций энергии и температуры важны для рассмотрения в физике живого. Уравнения (8–21) позволяют рассматривать различные биологические и физико-химические процессы.

3. Особый интерес для биофизиков и радиобиологов могут представлять формулы (12) и (20), в которых термодинамическое соотношение неопределенности представлено через химический потенциал или через химическое сродство и скорости химических реакций. При внешних воздействиях (например, ионизирующего излучения) система может перейти в неравновесное состояние, при котором возможны локальные флуктуации температур, приводящих к локальному химическому преобразованию вещества под действием температурных флуктуаций. Не исключен процесс цепных реакций,

таких, как свободнорадикальное окисление, которое может быть запущено локальным всплеском температуры. Квантово-термодинамический подход особенно ценен при описании действия слабых доз ионизирующего излучения. Это могут быть и процессы, связанные с особенностями теплоемкости сред (формула 17), или процессы, описываемые флуктуациями давления и объема (формулы 15 и 16).

Авторы благодарны А. Смиривскому за помощь в создании экспериментальной установки, профессору О. Голубевой за плодотворную помощь при обсуждении результатов эксперимента.

Список литературы

1. Kolomeisky A.B., Fisher M.E. Molecular motors: a theorist's perspective // Ann. Rev. Phys. Chem. 2007. V. 58. P. 675–695.
2. Astumian R.D. Thermodynamics and kinetics of molecular motors // Biophys. J. 2010. V. 98. № 11. P. 2401–2409.
3. Von Delius M., Leigh D.A. Walking molecules // Chem. Society Rev. 2011. V. 40. № 7. P. 3656–3676.
4. Zimmermann E., Seifert U. Efficiencies of a molecular motor: a generic hybrid model applied to the F1-ATPase // New J. of Phys. 2012. V. 14. № 10. P. 103023.
5. Qian H. Phosphorylation energy hypothesis: open chemical systems and their biological functions // Ann. Rev. Phys. Chem. 2007. V. 58. P. 113–142.
6. Ritort F. Single-molecule experiments in biological physics: methods and applications // J. of Phys.: Condensed Matter. 2006. V. 18. № 32. P. R531.
7. Greenleaf W.J., Woodside M.T., Block S.M. High-resolution, single-molecule measurements of biomolecular motion // Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2007. V. 36. P. 171–190.

