

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ
ИЗДАТЕЛЬСКИЙ ДОМ «АКАДЕМИЯ ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ»
THE RUSSIAN ACADEMY OF NATURAL HISTORY
PUBLISHING HOUSE «ACADEMY OF NATURAL HISTORY»

НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ • МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ
SCIENTIFIC REVIEW • MEDICAL SCIENCES

№ 1
2017

Учредитель:
Издательский дом
«Академия Естествознания»,
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3

Founding:
Publishing House
«Academy Of Natural History»
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.

Адрес редакции
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3
Тел. +7 (499) 704-1341
Факс +7 (8452) 477-677
e-mail: edition@rae.ru

Edition address
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.
Tel. +7 (499) 704-1341
Fax +7 (8452) 477-677
e-mail: edition@rae.ru

Подписано в печать 21.09.2016
Формат 60x90 1/8

Типография ИД
Издательский дом
«Академия Естествознания»,
440026, Россия, г. Пенза,
ул. Лермонтова, д. 3

Signed in print 21.09.2016
Format 60x90 8.1

Typography
Publishing House
«Academy Of Natural History»
440026, Russia, Penza,
3 Lermontova str.

Технический редактор Кулакова Г.А.
Корректор Андреев А.М.

Тираж 1000 экз.
Заказ НО 2017/1

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

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



М.М. Филиппов (M.M. Philippov)

С 2014 года издание журнала возобновлено
Академией Естествознания

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

Главный редактор: М.Ю. Ледванов
Editor in Chief: M.Yu. Ledvanov

Редакционная коллегия (Editorial Board)

А.Н. Курзанов (A.N. Kurzanov)

Н.Ю. Стукова (N.Yu. Stukova)

М.Н. Бизенкова (M.N. Bizenkova)

Н.Е. Старчикова (N.E. Starchikova)

Т.В. Шнуровозова (T.V. Shnurovozova)

НАУЧНОЕ ОБОЗРЕНИЕ • МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ

SCIENTIFIC REVIEW • MEDICAL SCIENCES

www.science-education.ru

2017 г.



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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПСИХОЛОГИЯ ЗДОРОВЬЯ – КАК НОВОЕ НАУЧНОЕ ПОНЯТИЕ, КОТОРОЕ НЕОБХОДИМО ДЛЯ ПОЛНОЦЕННОГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА В СОЦИУМЕ, ЧТО ОПРЕДЕЛЯЕТ НЕРАЗДЕЛИМОСТЬ ТЕЛЕСНОГО И ПСИХИЧЕСКОГО <i>Абдулаева П.З., Османова А.А.</i>	5
РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКИЕ ЦИФРОВЫЕ СИСТЕМЫ В ИССЛЕДОВАНИИ НОРМАЛЬНОЙ АНАТОМИИ ПОЧЕК <i>Ларюшкина А.В., Ботвич Т.А.</i>	12
ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ УЧАСТКОВ УПРУГОЙ ДЕФОРМАЦИЙ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРА, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ПЕРЕЛОМАМИ И ХИРУРГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ <i>Матвеев А.Л., Дубров В.Э., Минасов Б.Ш., Минасов Т.Б., Нехожин А.В.</i>	14
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЫННОГО ДЕРЕВА <i>Пенджиев А.М., Абдуллаев А.</i>	21
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЛЕЧНОГО СОКА ДЫННОГО ДЕРЕВА <i>Пенджиев А.М., Абдуллаев А.</i>	36
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ <i>Пенджиев А.М., Абдуллаев А.</i>	57
НЕЛЕКАРСТВЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПЛАСТИЧНОСТИ И МЕЖПОЛУШАРНЫХ СВЯЗЕЙ У ДЕТЕЙ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ <i>Сафоничева О.Г., Сязина Н.Ю., Рахманина И.Н.</i>	73
ЭРГОНОМИКА В СТОМАТОЛОГИИ: РАБОТА В ЧЕТЫРЕ РУКИ <i>Сурина Е.А.</i>	79
ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛЕКТИНАМИ, ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ <i>Циркин В.И., Анисимов А.Ю., Дмитриева С.Л., Братухина О.А., Хлыбова С.В., Шушканова Е.Г., Марьина А.В., Безмельцева О.М.</i>	83

CONTENTS

HEALTH PSYCHOLOGY – AS A NEW SCIENTIFIC CONCEPT WHICH IS NECESSARY FOR FULL FUNCTIONING OF THE PERSON IN SOCIETY THAT DEFINES INSEPARABILITY CORPORAL AND MENTAL <i>Abdullaeva P.Z., Osmanova A.A.</i>	5
DIGITAL X-RAY SYSTEM IN RESEARCH ANATOMY OF KIDNEYS <i>Larushkina A.V., Botvich T.A.</i>	12
PARTICULAR DISTRIBUTION PLOTS ELASTIC DEFORMATIONS OF THE PROXIMAL PART OF THE FEMUR, LEADING FRACTURES AND SURGICAL METHOD OF PREVENTING THEM IN THE EXPERIMENT <i>Matveev A.L., Dubrov V.E., Minasov B.Sh., Minasov T.B., Nehogin A.V.</i>	14
MEDICINAL FEATURES OF THE MELON TREE <i>Penjiyev A.M., Abdullaev A.</i>	21
PHARMACOLOGICAL FEATURES OF LACTEAL JUICE OF THE MELON TREE <i>Penjiyev A.M., Abdullaev A.</i>	36
EFFICIENCY OF USE OF PROTEOLITCHESKY ENZYMES OF THE PAPAYA IN MEDICAL PRACTICE <i>Penjiyev A.M., Abdullaev A.</i>	57
COMPLEMENTARY TECHNOLOGIES FOR RESTORATION OF PLASTICITY AND INTER-HEMISPHERIC CONNECTIONS IN THE CHILDREN WITH DISABILITIES <i>Safonicheva O.G., Syazina N.Y., Rakhmanina I.N.</i>	73
ERGONOMICS IN DENTISTRY: THE WORK OF FOUR HANDS <i>Surina E.A.</i>	79
OUTLOOK STUDY OF ERYTHROCYTE AGGLUTINATION INDUCED LECTIN TO DIAGNOSE OF PRETERM LABOR <i>Tsirkin V.I., Anisimov A.Yu., Dmitrieva S.L., Bratuhina O.A., Hlybova S.V., Shushkanova E.G., Maryina A.V., Bezmeltseva O.M.</i>	83

УДК 616-084(075.8)

ПСИХОЛОГИЯ ЗДОРОВЬЯ – КАК НОВОЕ НАУЧНОЕ ПОНЯТИЕ, КОТОРОЕ НЕОБХОДИМО ДЛЯ ПОЛНОЦЕННОГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА В СОЦИУМЕ, ЧТО ОПРЕДЕЛЯЕТ НЕРАЗДЕЛИМОСТЬ ТЕЛЕСНОГО И ПСИХИЧЕСКОГО

Абдулаева П.З., Османова А.А.

*Дагестанский государственный медицинский университет,
Махачкала, e-mail: patimat1959@mail.ru*

На современном этапе актуальность проблем психологии здоровья диктуется нарастанием нагрузки на нервную систему, психику человека и т.д. Информационный прессинг, ускорение ритма жизни, негативная динамика межчеловеческих взаимоотношений (замкнутость, снижение уровня социальной поддержки, национальная, имущественная, религиозная разобщенность) – всё это формирует эмоциональное напряжение как один из факторов развития различных заболеваний. Жизнь в условиях неопределенности обуславливает психическую и психосоматическую патологию. Здоровье даруется нам вместе с жизнью, как обычная функция или принадлежность – как дыхание, пищеварение, кровообращение и т.д. Может быть, поэтому никто и не думает о здоровье, пока его не потеряет.

Ключевые слова: психология здоровья, нервная система, психика человека, информационный прессинг, социум, психическая и психосоматическая патология

HEALTH PSYCHOLOGY – AS A NEW SCIENTIFIC CONCEPT WHICH IS NECESSARY FOR FULL FUNCTIONING OF THE PERSON IN SOCIETY THAT DEFINES INSEPARABILITY CORPORAL AND MENTAL

Abdullaeva P.Z., Osmanova A.A.

Dagestan State Medical University, Makhachkala, e-mail: patimat1959@mail.ru

At the present stage relevance of problems of psychology of health is dictated by increase of load of nervous system, mentality of the person, etc. Information pressure, acceleration of a rhythm of life, negative dynamics of interhuman relationship (isolation, decrease in level of social support, national, property, religious dissociation) – all this forms emotional pressure as one of factors of development of various diseases. Life in the conditions of uncertainty causes mental and psychosomatic pathology. Health is granted to us together with life as usual function or accessory – as breath, digestion, blood circulation, etc. Perhaps, therefore nobody thinks about health until he loses him.

