КАМЛД

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА

3 (18) 2016

КАЗАХСТАНСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Swelab alfa α

Нам доверяют профессионалы!

Лучшие достижения современных технологий в лаборатории

- Минимальный расход реагентов
- Встроенный микрокапиллярный адаптер (МКА)
- Компактный размер, элегантный дизайн
- Большой сенсорный дисплей
- Встроенная программа контроля качества
- Удобное меню пользователя
- Традиционное шведское качество
- Высочайшая точность и воспроизводимость результатов

3 ГОДА ГАРАНТИИ

www.labmed.kz

Labtronic®

ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

КАМЛД

ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА

3 (18) 2016

Казахстанская Ассоциация Медицинской Лабораторной Диагностики

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ
Председатель редакционной коллегии – Рысулы М.Р.

Абильдинова Г.Ж., Аблаев Н.Р. (зам. председателя редакционной коллегии), Ахматуллина Н.Б., Баймуратова М.А., Бейсембаева Ш.А., Беляев Н.Н., Беркинбаев С.Ф., Длимбетов Е.Т., Жангелова М.Б., Иванов А.В., Калимолдаева С.Б., Ким Т.Я., Шибанова А.И.

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ
Уразбаева Д.Ч.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ
Азизов И.С. (Караганда), Аканов А.А. (Алматы), Бекиров Д.С. (Алматы), Билялова К.И. (Алматы), Бисенова Н.М. (Астана), Булегенова М.Г. (Алматы), Дурумбетов Е.Е. (Алматы), Жакипбаева Б.Т. (Алматы), Канжегалина З.К. (Алматы), Каральник Б.В. (Алматы), Курманова Г.М. (Алматы), Лебедев А.С. (Астана), Маймакова А.М. (Алматы), Мека-Меченко Т.В. (Алматы), Мусаев А.Т. (Алматы), Мухаметкалиев Н.А. (Алматы), Мендешева Г.Г. (Алматы), Ордабаев Ж.К. (Актобе), Плешкова С.М. (Алматы), Рамазанова Б.А. (Алматы), Сейдуалиева Б.С. (Алматы), Тугамбаев Т.И. (Алматы), Тукеев М. (Алматы), Турланов К.М. (Алматы), Утешева Ж.А. (Алматы), Шопаева Г.А. (Алматы)

КООРДИНАТОР КАМЛД
Ольга ХАРЛАМОВА

Редакция не всегда разделяет мнение авторов публикации. Ответственность за содержание рекламы несут рекламодатели. Рекламодатели предупреждены об ответственности за рекламу незарегистрированных, не разрешенных к применению МЗСР РК лекарственных средств, изделий медицинского назначения и оборудования. При перепечатке материалов ссылка на журнал «Лабораторная медицина» обязательна.

Редакция журнала «Лабораторная медицина» принимает для опубликования статьи по вопросам организации, управления и модернизации здравоохранения.

К сведению авторов:
1. Статьи предоставляются на бумажном и электронном носителях. Допустима пересылка электронной версии по e-mail.
2. На первой странице указываются инициалы авторов, их должности, ученые степени и звания, полное название учреждения, где работают авторы.
3. На последней странице должны быть подписи авторов с указанием почтового адреса и телефонов.
4. Таблицы, графики и рисунки должны быть компактными, иметь порядковый номер, название и четко обозначенные графы.
5. Редакция оставляет за собой право редактирования и сокращения текста.

Собственник и издатель: ТОО «МедМедиа Казахстан»

MedMedia в составе MedExpert

Зарегистрирован в Министерстве информации и культуры РК, свидетельство о постановке на учет №11928-Ж от 16.08.2011 г.

Электронная версия журнала на сайтах
www.labmed.kz, www.medmedia.kz, www.kamld.kz

Генеральный директор-главный редактор: Айдын ДЖАНКУРАЗОВА

Верстка и дизайн: Асель РАХИМБАЕВА

Руководитель отдела рекламы: Ольга ХАРЛАМОВА

Менеджер по распространению и подписке: Ольга ХАРЛАМОВА

Водитель: Тимур КАУЛАНБАЕВ

Веб-дизайнер: Дмитрий КОНШИН

Отдел подписки
+7 (727) 250 00 11
e-mail: podpiska@medmedia.kz

Адрес редакции:
Республика Казахстан, 050022,
г. Алматы, ул. Шагабутдинова 169, 2 этаж
тел. +7 (727) 250 00 11 (вн. 712)
e-mail: info@kamld.kz, info@medmedia.kz

Отпечатано в типографии
ТОО "ПК Муравей"
Адрес: ул. Толе би, 304, оф. 301
тел.: +7 (727) 238 14 28, 238 14 29
www.muravei.kz

Тираж: 500 экз.

Журнал «Лабораторная медицина» распространяется по подписке, на открытых площадках общественно значимых мероприятий и в медицинских учреждениях.

Генеральный информационный партнер:

KIHE ASTANA ZDOROVIE

БИОМЕДИЦИНА

Влияние тетрахлорметана на состояние клеточных мембран в условиях in vitro
О.Г. Запарина, М.К. Мурзахметова, С.Т. Тулеуханов, Н.И. Жапаркулова, Э.А. Калиев
3
Effect of carbon tetrachloride on state of cell membranes in vitro
O.G. Zaparina, M.K. Murzakhmetova, S.T. Tuleukhanov, N.I. Zhaparkulova, E.A. Kaliev

МИКРОБИОЛОГИЯ

Микробиологическая оценка эффективности кожных антисептиков, применяемых в стоматологической практике
Л.С. Касымканова, Д.Ж. Баймурзинова, Ж.С. Алибаева
9
Microbiological efficacy analysis of skin antiseptics used in dental practice
L.S.Kasymkanova, D.Zh. Baimurzinova, Zh.S.Alibayeva

МОРФОЛОГИЯ

Влияние производственных факторов на цитохимические показатели клеток эндокринной системы
Г.А. Тусупбекова, Д.Ч. Уразбаева
17
Influence of production factors on cytochemical indices of the cells of the endocrine system in experimental animals
G.A. Tusupbekova, D.CH. Urazbaeva

ГЕМАТОЛОГИЯ

Дисбаланс фракций гемоглобина в зависимости от уровня оксидативного стресса при канцерогенезе
А.С. Садвакас
20
Imbalance of hemoglobin fractions depending on a level of oxidative stress in carcinogenesis
A.S. Sadvakas

ОБЗОРЫ

Кислород, его транспорт и роль в организме человека
Н.Р. Аблаев
25
Oxygen, its transport and role in the human body
N.R. Ablaev

СОБЫТИЯ

Интеграция международных ассоциаций – путь к развитию клинической цитологии в Казахстане
А.И. Шибанова, Ж.Б. Елеубаева
38
Integration of international associations is a path to development of clinical cytology in kazakhstan
A.I. Shibanova, Zh.B.Yeleubayeva

БИОМЕДИЦИНА

Дәрілік өсімдіктер сығындыларының лейкемия клеткаларына цитостатикалық әсерлері
Г.Т. Жаманбаева, М.К. Мурзахметова, С.Т. Тулеуханов, Н.Т. Абылайханов
41
Cytotoxic effects of medicinal plants extracts on leukemic cells
SG.T. Zhamanbayeva, M.K. Murzahmetova, S.T. Tuleuhanov, N.T. Abylayhanova

УДК57.044

ВЛИЯНИЕ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН В УСЛОВИЯХ IN VITRO

О.Г. Запарина, М.К. Мурзахметова, С.Т. Тулеуханов, Н.И. Жапаркулова, Э.А. Калиев
Казахский национальный университет им. аль-Фараби
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты исследования влияния тетрахлорметана на состояние клеточных мембран эритроцитов и гепатоцитов крыс в условиях in vitro. Исследование влияния CCl4 на состояние мембран эритроцитов выявило, что действие токсиканта приводит к дозозависимому снижению резистентности эритроцитов: повышается осмотический гемолиз и проницаемость мембран эритроцитов. Показано, что с увеличением концентрации четыреххлористого углерода повышается уровень перекисного окисления микросом печени, что, несомненно, связано с увеличением концентрации свободных радикалов в клеточных мембранах. При воздействии четыреххлористого углерода наблюдается гемолиз эритроцитов и деструктивные нарушения мембран клеток печени, причем, степень повреждения напрямую зависит от концентрации тетрахлорметана. Следовательно, тетрахлорметан дозозависимо увеличивает гемолиз эритроцитов, а также количество малонового диальдегида. Таким образом, проведенные исследования показали, что четыреххлористый углерод, известный как гепатотоксический препарат, оказывает повреждающее действие на структурно-функциональное состояние биологических мембран. При этом меняется резистентность эритроцитов и физико-химическое состояние липидного бислоя мембран гепатоцитов.

Ключевые слова: *тетрахлорметан, биологические мембраны, эритроциты, резистентность, гепатоциты, перекисное окисление липидов.*

Лекарственные препараты, вызывая терапевтический эффект, могут обусловливать побочные реакции, которые развиваются вследствие передозировки, прямого токсического действия, непереносимости, вторичного лекарственного эффекта, аллергических, ложноаллергических и психогенных реакций, а также в виде тератогенного эффекта и т.п. Прием лекарственных средств может осложниться генерализованными побочными реакциями или органными поражениями. Среди последних существенная роль отводится поражению печени [1, 2]. Практически любой препарат способен вызвать поражение печени и развитие гепатита разной степени тяжести. Разнообразные химические вещества могут вызвать как острое, так и хроническое поражение печени, причем часть веществ (например, дихлорэтан, четыреххлористый углерод, хлороформ) оказывает преимущественно непосредственное гепатотоксическое действие, в то время как другие вещества (например, уксусная кислота, мышьяк, медный купорос) — опосредованно влияют на функционирование гепатоцитов, нарушая их гомеостаз [3, 4, 5]. Лекарственный гепатит развивается на фоне лечения медикаментами в результате токсического воздействия лекарственного средства на клетку печени. В настоящее время известно более 1000 медицинских препаратов, вызывающих в процессе лечения лекарственные гепатиты [6, 7].

Химическое повреждение печени могут вызывать природные вещества и ксенобиотики, включая фармацевтические препараты. Наиболее часто повреждения печени реализуются через химические и иммунологические механизмы. На фармацевтические препараты приходится до 25% всех случаев острого повреждения печени. Известно, что печень является мишенью для проявления токсичности ряда лекарственных препаратов, поскольку именно в этом органе происходит метаболизм ксенобиотиков. Гепатоциты функционируют в условиях высоких концентраций реактивных и токсических форм лекарственных препаратов [8, 9].

При развитии целого ряда патологических состояний существенную роль играет повреждение биологических мембран. Структура биомембран нарушается, как правило, за счет интенсификации перекисного окисления липидов, в процессе которого в гидрофобных жирнокислотных остатках липидов, содержащих двойные связи, образуются полярные гидроперекисные группы [10]. Взаимодействие этих групп с другими полярными структурами биологических мембран приводит к увеличению микровязкости клеточных и субклеточных мембран и, как

следствие, ведет к нарушению внутриклеточного метаболизма. Следовательно, перекисное окисление мембранных фосфолипидов является одним из наиболее распространенных механизмов деструкции мембран, липопротеинов и других липидсодержащих структур [11, 12].

Известно, что печень является мишенью для проявления токсичности некоторых лекарственных препаратов, в связи с тем, что в этом органе происходит метаболизм ксенобиотиков. Клетки печени способны функционировать в условиях высоких концентраций реактивных и токсических форм лекарственных препаратов. В результате развития ряда патологических состояний существенную роль играет повреждение биомембран [13].

В связи с этим, целью настоящего исследования было исследование влияния гепатотоксического препарата на состояние мембран эритроцитов и гепатоцитов в условиях in vitro.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

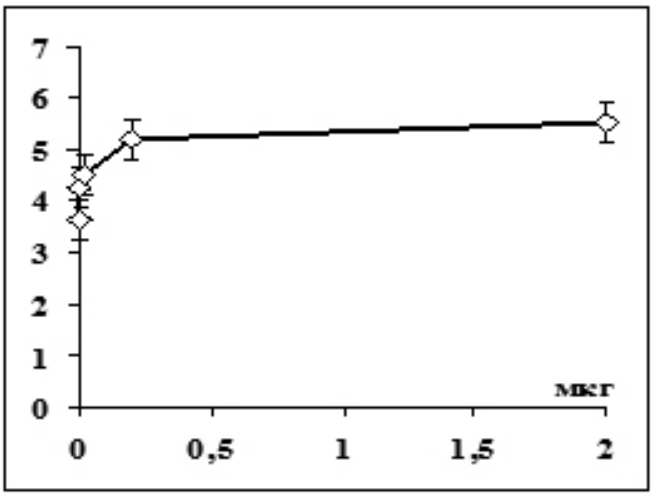
Опыты проведены на 20 взрослых (12-месячных) крысах-самцах массой 220±50 г. Для получения гомогената навеску (0,5-1,0 г) ткани печени крыс после промывания в охлажденном физиологическом растворе помещали в 10 мл среды, содержащей 0,85% NaCl и 50 мМ KH_2PO_4, (pH 7,4 при 4 °С) и гомогенизировали гомогенизатором типа Polytron в течение 90 сек. Гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 20 мин. Микросомную фракцию получали, центрифугируя супернатант при 30000 g в течение 60 мин. Надосадочную жидкость осторожно сливали и осадок, представляющий собой фракцию тяжелых микросом, суспендировали в среде, содержащей 25% глицерина, 0.1 мМ ЭДТА, 0.2 мМ $CaCl_2$, 10 мМ гистидина, (pH 7.2 при 4 °С) и хранили при минус 4 °С.

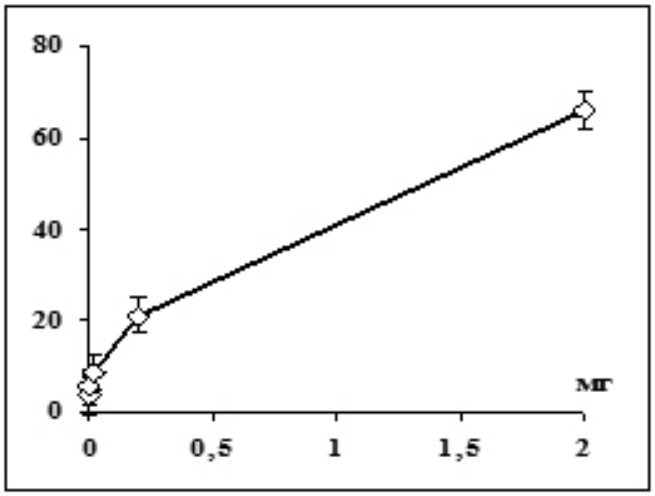
Кровь центрифугировали 10 мин при 1000 g. Плазму и клетки белой крови удаляли, а эритроциты дважды промывали средой инкубации, содержащей 150 мМ NaCl, 5 мМ $Na2HPO_4$ (pH-7.4). Осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ) определяли, инкубируя в течение 20 мин при 37°С в гипотонических растворах хлористого натрия (0,35-0,5 г/100 мл). Эритроциты осаждали центрифугированием и в супернатанте измеряли концентрацию гемоглобина. Оптическую плотность регистрировали при длине волны 540 нм.

Проницаемость эритроцитарных мембран определяли по методу Колмакова и Радченко [14] с использованием растворов мочевины и NaCl.

Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в микросомах печени судили по содержанию ТБК-активных продуктов. Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли по интенсивности развивающейся окраски в результате взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) по методу H.O. Ohkawa e.a. [15]. Для индукции процесса ПОЛ в мембранах применяли систему Fe^{2+} (0,02 мМ)+аскорбат (0,5 мМ). Окисление проводили в среде гомогенизирования в термостатируемых ячейках при 37°С с постоянным перемешиванием. Пробы отбирали через определенные промежутки времени от 0 до 60 мин. За накоплением малонового диальдегида (МДА) (продукта ПОЛ) следили по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, оптическую плотность измеряли при 532 нм. Расчет содержания продуктов, реагирующих с ТБК, проводили с учетом коэффициента молярной экстинкции МДА, равного $1.56x10^5$ $M^{-1}\cdot см^{-1}$.

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Excel и изменения параметров с учетом непарного критерия Фишера - Стьюдента считали достоверными при $p \leq 0.05$.





По оси абсцисс: концентрация CCl4, мкг или мг;
по оси ординат: величина гемолиза в %. Гемолиз в 0,5% NaCl

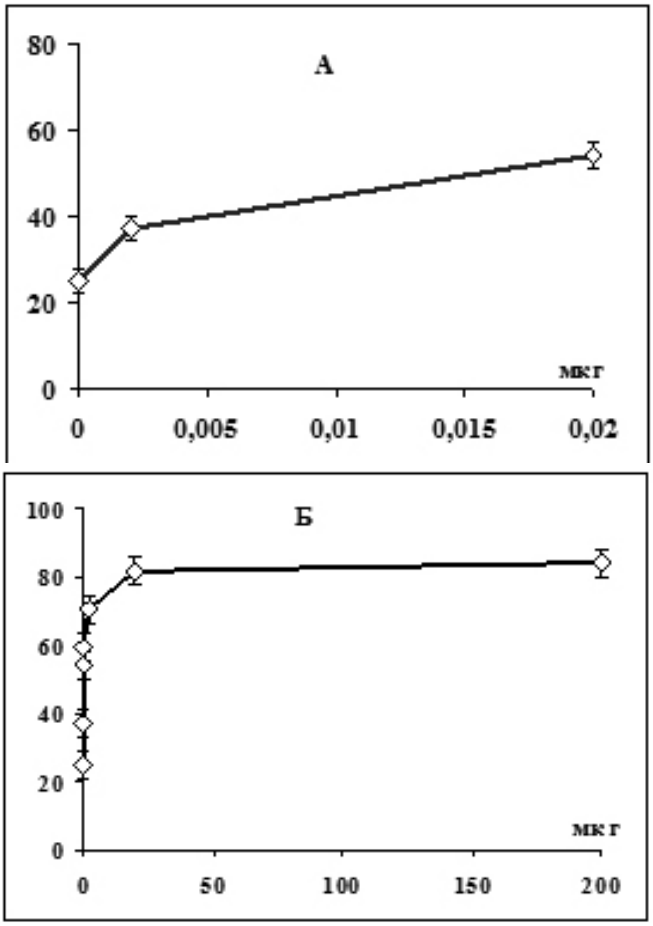
Рис. 1. Изменение осмотической резистентности эритроцитов при различных концентрациях четыреххлористого углерода

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

В опытах in vitro на мембранах эритроцитов и микросомах печени крыс была изучена зависимость состояния биомембран от концентрации гепатотоксического препарата – тетрахлорметана.

Для изучения влияния CCl_4 на состояние мембран эритроцитов нами были проведены исследования действия возрастающих концентраций токсиканта на осмотическую резистентность эритроцитов в условиях in vitro (рисунок 1). Как видно из рисунка 1, низкие концентрации CCl_4 (до 2 мкг) оказывают несущественное влияния на резистентность эритроцитов крыс, тогда как увеличение концентрации резко повышает гемолиз эритроцитов. Высокие концентрации токсиканта (2 мг) приводят к практически полному гемолизу эритроцитов. Полученные результаты показали, что тетрахлорметан дозозависимо увеличивает гемолиз эритроцитов.

Результаты по влиянию тетрахлорметана на проницаемость мембран эритроцитов взрослых крыс выявили, что с увеличением концентрации токсиканта (до 200 мкг) при соотношении мочевины и хлорида натрия 45/55 повышается уровень гемолиза эритроцитарных мембран (рисунок 2). Как видно из рисунка, гемолиз эритроцитов резко увеличивается более, чем на 50% в диапазоне концентраций 0,002-20 мкг, дальнейшее повышение концентрации токсиканта выше 20 мкг вызывает незначительное увеличение гемолиза эритроцитов.



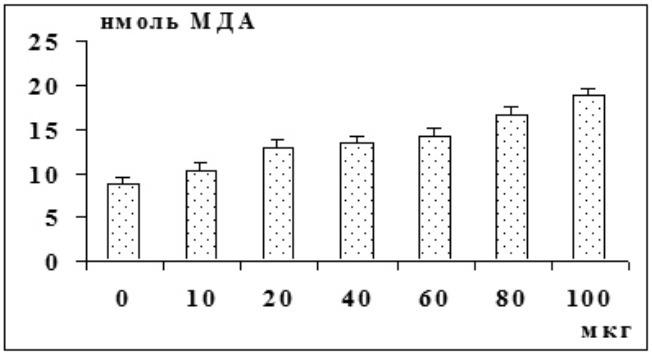
По оси абсцисс: концентрация ионов ртути, мкг; по оси ординат: уровень гемолиза в %.

Рис.2. Изменение проницаемости мембран эритроцитов крыс при различных концентрациях тетрахлорметана

На рисунке 2А приведены данные по увеличению уровня гемолиза эритроцитов при низких концентрациях токсиканта. Проницаемость мембран эритроцитов повышается, начиная с низких концентраций тетрахлорметана. Следовательно, четыреххлористый углерод повышает проницаемость мембран эритроцитов и тем самым увеличивает гемолиз эритроцитов.

Таким образом, на основании результатов экспериментов можно заключить, что четыреххлористый углерод оказывает повреждающее действие на клеточные мембраны.

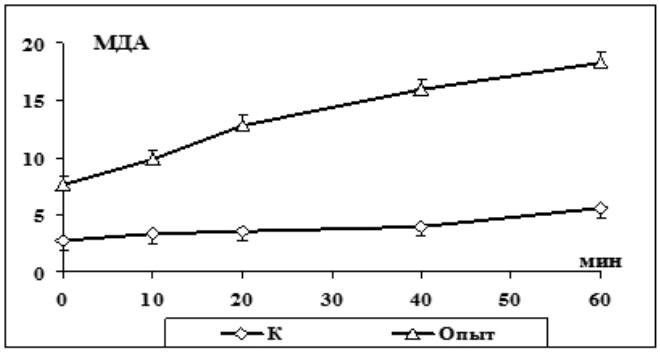
На рисунке 3 приведены данные по влиянию возрастающих концентраций четыреххлористого углерода на процессы перекисного окисления в гепатоцитах крыс в условиях in vitro после 60-минутной индукции системой Fe^{2+}-аскорбат. Как видно из рисунка, при повышении концентрации четыреххлористого углерода, содержание перекисных продуктов увеличивается, достигая максимума при концентрации $CC1_4$ 100 мкг\мг белка, при этом количество МДА превышает контрольные значения более, чем в 2 раза.



По оси абсцисс: концентрация CCl4, мкг; по оси ординат: уровень ПОЛ, нмоль МДА/мг белка

Рис. 3. Влияние возрастающих концентраций CC14 на уровень ПОЛ в микросомах печени крыс

В следующей серии экспериментов были определены продукты ПОЛ в микросомальной фракции печени после 10, 20, 40 и 60-минутной индукции системой Fe-аскорбат при действии 100 мкг $CC1_4$ на мг белка (Рис.6).