8. Cornish P.V., Ha T. A survey of single-molecule techniques in chemical biology // ACS Chem. Biol. 2007. V. 2. № 1. P. 53–61.
9. Moffitt J.R., Bustamante C. Extracting signal from noise: kinetic mechanisms from a Michaelis –Menten-like expression for enzymatic fluctuations // The FEBS J. 2014. V. 281. № 2. P. 498–517.
10. Базаров И.П. Методологические проблемы статистической физики и термодинамики. М., 1979.
11. Bazarov I.P. Methodological problems of statistical physics and thermodynamics. Moscow, 1979.
12. Kittel C. Temperature fluctuation: an oxymoron // Phys. Today. 1988. V. 41. № 5. P. 93.
13. Mahler G., Gemmer J., Michel M. Emergence of thermodynamic behavior within composite quantum systems // Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures. 2005. V. 29. № 1–2. P. 53–65.
14. Gemmer J., Michel M., Mahler G. Quantum thermodynamics // Lect. Notes Phys. 2005. P. 657. (Springer, Berlin Heidelberg 2005).
15. Artamonov A.A., Plotnikov E.V. Thermodynamic and relativistic uncertainty relations // J. of Phys.: Conference Series. IOP Publishing, 2017. V. 798. №. 1 P. 012098.
16. Artamonov A.A., Plotnikov E.V. Thermodynamic uncertainty relation as a fundamental aspect of quantum thermodynamics // Resource-Efficient Technol. 2018. V. 1. P. 17–29.
17. Umezawa H. Advanced field theory: Micro, macro, and thermal physics. N.Y., 1995.
18. Давыдов Г.Д. Термодинамика // Статистическая физика. М., 1982.
19. Davydov G.D. Thermodynamics // Statistical physics. Moscow, 1982.
20. Einstein A. Zur allgemeinen molekularen Theorie der Wärme // Annalen der Physik. 1904. V. 319. № 7. P. 354–362.
21. Beretta G.P. Quantum thermodynamics of nonequilibrium. Onsager reciprocity and dispersion-dissipation relations // Foundations of Phys. 1987. V. 17. № 4. P. 365–381.
22. Steiner R. History and progress on accurate measurements of the Planck constant // Reports on Progress in Phys. 2012. V. 76. № 1. C. 016101.
23. Rudoy Yu.G., Sukhanov A.D. Towards the unified non-classical physics: account for quantum fluctuations in equilibrium thermodynamics via the effective temperature // Condensed Matter Phys. 2005. V. 8. № 3 (43). P. 507–535.
24. Суханов А.Д. Статистико-термодинамические идеи Эйнштейна в современной физической картине мира (К 100-летию ранних работ Эйнштейна) // Физика элементарных частиц и атомного ядра. 2005. Т. 36. № 6. С. 62.
25. Sukhanov A.D. Statistical-thermodynamic ideas of Einstein in the modern physical picture of the world (to the 100th anniversary of Einstein's early works) // Fizika elementarnykh chastits i atomnogo yadra. 2005. V. 36. № 6. P. 62.
26. Kent A. Experimental low-temperature physics. 1993.
27. Narasimhachar V., Gour G. Low-temperature thermodynamics with quantum coherence // Nature Communications. 2015. V. 6. P. 7689.
28. Sukhanov A.D. A quantum generalization of equilibrium statistical thermodynamics: Effective macroparameters // Theor. and Mathem. Phys. 2008. V. 154. № 1. P. 153–164.
29. Falcioni M. et al. Estimate of temperature and its uncertainty in small systems // Am. J. of Phys. 2011. V. 79. № 7. V. 777–785.
30. Kosloff R. Quantum thermodynamics: A dynamical viewpoint // Entropy. 2013. V. 15. № 6. P. 2100–2128.
31. Gemmer J., Michel M., Mahler G. Brief review of pertinent concepts // Quantum Thermodynamics. 2009. P. 41–62.
32. Sukhanov A.D., Golubeva O.N. Modern stochastic thermodynamics // Thermodynamics / Mizutani Tadashi, ed. 2011. P. 4–98.
33. Суханов А.Д., Рудой Ю.Г. Об одной незамеченной идее Гиббса (комментарии к главе IX его классической книги) // Успехи физических наук. 2006. Т. 176. № 5. С. 551–555.
34. Sukhanov A.D., Rudoy Yu.G. On an unobserved idea by Gibbs (commentaries on chapter IX of his classic book) // Uspekhi fizicheskikh nauk. 2006. V. 176. № 5. P. 551–555.
35. Rosenfeld L. Ergodic theories / P. Caldirola, ed. N.Y., 1961.
36. Anselm A.I. Principles of statistical physics and thermodynamics. Moscow.
37. Heisenberg W. Physics and philosophy. 1958.
38. Arthurs E., Goodman M.S. Quantum correlations: A generalized Heisenberg uncertainty relation // Phys. Rev. Lett. 1988. V. 60. № 24. P. 2447.
39. Schrödinger E. About Heisenberg uncertainty relation // Proc. Prussian Acad. Sci. Phys. Math. XIX. 1930. V. 293.
40. Sukhanov A.D. Universal Schrödinger's uncertainties relations «coordinate – moment» and «energy – time». 2002. P. 179–182.
41. Lavenda B.H. Thermodynamic uncertainty relations and irreversibility // Int. J. of Theor. Phys. 1987. V. 26. № 11. P. 1069–1084.
42. Lavenda B.H. Bayesian approach to thermostatics // Ibid. 1988a. V. 27. № 4. P. 451–472.
43. Lavenda B.H. On the phenomenological basis of statistical thermodynamics // J. of Phys. and Chem. of Solids. 1988b. V. 49. № 6. P. 685–693.
44. Schlögl F. Thermodynamic uncertainty relation // Ibid. 1988. V. 49. № 6. P. 679–683.
45. Lavenda B.H. Statistical physics: A probabilistic approach. Camerino. Italy, 2016.
46. Uffink J., van Lith J. Thermodynamic uncertainty relations // Foundations of Phys. 1999. V. 29. № 5. P. 655–692.
47. Abad L.V., Huichalaf S.C. Complementarity in quantum mechanics and classical statistical mechanics // Theoretical Concepts of Quantum Mechanics. InTech. 2012.
48. Gilmore R. Uncertainty relations of statistical mechanics // Phys. Rev. A. 1985. V. 31. № 5. P. 32.