Keywords: health psychology, nervous system, mentality of the person, information pressure, society, mental and psychosomatic pathology

Существует более 300 определений «здоровья». Выделим основные группы, в которых здоровье определяется:

– как состояние полного физического, психического и социального благополучия, а не только отсутствие болезней или физических дефектов;

– как совокупность физических и духовных способностей (жизнеспособность), которыми располагает организм, личность;

– как целостное многомерное динамическое состояние, в процессе реализации генетического потенциала в условиях конкретной социальной и экономической среды, позволяющие человеку в различной степени осуществлять его биологические и социальные функции.

Таким образом, понимание здоровья различно, но в каждом определении упоминается психологическое (духовное) здоровье личности в качестве важного звена в понимании здоровья.

Отношение к здоровью – фундаментальная характеристика человеческого бытия. Она довольно изменчивая, в разных культурах и цивилизациях, в разные исторические эпохи отношение к здоровью приобретало свои специфические черты.

Отношение к здоровью как феномену многократно становилось предметом изучения, в ходе которого выявлялись **биомедицинские, социально-экономические, социально-демографические, культурные, поведенческие и психологические факторы.**

Полученные в ходе исследований факты однозначно свидетельствуют о генетической обусловленности многих распространенных сегодня заболеваний: гипертонии, язвенной болезни, шизофрении, псориаза, атеросклероза, глаукомы и др. На сегодняшний день выявлено более 2000 наследственных заболеваний. Более 50% детской слепоты и глухоты детерминированы

генетически. Данных, подтверждающих значимость **биологических факторов**, собрано множество [1].

Большое влияние на здоровье человека оказывают и **социально-экономические факторы**. Установлены корреляционные связи между показателями здоровья и образованием, доходом, занятостью, социальным статусом. Определено влияние и **социально-демографических факторов** на здоровье человека. Пол, возраст, национальность, место проживания влияют на показатели здоровья и продолжительность жизни. Выявлено отрицательное влияние таких на здоровье **поведенческих факторов**, как употребления алкоголя, курения, приема наркотиков, девиантного и делинквентного поведения и, напротив, положительное – занятия физкультурой, здорового образа жизни и др.

Каждая культура отличается от других своей неповторимой системой ценностей, в частности отношением к здоровью, выявлено влияние **культурных факторов**. Национальные обычаи, традиции, ритуалы, система воспитания, неразрывно связаны с тем как выстраивается жизнь человека, как относится он к другим, к себе, к своему и здоровью. В одних обществах представление о здоровье связывают с долголетием, в других – с физической силой, в третьих – с плотностью тела.

Сказываются на состоянии здоровья и **психологические факторы**: отношение к своему телу, болезням, своему возрасту, продуктивная и непродуктивная жизненная ориентация, понимание себя, довольство собой, своими ближними, своим социальным статусом и многое другое.

В последние годы, как в нашей стране, так и за рубежом, формируется научное направление – **ПСИХОЛОГИЯ ЗДОРОВЬЯ**. Эта отрасль знаний представляет собой синтез психологии и валеологии и является междисциплинарной наукой, привлекая для решения своих задач психологов, врачей, педагогов, социальных работников, социологов и др. Психология здоровья как новое научное направление связано с появлением профилактической медицины. Известный ученый В.А. Ананьев считает, что главным продуктом психологии здоровья должно стать совершенствование личности, через это – укрепление здоровья и через все вместе взятое – повышение уровня качества жизни. В своей книге «Психология здоровья» он указывает на то, что психология здоровья призвана формулировать чело-

веческий способ бытия, определять русло, вектор движения, пространство бесконечного процесса становления человека, формировать реальный идеал человека и способствовать его достижению.

Он также отмечает: Объектом психологии здоровья является, с известной долей условности, здоровая, а не больная личность, из чего следует, что психология здоровья видит в качестве своей задачи то, как делать не больных людей здоровыми. Психолог В.Н. Панкратов, в своей книге «Саморегуляция психического здоровья», указывает на то, что психологическая составляющая – основа здоровья личности: ...если человек научится осознавать и контролировать свое поведение, эмоции, мысли, то он может научиться сохранять и оптимальный вес, гармонизировать семейные и сексуальные отношения, избавляться от привычек, мешающих полноценно жить.

Уровень и качество психологического здоровья характеризуются показателями социальной, социально-психологической и индивидуально-психической адаптации личности.

Психология здоровья ставит в центр своего рассмотрения здорового человека, его индивидуальные психологические особенности, ресурсы его психики, позволяющие ему сохранять здоровье при неизбежном воздействии патогенных факторов окружающей среды.

Одной из основных задач ПЗ является разработка способов мотивации человека к сохранению, укреплению, и развитию своего здоровья. Попутной задачей психологии здоровья является сохранение, укрепление и целостное развитие духовной, психической, социальной и соматической составляющих здоровья.

Главный принцип развития здоровья не в том, чтобы только иметь крепкое здоровье, а в том, чтобы реализовать с помощью этого здоровья свою миссию.

Психолог Н.М. Амосов писал: Здоровье ради здоровья не нужно, оно ценно тем, что составляет неременное условие эффективной деятельности, через которую достигается счастье.

Таким образом, психология здоровья – это комплекс специфических образовательных, научных и профессиональных вкладов психологии как научной дисциплины по укреплению и поддержанию здоровья, предотвращению и лечению болезней, идентификации этиологических и диагностических коррелятов здоровья, болезни

и связанных с ней дисфункций, а также по анализу и улучшению систем здравоохранения и формирование стратегии (политики) здоровья.

За сравнительно короткий период психология здоровья превратилась в достаточно обширную область исследований. Об этом свидетельствуют некоторые цифры. Если в 1975 году в США было внедрено 200 программ по охране психического здоровья, то уже в 1990 году их было уже более 5000. В настоящее время в США каждый десятый психолог занимается той или иной проблемой здоровья. Психологическое здоровье включает в себя понятие «психическое здоровье», «физическое здоровье» и соотношение между внутренним пространством личности и окружающей средой. Проблема психического здоровья личности рассматривалась и со стороны российских ученых с начала 20 века. Огромная заслуга в постановке проблемы и привлечения к ней внимания широкой общественности принадлежит академику В.М. Бехтереву, который формулирует тему психического здоровья еще в самом начале своей творческой деятельности. В психологии термин «психологическое здоровье» употребляется при рассмотрении вопросов, связанных с формированием психологически здоровой личности и рассматривается как «самоактуализация» личности (А. Маслоу); удовлетворение экзистенциальных потребностей личности (В. Франкл); овладение смыслом собственной жизни (Ш. Бюллер); удовлетворение возрастных потребностей на каждом этапе личностного развития (Л.С. Выготский). Оно рассматривается как показатель социально-психологического аспекта образа жизни, характеризует восприятие, оценку индивидом своего социального благополучия, уровня и качества жизни, степени удовлетворения потребностей и реализации жизненных планов.

Психологическое здоровье – необходимое условие полноценного функционирования человека в социуме, что определяет неразделимость телесного и психического. Результаты многих исследований последних лет свидетельствуют о нарастающих нагрузках на нервную систему, психику человека. Информационный объем, убыстрение ритма жизни, негативная динамика межличностных отношений (замкнутость, снижение уровня социальной поддержки, возрастание агрессивных факторов и т.д.) и другие патогенные особенности современной жизни приводят к чрезмерному

эмоциональному напряжению не только взрослых людей, но и детей.

Психологическое здоровье формируется в детстве и на протяжении жизни – главная задача – его сохранение. Его нельзя развивать, его нужно сохранять. На психологическое здоровье влияют генетически обусловленные качества (тип высшей нервной деятельности, особенности анатомо-физиологического развития сенсорных систем, выраженность моторно-двигательной активности и т.п.), т.е. врожденные особенности психики и приобретенные, воздействующие в процессе жизни факторы (индивидуальные особенности поведения, развившиеся в ходе приобретения личного опыта).

Для психологического здоровья норма – это присутствие определенных личностных характеристик, позволяющих не только адаптироваться к обществу, но и развиваясь самому, содействовать его развитию. Норма – это некий образ, который служит ориентиром для организации педагогических условий ее достижения. Альтернатива норме в случае психологического здоровья – отсутствие возможности развития в процессе жизнедеятельности, неспособность к выполнению своей жизненной задачи.

В.С. Мухина, О.В. Хухлаева, Т.Н. Счастливая выстраивают свою концепцию психологического здоровья на положении, что развитие является необратимым процессом, заключающимся в изменении типа взаимодействия с окружающей средой. Эти изменения проходят через все уровни развития психики и сознания, где и формируется качественно иная способность интегрировать и обобщать опыт, получаемый в процессе жизнедеятельности. С этих позиций понимание нормы должно основываться на анализе взаимодействия человека с окружающей средой, что предполагает гармонию между умением человека адаптироваться к среде и умением адаптировать ее в соответствии со своими потребностями. Соотношение между приспособляемостью и приспособлением среды не является простым равновесием, оно зависит не только от конкретной ситуации, но и от возраста человека.