По оси абсцисс: индукция ПОЛ, мин; по оси ординат: уровень ПОЛ, нмоль МДА/мг белка

Рис. 4. Влияние CC14 на уровень ПОЛ в микросомах печени крыс при индукции системой Fe-аскорбат

Результаты экспериментов показали, что с увеличением времени индукции количество МДА возрастает. При 60-минутной индукции Fe2+-аскорбатом содержание перекисных продуктов в микросомах печени в экспериментах с CC14 достигает 18,3 нмоль МДА на мг белка, тогда как в контрольных опытах- 5,6 нмоль МДА на мг белка.

В условиях in vitro исследование влияния CCl4 на состояние мембран эритроцитов выявило, что действие токсиканта приводит к дозозависимому снижению резистентности эритроцитов: повышается осмотический гемолиз и проницаемость мембран эритроцитов. Показано, что с увеличением концентрации четыреххлористого углерода повышается уровень перекисного окисления микросом печени, что, несомненно, связано с увеличением концентрации свободных радикалов в клеточных мембранах.

Таким образом, проведенные исследования показали, что четыреххлористый углерод, известный как гепатотоксический препарат, оказывает повреждающее действие на структурно-функциональное состояние биологических мембран. При этом меняется резистентность эритроцитов и физико-химическое состояние липидного бислоя мембран гепатоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Косарев В.В., Бабанов С.А. Токсические (токсико-аллергические) гепатиты// Consilium medicum. Гастроэнтерология. – 2009. – № 2. – с. 29-30.*
2. *Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress// Curr Med Chem. 2005;12 (10):1161-208.*
3. *Jomova K., Vondrakova D., Lawson M., Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders// Mol Cell Biochem. 2010 Dec; 345 (1-2):91-104.*
4. *Кравченко Л.В., Трусов Н.В., Ускова М.А., Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Васильева М.А., Селифанов А.В., Тутельян В.А. Характеристика острого токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса. // Токсикологический вестник. – 2009. – № 1. – с. 12-18.*
5. *Куценко С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание. – СПб: Фолиант, 2004. – с. 720.*
6. *Girotti, A. W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J. Lipid. Res. (1998). 39 (8), 1529 – 1542.*
7. *Zimmerman HJ, Lewis JH. Chemical and toxin induced hepatotoxicity // Gastroenterology Clinics of North America 1995; 24(4): 1027-1045.*
8. *Мирошина Т.Н., Мурзахметова М.К., Утегалиева Р.С., Шайхынбекова Р.М., Михалкина Н.И. Корригирующее влияние индоламинов на состояние мембран эритроцитов при действии ионов кадмия // Вестник КазНУ. Серия биологическая.-2002, №3. – с. 80-86.*
9. *Bigoniya P., Singh C. S., Shukla A. A Comprehensive Review of Different Liver Toxicants Used in Experimental Pharmacology //International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 2009; 1(3): 124-135 12.*
10. *Young S. and Woodside J.V.Antioxidants in health and disease // J. Clin. Pathol. – 2001.- Vol.54, N 3.– P.176-186.*
11. *Кравченко Л.В, Трусов Н.В., Ускова М.А, Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Васильева М.А., Селифанов А.В., Тутельян В.А. Характеристика острого токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса. // Токсикологический вестник. – 2009. – № 1. – С. 12-18.*
12. *Girotti, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J. Lipid. Res. (1998). 39 (8), 1529 – 1542.*
13. *Ayala A., Muñoz M.F. and Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2014, Vol. 2014 Article ID 360438, 31 p*
14. *Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний печени //Терапевтический архив. – 1982. – Т.54, №2. – С. 59-62.*
15. *Ohkawa H.O. Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in ani¬mal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem. – 1979. Vol.95, N 2. - P.351-358.*

REFERENCES:

1. *Kosarev V.V., Babanov S.A. Toksicheskie (toksiko-allergicheskie) gepatity// Consilium medicum. Gastrojenterologija. – 2009. – № 2. – P.. 29-30.*
2. *Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // Curr Med Chem. 2005;12(10):1161-208.*
3. *Jomova K., Vondrakova D., Lawson M., Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders // Mol Cell Biochem. 2010 Dec;345(1-2):91-104.*
4. *Kravchenko L.V, Trusov N.V., Uskova M.A, Aksenov I.B., Avren'eva L.I., Guseva G.V., Vasil'eva M.A., Selifanov A.V., Tutel' jan V.A. Harakteristika ostrogo toksicheskogo dejstvija chetyrjohhloristogo ugleroda kak modeli okislitel'nogo stressa.// Toksikologicheskij vestnik. – 2009. – № 1. – P. 12-18.*
5. *Kucenko S.A. Osnovy toksikologii: nauchno-metodicheskoe izdanie. – SPb: Foliant – 2004. – P. 720.*
6. *Girotti, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J. Lipid. Res. (1998). 39 (8), 1529 – 1542.*
7. *Zimmerman HJ, Lewis JH. Chemical and toxin induced hepatotoxicity// Gastroenterology Clinics of North America 1995; 24(4): 1027-1045.*
8. *Miroshina T.N., Murzahmetova M.K., Utegalieva R.S., Shajhynbekova R.M., Mihalkina N.I. Korrigirujushhee vlijanie indolaminov na sostojanie membran jeritrocitov pri dejstvii ionov kadmija // Vestnik KazNU. Serija biologicheskaja. – 2002, №3. P.80-86.*
9. *Bigoniya P., Singh C. S., Shukla A.A Comprehensive Review of Different Liver Toxicants Used in Experimental Pharmacology //International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 2009; 1(3): 124-135 12.*
10. *Young S. and Woodside J.V.Antioxidants in health and disease// J. Clin. Pathol. – 2001. Vol.54, N 3.– P. 176-186.*
11. *Kravchenko L.V, Trusov N.V., Uskova M.A, Aksenov I. B., Avren'eva L. I., Guseva G. V., Vasil'eva M. A., Selifanov A. V., Tutel' jan V. A. Harakteristika ostrogo toksicheskogo dejstvija chetyrjohhloristogo ugleroda kak modeli okislitel'nogo stressa. // Toksikologicheskij vestnik. – 2009. – № 1. –P. 12-18.*
12. *Girotti, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J. Lipid. Res. (1998). 39 (8), 1529 – 1542.*
13. *Ayala A., Muñoz M.F. and Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal// Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2014, Vol. 2014 Article ID 360438, 31 p*
14. *Kolmakov V.N., Radchenko V.G. Znachenie opredelenija pronicaemosti jeritrocitarnyh membran (PJeM) v diagnostike hronicheskih zabolevanij pecheni //Terapevticheskij arhiv. – 1982. – T.54, №2. – P. 59-62.*
15. *Ohkawa H.O. Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in ani¬mal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem. –1979. Vol.95, N 2. - P.351-358.*

ТҮЙІНДЕМЕ

IN VITRO ЖАҒДАЙЫНДА КЛЕТКА МЕМБРАНАЛАРЫНЫҢ КҮЙІНЕ ТЕТРАХЛОРМЕТАННЫҢ ӘСЕРІ

О.Г. Запарина, М.Қ. Мурзахметова, С.Т. Төлеуханов, Н.И. Жапарқұлова
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті
Қазақстан, Алматы

Мақалада in vitro жағдайында егеуқұйрықтың гепатоцит және эритроцит клеткалары мембранасының күйіне тетрахлорметанның әсерін зерттеу нәтижелері берілген. Тетрахлометанның эритроцит клетка мембранасының күйіне әсерін зерттеу барысында токсиканнтың эритроцит резистенттілігінің мөлшерге тәуелді төмендеуін: эритроцит мемранасының осмостық гемолизі және өткізгіштігі жоғарылауын туындататыны анықталды. Төртхлорлы көміртектің концентрациясы жоғарылаған сайын, клетка мембранасында бос радикалдардың концентрациясы көбейгендігіне байланысты бауыр микросомаларының асқын тотығу дәрежесі жоғарылайтындығы көрінеді. Төрт хлорлы көміртекпен әсер еткен кезде эритроциттердің гемолизі және бауыр клеткасы мембранасының деструктивті бұзылыстары байқалады, бұзылыс дәрежесі тетрахлометан концентрациясна байланыты. Сәйкесінше, тетрахлорметан эритроциттердің гемолизін дәрежеге тәуелді жоғарылатады, сонымен қатар малонды диальдегидтердің мөлшерін көбейтеді. Осылайша, жүргізілген зерттеулер гепатотоксиндік препарат атына ие төртхлорлы көміртек, биологиялық мембраналардың құрылымдық-функционалдық жағдайына зақым келтіруші әсер ететіндігін көрсетті. Сонымен қатар эритроциттердің резистенттілігі және непатоцит клеткалары мембранасының липидті қабатының физико-химиялық жағдайы өзгереді.

Түйін сөздер: *тетрахлорметан, биологиялық мембраналар, эритроциттер, резистенттілік, гепатоциттер, липидтердің асқын тотығуы*

SUMMARY

EFFECT OF CARBON TETRACHLORIDE ON STATE OF CELL MEMBRANES IN VITRO

O.G. Zaparina, M.K. Murzakhmetova, S.T. Tuleukhanov, N.I. Zhaparkulova
Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty

The article shows the results derived from tetrachloromethane's influence upon red blood cells and hepatocytes membrane of rats in vitro conditions experiment. The study id ccl4 influence upon the red blood cell's membrane conditions educed that the toxic substances action leads to the decreasing of erythrocyte resistance in dependance of dosage, also the increasing of osmotic hemolysis and permeability of membranes occurs. It was indicated that the increase in CCl4 concentration leads to the increase in liver's microse level, which is tightly connected with the high concentration of free radicals within cell membranes. Under the influence of ccl4 the hemolysis of erythrocytes and destructive deviations in structure of plasma membrane occur, and the degree of damage is directly depend on the ccl4 concentration.

Consequently, CCl4 in correlation with the dosage increases the red blood cells hemolysis, and also the amount of malonuc dialdehyde. Thus, all performed investigations have shown that ccl4 known as a hepatotoxic drug produces destructive actions upon structural and functinal conditions of plasma membranes. In this situation the resistancy of red blood cells changes, and the same condition happens with physico-chemical properties of hepatocytes membrane's lipid bilayer.

Key words: *tetrachloromethane, biological membranes, red blood cells, resistency, hepatocytes, oxidation of lipids.*

УДК: 616-022.3-001.891.5:614.812

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОЖНЫХ АНТИСЕПТИКОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Л.С. Касымканова, Д.Ж. Баймурзинова, Ж.С. Алибаева
Отдел контроля качества и научных исследований ТОО ПК «Аврора»
Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

В данной статье приведены результаты микробиологических испытаний эффективности исследуемых антисептиков для гигиенической и хирургической обработки рук медицинских работников. Проведено лабораторное исследование смывов с рук медицинских работников стоматологической клиники г. Алматы до (контрольное испытание) и после (сравнительное испытание) обеззараживания 4-мя разными антисептиками. Исследования проведены на базе научной клинико-диагностической лаборатории и института стоматологии Казахского национального медицинского университета им С.Д. Асфендиярова (КазНМУ).

Ключевые слова: *эффективность кожных антисептиков, гигиеническая обработка рук, хирургическая обработка рук.*

АКТУАЛЬНОСТЬ

Приоритетной задачей во всем мире в рамках обеспечения безопасности и пациентов, и медицинских работников является снижение инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (далее - ИСОМП), соответственно существенно повышается роль гигиенической обработки рук, как основного фактора передачи инфекции [1, 2]. В условиях интенсивного внедрения и использования современных медицинских технологий, с одной стороны, и большого разнообразия дезинфекционных средств, с другой стороны, перед медицинскими организациями стоит сложная задача оптимального выбора эффективных и безопасных химических средств дезинфекции и стерилизации.

Сегодня многие с озабоченностью констатируют факт приобретенной высокой устойчивости возбудителей многих внутрибольничных инфекций (далее - ВБИ) к различным современным антибиотикам. В этой связи сегодня, как никогда ранее, повышается роль защитного барьера, создаваемого проведением неспецифических противоэпидемических мероприятий, особенно дезинфекционных [3]. Создание новых, более совершенных дезинфицирующих средств (далее – ДС) возможно путем разработки многокомпонентных рецептур и новых препаративных форм, а также синтеза новых химических соединений, обладающих антимикробным действием.

Таким образом, в условиях интенсивного внедрения и использования современных медицинских технологий, с одной стороны, и большого разнообразия дезинфекционных средств, с другой стороны, перед медицинскими организациями стоит сложная задача оптимального выбора эффективных и безопасных химических средств дезинфекции и стерилизации.

ЦЕЛЬ

Выбор наиболее эффективных кожных антисептиков, применяемых в медицинских организациях с отделениями терапевтического и хирургического профилей для профилактики распространения ИСОМП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Микробиологическое исследование эффективности антисептиков, применяемых в стоматологической практике для гигиенической и хирургической обработки рук медицинского персонала, проводилось на базе института стоматологии и научной клинико-диагностической лаборатории Казахского национального медицинского университета им С.Д. Асфендиярова (КазНМУ).

Объектами исследования служили 4 антисептика с разным составом АДВ, используемые как биоцидные композиции на основе разных спиртов, производных ЧАС, октенидина дигидрохлорида. Оценка микробиологического спектра действия проводилась качественным и количественным методами по отношению 3-х бактерийных культур: S. aureus, S. saprophyticus, E. coli. Минимальная эффективная экспозиция обеззараживающего действия - 30 секунд.

Были исследованы смывы с рук медицинских работников терапевтического профиля – 240; смывы с рук медицинских работников хирургического профиля – 240.

Нормативные документы РК, регламентирующие правила и порядок проведения микробиологических исследований антисептиков [4, 5, 6, 7].

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА МАТЕРИАЛА

При оценке эффективности сравниваемых антисептиков для гигиенической обработки рук количественным методом, анализ изменения исследуемых смывов по сравнению с контрольными смывами проводился с помощью расчета средних величин и оценки достоверности результатов.

При оценке эффективности сравниваемых антисептиков для хирургической обработки рук качественным методом, анализ изменения исследуемых смывов по сравнению с контрольными смывами проводился с помощью расчетов относительных величин динамики – коэффициентов динамики, характеризующих интенсивность изменений: абсолютного прироста и темпа прироста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИСЕПТИКОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЯХ

При всем многообразии дезинфицирующих средств, количество компонентов, входящих в их состав весьма ограничено. В состав препаратов входят такие действующие вещества как галогены, спирты, перекиси, фенолы, четвертичные аммониевые соединения, альдегиды, третичные амины, кислоты и др. У каждого из этих соединений есть определенный спектр антимикробной активности, который и определяет эффективность дезинфицирующего средства, изготовленного на основе данного соединения. Спирты являются самыми распространенными компонентами кожных антисептиков, от качественного и количественного содержания которых можно судить об их эффективности. Насчитывается около 14 видов спиртов, но в медицинской практике в основном используются этиловый, пропиловый и изопропиловый спирты, которые применяются в концентрациях от 60% до 90% [8]. Именно в этом диапазоне они оказывают быстрый эффект при минимальном раздражающем действии на кожу рук. Если концентрация этилового спирта (если он в составе антисептика в качестве основного действующего вещества) составляет менее 65-80%, то эффективность антисептика недостаточна, и такой антисептик выбору не подлежит. Если концентрация изопропилового спирта (если он в составе антисептика в качестве основного действующего вещества) составляет менее 60%, то эффективность антисептика недостаточна, и такой антисептик выбору также не подлежит [9]. Все спирты обладают широким антимикробным спектром (кроме спор), быстро испаряются, при испарении не оставляют следов. Спирты могут использоваться в рецептурах ДС как в качестве самостоятельных ДВ, так и в сочетании с другими ДВ.

Исходя из анализа химического состава дезинфицирующих средств, в частности, антисептиков, нами определены критерии эффективности антисептиков для использования в стоматологической клинике:

- химический состав по ДВ (концентрация спиртов, как основного ДВ от 60-90%);
- микробиологический спектр действия (включающий использование 3-х бактерийных культур: S.aureus, S. saprophyticus, E.coli);
- минимальная эффективная экспозиция обеззараживания (30 секунд).

Для микробиологического исследования эффективности нами испытаны 4 антисептика: «Альфапирокс», «Альфоктен», «Монорм-гель», «Аниос-гель» производства Казахстан, Россия и Франция с разным составом ДВ. Исследуемые антисептики обозначены условными буквами: A, B, C, D соответственно. Техническая спецификация представлена в таблице № 1.

Таблица 1 - Техническая спецификация исследуемых антисептиков

Условное обозначение	Название средства	Производитель	Состав активнодействующих веществ (АДВ)	Испытуемая область применения
A	«Альфапирокс»	ТОО ПК «Аврора», Казахстан	Пропиловый спирт - 63 %, пироктоноламин - 0,2 %	Гигиеническая обработка рук Хирургическая обработка рук
B	«Альфоктен»	ТОО ПК «Аврора», Казахстан	Октенидинадигидрохлорид – 0,1 %, 2-феноксиэтанол – 2,0 %	Гигиеническая обработка рук Хирургическая обработка рук

C	«Монорм-гель»	ООО «Сателлит», Россия	Изопропиловый спирт - 20 %, 2-феноксиэтанол – 1,0 %	Гигиеническая обработка рук Хирургическая обработка рук
D	«Аниос-гель»	«Laboratoires ANIOS», Франция	Этиловый спирт - 66,5% - 73,5%	Гигиеническая обработка рук Хирургическая обработка рук

Как видно из таблицы, все 4 антисептика одинаковы по области применения - используются для гигиенической и хирургической обработки рук. Отличия антисептиков состоят в химическом составе, который и определяет разную эффективность средств. Основными ДВ антисептиков являются: А - пропиловый спирт в концентрации 63%, В – октенидина дигидрохлорид (безспиртовой)– 0,1 %, С - изопропиловый спирт - 20 %, D - этиловый спирт 66,5% - 73,5%.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОЖНЫХ АНТИСЕПТИКОВ ПРИ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ РУК

Результаты проведенных лабораторных исследований 30 смывов для определения эффективности антисептиков: «А», «В», «С», «D» количественным методом.

В таблице 2 представлены результаты статистических расчетов средних величин: средних арифметических взвешенных M (logRF) и σ, где M - сумма произведений (вариант (FR) на соответствующие частоты, деленная на общее число наблюдений (n = 30); logRF – конечный параметр оценки эффективности антисептиков, фактор редукции в следующей его интерпретации: LogRF=log (КОЕ К1) –log (КОЕ К2), где К1 – концентрация жизнеспособных клеток в питательной среде без биоцида (контроль), КОЕ/см3; К2 – концентрация жизнеспособных клеток после инкубирования в присутствии биоцидного препарата, КОЕ/см^3; σ - среднее квадратическое отклонение, которое является основной мерой оценки разнообразия вариационного ряда. В таблице также указано количество смывов в доверительном интервале, выраженное в абсолютных и относительных цифрах, и доверительные границы средней арифметической генеральной совокупности $M_{ген}$. Значениями $\mathbf{m_M}$ и **t** проведена оценка достоверности результатов исследуемых антисептиков, где $\mathbf{m_M}$ - ошибка репрезентативности (средних ошибок средних арифметических величин M (logRF), по величине которой можно определить, насколько результаты, полученные при выборочном исследовании, отличаются от результатов, которые могли бы быть получены при проведении сплошного исследования без исключения всех элементов генеральной совокупности; **t** (критерий Стъюдента) – показатель достоверности разности средних величин.

Таблица 2. Оценка достоверности результатов исследуемых антисептиков

Таким образом, по данным таблицы 2 можно сделать вывод о том, что:

Исследуемые антисептики	n	M (logRF)	σ	Количество смывов в доверительном интервале	%	mM	M ген (logRF)	t
A	30	4,8	0,4	29	96,7±3,2	0,07	4,7 – 4,9	18,5
B	30	4,7	0,5	26	86,7±6,2	0,09	4,5 – 4,9	15,6
C	30	4,3	0,7	22	73,3±8,1	0,1	4,1 – 4,5	13,4
D	30	4,7	0,6	26	86,7±6,2	0,1	4,5 – 4,9	15,6

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «А» подтверждена с доверительным критерием t = 18,5, что соответствует вероятности безошибочного прогноза (P ≥ 99,9%) и ошибкой репрезентативности $\mathbf{m_M}$ = 0,07. 96,7% (n = 29) смывов находятся в доверительном интервале с σ = 0,4 от средней взвешенной M (logRF) = 4,8. Доверительные границы средней арифметической генеральной совокупности составили 4,7 – 4,9;

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «В» подтверждена с доверительным критерием t = 15,6, что соответствует вероятности безошибочного прогноза (P ≥ 99,9%) и ошибкой репрезентативности $\mathbf{m_M}$ = 0,09. 86,7% (n = 26) смывов находятся в доверительном интервале с σ = 0,5 от средней взвешенной M (logRF) = 4,7. Доверительные границы средней арифметической генеральной совокупности составили 4,5 – 4,9;

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «С» подтверждена с доверительным критерием t = 13,4, что соответствует вероятности безошибочного прогноза (P ≥ 99,9%) и ошибкой репрезентативности $\mathbf{m_M}$ = 0,1. 73,3% (n = 22) смывов находятся в доверительном интервале с σ = 0,7 от средней взвешенной M (logRF) = 4,3. Доверительные границы средней арифметической генеральной совокупности составили 4,1 – 4,5;

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «D» подтверждена с доверительным критерием t = 15,6, что соответствует вероятности безошибочного прогноза (P ≥ 99,9%) и ошибкой репрезентативности $\mathbf{m_M}$ = 0,1. 86,7% (n = 26) смывов находятся в доверительном интервале с σ = 0,6 от средней взвешенной M (logRF) = 4,7. Доверительные границы средней арифметической генеральной совокупности составили 4,5 – 4,9.

Сравнительный анализ испытуемых 4-х антисептиков представлен на рисунке № 1, где количество смывов со снижением общей микробной обсемененности кожи рук на 99,99% составило:

- после гигиенической обработки рук антисептиком А – 96,7% (29 из 30 смывов);
- после гигиенической обработки рук антисептиком В – 86,7% (25 из 30 смывов);
- после гигиенической обработки рук антисептиком С – 73,3% (22 из 30 смывов);
- после гигиенической обработки рук антисептиком D – 86,7% (26 из 30 смывов).

Из рисунка 1 видно, что результаты сравнительного анализа микробиологического исследования в отношении оцениваемых антисептиков при гигиенической обработке рук составили:

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «А» подтверждена в 96,7%±3,2 (n = 29) смывах;
- эффективность обеззараживающего действия кожных антисептиков «В» и «D» подтверждена в 86,7%±6,2 (n = 26) смывах;
- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «С» подтверждена в 73,3%±8,0 (n = 22).