45. Quarati P., Lissia M. The phase space elementary cell in classical and generalized statistics // Entropy. 2013. V. 15. № 10. P. 4319–4333.

46. Velazquez L., Curilef S. A thermodynamic fluctuation relation for temperature and energy // J. of Phys. A: Mathematical and Theoretical. 2009. V. 42. № 9. P. 095006.

47. Velazquez L., Curilef S. Equilibrium fluctuation theorems compatible with anomalous response // J. of Statistical Mechanics: Theory and Experiment. 2010. V. 2010. № 12. P. P12031.

48. Wilk G., Włodarczyk Z. Generalized thermodynamic uncertainty relations // Physica A: Statistical Mechanics and its Applications. 2011. V. 390. № 20. P. 3566–3572.

49. Wilk G., Włodarczyk Z. The imprints of superstatistics in multiparticle production processes // Open Phys. 2012. V. 10. № 3. P. 568–575.

50. Barato A.C., Seifert U. Thermodynamic uncertainty relation for biomolecular processes // Phys. Rev. Lett. 2015. V. 114. № 15. P. 158101.

Поступила 15.04.2019

THERMODYNAMIC RELATION OF UNCERTAINTIES IN BIOPHYSICS AND RADIOBIOLOGY

**Plotnikov E.V.¹, Konstantinova N.A.²,
Artamonov A.A.³**

¹State Research Tomsk Polytechnic University

²Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

³Research Institute for Space Medicine, Burnazyan Federal Medical Biophysical Centre, Federal Medical Biological Agency

The paper is concerned with thermodynamic fluctuations of temperature and energy. By virtue of their interdependence these fluctuations can have influence on various micro- and macrosystems. The authors show that the thermodynamic uncertainties relation must be allowed for in biophysics and radiation biology where energy and temperature fluctuations are critical. Theoretical grounding has been given to equity of the thermodynamic uncertainties relation interconnecting interconnects fluctuations of the thermal and energy systems. The authors present the results of studying transport properties of semiconductors – transistors on a single silicon crystal for the purpose of estimating thermal and energy fluctuations. Experimental investigations support correctness of the thermodynamic uncertainties relation.

Key words: quantum thermodynamics, thermodynamic relation of uncertainties, temperature fluctuations, energy fluctuations, thermodynamics, biological molecular processes, enzymes.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 86–93.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.29

НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ СПИННОГО МОЗГА МЫШЕЙ В УСЛОВИЯХ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ

Лисюков А.Н.¹, Измайлов А.А.¹, Кузнецов М.С.¹, Давлеева М.А.¹, Валеева Е.В.¹, Нуруллин Л.Ф.^{1,2}, Исламов Р.Р.¹, Шенкман Б.С.³, Козловская И.Б.³

¹Казанский государственный медицинский университет

²Институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН

³Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

E-mail: gostev.andrei@mail.ru

Изучена экспрессия генов, кодирующих синаптические белки возбуждающих (холинергической [Chat, Chrm1], глутаматергической [Slc17a7, Grin2a]) и тормозных (глицинергической [Gla1, Glyt2] и ГАМКергической [Gad67, Gabra2]) нейромедиаторных систем в спинном мозге мышей после 30-суточного антиортостатического вывешивания и последующего 7-суточного периода восстановления. Статистически значимые эффекты моделирования гипогравитации на экспрессию генов-мишеней как через 30 сут антиортостатического вывешивания, так и после 7 сут восстановления не были обнаружены.