Рассмотрим основные характеристики психологического здоровья:

1. Гармония личности как некий баланс между своим внутренним и внешним состоянием (внутренняя гармония и гармония с окружающим миром). Это гармония между различными составляющими самого

человека: эмоциональными и интеллектуальными, телесными и психическими, гармония между окружающими людьми и человеком, с природой, космосом. При этом гармония рассматривается не как статическое состояние, а как процесс.

2. Саморегулирование – его два аспекта – внутренний и внешний. Внутренний аспект саморегулирования – равновесие внутри самого человека, насколько быстро он может восстановить свои силы, переходя от высокого психического и физического напряжения к низкому уровню. Какие способы выработаны у личности, чтобы в нужный момент сконцентрироваться на решении проблемы, а потом суметь расслабиться. Внешний аспект саморегулирования включают те свойства личности, которые позволяют успешно адаптироваться к внешним условиям среды.

Неуспешность адаптации к внешним условиям приводит к регрессу личности. При этом парадоксально, что иногда людям тяжелее адаптироваться к благоприятным изменениям жизни в случаях ее внезапно быстрого улучшения, чем к ухудшению качества жизни. Можно предположить, что неблагоприятные условия – это фактор развития личности, которой приходится бороться за существование.

3. Принятие человеком самого себя и других людей. Наличие у него развитой рефлексии и потребности в саморазвитии.

Принятию себя способствует умение оценивать себя не с точки зрения своей успешности – неуспешности по сравнению с другими, а с позиции уникальности своего жизненного пути. Путем рефлексии осознавать какие изменения с вами произошли в течении лет.

Зачатки рефлексии формируются с начала дошкольного возраста, в младшем школьном возрасте появляется критерий объективного оценивания себя со стороны других – собственно проявляется рефлексия, в старшем подростковом возрасте и юношестве – происходит ее развитие.

Потребность в развитии в норме есть практически у всех дошкольников и 6–7-летних детей. Потребность в саморазвитии может быть убита в младшем школьном возрасте взрослыми. У младших школьников в ситуации «Я плохой» при неуспешности учебной деятельности, когда учитель авторитарно это объявляет. Дети дружат только с лидерами, кого хвалят учителя, и тогда у ребенка, если еще нет поддержки со стороны родителей может про-

изойти стойкое снижение самооценки. При этом угасание потребности в саморазвитии проходит ряд этапов. На первом этапе есть дискомфорт, ребенок чувствует себя неумелым, но желание быть хорошим и вера в себя у него присутствуют. На втором этапе желание быть хорошим у него еще есть, но веры в себя уже нет. Третий этап самый опасный, поскольку у ребенка исчезает желание быть хорошим.

4. Принятие на себя ответственности за собственную жизнь. Это задача юношеского возраста 17–18...21–23 лет. Сегодня происходит некоторая инфантилизация юношеского возраста. Хотя паспорт у нас в стране получают подростки в 14 лет, но родители психологически начинают отпускать детей после 18 лет, снижая внешний контроль. В Дагестане в силу особенностей нашей коллективистской культуры родительский контроль зачастую не ослабевает и после 20 лет. В юношеском возрасте происходит окончательное личностное самоопределение (становление этнической, религиозной, профессиональной идентичности). (О.В. Хухлаева). Обратная сторона свободы – принятие ответственности на себя за свою жизнь. Во всех жизненных ситуациях – мы творцы собственной жизни.

5. Удовлетворенность собственной жизнью – некое ощущение счастья. По данным ряда исследований в России на низком уровне ощущение счастья у людей. Мало кто признает себя счастливым, при этом счастье не зависит ни от экономического уровня страны и собственного, ни от уровня образования человека. Помогает быть счастливым – ощущение гордости за свой этнос, наличие семьи, детей. В тех странах, которые занимают первые места по числу счастливых людей, их отличает то, что ощущение счастья воспринимается ими как имплицитная, присущая им характеристика, независимо от каких-то жизненных проблем и ситуаций. (Сахарова Т.Н., 2012).

Главные критерии психологического здоровья

В качестве главных критериев психологического здоровья можно выделить следующие.

– Позитивное самоощущение (позитивный основной эмоциональный фон настроения), позитивное восприятие окружающего мира.

– Высокий уровень развития рефлексии.

– Наличие стремления улучшать качество основных видов деятельности.

– Успешное прохождение возрастных кризисов.

– Адаптированность к социуму, умение выполнять основные социальные и семейные роли.

Понятно, что представленный образ психологически здорового человека следует рассматривать как идеальный, как эталон. В большинстве своем дети имеют те или иные отклонения от него, и это нормально.

Другими словами, к критериям *психологического здоровья* относятся оптимизм, уравновешенность, уверенность в себе, чувство юмора, креативность, адекватное восприятие окружающего мира, интеллектуальный потенциал, ощущение психологического комфорта, адекватная самооценка, адекватное психологическое отражение, адекватное восприятие самого себя, интерес к окружающим, стрессоустойчивость, ориентация на саморазвитие и способность к творчеству.

Критериями *психологического нездоровья* являются повышенная внушаемость, беспричинная злость, враждебность, пассивная жизненная позиция, наличие вредных привычек, жестокость и бессердечность.

Таким образом, путем познания и улучшения психологической составляющей здоровья, мы можем не только предупреждать возникновение болезней, укреплять здоровье, но и совершенствовать и человека, и его здоровье.

Исходя из вышеизложенного, можно определить главную **цель** психологии здоровья, как всестороннее совершенствование человека (личности).

Для достижения этой цели ставятся теоретические и практические задачи, направленные не только на предупреждение

развития психической и соматической патологии, но и на общее совершенствование личности.

В большинстве своем дети имеют те или иные отклонения от него, и это нормально. Но нередко встречаются существенные нарушения психологического здоровья. Остановимся кратко на наиболее вероятных нарушениях.

Типология нарушений психологического здоровья

В качестве оснований для выделения типов нарушений психологического здоровья мы будем использовать время его появления в онтогенезе и преобладающий стиль реагирования ребенка на внутренний конфликт: активный или пассивный.

Рассмотрим кратко каждое из представленных в данной таблице нарушений психологического здоровья.

Если следствием развития ребенка в младенчестве является закрепление у него чувства небезопасности, страха окружающего мира, то при наличии активной позиции в поведении ребенка отчетливо проявится *защитная агрессивность*. Основная функция агрессии в этом случае – защита от внешнего мира, который представляется ребенку небезопасным. Поэтому у таких детей в той или иной форме присутствует страх смерти, который они, как правило, отрицают. Если же у детей преобладают пассивные формы реагирования на внутренний конфликт, то в качестве защиты от чувства небезопасности и возникающей при этом тревоги ребенок демонстрирует *различные страхи, внешне проявляющиеся как страх темноты, боязнь остаться одному дома и т.п.*

Стиль активный	Время появления и основное содержание внутреннего конфликта	Стиль пассивный
Защитная агрессивность	Младенчество. Чувство небезопасности, стремление к безопасности	Страх уничтожения (смерти)
Деструктивная агрессивность	Ранний возраст. Чувство несвободы, зависимости – стремление к самостоятельности	Социальные страхи (не соответствовать нормам, образцам поведения)
Демонстративная агрессивность	Дошкольный возраст. Чувство одиночества, стремление к близости, сопричастности	Страх самовыражения
Компенсаторная агрессивность	Младший школьный возраст. Чувство неумелости, неполноценности – стремление к ощущению собственной значимости, ценности	Страх взросления
Отрицающая агрессивность	Подростковый возраст. Чувство тревоги от диссоциации, размытости «Я» – стремление ощутить целостность «Я»	Страх самоопределения (страх принятия самостоятельных решений)

Перейдем к обсуждению нарушений психологического здоровья, истоки которых лежат в **раннем возрасте**. Если у ребенка отсутствует автономность, способность к самостоятельным выборам, суждениям, оценкам, то в **активном варианте** у него проявляется **демонстративная агрессивность**, в **пассивном** – **социальные страхи не соответствовать общепринятым нормам, образцам поведения**. При этом для обоих вариантов характерно наличие проблемы проявления гнева, поскольку ее истоки также относятся к раннему возрасту.

Детей с социальными страхами легко выделить – они обычно робкие, аккуратные, угождают окружающим, стремятся услышать слова поощрения, а вот деструктивная агрессивность не всегда заметна, поскольку проявляется часто косвенно, в виде насмешек над окружающими, побуждения к агрессивным действиям других, воровства или внезапных вспышек ярости на фоне общего хорошего поведения. Основная функция агрессии в данном случае – стремление заявить о своих желаниях, потребностях, выйти из-под опеки социального окружения, основная форма – разрушение чего-либо.