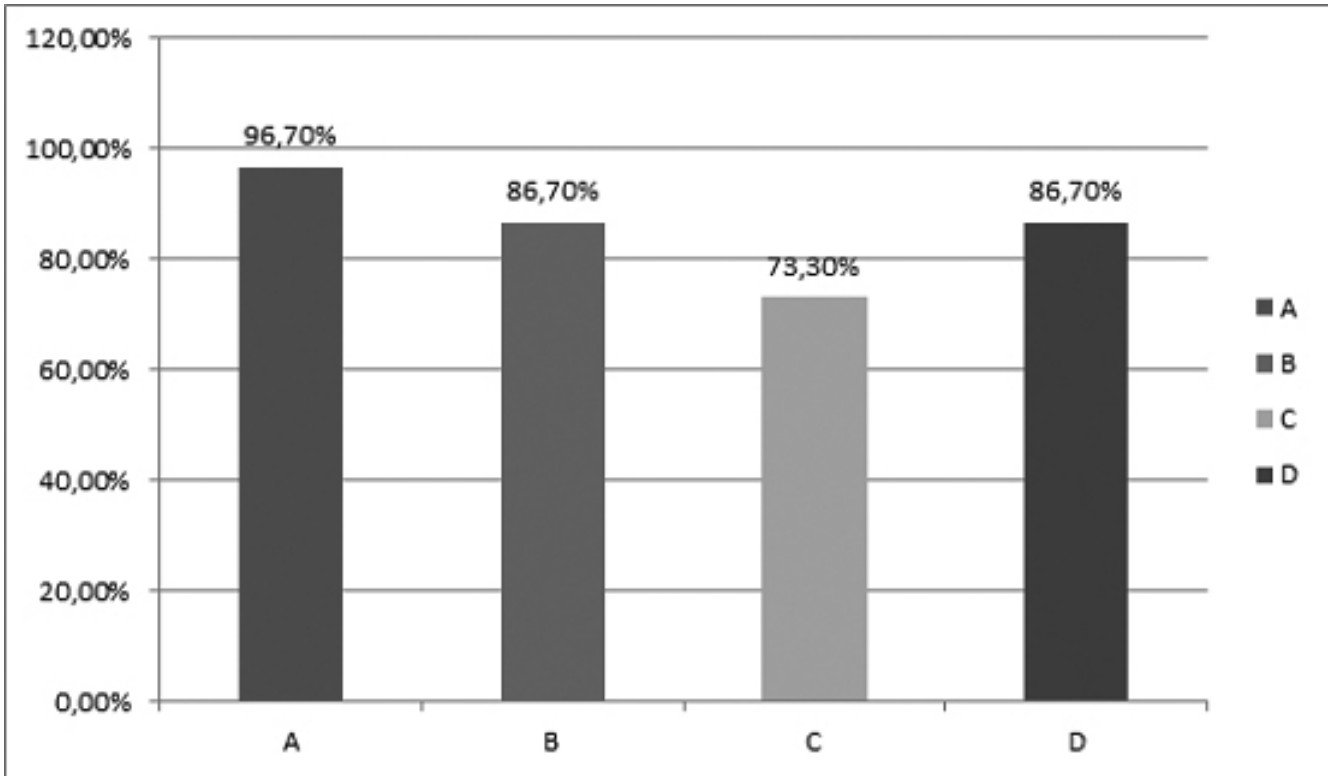


Рисунок 1. Сравнительный анализ результатов микробиологического исследования в отношении оцениваемых антисептиков при гигиенической обработке рук.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОСТОВЕРНОСТИ РАЗНОСТИ СРЕДНИХ ВЕЛИЧИН (ПО КРИТЕРИЮ Т - СТЪЮДЕНТА) МЕЖДУ АНТИСЕПТИКАМИ А И В; А И С; А И D; В И С; D И С

В таблице 3 представлена разность эффективности. Между антисептиками А и В не достоверна (P<95,0%; t = 0,9); разность эффективности между антисептиками А и С достоверна и доказана с вероятностью безошибочного прогноза P>99,9% (t = 4,2); разность эффективности между антисептиками Аи D достоверна и доказана с вероятностью безошибочного прогноза P>99,9% (t = 3,0); разность эффективности между антисептиками D и С достоверна и доказана с вероятностью безошибочного прогноза P>99,9% (t = 2,8).

Таблица 3. Достоверность разности средних величин (по критерию t - Стъюдента) между антисептиками А и В; А и С; А и D; В и С; D и С.

Сравниваемые антисептики	А и В	А и С	А и D	В и С	D и С
Доверительный критерий t	0,9	4,2	0,8	3,0	2,8
Степень вероятности безошибочного прогноза (Р%)	<95,0	>99,9	<95,0	>99,0	>99,0

Таким образом, по данным таблицы 3 можно сделать вывод о том, что при сопоставлении сравниваемых антисептиков А и В; А и С; А и D; В и С; D и С, наиболее эффективными антисептиками для гигиенической обработки рук медицинских работников стоматологических клиник являются антисептики: **А (t = 4,2); В (t = 3,0); D (t = 2,8),** которые обладают более выраженным антимикробным действием в сравнении с антисептиком **С.**

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОЖНЫХ АНТИСЕПТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ЕСТЕСТВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ КОЖИ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ РУК

Результаты проведенных нами лабораторных исследований 30 смывов для определения эффективности антисептиков: «А», «В», «С», «D» качественным методом.

В таблице 4 представлены результаты смывов, взятых с рук хирургов до обработки (с контрольной руки) и после обработки (с исследуемой руки) антисептиками: «А», «В», «С», «D».

Таблица 4. Качественный состав естественной микрофлоры кожи рук до и после обработки рук антисептиками «А», «В», «С», «D».

Исследуемые антисептики	Результаты смывов до обработки рук антисептиком (контроль)			Результаты смывов после обработки рук антисептиком (сравнение)		
	БГКП	S.aureus	S.saprophyticus	E. coli	S.aureus	S.saprophyticus
А	3	1	2	0	0	0
В	2	2	1	0	1	1
С	2	2	1	0	2	1
D	2	1	2	0	0	0

Как видно из таблицы 4, результаты смывов до обработки рук антисептиком (контроль) «А» показали, что были обнаружены в качестве естественной микрофлоры рук БГКП: в смывах А-1, А-13, А-30; S.aureus - в смыве А-20; S.saprophyticus – в смывах А-3 и А-30. Результаты смывов после обработки рук (сравнение) антисептиком «А» оказались стерильными (т.е отрицательными). Нормируемые показатели кожи рук (БГКП, S.aureus, S.saprophyticus) снижены на 100% во всех 30 образцах, что говорит об эффективности средства для хирургической обработки рук. Результаты смывов до обработки рук антисептиком (контроль) «В» показали, что были обнаружены в качестве естественной микрофлоры рук БГКП: в смывах В-10, В-25; S.aureus - в смывах В-2, В-14; S.saprophyticus – в смыве В-20. Результаты смывов после обработки рук (сравнение) антисептиком «В» показали: БГКП снижены на 100% во всех 30 образцах, а S.aureus и S.saprophyticus снижены на 100% только в 28 образцах, что говорит о недостаточной эффективности препарата для хирургической обработки рук. Результаты смывов до обработки рук антисептиком (контроль) «С» показали, что были обнаружены в качестве естественной микрофлоры рук БГКП: в смывах С-7, С-22; S.aureus - в смывах С-1, С-30; S S.saprophyticus – в смыве С-15. Результаты смывов после обработки рук (сравнение) антисептиком«С» показали: БГКП снижены на 100% во всех 30 образцах, а S.aureus и S.saprophyticus снижены на 100% только в 27 образцах, что говорит о недостаточной эффективности препарата для хирургической обработки рук. Результаты смывов до обработки рук антисептиком (контроль) «D» показали, что были обнаружены в качестве естественной микрофлоры рук БГКП: в смывах D-1, D-15; S.aureus - в смыве D-9; S.saprophyticus – в смывах D-15 и D-28. Результаты смывов после обработки рук (сравнение) антисептиком «А» оказались стерильными (т.е отрицательными). Нормируемые показатели кожи рук (БГКП, S.aureus, S.saprophyticus) снижены на 100% во всех 30 образцах, что говорит об эффективности средства для хирургической обработки рук.

Анализ изменения исследуемых смывов по сравнению с контрольными смывами в динамике, проведенного по данным таблицы 5 показал, что, темп прироста отрицательных смывов между исследуемыми и контрольными образцами после обработки рук антисептиками составил: «А» 25,0% (абсолютный прирост на 6 смывов из 30), «В» 12,0% (абсолютный прирост на 3 смыва из 30), «С» 8,0% (абсолютный прирост на 2 смыва из 30), «D» 20,0% (абсолютный прирост на 5 смывов из 30).

Таблица 5. Показатели изменения смывов в динамике после обработки рук антисептиками «А», «В», «С», «D».

Исследуемые антисептики	Количество отрицательных смывов до обработки рук (контроль) (n = 30)	Количество отрицательных смывов после обработки рук (исследование) (n = 30)	Абсолютный прирост	Темп прироста (%)
«А»	24	30	6,0	25,0
«В»	25	28	3,0	12,0
«С»	25	27	2,0	8,0
«D»	25	30	5,0	20,0

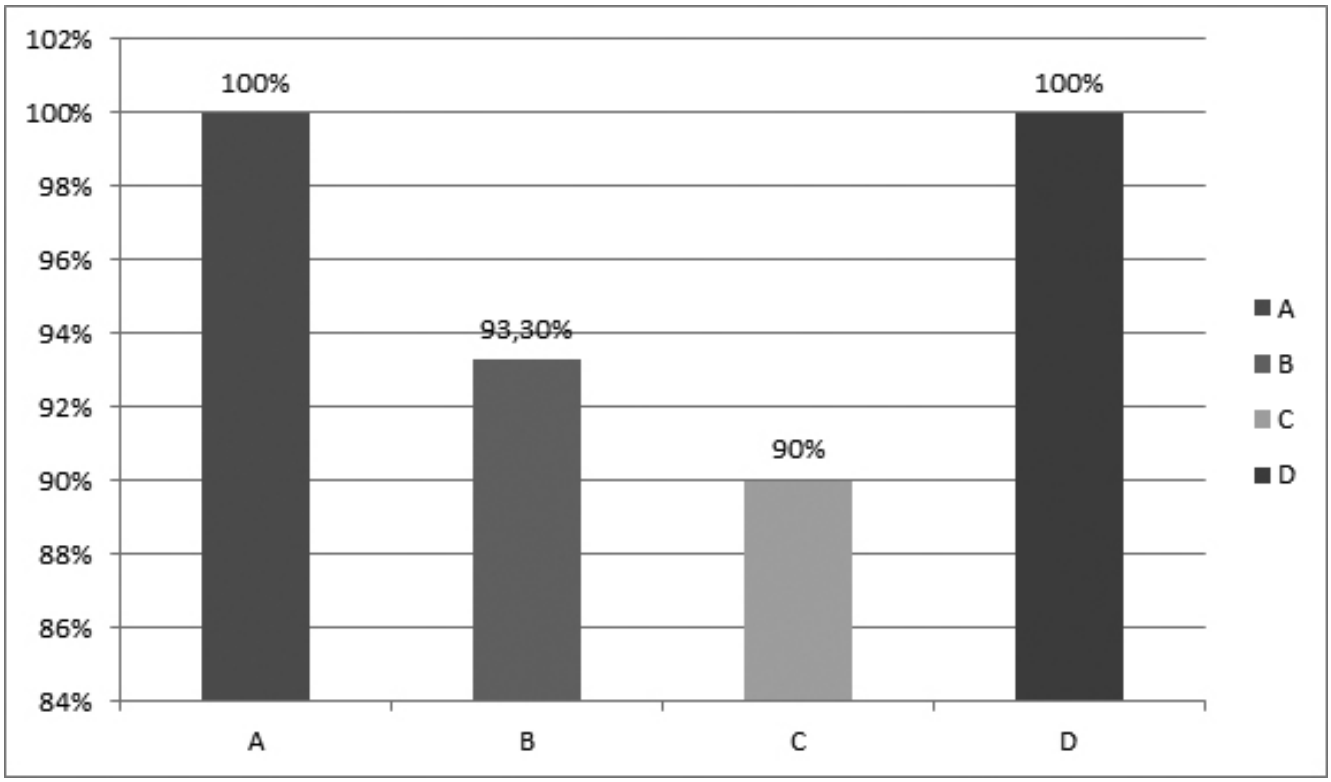


Рисунок 2. Сравнительный анализ результатов микробиологического исследования в отношении оцениваемых антисептиков при хирургической обработке рук.

Как видно из рисунка 2, результаты сравнительного анализа микробиологического исследования в отношении оцениваемых антисептиков при хирургической обработке рук показали, что:

- эффективность обеззараживающего действия кожных антисептиков «А» и «D» подтверждена в 100% (n = 30) смывах. Все смывы оказались стерильными, т.е нормируемые показатели кожи рук (БГКП, S.aureus, S.saprophiticus) снижены на 100%;

- эффективность обеззараживающего действия кожных антисептиков «В» подтверждена в 93,3%±4,5 (n = 28) смывах;

- эффективность обеззараживающего действия кожного антисептика «С» подтверждена в 90,0%±5,4 (n = 27).

Таким образом,

1. В результате лабораторных испытаний 4-х сравниваемых антисептиков: «А», «В», «С», «D» наибольшую эффективность в отношении гигиенической обработки рук медицинских работников проявили антисептики «А», «В», «D» в сравнении с антисептиком **«С».** Более достоверной является разница между антисептиками «А» и «С» **(t = 4,2).**

2. Сравнительный анализ микробиологических исследований в отношении хирургической обработки рук показал, что эффективностью со снижением общей микробной обсемененности кожи рук на 100% обладают кожные антисептики «А» и «D». Более интенсивные изменения смывов в динамике отмечены после обработки рук антисептиком «А».

Заключение: В целях обеспечения безопасности пациентов и персонала медицинских организаций с отделениями хирургического и терапевтического профилей оптимально эффективным средством для

выбора, согласно выбранным критериям (химический состав, микробиологический спектр действия, минимальная эффективная экспозиция обеззараживания), является антисептик «А» с содержанием в качестве основного действующего вещества пропиловый спирт (н-пропанол) в концентрации 63%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Reilly Jetal. Results from the Scottish National HAI Prevalence Survey. Journal of Hospital Infection, 2008, 69:62-68.*
2. *Emmerson A.M. et al. The Second National Prevalence Survey of infection in hospitals-overview of the results. Journal of Hospital Infection, 1996, 32:175-190.*
3. *Канищев В.В., Материалы международного конгресса «Стратегия и тактика борьбы с внутрибольничными инфекциями на современном этапе развития медицины». – М. – 2006.- с. 203.*
4. *МУ №133 от 04.11.08 г. «Методические указания по проведению лабораторных предрегистрационных испытаний средств дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации и антисептиков».*
5. *Санитарные правила № 338 от 15.04.2015 г. «Санитарно-эпидемиологические требования к лабораториям, использующим потенциально опасные химические и биологические вещества».*
6. *Приказ МЗ РК № 19 от 15.01.2013 г. «Правила проведения инфекционного контроля в медицинских организациях».*
7. *МУ №42 от 06.03.2013 г. Методические указания «Санитарно-бактериологические исследования методом смывов».*
8. *Lowbury E J L.Gram-negative bacillion the skin. British Journal of Dermatology, 1969,81:55-61.*
9. *Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях – М. – 2015.*

ТҮЙІНДЕМЕ

СТОМАТОЛОГИЯЛЫҚ ТӘЖІРИБЕДЕ ҚОЛДАНЫЛАТЫН ТЕРІ АНТИСЕПТИКТЕРІНІҢ ТИІМДІЛІГІН МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ

Л.С. Қасымқанова, Д.Ж. Баймұрзинова, Ж.С. Алибаева
«Аврора» ӨК ЖШС Сапаны бақылау және ғылыми зерттеулер бөлімі
С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті
Қазақстан, Алматы

Осы мақалада медициналық қызметкерлердің қолдарын гигиеналық және хирургиялық өңдеуге арналған зерттелетін антисептиктердің тиімділігін микробиологиялық сынау нәтижелері берілген. Алматы қаласындағы стоматологиялық клиниканың медициналық қызметкерлер қолдарынан алынған шайындыларды 4 түрлі антисептиктермен зарарсыздандыруға дейін (бақылау сынақ) және одан кейін (салыстырмалы сынақ) зертханалық зерттеу жүргізілді. Зерттеулер ғылыми клиникалық-диагностикалық зертхана және С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің (ҚазҰМУ) стоматология институты базасында жүргізілді.

Түйін сөздер: *тері антисептиктерінің тиімділігі, қолдарды гигиеналық өңдеу, қолдарды хирургиялық өңдеу.*

SUMMARY

MICROBIOLOGICAL EFFICACY ANALYSIS OF SKIN ANTISEPTICS USED IN DENTAL PRACTICE

L.S. Kasymkanova, D.Zh. Baimurzinova, Zh.S. Alibayeva
Division of Quality Control and Scientific Researches of Avrora PC LLP
Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarova
Kazakhstan, Almaty

This research paper presents the results of microbiological efficacy tests of antiseptics in question, which are used for hygienic and surgical treatment of hands by health professionals. The laboratory research of swabs obtained from the hands of health professionals, working at the Dental Clinic in Almaty, before (check test) and after (comparative test) decontamination with 4 various antiseptics. The researches were carried out at the Scientific Clinical Diagnostic Laboratory and Stomatology Institute of the Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarova (KazNMU).

Key words: *Efficacy of skin antiseptics, hygienic treatment of hands, surgical treatment of hands.*

УДК 576.31:611

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОК ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Г.А. Тусупбекова, Д.Ч. Уразбаева
Алматинский филиал «Центр судебной медицины» МЮ РК
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Исследованы цитохимические изменения клеток эндокринной системы у экспериментальных животных при воздействии угольно-породной пыли и физической нагрузки. При комбинированном действии производственных факторов было обнаружено изменение метаболических показателей клеток эндокринной системы. Метаболические нарушения в клетках эндокринных желез следует расценивать как срыв компенсаторных механизмов, о чем свидетельствуют изменения энергетических возможностей клетки в виде снижения содержания гликогена.

Ключевые слова: *горнорудная промышленность, эндокринная система, цитохимия, угольно-породная пыль, физическая нагрузка, периферическая кровь.*

По мнению специалистов МОТ и ВОЗ, существует более 150 профессиональных рисков, и приблизительно 100 из них являются источниками постоянной опасности для работников 2000 различных профессий. От производственных травм и заболеваний в мире ежегодно умирает свыше 2,3 миллионов работников, причем 4% всемирного валового внутреннего продукта теряется из-за несчастных случаев и плохих условий труда. МОТ отмечает, что до тех пор, пока условия труда не будут улучшены, правительствам соответствующих стран придется столкнуться с серьезными и дорогостоящими проблемами, связанными с увеличением числа профзаболеваний и травм производственного характера [1].

Сохранение здоровья трудоспособного населения, как экономической основы общества - важнейшая задача медицины труда, требующая в современных условиях хозяйствования новых научных подходов и решений. Современные условия труда работающих в горнодобывающей и угольной промышленности характеризуются высокой запыленностью, интенсивным шумом и вибрацией, неблагоприятным микроклиматом, уровни которых значительно превышают гигиенические нормативы.

Горнорудная промышленность, занимая одно из ведущих мест в экономике нашей Республики, остается отраслью с вредными, тяжелыми и опасными условиями труда. Учитывая, что в данной отрасли народного хозяйства занят большой контингент трудящихся, изучение условий труда, влияния производственных факторов на состояние здоровья работающих является одной из важнейших задач современной медицины. В связи с тем, что многие патологические процессы (в частности и в клетках эндокринной системы) экзогенного химического и физического генеза связаны с изменением клеточных и субклеточных структур. На современном этапе при изучении патогенеза и формирования заболеваний требуются дополнительные исследования по изучению процессов, протекающих на уровне клетки и субклеточных структур, включая их ферментативные системы.

Целью работы явилось изучение влияния промышленных факторов на метаболическую активность клеток эндокринной системы.

Было проведено 2 серии эксперимента на 20 животных (беспородных крысах-самцах, массой 200-230 г.). Животные 1 группы служили контролем, 2 группе однократно интратрахеально вводили 50 мг/мл угольно-породной пыли (УПП), и в этой же группе проводилась физическая нагрузка (ФН) в течение 2 месяцев. Дозированная ФН создавалось на горизонтальном тредбане со скоростью 20 м/мин по 2 часа 5 раз в неделю, что по литературным данным [2] соответствовало средней физической нагрузке. У экспериментальных животных исследовались клетки органов эндокринной системы и периферической крови. Из гипофиза делали гомогенат, а другие органы разрезали на две части и делали на предметном стекле мазки-отпечатки. Проводились цитохимические исследования на активность аденозинтрифосфатазы (АТФ), выявление фосфолипидов (ФЛ), катехоламинов (КА), моноаминоксидазы (МАО), гликозаминогликанов (ГАГ), гликогена (ГЛ) в клетках эндокринных органов и периферической крови. Цитохимический подсчет вели с подразделением на

степени (0-4) в зависимости от интенсивности окрашивания и локализации гранул.

Проведенные цитохимические исследования позволили представить общую схему механизмов развития патологических изменений в клетках эндокринной системы при действии УПП и ФН в течение 2 месяцев. При цитохимическом исследовании клеток гипофиза обнаружено повышение содержания ФЛ на 18%, снижение содержания КА в 2,4 раза и активности АТФ по сравнению с контрольной группой (p<0,01). В клетках поджелудочной железы обнаружено снижение активности МАО на 31%, АТФ на 37%, КА на 22%, содержания ГЛ на 44%, повышение содержания ФЛ на 30% и ГАГ на 55%. При исследовании клеток щитовидной железы обнаружено снижение активности МАО на 86%, АТФ на 29%, КА на 58%, повышение содержания ФЛ на 31% и ГАГ в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой (p<0,01).

В клетках периферической крови было обнаружено снижение активности МАО на 61%, повышение содержания ФЛ на 35% и ГАГ на 17%, а также снижение ГЛ на 50%, КА в эритроцитах крови на 31% (p<0,01).

Отсутствие или недостаточность АТФ в тех и иных тканях приводит к патологическим нарушениями. Одним из признаков перехода от адаптивной нормы к патологии является снижение энзимологических показателей и накопление гликозаминогликанов, фосфолипидов, что объясняется усилением проницаемости и нарушением целостности структуры мембран. Эти изменения наблюдаются в сочетании с угнетением активности ферментов в результате системной ферментной дезорганизации [3, 4]. Нарушения метаболизма в клетках эндокринных желез в равной степени отражают реакцию организма на длительное воздействие УПП и ФН, что проявляется в накоплении фосфолипидов и снижении гликогена в клетках [5]. Выявленное нами повышенное содержание фосфолипидов в клетках эндокринных органов происходит спонтанно под влиянием патологических процессов. Эти процессы приводят к демаскированию тех липидных молекул, которые в норме остаются скрытыми в структуре цитоплазмы.

Метаболические нарушения в клетках эндокринных желез следует расценивать как срыв компенсаторных механизмов, о чем свидетельствуют изменения энергетических возможностей клетки в виде снижения содержания гликогена.