Результаты экспрессии генов, кодирующих белки возбуждающих и тормозных синапсов, свидетельствуют о нейропластичности спинного мозга мышей в условиях антиортостатического вывешивания и дают основание предполагать, что активность генов, ответственных за состояние нейромедиаторных систем в спинном мозге, не зависит от безопорности при моделировании последствий гипогравитации на Земле.

Ключевые слова: антиортостатическое вывешивание, спинной мозг, экспрессия гена, возбуждающие нейромедиаторные системы, тормозные нейромедиаторные системы.

Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т. 53. № 6. С. 94–97.

DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-94-97

Во время длительных космических полетов космонавты испытывают уменьшение влияния гравитационного поля Земли. Длительная микрогравитация вызывает особое состояние организма, которое влечет за собой характерные физиологические и морфологические изменения в различных системах организма [1, 2].

В последние десятилетия установлена важная роль морфофункциональных сдвигов в спинном мозге, развивающихся в условиях гипогравитации или при ее моделировании [3, 4]. Понятно, что ни одна модель не может полностью воспроизвести

весь спектр условий реального космического полета. Например, широко применяемая модель антиортостатического вывешивания [5, 6] хорошо воспроизводит эффекты безопорности для заднего пояса конечностей грызуна. Однако безопорность – один из факторов реального космического полета.

Важным событием в изучении влияния невесомости на ЦНС животных стал полет российского биоспутника «Бион-М1». Исследования, проведенные на мышах, показали, что сила гравитации модулирует экспрессию генов в ЦНС [7, 8], в том числе нейромедиаторных систем. Однако в условиях космического полета, при оценке выявленных изменений в экспрессии генов следует учитывать не только влияние гипогравитации, но и эффекты перегрузки, возникающие при старте и посадке космического корабля, а также действие радиоактивного излучения и напряженности магнитного поля Земли. В этой связи для установления изменений нейрохимических процессов в ЦНС в условиях безопорности сохраняется значимость использования в экспериментах на Земле монофакторной модели антиортостатического вывешивания.

В данном исследовании изучена экспрессия генов, кодирующих синаптические белки возбуждающих (холинергической [Chat, Chrm1], глутаматергической [Slc17a7, Grin2a]) и тормозных (глицинергической [Gla1, Glyt2] и ГАМКергической [Gad67, Gabra2]) нейромедиаторных систем в шейном и поясничном отделах спинного мозга мышей, после 30 сут антиортостатического вывешивания и 7 сут последующего восстановления.

Методика

Эксперименты выполнены на мышах-самцах линии BALB/c (возраст – 6–7 нед, масса – 20–25 г). Все процедуры с животными проводили в соответствии с правилами, рекомендованными физиологической

секцией Российского национального комитета по биологической этике [9] и одобрены локальным этическим комитетом Казанского ГМУ.

Для моделирования условий гипогравитации подопытных мышей вывешивали за хвост, лишая их опоры на задние лапы, в специальной клетке по методу Morey-Holton et al. [5, 6]. Экспериментальные животные были разделены на 3 группы: «Вывешивание» – мыши, находившиеся в условиях опорной разгрузки задних конечностей в течение 30 сут (n = 5); «Восстановление» – мыши после опорной разгрузки задних конечностей в течение 30 сут с последующим восстановлением в течение 7 сут (n = 5); «Контроль» – мыши, содержащиеся в стандартных условиях вивария (n = 5).

В установленные сроки подопытных мышей наркотизировали, спинной мозг выделили способом гидравлического выдавливания из позвоночного канала. Образцы спинного мозга контрольных животных получали вместе с группой «Вывешивание».