Результатом нарушения **развития ребенка в дошкольном возрасте** является формирование у него чувства одиночества из-за невозможности по тем или иным причинам поддерживать близкие эмоциональные отношения со значимыми взрослыми. Тогда **активно реагирующий ребенок** прибегает к **демонстративной агрессивности** – привлечению внимания любыми доступными ему способами. В **пассивном варианте** у него формируется **страх самовыражения**. Ребенок замыкается в себе, отказывается говорить со взрослыми о своих проблемах. Как правило, через некоторое время становятся заметными телесные изменения: скованность движений, монотонность голоса, избегание контакта глаз. Ребенок как бы пребывает в защитной маске.

Если истоки проблем лежат в **младшем школьном возрасте**, то ребенок, как правило, испытывает выраженное **чувство собственной неполноценности**. В этом случае в **активном варианте** он стремится компенсировать это чувство через **проявление агрессии к тем, кто слабее его**. Это могут быть сверстники, а иногда даже родители и педагоги. Чаще всего агрессия проявляется в виде насмешек, издевательств, использования ненормативной лексики. Особый интерес при этом представляет унижение другого человека, а негативная

реакция окружающих только усиливает стремление ребенка к этим действиям, поскольку служит доказательством собственной полноценности. Можно предположить, что в основе многих форм асоциального поведения лежит именно **компенсаторная агрессивность**.

Чувство неполноценности в **пассивном варианте** принимает **форму страха взросления**, когда подросток избегает принятия собственных решений, демонстрирует инфантильную позицию и социальную незрелость.

Нарушения психологического здоровья, истоки которых лежат в **подростковом возрасте**, связаны с осложнением протекания нормативного подросткового кризиса, который принято называть **кризисом идентичности – представления о себе, своих силах, возможностях, позиции в отношении окружающего мира**. В этом случае подросток переживает чувство тревоги из-за невозможности ощутить целостность своего «Я». Тогда при наличии **активной позиции** – а в этом возрасте она наиболее типична – **подросток сопротивляется любым социализирующим воздействиям**: отказывается учиться, соблюдать дисциплину на уроках, идти к психологу. Он как бы надевает защитную маску «у меня все хорошо», пряча, прежде всего от самого себя, глубокое чувство тревоги. В наиболее сложных ситуациях **подростки полностью теряют ориентацию на будущее и живут одним днем**.

В **пассивном варианте** при внешнем соблюдении норм и правил тоже наблюдается **отказ от будущего в форме страха самоопределения**, нежелания думать о выборе семейной и профессиональной роли, стремления «цепляться» за родителей и боязни принимать самостоятельные решения.

Итак, мы рассмотрели наиболее типичные проявления нарушений психологического здоровья, возникающих в процессе развития ребенка.

Взрослые способны создать приемлемые условия для полноценного развития ребенка. Основа такого развития – психологическое здоровье, от которого во многом зависит здоровье человека в целом. Детей нужно тренировать, настраивать на здоровый образ жизни.

Для сохранения психологического здоровья детей важно не только специально организованное воздействие на детей с целью снятия негативных эффектов депривации, но и психологическое просвещение педагогов и родителей с целью ознакомления их

со способами правильного общения с детьми, оказание ими психологической поддержки, создания в семье и школе благоприятного психологического климата.

Список литературы

1. Педагогика и психология: темы для самостоятельной работы студентов лечебного факультета. Часть I: учебное пособие / сост. П.З. Абдулаева, З.Э. Абдулаева, Н.М. Вагабова. – Махачкала: Издательско-полиграфический центр ДГМА, 2014. – 386 с.
2. www.azps.ru/handbook (психологический словарь).
3. www.edu.ru (федеральный портал «Российское образование»).
4. www.e-library.ru (электронная библиотека).
5. www.pedlib.ru (педагогическая библиотека).
6. www.psyedu.ru (электронный журнал «Психологическая наука и образование»).
7. www.rospsty.ru (сайт Федерации психологов образования России).
8. www.koob.ru.
9. www.psylib.ru.
10. Андреева Г.М. Социальная психология. – М., 2011.
11. Битянова М.Р. Социальная психология. – СПб., 2010.
12. Бордовская Н.В. Психология и педагогика. Стандарт третьего поколения: учебник для вузов – М., 2013.
13. Психология: учебник для вузов / М.А. Лукацкий, М.Е. Остренкова. – 2-е изд., испр. и доп. – М., 2013.
14. Маклаков А.Г. Общая психология. – СПб., 2012.
15. Петровский А.В. Введение в психологию. – М., 1995.
16. Практикум по социальной психологии / под ред. И.С. Клециновой – СПб., 2008.
17. Столяренко Л.Д., Самыгин С.И., Столяренко В.Е. Психология и педагогика. – Ростов /нД., 2002.
18. Шкуренко Д.А. Общая и медицинская психология: учебное пособие – Ростов /нД., 2002.
19. Шаповаленко И.В. Возрастная психология. – М., 2005.
20. Введение в практическую социальную психологию / под ред. Ю.М. Журкова, Л.А. Петровской и др. – М., 1996.
21. Витч Роберт Модели взаимоотношения врач-пациент [Электронный ресурс]. – URL: <http://videoinet.ru/view?id=ISW2tSZDvVsS931>.
22. Гамезо М.В., Домашенко И.А. Атлас по психологии. – М., 2011.
23. Гиппенрейтер Ю.Б. Введение в общую психологию: курс лекций. – М., 2008.
24. Годфруа Ж. Что такое психология. В 2-х т. – М., 1992. Т.1.
25. Гриншпун И.Б. Введение в психологию. – М., 1994.
26. Крыско В.Г. Общая психология в схемах и комментариях к ним. – М., 1998.
27. Леонтьев А.Н. Лекции по общей психологии. – М., 2000.
28. Ломов Б. Ф. Методологические и теоретические проблемы психологии. – М., 1984.
29. Майерс Д. Социальная психология. – СПб., 1997.
30. Немов Р.С. Психология. В 3-х т.1. – М., 1998.
31. Психология: учебник для технических вузов / под ред. В.Н. Дружинина. – СПб., 2000.
32. Рубинштейн С.Л. Основы общей психологии. – СПб., 2000.
33. Руденский Е.В. Основы психотехнологии общения менеджера. – М., 1998.
34. Сабурова В.И. Особенности преподавания биоэтики студентам-иностранцам в Российском государственном медицинском университете: лекции для студентов РГМУ [Электронный ресурс]. – URL: <http://orthomed.ru/archive/kbe/pub/pub.htm>.
35. Слободчиков В.И., Исаев Е.И. Психология человека – М., 1995.

УДК 611.073

РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКИЕ ЦИФРОВЫЕ СИСТЕМЫ В ИССЛЕДОВАНИИ НОРМАЛЬНОЙ АНАТОМИИ ПОЧЕК

Ларюшкина А.В., Ботвич Т.А.

ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»

Минздравсоцразвития России, Владивосток, e-mail: alla.laryushkina@gmail.com, botvichta@mail.ru

Работа посвящена рентгенологическим методам исследования, которые широко применяются для диагностики урологических заболеваний в настоящее время. Представлены результаты исследования, основной задачей которого является иллюстрация преимуществ цифровых систем в современной рентгеновской анатомии, в частности, при применении лучевых методов для анатомического исследования нормальной структуры почек, их вариантов строения и врожденных аномалий развития. Материал статьи создает основу для нового подхода к получению и интерпретации данных рентгенологических методов исследования в урологии, нефрологии.

Ключевые слова: рентгенография, цифровые системы, почка

DIGITAL X-RAY SYSTEM IN RESEARCH ANATOMY OF KIDNEYS

Larushkina A.V., Botvich T.A.

Pacific State Medical University, Vladivostok, e-mail: alla.laryushkina@gmail.com, botvichta@mail.ru

Radiological methods of research are widely applied to diagnostic of urological diseases now. A research main objective is the illustration of advantages of digital systems in modern x-ray anatomy, in particular application of radiological methods for anatomic research of a normal structure of kidneys, their variants of a structure and congenital anomalies of development. Basic position about a radiological methods research of radiological patients are presented.

Keywords: radiological methods, digital systems, bud

Для диагностики урологических заболеваний в настоящее время применяются все существующие рентгенологические методы исследования. Это диктуется необходимостью оснащения современного рентгенкабинета универсальной аппаратурой, позволяющей производить всевозможные рентгенографические и рентгеноскопические исследования. При этом особое значение приобретает использование цифровых рентгенографических систем.