Таким образом, при сочетанном воздействии УПП и ФН происходило снижение гормонопоэза в эндокринных органах, что вероятно, наступало вследствие истощения их функциональных резервов. Кроме того, нельзя исключить ингибирующее влияние на продукцию гормонов секреторными клетками желез таких токсических веществ, как продукты гидролитического распада частиц УПП во внутренней среде организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *La Penna, M. Workplace Clinics and Employer Managed Healthcare: A Catalyst fo Cost Savings and Impruved Productivity, The La Penna Croup, Grand Rapids / M. La Penna. – Michigan – 2009.*
2. *Колбасин И.А., Шпак Ю.А. Влияние хлор- и фосфорорганических пестицидов при динамических и физических нагрузках на дегрануляцию базофилов. // Гигиена и санитария. – 1993, №3 – С. 50-51.*
3. *Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным стадиям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина. – 1988. – С. 253.*
4. *Насонов Д.Н., Александров В.Я Реакция живого организма на внешние воздействия. – Л. – 1996. – С. 970.*
5. *Шурлыгина А.В. Взаимоотношения иммунной и эндокринной системы у мышей. // Вестник АН СССР. – 1991. - №12. – С. 45-49.*

REFERENCES:

1. *La Penna, M. Workplace Clinics and Employer Managed Healthcare: A Catalyst fo Cost Savings and Productivity Impruved, The La Penna Croup, Grand Rapids / M. La Penna. – Michigan – 2009.*
2. *Kolbasin I.A., Shpak, Y.A. Effect of chlorine and organophosphorous pesticides in dynamic and physical activity on the degranulation of basophils. // Hygiene and sanitation. – 1993, No. 3. – Pp. 50-51 (in Russ.).*
3. *Meerson F.Z., Pshennikova M.G. Adaptation to stress stages and physical activity. – M.: Medicine. – 1988. – P. 253 (in Russ.).*
4. *Nasonov D.N., Alexandrov V. I the Response of a living organism to external stimuli. – L. – 1996. – P. 970 (in Russ.)*
5. *Shurlygina V.A. Relationship of immune and endocrine system in mice. // Vestnik an SSSR. – 1991. – No. 12. – P. 45-49 (in Russ.)*

ТҮЙІНДЕМЕ

ӨНДІРІСТІК ФАКТОРЛАРДЫҢ ӘСЕРІНДЕ ЭНДОКРИНДІК ЖҮЙЕ КЛЕТКАЛАРЫНЫҢ ӨЗГЕРІСІ ЭКСПЕРИМЕНТТІК ЖАНУАРЛАРДА

Г.А. Тусупбекова, Д.Ч. Уразбаева
«Сот медициналық орталығы» Алматы филиалы ҚР ӘМ,
Қазақстан, Алматы

Эксперименттік жануарларда көмір-жыныс шаңы мен дене жүктемесінің біріккен әсерінде эндокриндік жүйе клеткаларының цитохимиялық өзгерулері зерттелді. Өндірістік факторлардың біріккен әсерінде эндокриндік жүйе клеткаларының метаболиттік өзгерістері байқалды. Эндокриндік бездердегі метаболиттік өзгерістерді компенсаторлық механизмдердің күйзелісі ретінде бағалауға болады, бұған дәлел клеткаларда гликоген құрамының азаюлары, олардың энергетикалық мүмкіндіктерінің төмендеуімен байқалды.

Түйін сөздер: *тау-кен өндірісі, эндокриндік жүйе, цитохимия, көмір-жыныс шаңы, дене жүктемесі, шеткрі қан.*

SUMMARY

NFLUENCE OF PRODUCTION FACTORS ON CYTOCHEMICAL INDICES OF THE CELLS OF THE ENDOCRINE SYSTEM IN EXPERIMENTAL ANIMALS

G.A. Tusupbekova, D.CH. Urazbaeva
Almaty branch of "Center of forensic medicine" MJ RK
Kazakhstan, Almaty

Studied cytochemical changes in the cells of the endocrine system in experimental animals when exposed to coal and rock dust and physical load. The combined effect of production factors was found to change metabolic parameters of cells of the endocrine system. Metabolic disturbances in the cells of endocrine glands should be regarded as a failure of compensatory mechanisms, what changes svidetelstvuet energy potential of the cells in the form of lower levels of glycogen.

Key words: *mining industry, the endocrine system, cytochemistry, coal-rock dust, physical exertion, peripheral blood.*

UDC [616.155.16+616.15 - 091] – 078:616 – 006 (083.97)

IMBALANCE OF HEMOGLOBIN FRACTIONS DEPENDING ON A LEVEL OF OXIDATIVE STRESS IN CARCINOGENESIS

A.S. Sadvakas
Kazakh National Medical University named after S. Asfendiyarov
Department of laboratory diagnostics and molecular medicine
Kazakhstan, Almaty

SUMMARY

In this article are discussed the changes in a range of hemoglobin derivatives depending on the stage of carcinogenesis in 50 cancer patients. Blood gas analysis was carried out and the alkaline acid status was obtained. The data confirmed the change of fractions of hemoglobin depending on the stage of malignancy. In the first and second stage of carcinogenesis, there is a decrease in the affinity of hemoglobin to oxygen, which results in tissue hypoxia. There are conformational changes to the structure of hemoglobin due to an imbalance of its fractions in the different stages of carcinogenesis.

Keywords: *hemoglobin fractions, carcinogenesis, peroxide oxidation of lipids, tissue hypoxia, oxidative stress.*

Free radicals are formed naturally in the body and play an important role in many normal cellular processes. At high concentrations, however, free radicals can be hazardous to the body and damage all major components of cells. This includes DNA, proteins and cell membranes. Free radical reactions can be of crucial importance in certain carcinogenic mechanisms [1, p. 291].

Free radicals contain atoms with an unpaired electron in its outer orbit. The spectrum of free radicals that are considered responsible for biological oxygen toxicity include the intermediates of the partial reduction of oxygen, superoxide radical (O_2▪), hydrogen peroxide (H_2O_2), and other reactive species as hydroxyl radicals (HO▪), peroxyl radical (ROO▪), nitric oxide (NO), peroxinitrite ($ONOO^-$) and singlet oxygen ($1O_2$) [1, p. 290].

The spectrum of oxygen reactive species (ORS) that are considered responsible for biological oxygen toxicity include the intermediates of the partial reduction of oxygen, superoxide radical (O_2▪), hydrogen peroxide (H_2O_2), and other reactive species as hydroxyl radicals (HO▪), peroxyl radical (ROO▪), nitric oxide (NO), peroxinitrite ($ONOO^-$) and singlet oxygen ($1O_2$) [2, p. 2589].

The hemoglobin forms can be distinguished by the ligands attached at the distal end. If oxygen is bound, it is called oxyhemoglobin (HbO_2), and if it's free - it is termed deoxyhemoglobin (HHb). Oxygen in HbO_2 can be replaced with other neutral ligands such as CO, NO, and alkylisocianides. These forms respectively are called carboxyhemoglobin (HbCO), nitrosohemoglobin (HbNO). The valence of iron (Fe^{2+}) in these various states remains the same [5, p. 56].

Oxidative stress takes a leading role in the pathogenesis of inflammation, carcinogenesis and other diseases where the destruction of membranes occur through lipid peroxidation (fig.1) [4, p. 156].

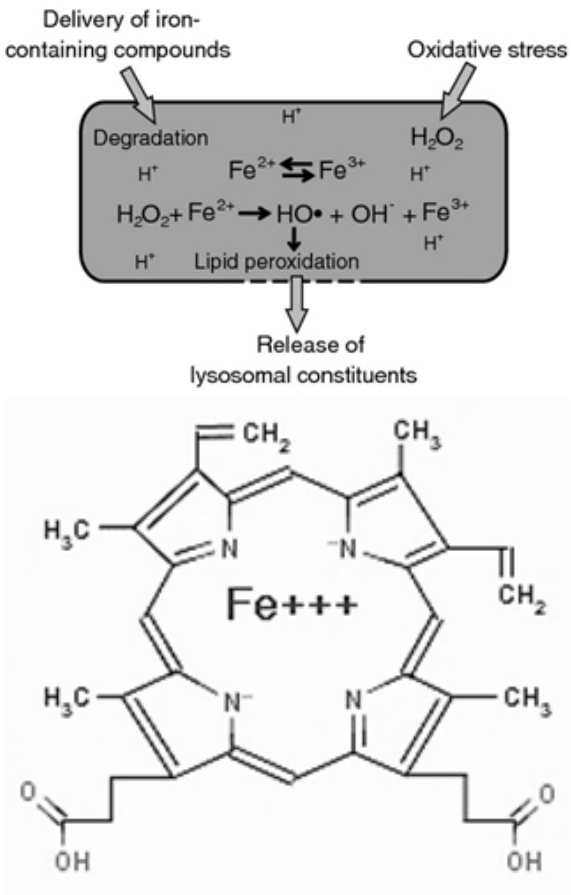


Fig.1 Change of valence of iron in oxidative stress

According to the well-known concept (Warburg, 1930, 1957) a weakening of cellular respiration and dissociation of oxidizing phosphorylation are considered as the first stage of emergence of neoplasms. The vast majority of human and animal tumors display a high rate of glycolysis, increased glucose uptake, increased lactate production, and decreased respiration under aerobic conditions (a phenomenon known as the Warburg effect). A feature of growth of cancer cells is the condition of active proliferation accompanied by prevalence of anaerobic glycolysis instead of aerobic respiration, which causes lactate accumulation (fig. 2) [1, p. 293].

Dissociation of respiration and phosphorylation in a course of carcinogenesis leads primarily to energy starvation of cells, prevalence of decay processes over synthesis processes and dedifferentiation of cells, one of the most important manifestations of a malignancy [1, p. 292].

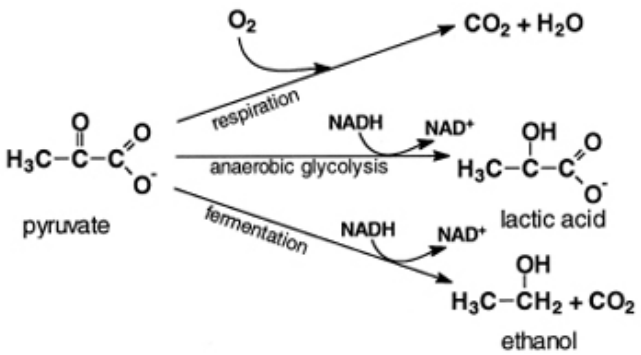


Fig.2 Mechanisms of the tissue hypoxia developing at carcinogenesis

Research is being done to determine hemoglobin fractions at various stages of carcinogenesis with 50 cancer patients (stage I – 6, stage II -12, Stage III -30 and stage IV – 2). These patients had the following types of cancer: lung, skin, esophagus, stomach, small intestines, large intestines, pancreas, liver, bile duct, kidneys, adrenal gland, bladder, prostate gland, mammary glands, ovary and uterus. The morphological forms of a cancer: adenocarcinoma, intraductal carcinoma, renal cell carcinoma, basal cellular cancer, mesenchymal chondrosarcoma, osteogene sarcoma and medullary cancer. Capillary blood was analysed with the blood gas analyser Cobas B 221 (Roche, Germany) in 15 stage I and II cancer patients; arterial blood in 35 patients was analysed by the blood gas analyzer ABL 800 Flex (Radiometer, Denmark).

The following indicators of blood were analyzed:

- pH;
- full oximetry: partial pressure of gases - pO2, pCO2; tHb – total hemoglobin, sO2 - saturation index indicating the ability of hemoglobin to contact with oxygen; HbO2 – oxyhemoglobin; HbCO - carboxyhemoglobin; MetHb - methemoglobin; HbH – deoxyhemoglobin;
- acid and alkaline status: BC (buffer capacity), HCO3 (carbonic acid);
- lactic acid.

Results of the received indicators were estimated in the form of deviations from normal values which are specified in table 1.

Table1. Received indicators

Stage of carcin ogenes is	pH	Partial pressure of gases		Oxymetry %						Acid and alkaline status		Lactic Acid
		pCO_2	pO_2	tHb	sO_2	O_2Hb	COHb	HHb	MetHb	BC	HCO_3	Lactat
I	N	N	N	N	↓	↓	N	N	N	↓	N	↑
II	N	↓	↑	N	↓	↓	↑	↑↑	↑	↓	↓	↑↑
III	↓	↓↓	↑↑	↓↓	N	N	↑↑↑	↑↑↑	↑↑	↓↓↓	↓↓	↑↑↑
IV	↓	↓↓	↑↑↑	↓↓↓	N	N	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓

↓ or ↑ - one arrow indicates a tendency to decrease or increase from the normal values by 5 to 10%;

↓↓ or ↑↑ - two arrows arrow indicate a tendency to decrease or increase from the normal values by 15 to 25%;

↓↓↓ or ↑↑↑ - three two arrows arrow indicate a tendency to decrease or increase from the normal values above 25%.

The Data was processed at the Physics Department and Radio Physics & Computer Technologies Department of Belarusian State University by E.A.Tcherniavskaia and A.V.Saetchnikov.

The data obtained for processing by a neural network include the following:

- recovering the past data (an iterative method of k - neighbors);
- allocating principal components (the main feature groups for the subsequent data interpreting);
- neural network analysis of principal component data files (multilayered perceptron) for evaluation of patient

groups.

The integrated variables having the greatest correlation were allocated into three components. Correlation of the 1-st component is 67.4% (fig.3), correlation of the 2-nd component is 13.2% (fig.4) [3, p.222].

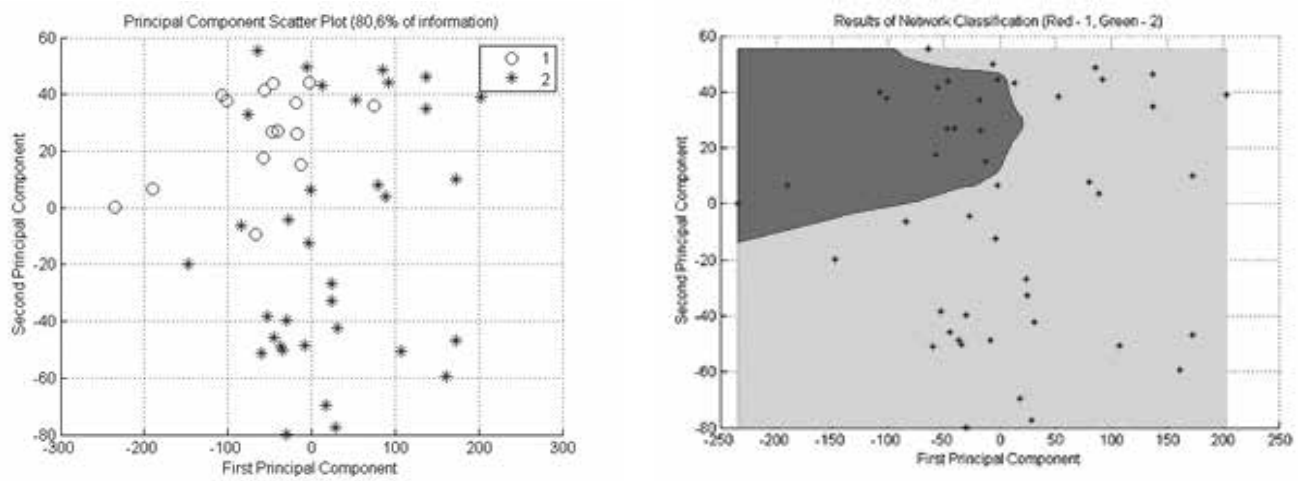


Fig.3 Correlation between the 1st and 2nd component is 67.4% (by E.A.Tcherniavskaia and A.V.Saetchnikov, 2013)

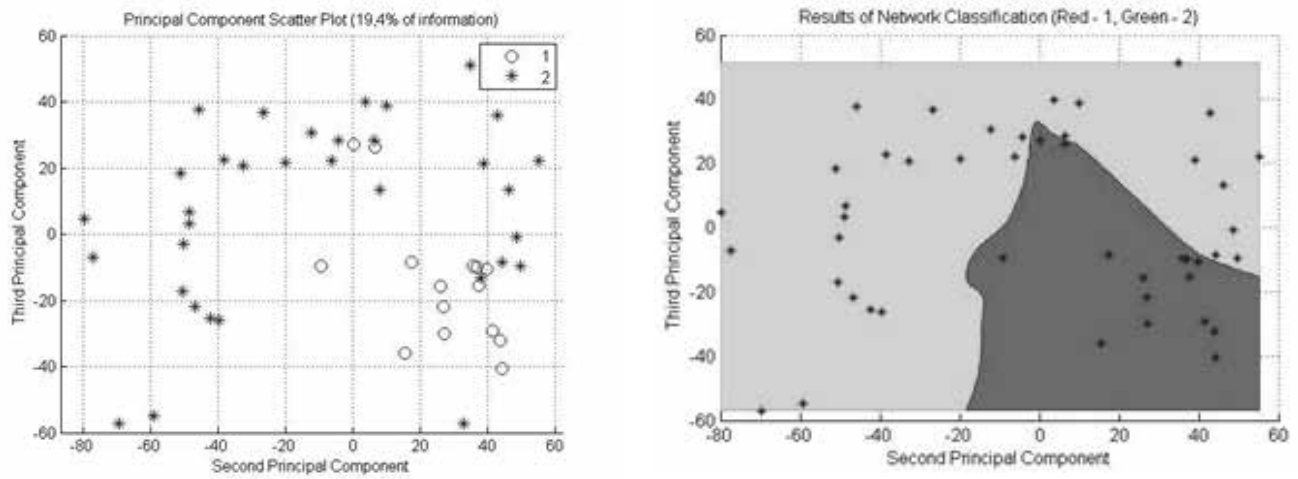


Fig.4 Correlation between the 2nd and 3rd component is 13.2% (by E.A.Tcherniavskaia and A.V.Saetchnikov, 2013)

Correlation within the 3 components is 86.9% (fig.5).

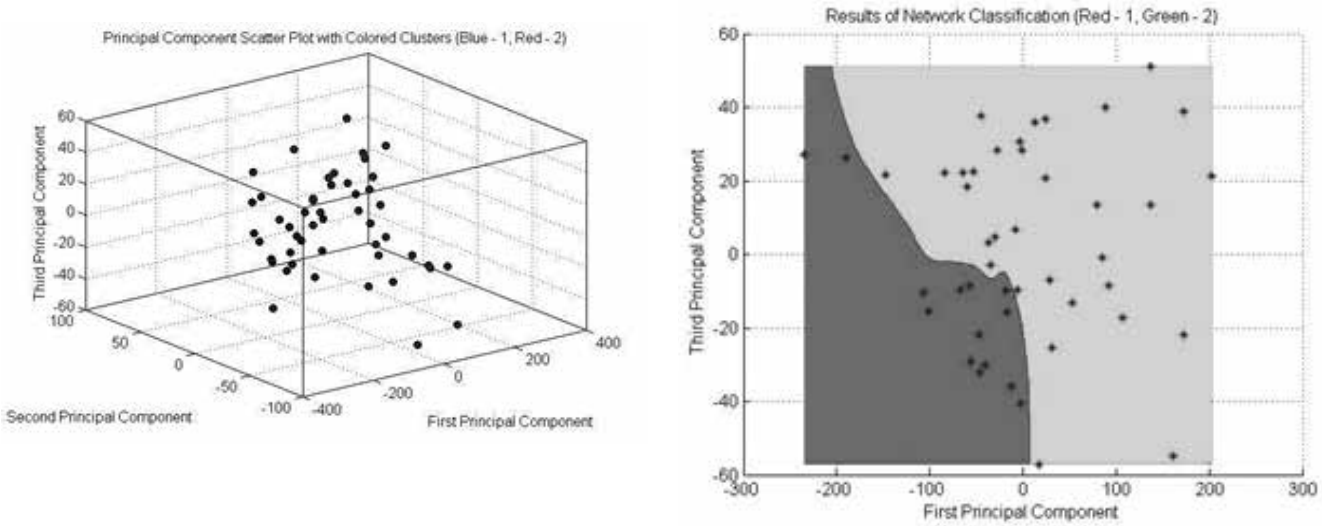


Fig. 5 Correlation amongst all 3 components is 86.9%. (by E.A.Tcherniavskaia and A.V.Saetchnikov, 2013)

Results:

• Correlation of all 3 principal components was 86.9%

• Using similar data processing with future patients, it is possible to stratify them to groups according to their risk of disease.

• The obtained data also indirectly confirms the stage of carcinogenesis based on the conformational changes in the fractions of hemoglobin. [3, p.222].

CONCLUSION

Extent of activation of glycolysis and speed of production of methemoglobin (MetHb) depends on level of lactic acidosis.

The data obtained from the study mentioned above confirms that hemoglobin's inability to perform oxygen transfer is due an imbalance of its fractions depending on level of oxidative stress and the stage of carcinogenesis: in the first and the second stages, oxyhemoglobin (O2Hb) and the saturation index (sO2, which shows the degree of saturation of blood with oxygen) are decreased whilst desoxyhemoglobin (HHb) is raised. In the third stage, carboxyhemoglobin (COHb), deoxyhemoglobin (HHb) and methemoglobin (MetHb) are raised.

In the initial stages of carcinogenesis (I and II), a decrease in the affinity of hemoglobin to oxygen confirms a formation of strong complexes of hemoglobin with NO2, a free radical. This complex redistributes electronic density so that the oxyhemoglobin passes into a quasi-oxidized state. Decrease of oxyhemoglobin O2Hb (oxidized) is accompanied by an increase in deoxyhemoglobin HHb (restored) according to the order of oxidation-reduction reactions. The changes stated above in the first and second stages of malignancy characterize the initial stages in the development of oxidative stress.

The elevation of methemoglobin (MetHb) characterizes the condition of methemoglobinemia, whereby a part of heme is switched off from oxygen transport. Increase in carboxyhemoglobin (COHb) also results in the molecule becoming incapable of transferring oxygen , which aggravates the course of a tissue hypoxia. In the third stage of carcinogenesis, these parameters characterize conformational changes in hemoglobin structure in connection with deep violations of tissue respiration and changes in mitochondrial and microsomal oxidation.

Oxygen free radicals may play a key role in carcinogenesis by mediating formation of methemoglobin, which can now be quantitated to very high levels.

In summary it is possible to consider hemoglobin fractions as indicators of development of oxidative stress in carcinogenesis and use them as new criteria in cancer diagnostics.