Экспрессию генов, кодирующих синаптические белки ЦНС, изучали с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Общую РНК выделяли из поясничного и шейного утолщений спинного мозга с помощью набора RNeasy Mini Kit (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя. Синтез кДНК проводили с использованием шестинуклеотидных рандомных праймеров и обратной транскриптазы RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific).

Количественный анализ уровня экспрессии проводили с помощью термоциклера CFX96 (BioRad). В состав реакционной смеси включали qPCRmix-HS SYBR (Евроген), праймеры, специфичные к целевым генам нейромедиаторных систем (таблица), образцы кДНК. Количество мРНК было нормализовано по референсному гену *Gapdh*. Каждую реакцию проводили с использованием 2 технических повторов.

Анализ полученных данных выполнен в среде для статистических вычислений R 3.4.4 [10]. Для расчета

Таблица

Последовательности и термодинамические характеристики праймеров, использованных для определения уровня экспрессии генов

Название гена [RefSeq ID]	Длина продукта, п.н.	GC, %	T _m
Chat [NM_009891.2]	128		
F: CCTGCTGTGATCTTTGCTCGGC		59,1	60,7
R: CAGTCAGTGGGAATGGATTGGCTG		54,2	61,3
Chrm1 [NM_001112697.1]	197		
F: CCAAAGCAGCATCAAGGACCAG		54,5	58,4
R: CCAGAGCAGATCCACCCAGGTAAC		58,3	59,7
Slc17a7 [NM_182993.2]	166		
F: GTGTTCTCATAGCCTCCCTGGTG		58,3	59,7
R: CCTCCATTTCACTTTCGTCACTGC		50	58,7
Grin2a [XM_006521795.3]	100		
F: CATCCAGCAGCAAGCCACAGTTATG		52	61,6
R: GAAGTCTCGGTAGCCAGGGAAGATG		56	60,3
Gla1 [NM_001290821]	157		
F: CTGTTTGCTGCTCTTCGTGTTCTC		52	60,3
R: CCTTCTCCACCCTCATCATCTCG		56,5	58,4
Glyt2 [XM_006540549.3]	151		
F: CGTCATCATCTGCTACACGCTCTTC		52	59
R: CTTGGGATGGTCACCGATAACACAG		52	60,3
Gad67 [XM_017315594.1]	129		
F: GCTAAGAACGGGGAGGAGCAAAC		56,5	59,2
R: CAGCAACTGGTGTGGGTGGTG		61,9	58,4
Gabra2 [XM_006503733.3]	243		
F: GTTTGTTATGCGTTTGTGTTCTCTGC		42,3	58,1
R: CTTCTTGTTGCGTTCTGGCGTCG		56,5	61,7

относительной экспрессии целевых генов с учетом значений, полученных для референсного гена «домашнего хозяйства» *Gapdh*, применяли метод $\Delta\Delta C_t$, предложенный авторами работы [11]. Для выявления различий в относительной экспрессии целевых генов использовали линейные модели со смешанными эффектами, реализованные в пакете lme4 [12], в качестве случайных эффектов выступали технические повторы и принадлежность соответствующих отделов спинного мозга конкретному животному.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ экспрессии генов, кодирующих синаптические белки возбуждающих (холинергической [Chat, Chrm1], глутаматергической [Slc17a7, Grin2a]) и тормозных (глицинергической [Gla1, Glyt2] и ГАМКергической [Gad67, Gabra2]) нейромедиаторных систем, не выявил статистически значимых отличий между группами «Вывешивание» и «Восстановление» по отношению к контрольной группе. Статистически значимых отличий в относительной экспрессии исследуемых генов также не выявлено между шейным и поясничным отделами спинного мозга животных из всех экспериментальных групп. Результаты анализа экспрессии целевых генов представлены на рисунке (А, Б).