Цель исследования. Основной целью нашей работы явилась иллюстрация преимуществ использования цифровых систем в современной рентгеновской анатомии, в частности, для изучения нормального строения почек, их вариантов и врожденных аномалий развития. Кроме того, мы представили базисные положения о рентгенологическом методе исследования урологических больных.

Материалы и методы исследования

В работе использованы цифровые системы в современной рентгеновской анатомии, в частности, для изучения нормального строения почек, их вариантов и врожденных аномалий развития. Кроме того, мы представили базисные положения о рентгенологическом методе исследования урологических больных.

В результате нашей работы получены рентгенограммы (экскреторные урограммы) почек взрослых

людей (18–45 лет), сделанные на рентгеновском аппарате «Унискан», оснащенный электромеханическим цифровым сканирующим устройством, что позволяет перемещать приемник изображения относительно пациента. Часть снимков получена с помощью рентгеновской установки при обследовании больных, а часть снимков взята из архива и переведена в цифровой формат для дальнейшего исследования. Рентгенологическое обследование почек и мочевыводящих путей методом внутривенной урографии проведено по стандартной методике.

Проведенная оцифровка полученных рентгенограмм позволила сшить кадровые фрагменты при компьютерной обработке в полноформатный снимок и визуализировать выявленные пороки.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате анализа рентгенограмм нами были выявлены следующие особенности строения почек. Нормально развитые почки встретились в 87%. Из оставшихся 13% в строении почек обнаружены аномалии развития: удвоенная почка (50%), гипоплазия почки (25%) и дистопия почки (25%).

Удвоенная почка – аномалия, встретившаяся нам чаще всего (50%). При удвоенной почке всегда имеется две лоханки и два мочеточника. Почка имеет размеры несколько больше обычных и две отдельные, не сообщающиеся между собой, лоханки,

а также два мочеточника. Данный вид аномалии не является очень редким.

При тазовой дистопии почка находится в поясничной области, но не на обычном для нее месте, а несколько ниже. Лоханка располагается по передней поверхности почки и занимает более латеральное положение; чашечки ее ротированы в медиальную или заднюю сторону. Мочеточник отходит от латеральной стороны лоханки и располагается дальше от позвоночника, чем в норме.

Гипоплазия почки относится к числу весьма редких аномалий. Для почки характерны все рентгенологические признаки нормальной почки с той лишь разницей, что лоханочно-чашечная система может быть менее развита, иметь меньшее число чашечек.

Наши исследования показали, что наиболее часто встречаются аномалии развития почек: удвоенная почка, гипертрофированная почка и дистопия почки. Это не противоречит данным литературы. Состав аномалий и вариантов развития обусловлен, как мы полагаем, ухудшением экологической ситуации и образа жизни обследуемых. Мы убедились и в том, что цифровые сканирующие приемники имеют чрезвычайные преимущества перед другими типами рентгенаппаратуры, так как в них устраняется влияние неинформативного рассеянного излучения на качество цифрового изображения, значительно снижается лучевая нагрузка на пациента, существенно улучшается контрастная чувствительность из-за отсутствия влияния рассеянного излучения и из-за отсутствия влияния между соседними элементами по направлению сканиро-

вания, – то есть улучшается диагностика. При этом высокое пространственное разрешение реализуется достаточно простыми техническими средствами; обеспечивается разумная стоимость исследования и низкие эксплуатационные затраты.

Заключение

Таким образом, использование метода экскреторной урографии в сочетании с современными цифровыми аппаратами, снимает проблему огромной лучевой нагрузки на пациента, позволяет получить максимум информации, повысить эффективность исследований, усовершенствовать лечебно-диагностический процесс и вывести на качественно новый уровень проведение исследовательских, диагностических и профилактических мероприятий в рентгеновской анатомии человека, и при диагностике и лечении больных с различными вариантами развития и заболеваниями органов мочевыделительного аппарата.

Список литературы

1. Физика визуализации изображений в медицине: В 2-х томах. Т. 1: пер. с англ. / под ред. С. Уэбба. – М.: Мир, 1991. – 408 с.
2. Антонов А.О., Антонов О.С., Лыткин С.А. // Мед. техника. – 1995. – № 3. – С. 3–6.
3. Беликова Т.П., Лапшин В.В., Яшунская Н.И. // Мед. техника. – 1995. – № 1. – С. 7.
4. Рентгентехника: справочник. В 2-х кн. 2 / А.А. Алтухов, К.В. Клюева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Машиностроение, 1992. – 368 с.
5. Розенштраух Л.С. Невидимое стало зримым (успехи и проблемы лучевой диагностики). – М.: Знание, 1987. – 64 с.
6. Верещагин Н.В., Брагина Л.К., Вавилов С.Б., Левина Г.Я. Компьютерная томография мозга. – М.: Медицина, 1986. – 256 с.

УДК 617.58-001-089+614.2-082

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ УЧАСТКОВ УПРУГОЙ ДЕФОРМАЦИЙ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРА, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ПЕРЕЛОМАМИ И ХИРУРГИЧЕСКИЙ МЕТОД ИХ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Матвеев А.Л., ²Дубров В.Э., ³Минасов Б.Ш., ³Минасов Т.Б., ⁴Нехожин А.В.

¹ГБУЗ СО «Новокуйбышевская центральная городская больница»,
Новокуйбышевск, e-mail: Mal57@rambler.ru;

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, e-mail: dubrov@fbm.msu.ru;

³Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, e-mail: m004@yandex.ru;

⁴Самарский государственный технический университет, Самара, e-mail: stswoon@yandex.ru

Актуальность проблемы возникновения и лечения переломов проксимального отдела бедра у лиц старшего возраста при остеопорозе подтверждается статистикой. Цель исследования – разработка методики внутрикостного армирования проксимального отдела бедра с помощью оригинальных имплантатов собственной конструкции, на которые получены патенты РФ. Математическое моделирование проксимального отдела бедренной кости с использованием конечных элементов показало, что методика, предусматривающая введение имплантата в костную ткань, способствует снижению критического напряжения кости на 11,6–12,1% в точках, где начинается разрушение при нагрузочной деформации. Проведенные стендовые испытания системы «кость-имплантат» убедительно показывают, что прочность системы «кость-имплантат» возрастает на 23–93% в зависимости от типа и комбинации применяемых имплантатов при профилактическом армировании. Экспериментальные исследования метода профилактического армирования кости показали, что армированная кость выдерживает большую нагрузку, чем интактная, что при низкоэнергетической травме может способствовать предупреждению возникновения перелома.

Ключевые слова: проксимальный отдел бедренной кости, профилактическое армирование, имплантаты, математическое моделирование

PARTICULAR DISTRIBUTION PLOTS ELASTIC DEFORMATIONS OF THE PROXIMAL PART OF THE FEMUR, LEADING FRACTURES AND SURGICAL METHOD OF PREVENTING THEM IN THE EXPERIMENT

¹Matveev A.L., ²Dubrov V.E., ³Minasov B.Sh., ³Minasov T.B., ⁴Nehogin A.V.

¹Central City hospital Novokuibyshevsk, Novokuibyshevsk, e-mail: Mal57@rambler.ru;

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, e-mail: dubrov@fbm.msu.ru;

³Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: m004@yandex.ru;

⁴Samara State Technical University, Samara, e-mail: stswoon@yandex.ru

The urgency of the problem occurrence and treatment of fractures of the proximal femur from older people with osteoporosis is confirmed by the statistics. The purpose of the study is to develop a methodology for internal fixation reinforcement of the proximal femur using original implants of its own design, on which the patents of the Russian Federation. Mathematical modeling of the proximal femur using finite elements method showed that the technique, which involves implanted of the bone-implant in the bone tissue, reduction the critical voltage bone on 11,6–12,1% at the points where the destruction when the load deformation. Conducted testing system «bone-implant» convincingly show that the strength of the bone-implant system increases by 23–93% depending on the type and combination of used implants used for prophylactic. Experimental research preventive method, reinforcement of the bones showed that reinforced the bone can withstand greater load than undamaged bone that when low-energy trauma can help prevent fractures.

Keywords: proximal femur, prophylactic, reinforcement, implants, mathematical modeling

Рост дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательной системы являются следствием демографических процессов, происходящих в современном обществе и актуальной социальной проблемой во всех развитых государствах [9]. Лечение и профилактика больных старшей группы с повреждением проксимального отдела бедренной кости (ПОБК) остается

до конца нерешенной проблемой отечественной травматологии в виду отсутствия единой концепции лечения, которая обусловлена нарастающим количеством пациентов с этой патологией и необходимостью их продолжительной реабилитации [1, 5, 6]. Переломы этой локализации относятся к патологическим переломам так, как являются следствием структурной несостоятельности

кости и составляют 60–65% всех переломов нижней конечности, из них 35–40% – это вертельные переломы; 71–85% таких переломов происходит в пожилом и старческом возрасте [2, 19]. Наиболее частыми причинами снижения прочности кости являются остеопороз и значительно реже опухоли, сопровождающиеся дистрофическими и диспластическими процессами в костях [3, 22, 25].