REFERENCES

1. *J.E. Klauning et al. The Role of Oxidative Stress in Chemical Carcinogenesis Environmental Health Perspectives Vol.106, Supplement I February 1998 P. 289 -295.*
2. *RL. Nelson. Dietary iron and cancer risk. Free Radic. Biol. Med. 12:161-168 (1992).*
3. *A. Sadvakas, E.A.Tcherniavskaia and A.V.Saetchnikov. International Journal of Molecular medicine. Volume 32, Supplement 1, 2013, P.222.*
4. *RG. Stevens, K. Nerishi Iron and oxidative in human cancer. In: Biological Consequences of Oxidative Stress: Implications for Cardiovascular Disease and Carcinogenesis (Spatz L., Bloom AD, eds). New York: Oxford University Press, 1992; P. 138-161.*
5. *A.A. Tregubov "Violation of respiratory function of blood at some pathological processes", Leningrad: Army medical college of S.M.Kirov, 1947, P. 123.*
6. *RA Floyd. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. FASEB J. 1990 Jun; 4(9):2587-97 p.2587.*

ТҮЙІНДЕМЕ

КАНЦЕРОГЕНЕЗДІК ТОТЫҒУ СТРЕСС ДЕҢГЕЙІНЕ БАЙЛАНЫСТЫ ГЕМОГЛОБИН ФРАКЦИЯСЫНЫҢ ДИСБАЛАНСЫ

А.С. Садвакас
С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық Медициналық Университеті
Қазақстан, Алматы

Бұл мақалада қатерлі ісігі бар науқастарда 50 канцерогенездік ағынының сатысында негізделген гемоглобин туындылары спектрінің өзгерістері қарастырылады. Газ анализаторында қанға анализ жасалды және қышқылды-негіздік жағдайы анықталды. Зерттеу нәтижесінде гемоглобин туындыларының канцерогенез кезеңдеріне байланысты өзгергендігі анықталды. Ұлпа гипоксиясына жауап нәтижесінде канцерогенездің I және II кезеңдерінде гемоглобиннің оттегіне ұқсастығы төмендеді. Канцерогенез кезеңінде гемоглобин мен оның туынджыларының құрамында бұзылыстар жүреді.

Түйін сөздер: *гемоглобин фракциялары, канцерогенездік, майлардың асқын тотығуы, қышқылдық фосфорлануды ағыту, ұлпалық гипоксия, тотығу стрессі.*

АННОТАЦИЯ

ДИСБАЛАНС ФРАКЦИЙ ГЕМОГЛОБИНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

А.С. Садвакас
Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова
Казахстан, Алматы

В этой статье обсуждаются изменения спектра производных гемоглобина в зависимости от стадии протекания канцерогенеза у 50 онкологических больных. Проводился анализ крови на анализаторе газов и кислотно-щелочного состояния. В результате исследования были получены данные об изменении фракций гемоглобина в зависимости от стадии канцерогенеза. При I и II стадии канцерогенеза результатом ответа на тканевую гипоксию является снижение сродства гемоглобина к кислороду. В прогрессировании канцерогенеза происходят конформационные изменения в структуре гемоглобина с дисбалансом его фракций.

Ключевые слова: *фракции гемоглобина, канцерогенез, перекисное окисление липидов, разобщение окислительного фосфорилирования, тканевая гипоксия, оксидативный стресс.*

УДК 13058.61

КИСЛОРОД, ЕГО ТРАНСПОРТ И РОЛЬ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

Н.Р. Аблаев
Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

Кислород играет жизненно важную роль в организме человека. Его транспорт и роль в органах и тканях при различных физиологических и патологических состояниях существенно меняются. Превращение основного транспортера кислорода гемоглобина в дисгемоглобины при воспалительных процессах или под влиянием некоторых анестетиков снижает ценность этого показателя в общем анализе крови. Необходимо признать, что основной причиной ЖДА является не дефицит железа в пище человека, а дефекты в механизмах его усвоения из ЖКТ; хронические воспалительные процессы в организме приводят к анемии. Гипоксия является ведущим пусковым фактором в канцерогенезе.

Ключевые слова: гемоглобин, дисгемоглобины, воспаление, гепсидин, гипоксия, индуцибельный фактор.

Кислород в организме человека играет незаменимую роль. Основная часть (до 80%) кислорода, вдыхаемого человеком, используется в митохондриях с участием ферментов цитохромной системы, в том числе и цитохромоксидазы. Этот путь называется *оксидазным.* При этом происходит полное восстановление кислорода за счет электронов окисляемых субстратов (пируват, свободные жирные кислоты, безазотистые остатки аминокислот, кетоновых тел и др.):

$$O2 + 4e = 2O^{2-}$$

Данный путь дает клетке энергию в виде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), являющейся универсальным источником энергии.

Существует и другой путь окисления – оксигеназный. Он не дает клетке свободной энергии, потому что кислород включается в субстрат с образованием новой гидроксильной или карбоксильной группы. Этот путь происходит в основном в мембранах эндоплазматического ретикулума (микросомах). Путем микросомного окисления осуществляется α- и ω- окисление жирных кислот, синтез ненасыщенных жирных кислот, стероидов. Таким путем обезвреживаются ксенобиотики, т. е. чужеродные для организма вещества (многие лекарства). Ферменты, осуществляющие такое окисление, называются оксигеназами. Различают диоксигеназы, которые включают в молекулу субстрата оба атома молекулы кислорода. Более распространены в клетках монооксигеназы (гидроксилазы), которые катализируют реакции с включением одного атома кислорода в

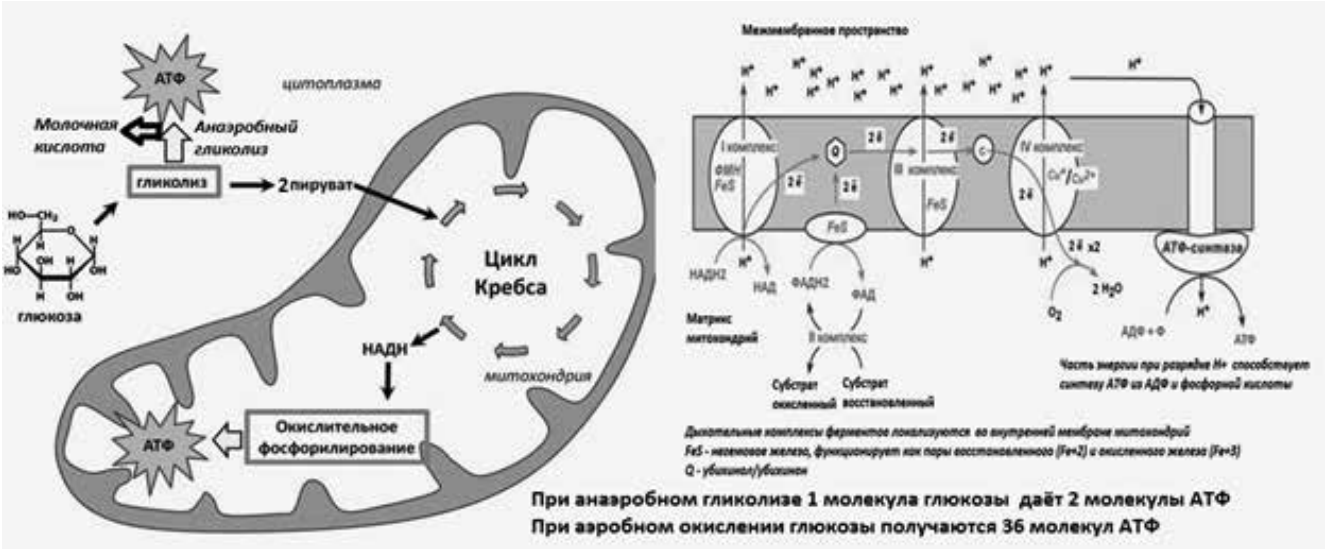
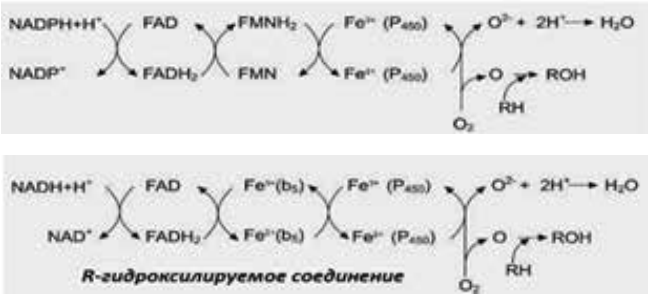


Рисунок 1. Митохондрии и окислительное фосфорилирование.

молекулу субстрата, а второй атом кислорода восстанавливается при этом до воды. Монооксигеназные системы представляют собой короткие цепи переноса электронов и протонов, источником которых служит чаще всего восстановленный НАДР+ (NADPH) , реже НАД+ (см. схему):



Активатором кислорода при этом является цитохром Р450 – одноцепочечный хромопротеин с молекулярной массой 50 кДа. Смысл такого процесса заключается в том, что ксенобиотики, которые обычно гидрофобны, гидроксилируясь, подвергаются конъюгации с различными кислотами, что способствует их обезвреживанию и выведению из организма с желчью или мочой. С участием микросомных систем осуществляется также биосинтез стероидов, желчных кислот, витамина Д3. Гидроксилазы широко распространены в клетках животного организма, в том числе и в эритроцитах. Цитохром Р450 (*цитохром* Р450-зависимая *монооксигеназа,* англ. *Cytochrome* P450,CYP) — общее название ферментов семейства Р450. Представители данной группы входят в класс гемопротеинов, относятся к цитохромам типа b. Цитохром Р450, связанный с монооксидом углерода, имеет максимум поглощения света при длине волны 450 нм, что определило его название. Цитохромы Р450 обнаружены во всех живых существах — у животных, растений, грибов, бактерий, архей. У эукариотических организмов Р450 являются мембранными белками. Система цитохрома Р450 участвует в окислении многочисленных соединений, как эндогенных, так и экзогенных. Ферменты этой группы играют определяющую роль в обмене стероидов, желчных кислот, образовании из витамина Д его активных форм, ненасыщенных жирных кислот, фенольных метаболитов, и, кроме этого, в нейтрализации ксенобиотиков (лекарств, ядов, наркотиков). Пути и превращения некоторых ксенобиотиков показаны на схеме ниже:

Некоторая часть молекулярного кислорода в митохондриях "уходит" от восстановления после по-

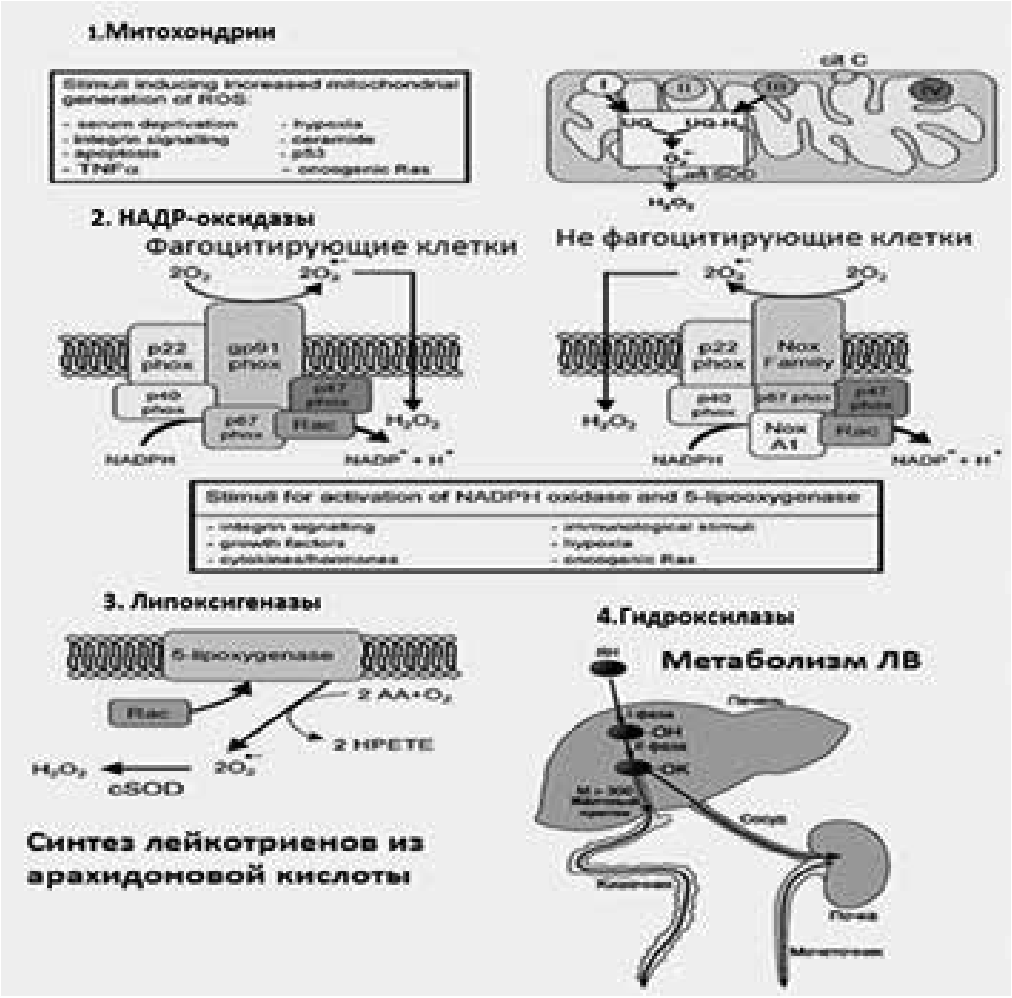


Рисунок 2. Оксигеназные пути использования кислорода

лучения первого электрона от дыхательной цепи и далее функционирует самостоятельно (как молекулы - диссиденты) в форме свободных радикалов O_2*. Например, в миокардитах крыс за 24 часа таких соединений набирается до 10^8 молекул (до 2% от общего потребления O_2).

Не утихает шум вокруг мельдония, который используется спортсменами в качестве восстанавливающего средства. Другой препарат того же ряда – предуктал, который согласно описанию, переводит миокард с использования жирных кислот, потребляющих много кислорода, на гликолиз, на который расходуется меньше кислорода, также популярен у практикующих медработников. Оба препарата блокируют бета-окисление жирных кислот.

Рисунок 3. Основные пути энергетического обмена в сердце и головном мозге.

Как показано на рисунке 3, для сердца во всех ситуациях в качестве источника энергии служат жирные кислоты. В кардиомиоциты глюкоза поступает только при гипергликемии и нормальном функционировании инсулина. Непонятно, за счет окисления каких веществ сердце будет работать, если гликолиз не стимулируется введением самой глюкозы или инсулина, который через инсулин-зависимый транспортер глюкозы ГЛУТ-4 регулирует поступление глюкозы в миокард. Если допустить, что оба препарата действуют точно так, как описано, то сердце неминуемо должно было бы перестать биться, как только мельдоний (препятствует переносу СЖК с помощью карнитина в митохондрии) или предуктал (ингибирует один ферментов бета-окисления СЖК) начнут по-настоящему действовать.

ДИСГЕМОГЛОБИНЫ КИСЛОРОД НЕ ПЕРЕНОСЯТ

Одним из ведущих показателей общего анализа крови является уровень гемоглобина, который служит единственным переносчиком кислорода, без которого невозможно продолжение жизни. Считается, что если уровень гемоглобина в пределах нормы, то организм больного не должен испытывать никаких проблем с обеспеченностью кислородом. Современный цианметгемоглобиновый метод определения гемоглобина является, на самом деле, весьма точным. Но он не позволяет выявить, какая часть гемоглобина крови действительно участвует в транспорте кислорода, а какая – нет. Нередко медики сталкиваются с ситуацией, когда на фоне превосходного уровня данного показателя (в пределах 130 г/л), проставленного на бланке из лаборатории, больной страдает от жестокой гипоксии.

Дисгемоглобины (прежде их обозначали как патологические производные гемоглобина), неспособные доставлять в ткани кислород, в современных лабораториях, как правило, не идентифицируются.

Хорошо известно, что при хронических воспалительных процессах в очаге воспаления борются макрофаги. Но фагоциты, прежде чем пожирать живых бактерий, продуцируют массу свободных радикалов, в том числе и оксид азота (NO), призванных убить микробов. Но бактерии научились надежно укрываться. В результате, оксид азота накапливается в тканях хозяина. В его утилизации главную роль играет гемоглобин: $Hb(Fe^{2+})O_2 + NO = Hb(Fe^{3+})$ (это метгемоглобин, кислород не переносит) + NO_3 (он растворим в воде, удаляется через почки с мочой). Медику всего-то нужно понимать, что чем продолжительнее и тяжелее воспаление, тем все большая часть нормального гемоглобина, т.е. Hb (Fe^{2+}), превращается в негодный метгемоглобин $Hb(Fe^3)$. В норме уровень метгемоглобина составляет около 1-3% от общего гемоглобина. При хронических воспалительных заболеваниях его концентрация становится намного больше (до 40-50%), т.е. больной неминуемо будет страдать от кислородного голодания. А лабораторные данные (общий гемоглобин) говорят совсем о другом.

При распаде старых или молодых эритроцитов образуются гемовое железо, гемовый моноксид

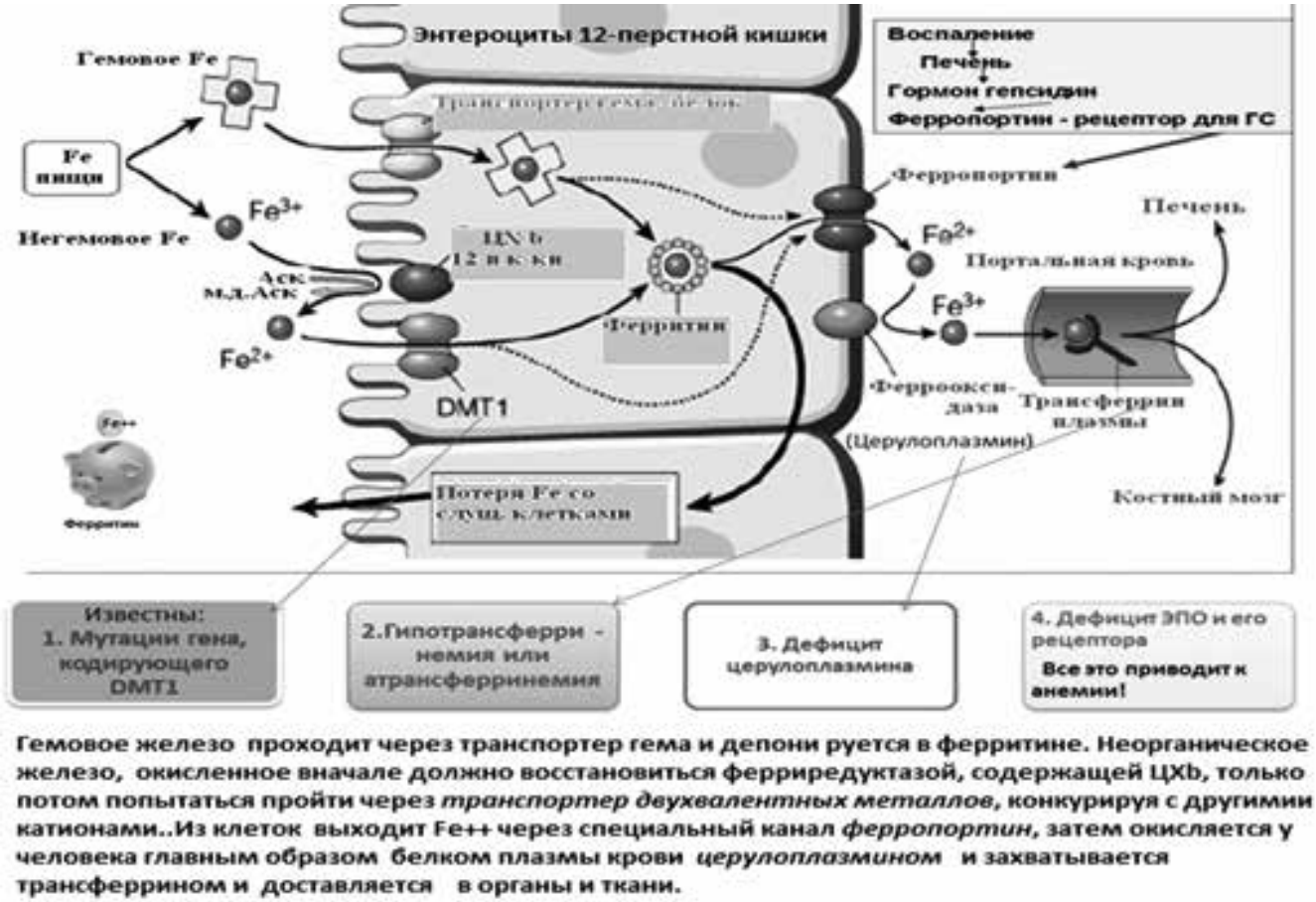
Рисунок 4. Дисгемоглобины и их значение в гемоглобиновом тесте.

углерода (CO) и билирубин, задержка и накопление которого в коже приводит к желтухе. Тяжесть состояния детей при желтухах педиатры склонны объяснять высоким уровнем билирубина, его токсичностью. Но почему-то они не берут в ум тот самый CO, который любит лепиться также к гемоглобину, превращая его в непригодный для работы карбоксигемоглобин. При гипергликемии глюкоза не может не цепляться к молекулам гемоглобина. У здоровых людей уровень карбоксигемоглобина не должен превышать 4%, но у больных он может оказаться намного больше. У курильщиков в крови концентрация HbCO может превышать 12%. А сколько его в крови больных с желтухой, неизвестно, не исследуется. Гликированный гемоглобин крепко притягивает к себе молекулу кислорода в артериальной крови и никак не хочет с ней расставаться в венозной крови. Но, когда в лаборатории исследуют уровень общего гемоглобина, он оказывается в пределах нормы, так как все отмеченные дисгемоглобины в пробирках превращаются в цианметгемоглобин, а по нему именно судят о содержании общего Hb. Отсюда, очень важно, чтобы думающий неравнодушный врач начал правильно воспринимать лабораторные данные и клинические проявления заболевания у конкретного пациента или на самом деле снабжать его понятным и достаточным набором соответствующих показателей, особенно говорящих об уровне отдельных дисгемоглобинов.

Время от времени телевизионщики рассказывают о несчастных женщинах, которые стали жертвами косметологов. Недавно такой же случай произошел и в РК. Видимо, косметологи используют какие-то токсичные формы анестетиков. Ведь, чем эффективней обезболивающее средство, тем более оно токсично. Но суть проблемы в том, что обычные хирурги, стоматологи или косметологи применяют местные анестетики, производные кокаина. У некоторых людей (1-2% от общей популяции) эти ксенобиотики идут аномальным путем метаболизма в печени. Не в том месте особый изомер цитохрома P450 прикрепляет гидроксильную группу, и к ней не может пристыковаться та или иная кислота (серная, уксусная или глюкуроновая), чтобы обезвреженное ставшее водорастворимым сложное соединение (коньюгат) покинуло организм через почки. Недометаболизированный продукт – не так гидроксилированный анестетик – не может покинуть организм. Вокруг него всегда курсирует много свободных радикалов, которые интенсивно окисляют гемоглобин в метгемоглобин. Больные при этом умирают не от анафилактического шока, а от гипоксии вследствие гиперметгемоглобинемии, от которой есть единственный в мире антидот – *метиленовый синий*, при правильном использовании которого в течение получаса или часа больные возвращаются в нормальное состояние. Получается, что знание – это сила, а незнание=невежество – это страшная сила. К великому сожалению, основная масса медиков не обладает необходимым уровнем знаний по данной проблеме и не готова оказать срочную соответствующую помощь, ограничиваясь диагнозом *анафилактический шок*. Отсюда, целесообразно срочно внести коррективы в протоколы исследований и терапии больных с клиническими проявлениями гипоксии.

АНЕМИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ГОРМОН ГЕПСИДИН

Более двух миллиардов человек на Земле живет с диагнозом железодефицитная анемия (ЖДА). Бытует поверье, что ЖДА - следствие недостаточности железа в пище, поэтому ВСЕМ больным с этой болезнью назначают препараты железа, которых в мире создано и применяется очень много, наверное, миллионы тонн. Однако, на самом деле в большинстве случаев главной причиной ЖДА является нарушение усвоения железа. Все продукты питания содержат достаточное количество железа (человеку в сутки его нужно меньше 20 мг). Причины анемии - явно генетического характера. Некоторые из них показаны на схеме. Несмотря на изобилие препаратов железа, число больных с ЖДА в мире не уменьшается! Как тут не вспомнить Альберта Эйнштейна, который называл безумием повторять много раз одно и то же, надеясь получить новый результат.



Гемовое железо проходит через транспортер гема и депони руется в ферритине. Неорганическое железо, окисленное вначале должно восстановиться ферриредуктазой, содержащей ЦХb, только потом попытаться пройти через *транспортер двухвалентных металлов*, конкурируя с другимии катионами..Из клеток выходит Fe++ через специальный канал *ферропортин*, затем окисляется у человека главным образом белком плазмы крови *церулоплазмином* и захватывается трансферрином и доставляется в органы и ткани.

Рисунок 5. Современные представления об усвоении железа в организме человека.

При анемиях, обусловленных недостатком железа или нарушением его усвоения, страдает не только эритропоэз, но также синтез большого числа других гемопротеинов (гемопротеидов) (см. схему 6). Следствием ослабленного формирования миоглобина, депонирующего O_2 в мышцах, в том числе и гладких мышцах, может быть, например, слабость родовой деятельности или ослабление тканевого дыхания.

Рисунок 6. Основные гемопротеины и их функции.

Другим столь же распространенным и грозным заболеванием является сахарный диабет, особенно СД 2 типа, при котором, помимо гипоксии вследствие гипергликогемоглобинемии, развивается целый ряд тяжелых осложнений. Конечно, чтобы их заметить, необходимо знать, как глюкоза транспортируется в разные типы клеток, и каким превращениям она может подвергнуться (см. рис. 7).

Рисунок 7. Пути поступления глюкозы в разные типы клеток.

Глюкоза самостоятельно преодолеть клеточные мембраны не способна. Для этого существуют специальные белки – *транспортеры глюкозы* (ГЛУТ). Разные ткани в неодинаковой степени нуждаются в глюкозе, самом древнем источнике энергии. Больше других тканей головной мозг использует преимущественно глюкозу для своих потребностей: при голодании и стрессах под управлением кортизола в печени резко усиливается глюконеогенез из других, не углеводных источников. При этом вся синтезируемая глюкоза поступает в мозг и эритроциты. Другим тканям (например, миокард, скелетные мышцы) удобнее получать из крови жирные кислоты и кетоновые тела, которые могут давать АТФ гораздо быстрее, чем путем гликолиза. Для таких видов клеток и тканей природа изобрела особый тип ГЛУТ-4: при нормальной гликемии этот транспортер глюкозы перемещается с цитоплазматической мембраны в цитозоль, - таким способом глюкоза "отводится" от указанных тканей и подводится к тем клеткам и органам, которые без глюкозы обойтись никак не могут. А клетки сердца и мышц продолжают получать небольшое количество сахара через инсулин-независимый ГЛУ-1, - для синтеза из глюкозы рибозы и дезоксирибозы, восстановительных эквивалентов НАДРН$_2$, для поддержания достаточной мощности цикла трикарбоновых кислот и т.д. Все это регулируется прежде всего инсулином: когда глюкозы поступает много, секретируется инсулин, и он сложным механизмом переводит ГЛУТ-4 из цитоплазмы в клеточную мембрану. Тогда, понятно, глюкоза из крови поступает в сердце, мышцы и жировую ткань. Для чего? Например, для депонирования глюкозы в виде гликогена или жира. А инсулин-независимые ГЛУТ от рождения и всегда остаются в мембранах, в результате чего глюкоза постоянно "течет" в соответствующие ткани. Понятно, что при гипергликемиях, алиментарных или гормональных, эти ткани получают слишком много глюкозы, запуская развитие известных осложнений, в том числе превращая все большее количество гемоглобина в гликогемоглобин. Таким образом, при сахарном диабете глюкоза в сердце, скелетные мышцы и жировую ткань (а на их долю приходится основная масса тела) почти не поступает, развивается гипергликемия, а инсулин-независимые ткани *получают слишком много* сахара и утопают в нем. Но при этом не отмечается гипергликемической кардиопатии, миопатии и адипопатии. Не бывает также гепатопатии, так как печень обладает мощностями для своевременной переработки поступающей в нее глюкозы.

При сахарном диабете в организме больного обнаруживается множество различных патологических явлений, в том числе и нарушение окислительно-восстановительных процессов.

С началом 21-го века появилась новая надежда в изучении губительной и поистине глобальной анемии, и эта надежда связана с гормоном гепсидином. Французским ученым удалось выделить из крови новый белок острой фазы воспаления, который был назван ими гепсидином, потому что, как оказалось, он синтезируется в печени и обладает противомикробным действием. Но очень скоро выяснилось, что гепсидин является гормоном, регулирующим метаболизм железа. Гепсидин является пептидом, состоящим из 25 аминокислотных остатков. Он синтезирован. Выяснен механизм действия гепсидина. А он довольно прост и понятен. В ответ на гиперферремию и бактериальный воспалительный процесс, характеризующийся выработкой провоспалительных цитокинов, например, *ИЛ*-6, происходит стимулирование синтеза и секреции печенью гепсидина. Гепсидин, как гормон, связывается со своим рецептором, которым оказался ферропортин. После селективного взаимодействия гепсидина с ферропортином, происходит эндоцитоз и последующий распад данного комплекса в цитоплазме дуоденальных энтероцитов, макрофагов, гепатоцитов и других клеток. А это означает, что по мере развития воспалительных процессов остается все меньше ферропортинов, через которые только и может Fe^{2+} покидать указанные клетки, т.е. все явственней становится гипоферремия. Следовательно, при этом образуется недостаточное количество гемоглобина и других гемопротеинов (цитохромов, миоглобина и др.). В то же время железо беспрепятственно продолжает поступать внутрь клеток 12-перстной кишки. На фоне достаточного количества железа в организме отмечаются гипоферремия и гипогемоглобинемия и, вообще, гипогемопротеинемия. Но когда в такой ситуации у больного берут кровь на общий анализ крови и выявляют сниженный гемоглобин, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, пациентам рекомендуется назначение препаратов железа, которые помочь пациенту никак не могут, а наносят вред, потому что железо накапливается в энтероцитах и макрофагах. Внутрь клеток погружаются все новые атомы двухвалентного железа, способные вызывать окислительный стресс. Думающий врач сказал бы при этом, что вначале необходимо убрать воспалительный процесс. Тогда постепенно и ферремия, и гемопоэз восстановятся без приема препаратов железа. И обошлась бы такая терапия гораздо дешевле ныне принятого лечения анемии.

За последние годы наметился новый путь понимания характера анемии и ее лечения. На помощь приходит *витамин Д*. Оказалось, что витамин Д (вернее, его производное, гормон кальцитриол) стимулирует синтез рецепторов эритропоэтина, без которых не может происходить гемопоэз. Кроме того, кальцитриол стимулирует синтез антимикробных пептидов, т.е. в определенной степени блокируется синтез гепсидина, и не подавляется выход железа из энтероцитов, макрофагов и гепатоцитов, не дает о себе знать гипоферремия. Но вся беда заключается в том, что у большинства современного человечества наблюдается жестокий дефицит витамина Д. Следовательно, вполне удобно обозначить ЖДА как «витамин Д-дефицитная анемия».

ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНЫЙ ФАКТОР ТРАНСКРИПЦИИ

Гипоксия — кислородное голодание, пониженное содержание кислорода в организме или отдельных органах и тканях. Причин гипоксии множество, но главная из них – дисгемоглобинемии или гипогемоглобинемии разного происхождения. Чаще всего последствия гипоксии связывают с соответствующим ослаблением O_2- зависимых процессов. Новые представления о результатах кислородного голодания говорят о том, что при этом наступают не только определенные количественные нарушения, но и новые качественные изменения, исход которых не всегда предсказуемый. Эффект гипоксии зависит не только от степени кислородного голодания, но также от типа ткани, от того, с какой быстротой делятся клетки. Вслед за гипоксией стимулируется целый каскад сложнейших механизмов, которые могут привести и к восстановлению очага гибернации, и к пролиферации с канцерогенезом. Среди большого числа генов, стимулируемых при гипоксии, есть и такие гены, которые запускают активацию теломеразы, гликолиза и лактатдегидрогеназы, и многих других факторов, контролирующих жизнедеятельность клеток на разных уровнях.

Большой вклад в развитие гипоксии в тканях вносит гликогемоглобин, постоянный спутник сахарного диабета. Чем больше уровень гликогемоглобина, тем выраженней гипоксия, и тем явственнее осложнения сахарного диабета. Безусловно, квалифицированный врач должен вовремя, анализируя показатели углеводного обмена, особенно динамику HbA_{1C}, "заметить" у пациента нарастание нейропатии, ангиопатии, ретинопатии и нефропатии.

Относительно недавно было показано, что в очаге тканей, испытывающих тяжелое кислородное голодание, происходит формирование белковых факторов транскрипции генов, продукты которых, на разных уровнях и направлениях, позволяют клеткам/ткани выживать. В настоящее время известны несколько *гипоксия-индуцибельных факторов* (ГИФ = HIF). Наиболее изучен ГИФ-1. Этот транкрипционный фактор впервые был идентифицирован Грегом Семензой с сотрудниками из университета Джона Хопкинса в Балтиморе в 1992 году как регулятор экспрессии эритропоэтина (EPO). HIF-1 активируются не только гипоксией, но такой эффект может происходить также в условиях нормоксии инсулином и инсулиноподобными факторами. Наряду с другими транскрипционными факторами, чувствительными к гипоксии, такими как металло-транскрипционный фактор (metal transcription factor-1 — MTF-1), ядерный фактор kB (nuclea factor — NFk.), c-Fos и c-Jun и др., HIF считается ведущим транскрипционным регулятором генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаток кислорода. Он активируется в физиологически важных местах регуляции кислородных путей, обеспечивая быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс, включает гены, регулирующие процесс ангиогенеза, вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэз и апоптоз.

Комплекс HIF является гетеродимером, состоящим из одной альфа-субъединицы (HIF-1a) и одной бета-субъединицы (HIF-1b). Существует множество

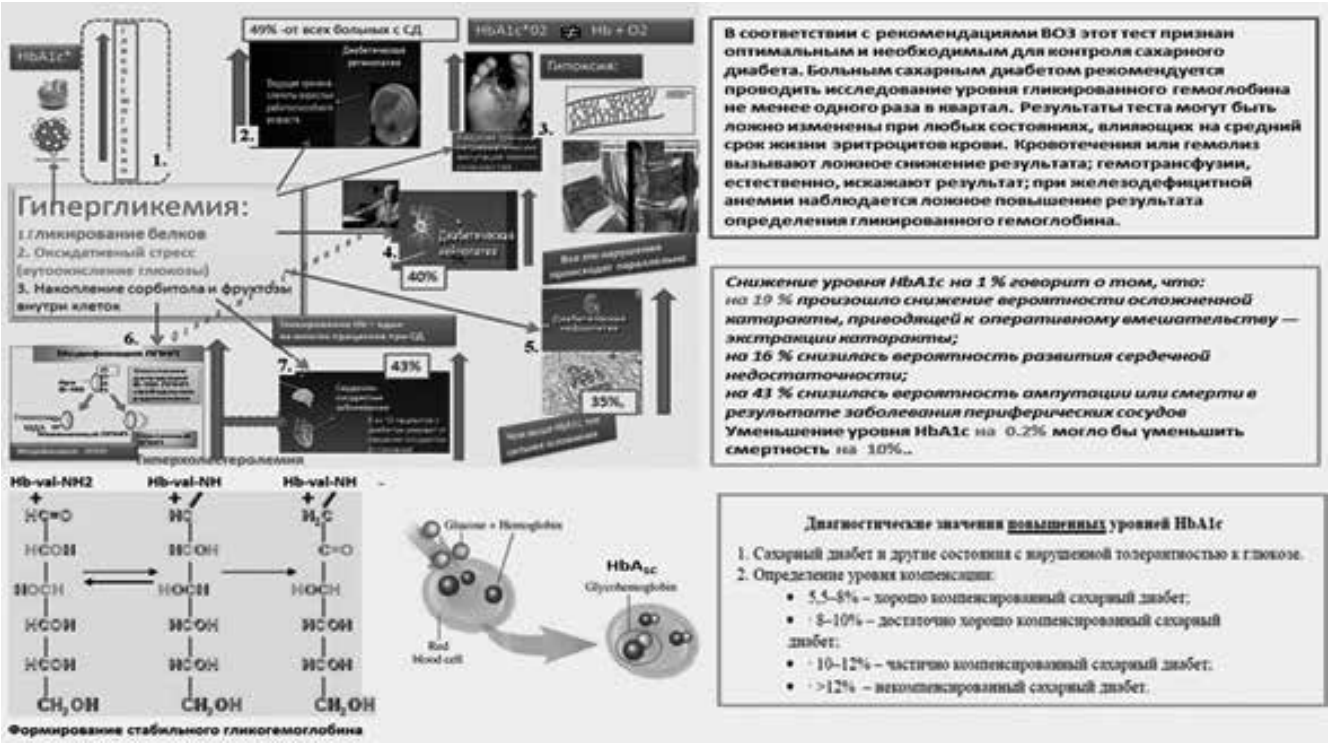


Рисунок 8. Повышение уровня гликогемоглобина и осложнения СД.

изоформ (HIF-1 HIF-2 и HIF-3) с различными биологическими свойствами. Бета-субъединица названа arylhydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT/ HIF-1b). Субъединица HIF-1a является кислород-чувствительной, она имеет специфическую функцию в стимулированной гипоксией генной регуляции и является мишенью для кислород-чувствительных сигнальных путей. Субъединица HIF-1b является кислород-нечувствительным конститутивным ядерным протеином, который имеет различных партнеров димеризации в других системах генной регуляции. Обе HIF-1alpha и HIF- 2 alpha субъединицы подвергаются быстрой гипоксической белковой стабилизации и соединяются с идентичной мишенью в последовательности ДНК. Способность кислорода влиять на активацию HIF осуществляется на нескольких стадиях, включающих регулируемый синтез, процессинг и стабилизацию HIF-1, ядерную локализацию, димеризацию и взаимодействие с транскрипциональными коактиваторами. На сегодня анализ регуляторных механизмов, обеспечивающих активацию HIF гипоксическими и негипоксическими стимулами, позволяет говорить о вовлечении различных способов активации HIF.

В нормоксических условиях субъединицы HIF-1a постоянно присутствуют в клетке, но характеризуются исключительно коротким периодом полураспада. Их концентрация поддерживается на низком уровне благодаря нескольким процессам, и, в первую очередь, двум независимым путям гидроксилирования: пролил и аспарагин гидроксилированию. ГИФ-1a постоянно создается и деградируется с помощью фактора von Hippel--Lindau (VHL). В данном белке остаток пролина -402 и 564 может быть гидроксилированным пролилгидроксилазой, при этом на ГИФ-1a как бы ставится метка для уничтожения (или данный белок списывается за ненадобностью). Гидроксаилирование пролина на ГИФ-1a вызывает связывание с супрессором опухоли VHL. А такое связывание приводит к убиквитин-протеасомной деградации ГИФ-1a. Тогда, понятно, напрасно ждет его ГИФ-1 бета в ядре клетки. Без ГИФ-1a ядерный компонент не способен запустить процесс активации каких-либо генов. Пролилгидроксилаза зависит от кислорода (гидроксилирование в принципе не может происходить при отсутствии кислорода). Кроме O_2, для активации пролилгидроксилазы необходимы и другие факторы, как например, Fe^{2+}, а-кетоглутарат и аскорбиновая кислота. При отсутствии кислорода или при ничтожно малых концентрациях его пролилгидроксилаза активироваться не может, поэтому ГИФ-1a аккумулируется в цитоплазме и поступает в ядро. В ядре же ГИФ-1a и ГИФ-1бета взаимодействуют друг с другом, формируя активный ГИФ-1. Последний связывается с коактиваторами CBP/p300, в результате чего он становится готовым к действию. На схеме ниже показаны процессы гидроксилирования ГИФ-1a при нормоксии и гипоксии:

Присутствие кислорода запускает гидроксилирование пролинового остатка HIF-кислород-зависимого домена деградации ODD (oxygen-dependent degradation domain). Это гидроксилирование катализируется семейством внутриклеточных пролингидролаз (PHD), что служит сигналом для узнавания ГИФ -1a субъединицы белком фон Хиппеля-Линдау (von Hippel-Lindau protein — pVHL) — компонентом убиквитин- протеинлигазы E3. Присоединение убиквитина делает HIF-1a мишенью для протеосомной деградации. В условиях гипоксии PHD и FIH (этот процесс регулируется специфической аспарагин-гидроксилазой, названной FIH-1

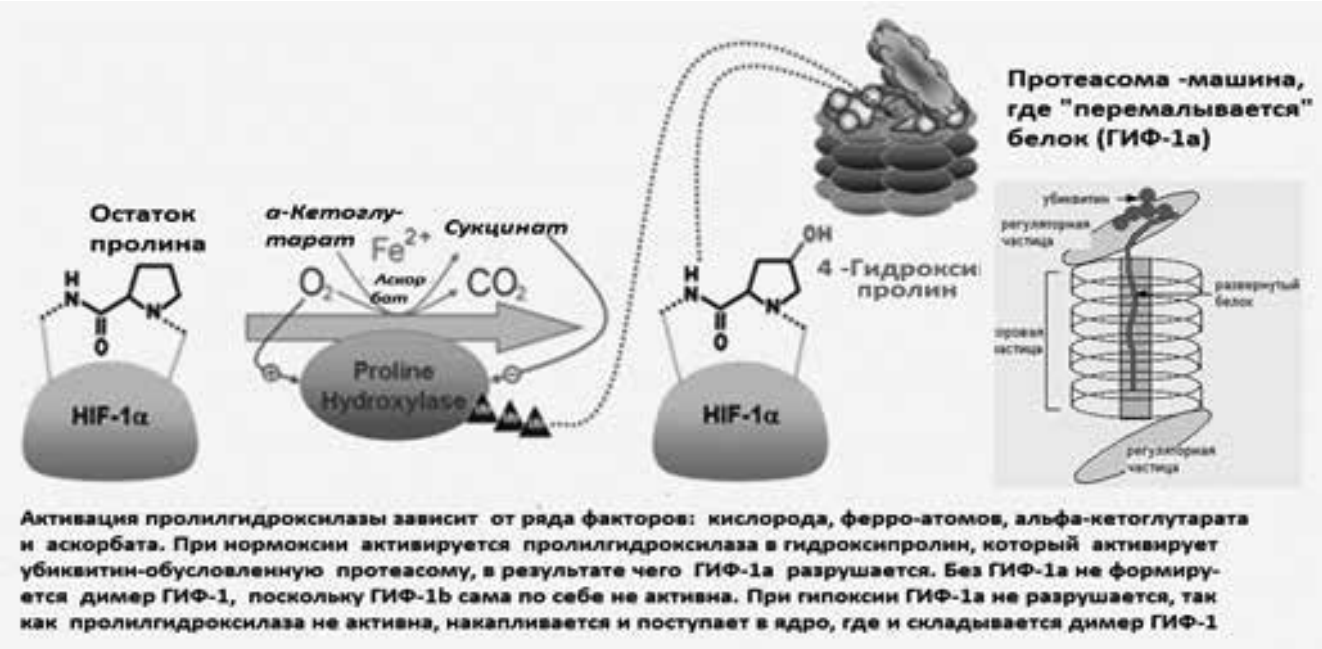


Рисунок 9. Гидроксилирование и деградация ГИФ-1а протеасомой.

(factor-inhibiting HIF-1) ферменты инактивируются, и отсутствие гидроксилирования ведет к стабилизации HIF -1 a и активации C-TAD, который способен формировать ДНК-связывающий гетеродимер с постоянно присутствующей HIF-1b субъединицей и усиливать ко-активатор p300/CBP. Иными словами, недостаток кислорода инактивирует PHD и FIH ферменты, что ведет к активации HIF, который в свою очередь запускает экспрессию гипоксия-зависимых генов, таких как эритропоэтин (EPO) и сосудистый эндотелиалый фактор роста (VEGF) и др.

Итак, как же ГИФ-1 выполняет отведенные ему роли? Если кратко, то он помогает нормальным тканям, а также опухолям выживать в условиях гипоксии. Предполагается, что ГИФ-1 стимулирует экспрессию большого числа генов (от 40 до 150), продукты которых способствуют выживанию клеток/ткани в условиях хронической тяжелой гипоксии. Для удобства понимания целесообразно разделить активируемые ГИФ-1 гены на несколько групп. Вот некоторые примеры.

По мере понимания роли ГИФ в организме стали вырисовываться факты, говорящие о том, что гипоксия может служить стимулятором превращения нормальных стволовых клеток в *раковые стволовые клетки*, т.е. она может иметь отношение к онкогенезу. Для подтверждения сказанного можно привести следующее: хроническая гипоксия вызывает индукцию фактора транскрипции (ГИФ-1), который способствует экспрессии генов, кодирующих эндотелиальный фактор роста сосудов (ЭФРС), транспортера глюкозы (ГЛУТ-1), ферментов гликолиза и т.д. Уже показано, что ЭФРС (VEGF) активируется при нескольких раковых заболеваниях человека, включая рак легких, молочной железы, желудочно-кишечного тракта, почек, мочевого пузыря, яичников, эндометрия, глиобластомы и капиллярные гемангиобластомы. Усиление уровня ЭФРС связано с васкуляризацией опухоли, в результате чего увеличивается внутриопухолевая плотность микрососудов. Эти данные свидетельствуют также о том, что опухоли вырабатывают и содействуют производству ЭФРС в нормальных стромальных клетках. Когда активность ЭФРС подавляется *в естественных* условиях, ангиогенез опухоли и рост опухоли значительно снижаются. Подобно обычному ангиогенезу, ЭФРС - опосредованный ангиогенез опухоли-зависит от гипоксии. Центральный некротический участок тканей внутри опухоли имеет низкую напряженность кислорода и выбирает клетки, в которых отсутствуют апоптоз-сигналы и, таким образом, устойчивые к разрушающему воздействию гипоксии.