Полученные сведения о нейрохимических процессах в спинном мозге в целом согласуются с данными авторов работы [8], которыми было показано, что опорная разгрузка в условиях эксперимента на Земле не приводит к изменениям экспрессии ряда нейронспецифических генов в головном мозге мышей. Однако необходимо учитывать тот факт, что сдвиги в активности нейромедиаторных систем могут происходить на ранних сроках воздействия опорной разгрузки с последующим нивелированием эффекта, как это было показано авторами работы [13], в эксперименте на крысах в условиях антиортостатического вывешивания.

Таким образом, приведенные выше данные и результаты нашего исследования дают основание предполагать, что при моделировании последствий гипогравитации на Земле уровень экспрессии генов, ответственных за состояние нейромедиаторных систем в спинном мозге, не зависит от безопорности.

Выводы

Полученные данные об экспрессии генов, кодирующих синаптические белки возбуждающих и тормозных нейромедиаторных систем, свидетельствуют о нейропластичности спинного мозга мышей в условиях антиортостатического вывешивания.

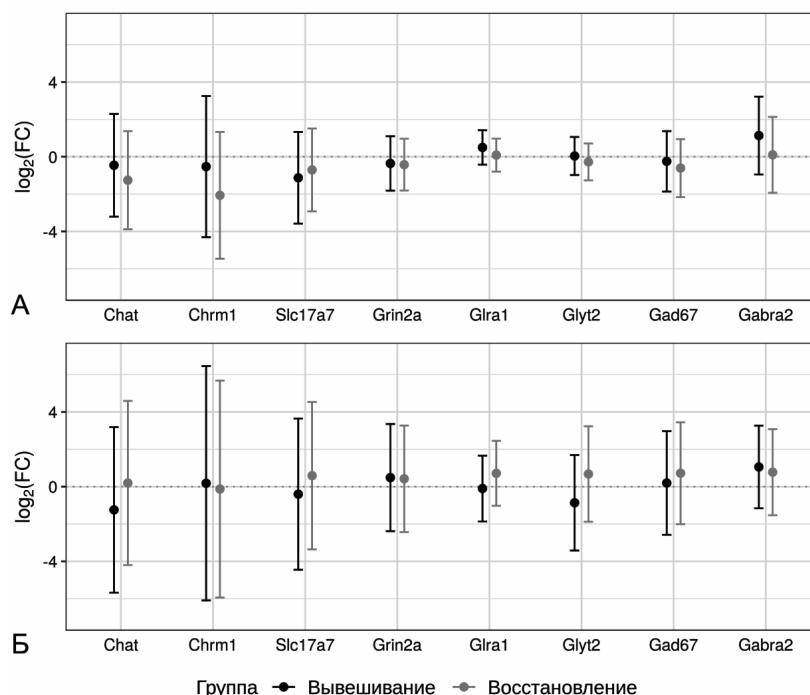


Рисунок. Сравнительный анализ экспрессии генов возбуждающих (холинергической [Chat, Chrm1], глутаматергической [Slc17a7, Grin2a]) и тормозных (глицинергической [Gla1, Glyt2] и ГАМКергической [Gad67, Gabra2]) медиаторных систем в шейном (А) и поясничном (Б) отделах спинного мозга мышей.

Результаты представлены в виде среднего значения $\log_2(FC)$ по отношению к экспрессии в контрольной группе и соответствующего 95%-ного доверительного интервала

Исследование поддержано грантом РФФИ № 18-315-00402 (А.А. Измаилов). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН.