В группу потенциального риска остеопоротических переломов в России входит около 34 млн человек, в то время как в США – 44 млн человек. Согласно прогнозу Международного Фонда остеопороза во всем мире более 2 млн человек в год получают травмы, сопровождающиеся переломом ПОВК, к 2050 г. ожидается увеличение числа таких пациентов до 6 миллионов 260 тысяч ежегодно [7, 19]. В России ежегодно такую травму получают 100–150 человек на 100 тыс. населения, но выявлена тенденция роста частоты переломов этой локализации. Так, например, в Самарской области рост составил со 104 случаев в 2006 году до 270 случаев в 2012 году на 100000 населения, а в республике Саха (Якутия) за период 1995–2010 годы – с 102,4 до 309,9 на 100 тыс. населения [4, 5]. Причиной переломов ПОВК у лиц пожилого возраста, как правило, является удар в области большого вертела вследствие падения с высоты собственного роста [24]. Виртуальная силовая нагрузка интактной кости здорового взрослого человека, при которой происходит ее разрушение, соответствует усредненной реальной нагрузке $F = 7800 \text{ Н}$ [15]. У пожилых лиц, страдающих остеопорозом средние величины нагрузок, вызывавших перелом ПОВК, составляют 2100–3500 Н [22]. Математическое моделирование переломов шейки бедренной кости с использованием модели ПОВК, состоящей из кортикального и губчатого слоев оцениваются путем лазерного сканирования [18, 21]. Это позволило доказать, что разрушение кости начинается в определенных в точках, в которых, при этом одинаковом уровне напряжения, растяжение является более опасным, чем сжатие [18, 22]. Переломы ПОВК у пожилых пациентов ведут к гипостатическим функциональным нарушениям, «обвальному» синдрому декомпенсации состояния и росту высокой летальности (41–67%) [2, 6, 16, 17]. Сверхившийся перелом ПОВК удваивает риск контралатерального вертельного перелома [19, 20].

Попытки уменьшить вероятность перелома путем медикаментозной терапии, пассивного поглощения энергии подушками-амортизаторами в области большого вертела, специальными напольными покрытиями, поглощающими энергию падений, использованием методик ЛФК, не позволили до настоящего времени решить эту проблему [5, 23].

Цель исследования – изучить биомеханику ПОВК при нагрузках, вызывающих деформацию кости и особенности его повреждения при критических нагрузках, вызывающих перелом. Разработать и обосновать методику хирургической профилактики переломов ПОВК, оригинальные конструкции имплантатов для профилактического армирования ПОВК, оценить их достоинства и недостатки, провести математическое моделирование и стендовые испытания функционирования системы кость-имплантат.

Материалы и методы исследования

Для предупреждения патологических переломов ПОВК был разработан способ хирургической профилактики повреждения кости [8] и оригинальные конструкции имплантатов для его осуществления. Конструкция имплантата «бификсирующая спица» [11] представляет собой спицу с двойной проточкой и двумя участками резьбы с одинаковым шагом для фиксации ее в головке бедренной кости и наружном кортикальном слое ПОВК в точке введения. Армирование с применением этой конструкции предполагает использование от одной до трех спиц. Для предотвращения миграции имплантата, конец спицы загибают и скручивают (рис. 1, а). Помимо этого, была разработана модернизированная конструкция «бификсирующий винт-спица» с головкой под гексагональный торцевой ключ [12]. Преимущество этого фиксатора заключается в том, что после завершения введения имплантата его наружный конец не травмирует и остается в мягких тканях, что облегчает, при необходимости, его удаление (рис. 1, б). Имплантат «шнековый винт» представляет собой шнек с центральным валом и спирально закрученной резьбовой частью [10]. Винт заканчивается головкой со шлицем под гексагональную отвертку (рис. 1, в). Имплантат «винт-штопор» представляет собой устройство, состоящее из 3мм спицы из упругого пружинящего металла, закрученной в виде спирали [9] со сферической головкой и шлицем под гексагональную отвертку (рис. 1, г). Конструкция имплантата «телескопический винт-штопор» [13] представляет собой устройство, состоящее из телескопического винта, имеющего рабочую часть в виде спирали, удлиненную шейку под телескопическую трубку-направитель и диафизарной пластины с отверстиями под монокортикальные винты (рис. 1, д). Конструкция изоэластического имплантата [14] представляет собой устройство, состоящее из изогнутых спиц из упругого пружинящего металла, трубчатых направителей и диафизарной пластины с отверстиями под монокортикальные винты (рис. 1, е).

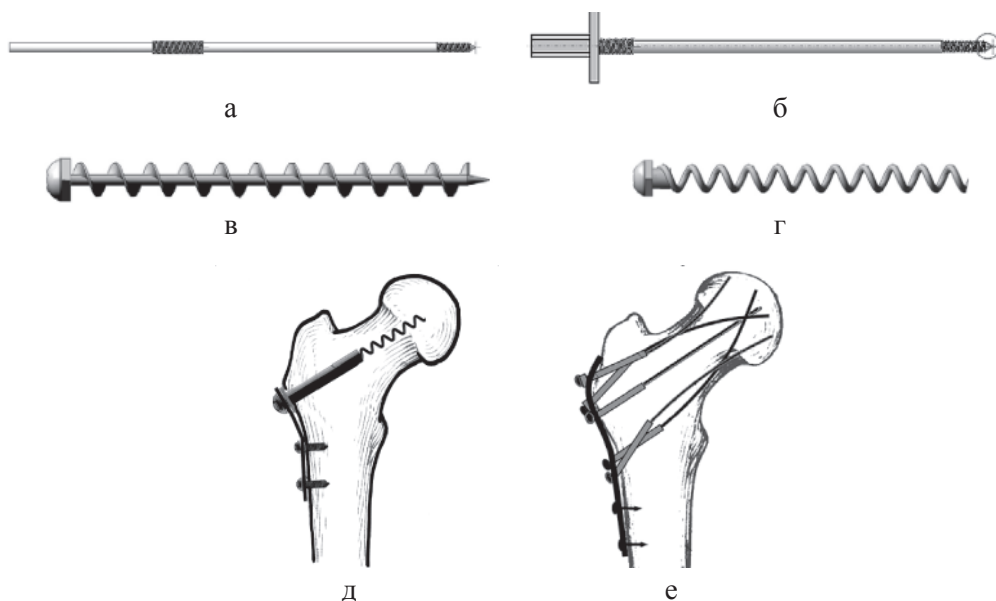


Рис. 1. Имплантаты для армирования:

а – бификсирующая спица; *б* – бификсирующий винт-спица; *в* – шнековый винт; *г* – винт-штопор; *д* – телескопический винт-штопор; *е* – изоэластический имплантат

Для изучения прочности системы кость-имплантат по сравнению с интактной костью, нами было проведено математическое моделирование с использованием модели ПОБК, состоящей из кортикального и губчатого слоев, параметры которых были оценены путем лазерного сканирования (рис. 2, а). Исследование напряжения проводили путем виртуального приложения силы F на головку бедренной кости в точках A и B , в которых начинается разрушение кости, предполагая, что введение имплантатов ближе к этим точкам позволит увеличить показатель напряжения и, как следствие, повысить прочность системы кость-имплантат. Максимальное значение компоненты напряжения были обнаружены на оси σ_z (рис. 2, б).

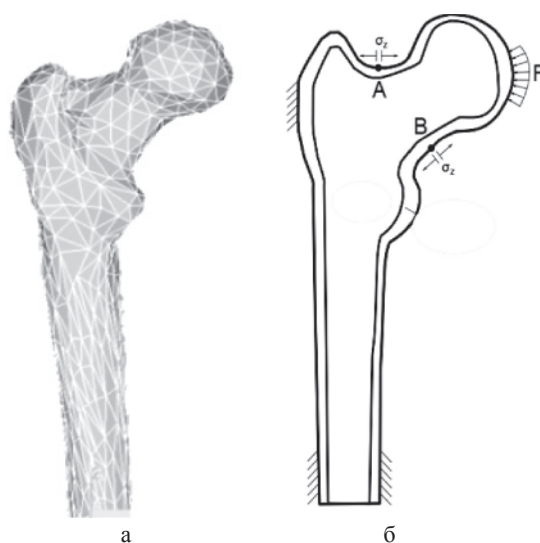


Рис. 2. Геометрия кости (а), краевые условия (б)

Благодаря вспомогательному программному комплексу в кость были виртуально введены имплантаты, как по отдельности, так и в различных сочетаниях. С целью изучения прочности ПОБК до и после ее армирования оригинальными имплантатами, были проведены стендовые испытания. Введение имплантатов проводили вдоль оси шейки бедренной кости ближе к краниальному и каудальному краю кортикального слоя под углом $127\text{--}130^\circ$ к оси диафиза бедренной кости (рис. 3).