Индуцированный гипоксией фактор-1 (HIF-1) представляет собой фактор транскрипции, не толь-

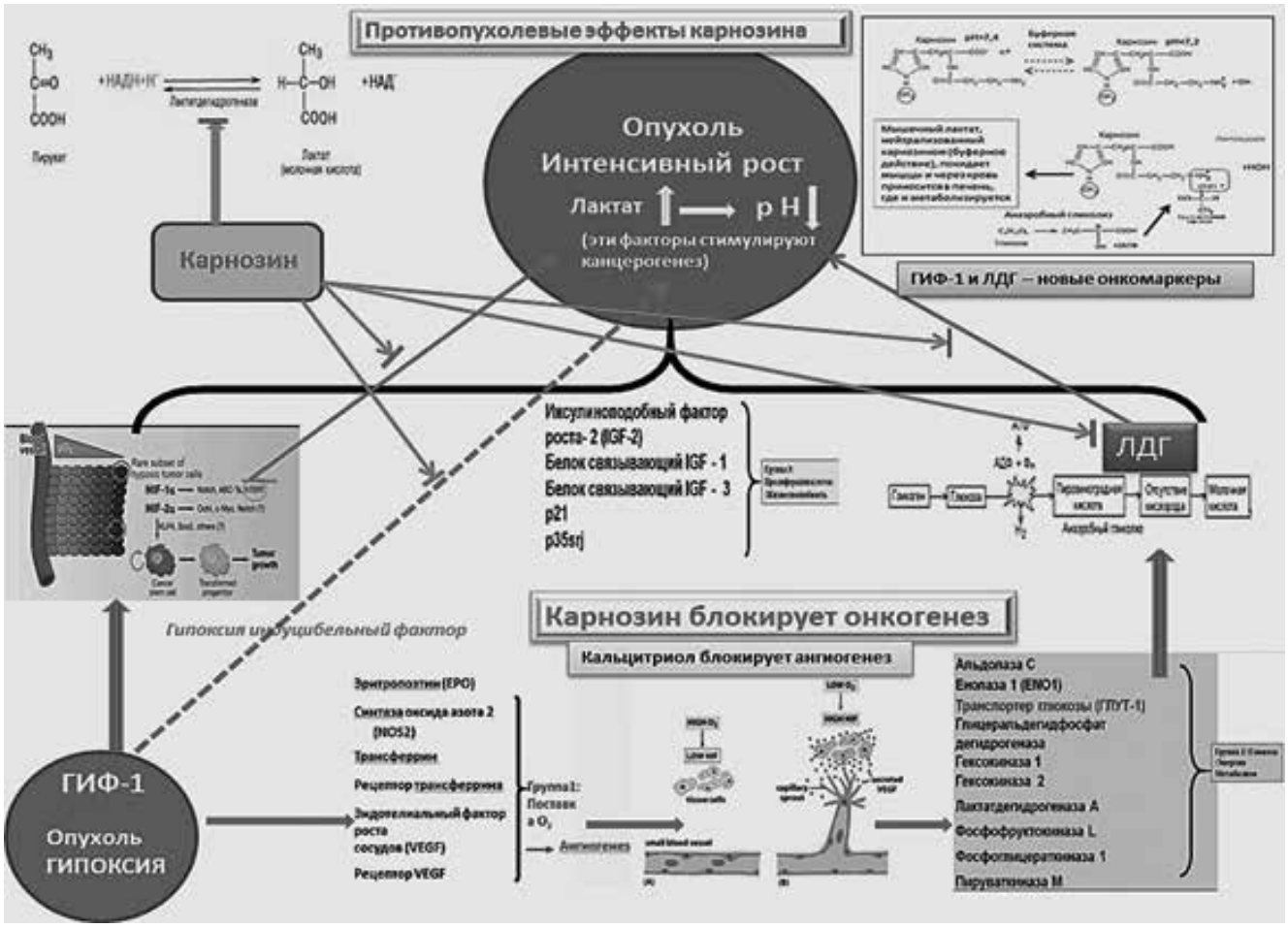


Рисунок 10. Наиболее заметные эффекты ГИФ-1.

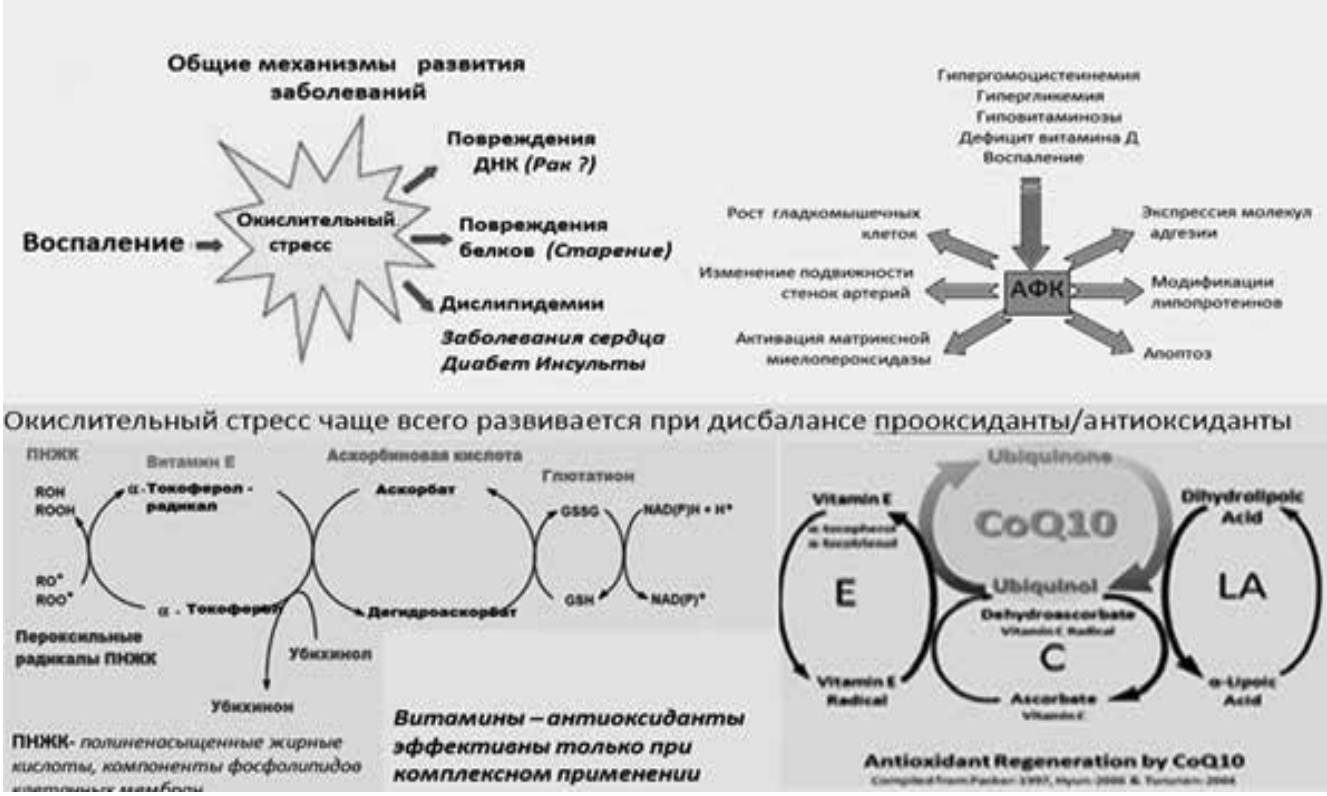
ко активируемый гипоксией, но также, в условиях нормоксии, - инсулином и IGF-2. HIF-1 необходим для нормального развития у эмбрионов сердечно-сосудистой системы, но также участвует в прогрессии рака и апоптоза.

Дипептид карнозин синтезируется больше всего в мышцах. Он связывается с молочной кислотой, продуктом анаэробного гликолиза, и способствует ее выведению из очага (ткани) с гипоксией, не допускает сдвига pH в кислую сторону. Именно ацидоз резко нарушает оптимум pH для большинства жизненно важных белков и ферментов, приводя к гибели организма еще до того, как будут исчерпаны все запасы глюкозы, распад которой мог бы обеспечить клетки энергией АТФ. Накопление лактата и низкий pH вокруг онкоклеток препятствует выходу монокарбоксилатов из нормальных клеток, обрекая их на гибель и делая их источником пищи для онкоклеток. *Таким образом, меняется многолетняя парадигма: не активные формы кислорода, а хронический дефицит его способствует канцерогенезу.*

Факторы транскрипции *— транскрипционные факторы, это белки, контролирующие перенос информации с молекулы ДНК в структуру мРНК (транскрипцию) путем связывания со специфичными участками ДНК. Это вспомогательные белки, облегчающие РНК-полимеразам прохождение основных этапов транскрипции (инициацию, элонгацию и терминацию), а также обеспечивающие избирательный характер транскрипции (например, тканеспецифичную экспрессию генов путем взаимодействия с энхансерами.*

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Выше уже было сказано, что часть молекулярного кислорода в митохондриях постоянно может превращаться в свободные радикалы, которые, хоть и живут недолго (около 10 секунд), приобретают свойства *молекул-диссидентов:* они вездесущи, им нет преград ни в водной среде, ни в липидной фазе клеток. Сами молекулы кислорода также свободно перемещаются через мембраны клеток, но они относительно инертны как химические агенты. А свободные радикалы кислорода (супероксидные радикалы кислорода, у них на внешней орбите имеется неспаренный электрон) почти в 1000 раз активнее молекулярного кислорода. Они неуправляемы, трудно предсказать, какая молекула (липиды, ДНК или белки) станет их жертвой. И здесь необходимо подчеркнуть, что источником СР является не только митохондриальная дыхательная цепь, но также ряд соединений (глюкоза, гомоцистеин и катехоламины и др.) при значительных накоплениях их в плазме крови. Эти соединения способны самопроизвольно окисляться (ауто-окисление). При этом образуются пероксид водорода, другие активные формы кислорода (АФК), а также различные продукты параметаболизма указанных соединений. АФК нарушают синтез оксида азота в эндотелиальных клетках, обусловливают и другие изменения, которые приводят к дисфункции эндотелия. Кроме того, они окисляют (модифицируют) липопротеины, к которым также присоединяются ковалентно молекулы глюкозы, гомоцистеина и малонового диальдегида.



В результате измененные липопротеины, в том числе и ЛПНП, теряют сродство к своим рецепторам на периферических клетках, накапливаются в крови, пожираются фагоцитами, которые превращаются в пенистые клетки, предвестники атерогенеза. В доступной литературе достаточно много источников, в которых авторы указывают, что мутации ДНК, следы действия АФК, приводят, в конечном счете, к онкогенезу. Однако, такой механизм развития опухолей у ряда авторов вызывает сомнения. Вероятнее всего не АФК, а гипоксия (ГИФ-1), преимущественно превращение нормальных стволовых клеток в *раковые стволовые клетки становится первопричиной канцерогенеза.* Считается труднообъяснимым перерождение дифференцированных клеток в бессмертные опухолевые клетки, с неисчерпаемым потенциалом пролиферации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Ausserer W.A., Bourrat&Floeck B., Green C.J., Laderoute K.R., Sut& herland R. M. Regulation of c-jun expression during hypoxic and low-glucose stress // Mol Cell Biol. — 1994. — V.14 (8). — P. 5032-5042.*
2. *Brahimi H.C, Berra E., Pouyssegur J. Hypoxia: the tumor's gateway to progression along the angiogenic p1. 4.*
3. *Brivet F., Fouqueray B., Rain B., Benatter C.: Lactic acidosis in breast cancer. Intensive Care Med 10: 110–111, 1 athway// Trends Cell Biol. — 2001 — V. 11. — P. 32-36.*
4. *Kim J., Teheryshyoy I., Semenza Gl., Dang C.V. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia - Cell metabolism, 2006 – Elsevier.*
5. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика»; 2001.*
6. *Козлов А.А. Гемоглобинометрия. // Лаборатория, 1998; № 11, 20-21.2*
7. *Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов //Успехи биологической химии. – 2007. т. 47.с 259-292.*
8. *Парк С.Н., Valore E.B., Уоринг А.J., Ганц Т. Hepcidin, мочевого антимикробного пептида синтезируется в печени. J Biol Chem. – 2001; 276:. 7806-10 [Abstract / Free Full Text]*
9. *Пупкова В.И., Офицеров В.И. Набор реагентов «Гемоглобин-Ново» для бесцианидного определения гемоглобина. // Новости «Вектор-Бест». – 1998; № 4, 8–9.*
10. *Флеминг R.E., Sly WS. Hepcidin: предполагаемый железа гормон регулирующий относительно наследственный гемохроматоз и анемия хронических заболеваний. Proc Natl Acad Sci USA. – 2001; 98: 8160-2.*

ТҮЙІНДЕМЕ

ОТТЕГІ, ОНЫҢ ТАСЫМАЛДАНУЫ ЖӘНЕ АДАМ АҒЗАСЫНДАҒЫ РӨЛІ

Н.Р. Аблаев
С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық Медициналық Университеті
Қазақстан, Алматы

Оттегі адам ағзасында аса маңызды рөл атқарады. Оның тасымалдануы және физиологиялық және патологиялық жағдайлардағы әртүрлі органдар мен тіндердегі рөлі елеулі түрде өзгеріп отырады. Қабыну үрдістерінде немесе кейбір анестетиктердің әсерінен оттегінің негізгі тасымалдаушысы гемоглобиннің дисгемоглобиндерге айналуы қанның жалпы талдауындағы осы көрсеткіштердің құндылығын азайтады. Темір жетіспеушілік анемиясының негізгі себебі адам тағамындағы темірдің аздығы емес, оның асқазан-ішек жолынан сіңу механизмдерінің ақаулығы екенін мойындау қажет; ағзадағы созылмалы қабыну үрдістері анемияға әкеледі. Гипоксия канцерогенездегі жетекші іске қосқыш фактор болып табылады.

Түйін сөздер: *гемоглобин, дисгемоглобиндер, қабыну, гепсидин, гипоксия, индуцибельдік фактор.*

SUMMARY

OXYGEN, ITS TRANSPORT AND ROLE IN THE HUMAN BODY

N.R. Ablaev
Kazakh National Medical University named after S. Asfendiyarov
Kazakhstan, Almaty

Oxygen plays an essential role in the human body. Its transport and role in the organs and tissues vary considerably in various physiological and pathological conditions. Transformation of hemoglobin – the main transporter of oxygen – into dyshemoglobin during inflammatory processes or under the influence of some anesthetic agents reduces the value of this indicator in the complete blood cell count. It must be recognized that Iron Deficiency Anaemia is mainly caused not by deficiency of iron in the food, but by defective iron uptake from the gastrointestinal tract; chronic inflammatory processes in the body lead to anaemia. Hypoxia is the leading starting factor in carcinogenesis.

Key words: *Hemoglobin, dyshemoglobin, inflammation, Hepcidin, hypoxia, inducible factor.*

УДК: 616-051.21

ИНТЕГРАЦИЯ МЕЖДУНАРОДНЫХ АССОЦИАЦИЙ – ПУТЬ К РАЗВИТИЮ КЛИНИЧЕСКОЙ ЦИТОЛОГИИ В КАЗАХСТАНЕ

А.И. Шибанова[1], Ж.Б. Елеубаева[2]
[1]Цитологическая лаборатория ТОО "Оздоровительный центр Масимова"
[2]Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии
Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

О значении и роли профессиональных ассоциаций в становлении и развитии специальности клинической цитологии в РК. Влияние содружества ассоциаций клинических цитологов РК с Международной академией цитологов в подготовке кадров цитопатологов, цитотехников. Определение перспектив в ранней диагностике опухолевых заболеваний и профилактика социально-значимых заболеваний с применением современных технологий.

Ключевые слова: *Цитология, профессиональные ассоциаций, новые технологии, подготовка врачей-цитологов.*

В Казахстане взят курс на развитие инновационных технологий, внедрение научно-технических достижений в медицинскую практику. Именно новые технологии позволяют ориентировать практическое здравоохранение на раннюю диагностику онкопатологии при скрининге населения. Современная медицинская диагностика требует высокой профессиональной подготовки, постоянного и упорного труда, самоотверженности от каждого врача и специалиста. В реальной жизни врачи-радиологи, врачи и специалисты лабораторной и функциональной диагностики сталкиваются с различными научными и организационными проблемами, которые требуют обсуждения и поиска путей их решения. В рамках вышеназванных проблем, в Астане под эгидой МЕДЭКСПО 23-24 сентября 2014 г. состоялся 1 Казахстанский медицинский диагностический форум «Новые технологии в радиологии (КТ, МРТ, ПЭТ, УЗИ), лабораторной и функциональной диагностике».

Организаторами форума являлись Казахстанское радиологическое общество, Казахстанская Ассоциация медицинской лабораторной диагностики, Ассоциация диагностических центров, Ассоциация клинических цитологов РК.

В работе форума приняли участие представители международных ассоциаций: Европейского общества радиологов, Российской Ассоциации Медицинской лабораторной диагностики, Российской Ассоциации клинических цитологов, Японского общества клинических цитологов и Корейского общества клинических цитологов. Всего участвовали 600 специалистов лабораторной медицинской диагностики из всех регионов Казахстана.

Были выделены секции по радиологической, функциональной, лабораторной диагностике и клинической цитологии.

На секционном заседании «Новые подходы в цитоморфологической диагностике опухолей» были прослушаны и обсуждены 12 докладов. Весьма актуальным был доклад д.м.н., профессора Батороева Ю.К. (Россия) «Цитопатология опухолей головного мозга», где автор представил уникальный материал по цитологической диагностике опухолей центральной нервной системы и доказал высокую чувствительность цитологического метода при верификации диагноза, а также предлагает данный метод для широкого использования в практике цитопатологов. Вопросам внедрения современной технологии в цитопатологию были посвящены доклады профессоров Трошина В.П. (Брянск), Лейбовича Б.Е. (Воронеж), Кислициной Л.Ю. (Иркутск), Шаймардановой Г.М. (Астана), Елеубаевой Ж.Б. (Алматы), Абдрахимовой Д.Б. (Алматы).

О значении интеграции международных ассоциаций для развития цитоморфологической дисциплины были посвящены доклады профессоров Т. Кобаяши (Япония), Дж. Ким (Южная Корея), А.И. Шибановой (Казахстан).

В докладе д.м.н. профессора Шибановой А.И. (Казахстан) были подняты вопросы, касающиеся специальности клинического цитолога, подготовки кадров по цитопатологической диагностике в РК, качества цитологического скрининга РШМ и возможности решения всех проблем через интеграцию с Международной Академией цитологов и международными ассоциациями цитологов (цитопатологов). Всеми авторами была подчеркнута необходимость разработки единой концепции по обучению

и подготовке кадров врачей цитологов (цитопатологов), цитотехнологов (лаборантов) и введение в номенклатуру специальности врача - цитолога (цитопатолога).

Кроме того, 25 сентября 2014 года в г.Астане Министерство здравоохранения и социального развития Республики Казахстан и Казахстанская выставочная компания ITECA провели форум «О развитии отрасли здравоохранения». В рамках данного форума на сессии «Развитие медицинского туризма» с докладом выступила Главный внештатный цитолог МЗ и СР РК Елеубаева Ж.Б. на тему: «Значение медицинского туризма в обучении и подготовке медицинских кадров в РК». В докладе было подчеркнуто значение сотрудничества специалистов различных стран в подготовке врачей цитологов (цитопатологов).

Ассоциация клинических цитологов Казахстана с 1993 года вошла в Международную Академию цитологов и является участником Международных конференций. Члены ассоциации Казахстанских цитологов РК принимают участие в международных форумах клинических цитологов, в 2013 году в Париже на 18 Международном Конгрессе цитологов участвовали с постерным докладом на тему «Цитологические особенности эпителия шейки матки у ВПЧ-инфицированных женщин из группы риска».

С 26 по 30 сентября 2014 года в г. Женева (Швейцария) состоялся 38 Европейский конгресс цитологов, на котором приняли участие цитологи из Казахстана. Международный Конгресс проводился в виде семинаров, учебы, сателлитных симпозиумов, слайд-семинаров, постерных докладов и мастер-классов. Цитологами Казахстана был представлен постерный доклад «Diagnostocs of Metastatic Tumors using Immunocytochemistry», который был опубликован в журнале "Cytopathology".

В рамках интеграции международных ассоциаций, члены ассоциации Казахстанской клинической цитологии приняли участие в расширенном пленуме центрального исполнительного совета ассоциаций клинических цитологов России со 2 по 5 октября 2014 г., в городе Анапа (Краснодарский край). От Казахстана был представлен доклад на тему «Роль ИЦХ в дифференциальной диагностике опухолей» заведующей цитологической лабораторией Якуповой Л.М. из Западно-Казахстанского областного онкологического диспансера (ЗКООД).

Таким образом, 1 Казахстанский медицинский диагностический форум «Новые технологии в радиологии (КТ, МРТ, ПЭТ, УЗИ), лабораторной и функциональной диагностике», форум «О развитии отрасли здравоохранения», 38 Европейский конгресс цитологов г. Женева (Швейцария), расширенный пленум центрального исполнительного совета ассоциаций клинических цитологов России свидетельствуют о значимости специальности клинической цитологии (цитопатологии) и актуальных тем, обсужденных в рамках международных мероприятий для развития медицинской диагностики в Казахстане. Обсужденные вопросы на форумах остаются весьма актуальными, касаются вопросов подготовки кадров, клинических цитологов «цитотехников», а также внедрения новых технологий в клинической медицинской диагностике. Наряду с этим, подняты проблемы об утверждении в номенклатуре врачебных специальностей – должность врача цитолога и цитотехника. Положительное решение обсуждаемых проблем является основой прогрессивного развития клинической цитологии.

ТҮЙІНДЕМЕ

ХАЛЫҚАРАЛЫҚ ҚАУЫМДАСТЫҚТАРДЫҢ ИНТЕГРАЦИЯСЫ – ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ КЛИНИКАЛЫҚ ЦИТОЛОГИЯНЫҢ ДАМУ ЖОЛЫ

[1] А.И. Шибанова, [2] Ж.Б. Елеубаева
[1]Масимов Сауықтыру орталығы ЖШС Цитологиялық зертханасы
[2]ҚазОРҒЗИ
Қазақстан, Алматы

Кәсіби қауымдастықтардың Қазақстан Республикасындағы клиникалық цитология мамандығының қалыптасуы мен дамуындағы мәні мен рөлі туралы. Қазақстан Республикасындағы клиникалық цитологтар қауымдастықтарының Халықаралық цитологтар академиясымен достастығының цитопатологтарды, цитотехниктерді даярлауға әсері. Заманауи технологияларды қолдана отырып, ісік ауруларының ерте диагностикасының және әлеуметтік тұрғыдан маңызды аурулардың алдын алудың келешегін анықтау.