Список литературы

1. Lee J.K. et al. Spaceflight-associated brain white matter microstructural changes and intracranial fluid redistribution // *JAMA Neurol.* 2019.
2. Van Ombergen A. et al. The effect of spaceflight and microgravity on the human brain // *J. Neurol. Springer.* 2017. V. 264, № Suppl 1. P. 18–22.
3. Povysheva T.V. et al. Myelinated fibers of the mouse spinal cord after a 30-day space flight // *Rep. Biol. Sci.* 2016. V. 469. № 1. P. 163–166.
4. Scott J.M. et al. Challenges, concerns and common problems: physiological consequences of spinal cord injury and microgravity // *Spinal Cord.* 2011. V. 49. № 1. P. 4–16.
5. Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects // *J. Appl. Physiol.* 2002. V. 92. № 4. P. 1367–1377.
6. Ильин Е.А., Новиков В.Е. Стенд для моделирования физиологических эффектов невесомости в лабораторных экспериментах с крысами // *Косм. биол. и авиакосм. мед.* 1980. V. 14. № 3. P. 79–80.
7. Ilyin E.A., Novikov V.E. Stand for modeling the physiological effects of microgravity in laboratory experiments with rats // *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya meditsina.* 1980. V. 14. № 3. P. 79–80.
8. Islamov R.R. et al. Full-genome study of gene expression in lumbar spinal cord of mice after 30-day space flight on «Bion-M1» biosatellite // *Acta Astronaut.* 2016. V. 122. P. 231–236.
9. Kulikova E.A. et al. The effect of long-term hindlimb unloading on the expression of risk neurogenes encoding elements of serotonin-, dopaminergic systems and apoptosis; comparison with the effect of actual spaceflight on mouse brain // *Neurosci. Lett.* 2017. V. 640. P. 88–92.
10. Генин А.М., Ильин Е.А., Капланский А.С. Биоэтические правила проведения исследований на человеке и животных в авиационной, космической и морской медицине // *Авиакосм. и экол. мед.* 2001. Т. 35. № 4. С. 14–20.
11. Genin A.M., Ilyin E.A., Kaplansky A.S. Bioethical rules for conducting research on humans and animals in aviation, space and marine medicine // *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina.* 2001. V. 35. № 4. P. 14–20.
12. R Core Team. R: A Language and environment for statistical computing. Vienna, 2018.
13. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta CT$ method // *Methods.* 2001. V. 25. № 4. P. 402–408.
14. Bates D. et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4 // *J. Stat. Softw.* 2015. V. 67. № 1. P. 1–48.
15. Treffort N. et al. Variations in amino acid neurotransmitters in the rat ventral spinal cord after hindlimb unloading // *Neurosci. Lett.* 2006. V. 403. № 1–2. P. 147–150.

Поступила 02.04.2019

SPINAL CORD NEUROPLASTICITY IN TAIL-SUSPENDED MICE

Lisyukov A.N.¹, Izmailov A.A.¹, Kuznetsov M.S.¹,
Davleeva M.A.¹, Valeeva E.V.¹,
Nurullin L.F.^{1,2}, Islamov R.R.¹, Shenkman B.S.³,
Kozlovskaya I.B.³

¹Kazan State Medical University

²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Centre of the Russian Academy of Sciences

³Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow

Expression of genes coding the synaptic excitatory (cholinergic [Chat, Chrm1], glutamatergic [Slc17a7, Grin2a]) and inhibitory (glycinergic [Gla1, Glyt2] and GABA-ergic [Gad67, Gabra2]) proteins of the spinal cord neuromediator system in mice after 30-d tail-suspension and subsequent 7-d recovery was studied. Statistically significant effects of modeled hypogravity on expression of target-genes were observed neither after suspension nor post recovery.

The results of studies attest to spinal cord neuroplasticity in tail-suspended mice and suggest that activity of the genes responsible for the spinal cord neuromediator systems might not be dependent on the modeled musculoskeletal unloading in hypogravity.

Key words: tail-suspension, spinal cord, gene expression, exciting neuromediator systems, inhibitory neuromediator systems.

Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina (Russia). 2019. V. 53. № 6. P. 94–97.

Редколлегия журнала сердечно поздравляет
с юбилейными датами сотрудников ГНЦ РФ – ИМБП РАН:

Берковича Юлия Александровича

Валуева Владимира Анатольевича

Воловенко Николая Николаевича

Киселеву Елену Вячеславовну

Рыкову Марину Петровну

Селезневу Марию Семеновну

Тахо-Годи Валентину Егоровну

Турчанинову Валентину Федоровну

Фадееву Тамару Петровну

Фомину Галину Аркадьевну

Добрые вам пожелания и плодотворной работы!