Исследуемые системы подвергали дозированной нагрузке до полного разрушения системы имплантат-кость на универсальном динамометре INSTRON 5982 с силой, направленной на головку бедренной кости вдоль оси диафиза или перпендикулярно оси диафиза бедренной кости с силой, направленной на область большого вертела (рис. 4).

Варианты исследуемых образцов бедренной кости с различными имплантатами и комбинациями их введения, а также при вертикальной нагрузке вдоль оси диафиза на головку бедренной кости после введения имплантатов и доведенных до перелома после нагрузки показаны на рис. 5.

Проведены испытания при деформации системы кость-имплантат, вследствие приложения усилия в виде компрессии на головку бедренной кости, при горизонтальном положении диафизарной части бедренной кости (имитация падения на область большого вертела (рис. 6)).

Для подтверждения достоверности результатов экспериментальных исследований – метода проксимального армирования проксимального отдела бедренной кости (ПОБК), были рассмотрены различные критерии статистической обработки данных такие, как критерии r Вальда – Вольфовица, Q – критерий Розенбаума, T – парный критерий Вилкоксона и ГМФ – точный метод Фишера, при применении которых результаты исследований при $P \leq 0,05$ являются статистически значимыми.

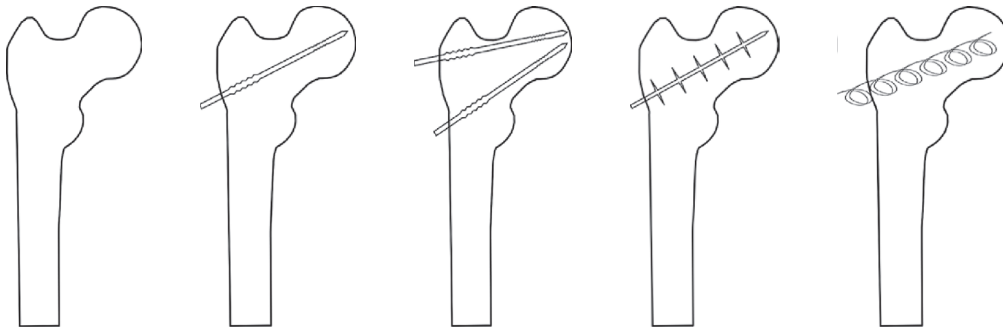


Рис. 3. Варианты армирования кости

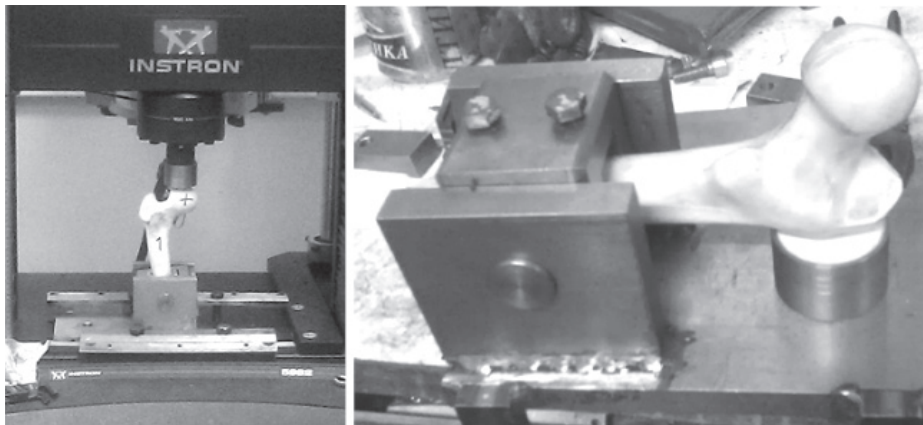


Рис. 4. Дозированная нагрузка на универсальном динамометре INSTRON 5982

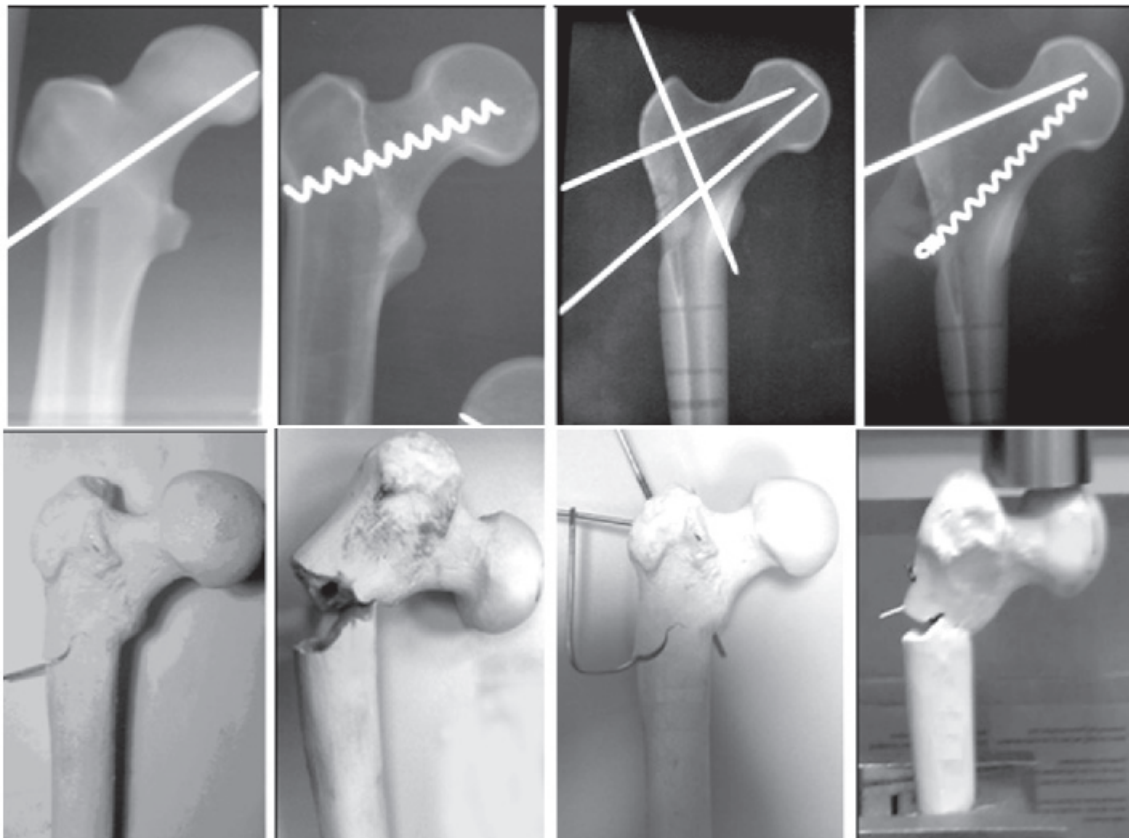


Рис. 5. Дозированная вертикальная нагрузка вдоль оси бедренной кости

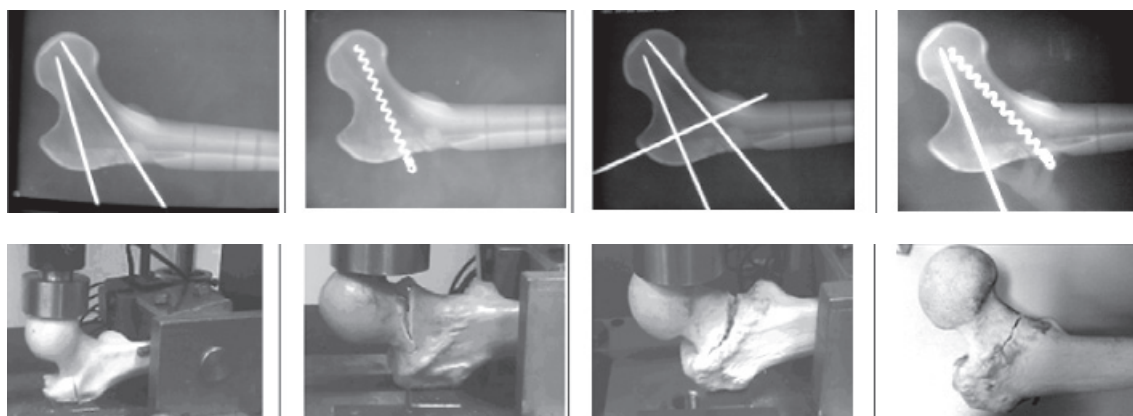


Рис. 6. Результаты дозированной горизонтальной нагрузки на большой вертел бедренной кости

Результаты исследования и их обсуждение

Напряжения внутри кости существенно ниже, чем на ее поверхности, что показало математическое моделирование. При нагрузке этот показатель вдоль центральной оси шейки практически стремится к нулю, тогда как в краниальной и каудальной частях шейки бедренной кости возрастает и обуславливает развитие перелома в критических точках (*A*, *B*). При этом направление линии перелома развивается от периферии внутрь, где возникают максимальные напряжения. При армировании ПОБК оригинальные имплантаты должны быть расположены ближе к кортикальному слою и дальше от центральной оси шейки бедренной кости. При этом напряжение уменьшается в наиболее опасных местах костной ткани за счет частичного перераспределения внешней деформирующей нагрузки в элемент армирования на 11,6–12,1%. Результаты численного эксперимента моде-

лирования напряжения для компоненты σ_z представлены в табл. 1.