Түйін сөздер: *Цитология, кәсіби қауымдастықтар, жаңа технологиялар, цитолог дәрігерлерді даярлау.*

SUMMARY

INTEGRATION OF INTERNATIONAL ASSOCIATIONS IS A PATH TO DEVELOPMENT OF CLINICAL CYTOLOGY IN KAZAKHSTAN

[1] A.I. Shibanova, [2] Zh.B. Yeleubayeva
[1]Cytological laboratory, "Wellness Center of Massimov" LLP
[2]KazRIOR
Kazakhstan, Almaty

This paper is about significance and role of professional associations in formation and development of clinical cytology specialty in Kazakhstan. The impact of cooperation between the Clinical Cytologists Associations in the Republic of Kazakhstan and International Academy of Cytologists in training of cytopathologists, cytotechnicians. Defining prospects of early diagnosis of tumor diseases and prevention of socially significant diseases using modern technologies.

Key words: *cytology, sector association, technological innovation, preparation of medical cytologists.*

ОӘЖ: 58.072_616.155.392.8

ДӘРІЛІК ӨСІМДІКТЕР СЫҒЫНДЫЛАРЫНЫҢ ЛЕЙКЕМИЯ КЛЕТКАЛАРЫНА ЦИТОСТАТИКАЛЫҚ ӘСЕРЛЕРІ

Г.Т. Жаманбаева, М.К. Мурзахметова, С.Т. Тулеуханов, Н.Т. Абылайханова
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті
Қазақстан, Алматы

ТҮЙІНДЕМЕ

Мақалада итшомырт шырғанақ *(Hippophae rhamnoides; HR),* итмұрын раушан *(Rosa canina; RC),* дәрілік сәлбен *(Salvia officinalis; SO)* және кәдімгі жұпаргүл *(Origanum vulgare; OV)* өсімдіктерінің 50%-дық этанолдық сығындыларының адамның жедел миелоидтық лейкемия (U937) клеткаларының пролиферация, тіршілік қабілеті, клетка циклы және дифференциация процестеріне әсерлері қарастырылды. Келтірілген өсімдіктер сығындылары дозаға тәуелді түрде клеткалардың пролиферациясын басытқылады және олардың тіршілік қабілетін төмендетті. Сығындылар минимальдік-эффективті концентрацияларда бір бірімен ықпалдасып, ЖМЛ клеткаларына күшті антипролиферативтік әсер етті. Өсімдік сығындылары комбинацияларының ықпалынан клеткалар өсуінің тежелуі клетка циклының бұзылуымен, сонымен қатар, G0/G1 фазадағы клеткалар санының азаюымен байланысты болды және осыған орай апоптоздың индукциясы байқалды. Зерттелген өсімдік сығындылары төмен концентрациядағы 1,25-Д3-нің дифференциациялаушы ықпалын күшейтті.

Түйін сөздер: өсімдік сығындылары, жедел миелоидтық лейкемия, пролиферация, цитостатикалық әсер, клетка циклы, дифференциация.

Жедел миелоидтық лейкемия (ЖМЛ) - қанның ақ клеткаларының басқаруға келмейтін өсуімен сипатталатын қатерлі ісік ауруы. Бұл белсенді бөлінетін, жетілмеген, қызметінен айырылған клеткалар лейкемиямен ауыратын науқастардың жілік кемігіне және периферияльық қанына жинақталады. Жілік кемігі қажетті мөлшерде қалыпты эритроциттерді, қанның ақ клеткаларын және тромбоциттерді түзу қабілетінен айырылады. Нәтижесінде лейкемиямен ауыратын науқастар анемия, цитопения, қауіптілігі жоғары инфекция мен қансыраудан және т.б. зардап шегеді. Сонымен қатар, периферияльық қанда айналымда болатын қатерлі гематологиялық клеткалар лимфа түйіндері, бауыр, көкбауыр, орталық жүйке жүйесі, аналық жұмыртқа безі және басқа да органдарға таралуы мүмкін [1]. ЖМЛ әлдеқайда кең таралған, ересек тұрғындарға әсер ететін жедел лейкоз болып саналады және оның жиілігі жас ұлғайған сайын артады.

Емдеудің стандарттық түрі өте улы болып табылады және әсіресе, егде жастағы науқастар үшін төзу қиынға соғады [2]. Осыған орай, ЖМЛ-ны емдеудің қалыптасқан, тиімділігі төмен әдістерінің салдарынан жаңа, жетілдірілген терапиялық құралдары мен мұндай агрессивті және көп жағдайда емдеуге келмейтін ісік түрімен күресетін әдіс-тәсілдерді өсімдіктектес препараттар негізінде дамыту аса маңызды болып табылады [3]. Сондықтан, жұмыстың мақсаты отандық дәрілік өсімдіктер: шырғанақ (Hippophae rhamnoides; HR), итмұрын (Rosa canina; RC), шалфей (Salvia officinalis; SO), және жұпаргүлдің (Origanum officinalis; OO) 50%-дық этанолдық сығындыларының адамның ЖМЛ клеткаларына in vitro жағдайында әсерін зерттеу болды.

ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ.

Клеткалар дақылдары. Промоноциттік лейкемия клеткалары U937 (ATCC-CRL-1593.2) Американдық типтік дақылдар коллекциясынан (American Type Culture Collection - ATCC) (Rockville, MD, USA) алынды. Сұйық азотта (N2) мұздатылған жағдайда сақталатын ЖМЛ клеткалары бастапқы материалды жібіткеннен кейін 6 ай аралығында қолданылады. Периферияльық қан үлгілері Бен-Гурион университетінің Сорока медициналық орталығындағы дені сау донорлардан алынды (Beer-Sheva, Israel). Периферияльық қанның мононуклеарлық клеткалары (МКПК) осы үлгілерден фиколла (гистопак - Histopaque-1077) градиентінде бөлініп алынды. Зертеуде қолданылған материалдар мен реагенттер Sigma (Aldrich, Israel) фирмасымен қамтамасыз етілді.

Өсімдік сығындыларын дайындау. Өсімдіктердің ұсақталған жапырақтары мен шөптері этанолдың 50%-дық сулы ерітіндісінде қараңғыда 20-25оС температурасында экстракцияланды. Құрғақ зат пен спирттің арақатынасы 1/10. Әр экстракция уақыты – 20 сағат. Өсімдік сығындылары сүзгіден өткізіліп центрифугада 10 мин 2000 g жылдамдықта айналдыру арқылы тазартылды. Алынған экстрагенттер KIKA.WERKE HB4 роторлық буландырғыштың

көмегімен құрғақ күйге жеткізілді. Кептірілген сығындылар клетка дақылдарында өсімдіктердің этанолдық сығындылары ретінде қолданылды.

Перифериялық қанның монокуклеарлық клеткаларын (ПҚМК) бөліп алу J.Zhang және басқалар ұсынған әдіс бойынша анықталды [4]. Клеткаларды өңдеу, пролиферация және цитотоксикалықты анықтау M.Danilenko және басқалар әдістемесі арқылы жүргізілді [5]. Клетка циклын анықтау S. Pesakhov және басқалардың әдісімен орындалды [6]. Миелоидтық клеткалардың дифференциация маркерлерін анықтау M.Danilenko және басқалар ұсынған әдістер арқылы атқарылды [7].

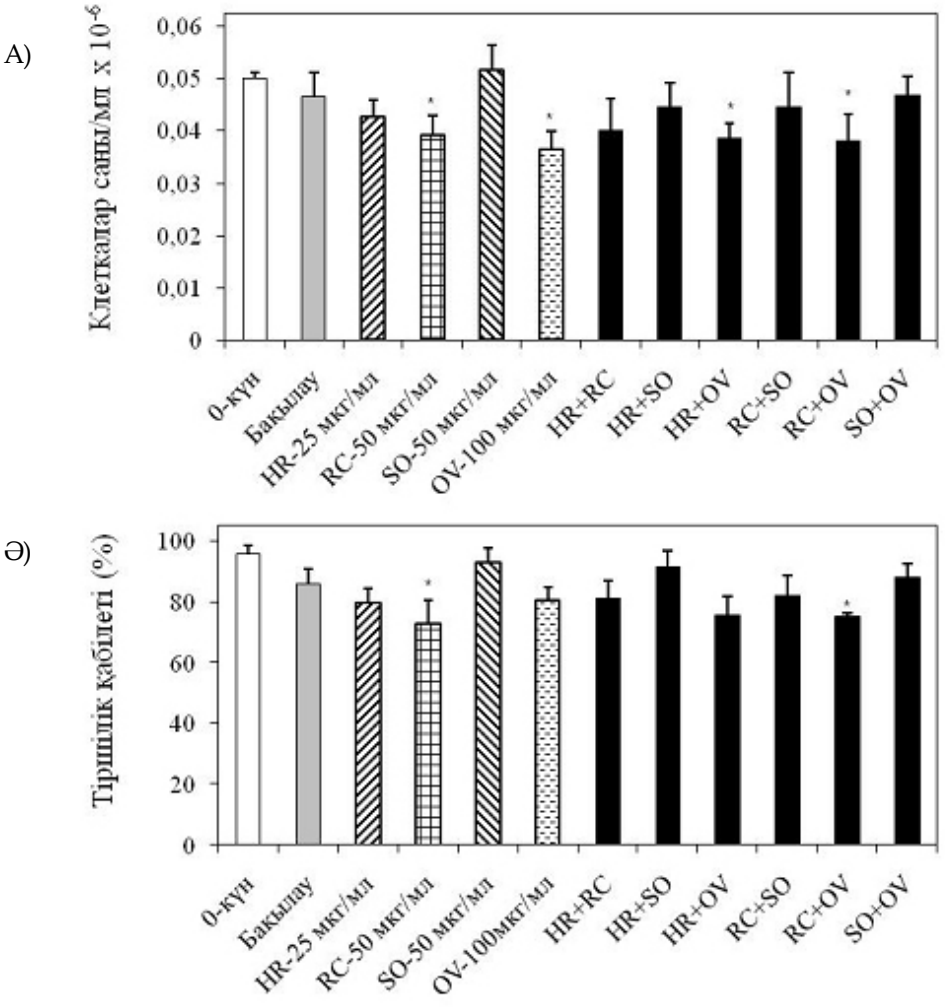
Барлық тәжірибелік мәліметтер Microsoft Excell компьютерлік бағдарламасын пайдалану арқылы статистикалық өңделді және алынған өзгерістер p≤0,05 пен p≤0,001 аралығында сәйкес деп саналды.

ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛДАУ.

Өсімдік сығындыларының және олардың комбинацияларының адамның қалыпты ПҚМК және ЖМЛ клеткаларының пролиферациясы мен тіршілік қабілетіне әсерлері. Өсімдік сығындыларының экпоненциалдық сипатта өсуші U937 клеткаларының өсуі және тіршілік қабілетіне әсерлерін анықтау үшін клеткалар осы препараттардың біртіндеп жоғарылатылған концентрацияларымен (10, 25, 50 және 100 мкг/мл) 72 сағат өңделді. Тіршілікке қабілетті клеткалардың саны және тіршілік қабілеті трипан көк бояуын қолданатын анализ көмегімен анықталды. Барлық сығындылар дозаға тәуелді сипатта клеткаларының тіршілікке қабілетті клеткаларының санын азайтты. H. rhamnoides сығындысы салыстырмалы түрде клетка өсуін тежеуде тиімділігі жоғары болды. Инкубация соңында U937 клеткаларының өңделмеген бақылауларының саны 50000±3200-ден (0 күн) 1010000±95200 клетка/мл-ге дейін ұлғайды. Барлық сығындылардың неғұрлым жоғары концентрациялары (50 және 100 мкг/мл) U937 клеткаларының тіршілік қабілетіне айтарлықтай әсер етпеді, клеткалар цитотоксикалық эффектке әлдеқайда төмен сезімталдық көрсетті.

Осыдан кейін, өсімдік сығындыларының минимальдік эффективті концентрацияларда бір-бірімен өзара әсерлесе отырып, ЖМЛ клеткаларына кең көлемде антипролиферативтік және цитотоксикалық ықпал ету қабілеттері сыналды. Тәжірибеде клеткалар аталған өсімдіктер сығындыларымен жеке және комбинациялық сипатта 72 сағат уақытқа өңделді. Тіршілікке қабілетті клеткалардың саны және тіршілік қабілеті трипан көк бояуын қолданатын анализ көмегімен анықталды.

Клеткаларға төрт сығындылардың барлық қос



Сурет 1 - Өсімдік сығындыларының және олардың комбинацияларының адамның қалыпты ПҚМК-ның саны (А) мен тіршілік қабілетіне (Ә) әсерлері. Келтірілген мәндер орташа есеппен алынды ± SD (n=3). *P<0,05 өңделмеген бақылау клеткаларымен салыстырылды. Мұндағы: HR, H. *rhamnoides*; RC, R. *canina;* SO, S. *officinalis;* OV, O. *vulgare.*

комбинациялары (50-100 мкг/мл) айтарлықтай синергетикалық немесе аддитивтік антипролиферативтік ықпал етті. Дегенмен, H. *rhamnoides* пен O. *vulgare* және R. *canina* мен O. *vulgare* сығындыларының біріккен әсері клеткалардың санын тежеуде тиімділігі жоғары болды. Фитопрепараттардың анық байқалған өсуді тежегіштігіне қарамастан, сығындылар комбинациялары тек аздаған ықпал көрсетті немесе клеткалардың тіршілік қабілеттеріне әсер етпеді. H. *rhamnoides* пен O. *vulgare* және R. *canina* мен S. *officinalis* комбинациялары тіршілік қабілетін тежеуде басқаларымен салыстырғанда әсері жоғарырақ болды. Бұл, фитопрепараттар комбинацияларының антилейкемиялық әсерлері цитотоксикалық емес, цитостатикалық сипатта болғандығын көрсетеді.

Демек, өсімдіктердің бірлескен әсері кезінде, олардың антилейкемиялық эффектісінің артып, емдік қасиетінің еселенетіні жайлы тұжырым жасауға болады. Бұл өсімдік бойындағы бір түрге жататын полифенолдардың немесе флавоноидтардың басқа полифенол немесе флавоноидтар топтарының әсерінен бірінің әсерін бірі толықтырып, күшейтетіндігіне байланысты. Демек, фитопрепараттар комбинациясы құрамындағы компоненттер бір-біріне демеуші әсер көрсеткендіктен оның ісікке қарсы қасиеті артады, соның нәтижесінде өсімдік препараттары клеткалардың өсу процестерін айтарлықтай тежеуге қабілетті болады.

Сығындылардың және/немесе олардың комбинацияларының дені сау донор қанының қалыпты клеткаларына әсерін анықтау үшін жаңадан бөлініп алынған перифериялық қанның мононуклеарлық клеткалары - ПҚМК сынама агенттердің салыстырмалы түрде жоғары концентрациялары қатысында 72 сағ инкубацияланды (сурет 1).

Мұндай инкубация жағдайында өңделмеген ПҚМК-ның көпшілігі тіршіліктерін сақтады. ЖМЛ клетка линияларымен салыстырғанда, көптеген өңдеулер, солардың ішінде R. *canina* және/немесе O. *vulgare* сығындыларынан тұратындарын есептемегенде, тіршілікке қабілетті ПҚМК-ның санына (1А сурет) немесе олардың тіршілік қабілеттеріне (1Ә сурет) бақылаумен салыстырғанда айтарлықтай әсер етпеді. Дегенмен, басытқылаушы әсер болған жағдайдың өзінде ол 15-20 %-дан аспады.

Өсімдік сығындыларының және олардың комбинацияларының ЖМЛ клеткаларының клетка циклының жіктелуіне және апоптозына әсерлері

Өсімдік сығындылары және олардың комбинациялары ЖМЛ клеткаларының пролиферациясын айтарлықтай төмендеткендіктен, осы өңдеулердің клетка циклының жіктелуіне қалай әсер ететіндігі зерттелді. Сығындылар комбинацияларымен 48 сағат өңдеу кезінде клеткалардың G0/G1 фазасындағы популяцияларының азаюына және S фазадағы популяцияларының салыстырмалы түрде ұлғаюына әкелді. Бұл клеткалардың sub-G1 фазасында аздаған бөлігінің шоғырлануымен жүзеге асты, және бұл жағдайда белгілі мөлшерде апоптоздың индукциясы байқалды. G2/M фазасындағы клеткалардың пайыздық мөлшері айтарлықтай өзгермеді немесе аздап жоғарылады.

Өсімдік сығындыларының және олардың 1,25-$Д^3$-мен комбинацияларының ЖМЛ клеткаларының дифференциациясына әсерлері

H. *rhamnoides,* R. *canina,* S. *officinalis* және O. *vulgare* өсімдіктер сығындыларының жеке және төмен, физиологиялық мәніне жуық концентрациядағы (1,0 нМ) Д витаминінің активті формасы: 1,25-дигидроксивитамин $Д_3$ (1,25-$Д_3$) комбинациясының лейкемияның U937 клеткаларының дифференциация процесіне ықпалдары клетка бетінің CD11b (жалпы миелоидтық маркер) және CD14 (моноциттік маркер) экспрессияларын өлшеу арқылы анықталды. *Rosmarinus officinalis* L. өсімдігінің коммерциялық сығындысы ЖМЛ клеткаларының 1,25-$Д_3$-индукцияланған дифференциациясын арттыруда тәжірибе барысында оңды бақылау ретінде қолданылды. Д витаминімен өңдеу дозаға тәуелді түрде екі беткі маркердің де деңгейін арттырды, CD11b миелоидтық маркерлері басым мөлшерде экспрессияланды. Сонымен қатар, клеткаларда жеке дара 1,25-$Д_3$-мен салыстырғанда R. *canina* немесе O. *vulgare* өсімдіктер сығындыларынан тұратын комбинациялар CD11b және/немесе CD14 беткі маркерлерінің экспрессиясын едәуір арттыруға қабілетті болды.

Жедел миелоидтық лейкемияны емдеуде 1,25-$Д_3$ ерекше орын алатын дифференцирлеуші агент болып табылады [8]. Осыған қарамастан, клеткалардың терминалдық дифференциациясын индуцирлеуге қажетті концентрацияда ол адам өміріне айтарлықтай қауіпті. Жұмыстың нәтижелері, гүлшетен *(Rosmarinus officinalis)* сығындысы сияқты сыналған барлық төрт сығындылар да клеткалардың 1,25-$Д_3$-нің дифференциация-индукциялаушы ықпалын күшейте алатындығын дәлелдейді.

Осыған орай, лейкемияға қарсы активтілігі бар полифенолдарға бай өсімдік препараттарын іздеу және анықтау әлі күнге дейін емі табылмаған ЖМЛ-ға қатысты жаңа терапиялық және/немесе профилактикалық тәсілдерді жетілдіруі мүмкін.

ӘДЕБИЕТТЕР:

1. *Löwenberg B., Downing J.R., Burnett A. Acute myeloid leukemia // N. Engl. J. Med. – 1999. - Vol. 341, № 14. - P. 1051-62.*
2. *Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (Curcuma longa) // J. Altern. Complement. Med. – 2003. - Vol. 9, № 1. – P. 161-168.*
3. *Hamadani M., Awan F.T. Remission induction, consolidation and novel agents in development for adults with acute myeloid leukaemia // Hematol Oncol. – 2010. - Vol. 28, № 1. - P. 3-12.*
4. *Zhang J., Harrison J.S., Uskokovic M., Danilenko M., Studzinski G.P. Silibinin can induce differentiation as well as enhance vitamin D3-induced differentiation of human AML cells ex vivo and regulates the levels of differentiation-related transcription factors // Hematol Oncol. – 2010. - № 28. – P. 124-32.*
5. *Danilenko M., Wang Q., Wang X., Levy J., Sharoni Y., Studzinski G.P. Carnosic acid potentiates the antioxidant and prodifferentiation effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in leukemia cells but does not promote elevation of basal levels of intracellular calcium // Cancer Res. – 2003. – Vol. 63, №6. – P. 1325-1332.*
6. *Pesakhov S., Khanin M., Studzinski G.P., Danilenko M. Distinct combinatorial effects of the plant polyphenols curcumin, carnosic acid, and silibinin on proliferation and apoptosis in acute myeloid leukemia cells // Nutrition and Cancer. – 2010. - Vol. 62, № 6. - P. 811-824.*
7. *Danilenko M., Wang X., Studzinski G.P. Carnosic acid and promotion of monocytic differentiation of HL60-G cells initiated by other agents // J Natl Cancer Inst. – 2001. – Vol. 93. – P. 1224-1233.*
8. *Studzinski G.P., Harrison J.S., Wang X., Sarkar S., Kalia V., Danilenko M. Prospect: "Vitamin D Control of Hematopoietic Cell Differentiation and Leukemia" // J Cell Biochem. – 2015. – Vol. 116, № 8. – P. 1500-12.*

АННОТАЦИЯ

ЦИТОСТАТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА КЛЕТКИ ЛЕЙКЕМИИ

Г.Т. Жаманбаева, М.К. Мурзахметова, С.Т. Тулеуханов, Н.Т. Абылайханова
Казахский национальный университет имени аль-Фараби
Алматы, Казахстан

В статье приведено влияние 50%-этанольного экстракта растений облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides; HR*), шиповника собачьего (*Rosa canina; RC*), шалфея лекарственного *(Salvia officinalis; SO*) и душицы обыкновенной (*Origanum vulgare; OV*) на пролиферацию, жизнеспособность, клеточный цикл и дифференциацию клеток острой миелоидной лейкемии человека. Экстракты представленных растений в зависимости от дозы ингибировали пролиферацию и подавляли жизнеспособность клеток. Экстракты в минимально-эффективных концентрациях синергично оказывали существенные антипролиферативные эффекты на клетки острой миелоидной лейкемии. Ингибирование клеток при действии комбинации растительных экстрактов сопровождалось нарушением клеточного цикла, а также уменьшением количества клеток в фазе G0/G1, кроме того при этом наблюдалась индукция апоптоза. Исследованные растительные экстракты повышали дифференцирующий эффект низких концентраций 1,25-$Д_3$.

Ключевые слова: *экстракты растений, острая миелоидная лейкемия, пролиферация, цитостатическое действие, клеточный цикл, дифференциация.*

SUMMARY

CYTOTOXIC EFFECTS OF MEDICINAL PLANTS EXTRACTS ON LEUKEMIC CELLS

SG.T. Zhamanbayeva, M.K. Murzahmetova, S.T. Tuleuhanov, N.T. Abylayhanova
Al-Farabi Kazakh National University
Kazakhstan, Almaty

In this article was shown the influence of 50% ethanolic plant extracts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides; HR*), dog rose (*Rosa canina; RC*), garden sage (*Salvia officinalis; SO*) and oregano (*Origanum vulgare; OV*) on proliferation, viability, cell cycle and differentiation of human acute myeloid leukemia cells. Presented plant extracts inhibited dose-dependently proliferation and suppressed cell viability. Extracts at minimally effective concentrations exerted synergistically significant anti-proliferative effects on acute myeloid leukemia (AML) cells. Inhibition of cells by action of combinations of plant extracts accompanied by breaching of cell cycle, and also decreasing cell number in the G0/G1-phase, moreover was noticed induction of apoptosis. The investigated plant extracts increased differentiation effect of 1,25-D_3 at low concentrations.

Key words: *plant extracts, acute myeloid leukemia, proliferation, cytostatic effect, cell cycle, differentiation*