Результаты стендовых испытаний свидетельствуют о преимуществах армирующих систем с использованием винтов, либо систем винт-спица. Разрушение кости в зоне растяжения происходит монокортикально, не приводя к формированию дальнейшего смещения отломков. При вертикальной нагрузке на головку вдоль оси диафиза бедренной кости прочность армированной шейки увеличивалась с 22,7 до 72,6% в зависимости от комбинации вводимых имплантатов (табл. 2).

Результаты испытаний устойчивости армированных систем вследствие приложения усилия компрессии на головку бедренной кости при горизонтальном положении ее диафизарной части – имитация падения на область большого вертела, продемонстрировали преимущества систем с наибольшей площадью контакта (винт-штопор), при этом, отмечено увеличение сопротивляемости нагрузкам с 27 до 93% (табл. 3).

Таблица 1

Значение величин напряжения в областях сжатия
и растяжения в критических точках σ_z шейки бедренной кости

Имплантат	Точка <i>A</i> (краниальная)		Точка <i>B</i> (каудальная)	
	σ_z , Па	$\Delta\sigma_z$, %	σ_z , Па	$\Delta\sigma_z$, %
Интактная кость	$1,64 \cdot 10^8$	–	$6,57 \cdot 10^7$	–
Спица вверх	$1,49 \cdot 10^8$	10,1	$6,39 \cdot 10^7$	2,8
Спица вниз	$1,66 \cdot 10^8$	–1,2	$6,10 \cdot 10^7$	7,7
Спица + спица	$1,47 \cdot 10^8$	11,6	$5,86 \cdot 10^7$	12,1
Спица посередине	$1,60 \cdot 10^8$	2,5	$6,49 \cdot 10^7$	1,2
Шнек	$1,64 \cdot 10^8$	0,0	$6,47 \cdot 10^7$	1,5
Штопор	$1,66 \cdot 10^8$	–1,2	$6,32 \cdot 10^7$	4,0
Штопор и спица	$1,69 \cdot 10^8$	–3,2	$5,96 \cdot 10^7$	10,2
Спица + спица снаружи	$0,91 \cdot 10^8$	80,2	$2,90 \cdot 10^7$	126,6

Таблица 2

Испытания при вертикальной нагрузке на головку по оси бедренной кости

Системы	Кол-во опытных образцов	Максимальная нагрузка (кг)	Продолжительность пластической деформации (с)	Время структурной деформации (с)	Увеличение прочности до разрушения кости (%)
Интактная кость	5	137,2 ± 15	346 ± 5	361 ± 5	100,0%
Спица	6	168,4 ± 15 *	362 ± 5*	386 ± 5*	122,7%
3 спицы	8	192,7 ± 15*	391 ± 5*	463 ± 5*	140,1%
Штопор	7	214,1 ± 15*	198 ± 5*	561 ± 5*	156,1%
Штопор + спица	6	236,8 ± 15*	243 ± 5*	532 ± 5*	172,6%

Примечание. * – $p \leq 0,05$ – статистическая значимость различий группы систем кость-имплантат и группы сравнения (интактная кость).

Таблица 3

Испытания при горизонтальной нагрузке на большой вертел бедренной кости

Системы Кость-имплантат	Кол-во опытных образцов	Максимальная нагрузка (кг)	Продолжительность пластической деформации (с)	Время структурной деформации (с)	Увеличение прочности до разрушения кости (%)
Интактная кость	5	221,3 ± 15	231 ± 5	331 ± 5	100,0%
Спица	6	282,8 ± 15*	336 ± 5 *	385 ± 5 *	127,9%
3 спицы	8	337,2 ± 15*	359 ± 5*	410 ± 5 *	152,6%
Штопор	7	345,5 ± 15 *	361 ± 5 *	390 ± 5*	156,1%
Штопор + спица	6	428,6 ± 15*	361 ± 5 *	338 ± 5*	193,0%

Примечание. * – $p \leq 0,05$ – статистическая значимость различий группы систем кость-имплантат и группы сравнения (интактная кость).

Заключение и выводы

Разработанные конструкции оригинальных имплантатов имеют малые размеры, обеспечивают минимальную потерю костной массы при введении в кость, сохраняют физиологическую способность ПОВК к амортизации при нагрузках и после введения имплантата. Все изученные варианты армирования кости увеличивают прочность системы «кость-имплантат», как при вертикальной нагрузке с компрессией на головку бедренной кости вдоль оси диафиза, так и перпендикулярно оси диафиза на область большого вертела бедренной кости с 23 до 93%. Внедрение в клиническую практику методики профилактического армирования ПОВК при различных дегенеративно-дистрофических процессах может привести к снижению частоты таких переломов при низкоэнергетической травме, что доказывается результатами наших исследований.

Список литературы

1. Ахтямов И.Ф., Гатина Э.Б., Фазуллин Р.Р., Ключкин С.И., Гильмутдинов И.Ш., Шигаев Е.С. Особенности в подходах к лечению травмы проксимального отдела бедра в специализированной клинике // Научно-практическая конференция травматологов-ортопедов с международным

участием, посвященная 50-летию клиники травматологии и ортопедии МОНКИ им. М.Ф. Владимирского. – М., 2012. – С. 12–14.

2. Загородний Н.В., Митбретт И.М., Цыпин И.С., Семенистый А.Ю., Голубенко Г.Н., Шумилов Б.А., Спесивцев И.В. Опыт лечения больных с переломами проксимального отдела бедренной кости // Актуальные вопросы практической медицины: сб. научных трудов к 60 летию ГКБ. – М.: РГМУ, 2000. – № 13. – С. 363–365.

3. Зоря В.И., Гнетцкий С.Ф., Джиоев С.Б., Темсов С.А. Современные способы остеосинтеза переломов шейки бедра. Проблемы и их решения // Актуальные проблемы травматологии и ортопедии: возможности, ошибки и осложнения: материалы VII научно-практической конференции травматологов – ортопедов ФМБА России. – Томск, 2012. – С. 29–30.

4. Комиссаров А.Н., Пальшин Г.А. Патоморфоз переломов проксимального отдела бедренной кости, связанных с остеопорозом за период наблюдения 1995–2012 гг. // Травматология, ортопедия Севера и Дальнего востока: высокие технологии и инновации: материалы II Съезда травматологов-ортопедов Дальневосточного Федерального округа, посвященного 60-летию травматологической службы республики Саха (Якутия). – Якутск, 2012. – С. 129–130.

5. Котельников Г.П., Булгакова С.В., Шафиева И.А. Оценка эффективности комплекса мероприятий для профилактики переломов – маркеров остеопороза у женщин пожилого возраста // Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии: V Конференция с международным участием / ФБГУ ЦНИИТО им. Н.Н. Приорова. – М., 2012. – С. 72–73.

6. Лазарев А.Ф., Солод Э.И., Цкаев А.Ю., Овчаренко А.В., Рудой С.Г. Оперативное лечение пациентов пожилого возраста напряженными конструкциями // Травматология и ортопедия столицы. Время перемен: материалы

- III Конгресса Ассоциации травматологов и ортопедов Москвы с международным участием. – М., 2016. – С. 135.
7. Лесняк О.М. «Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение: клинические рекомендации» / под ред. О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленской. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2012. – 269 с.
8. Матвеев А.Л. Оперативный способ профилактики переломов шейки бедренной кости / Патент РФ на изобретение № 2316280, 2008.
9. Матвеев А.Л., Нехожин А.В. Устройство для армирования шейки бедренной кости и превентивной профилактики переломов / Патент РФ на полезную модель № 98901, 2010.
10. Матвеев А.Л. Устройство для армирования биологического композитного материала и превентивной профилактики переломов шейки бедренной кости / Патент РФ на полезную модель № 91845, 2010.
11. Матвеев А.Л. Устройство для армирования шейки бедренной кости и превентивной профилактики ее переломов / Патент РФ на полезную модель № 101351, 2011.
12. Матвеев А.Л., Нехожин А.В., Миначов Т.Б., Фролов А.В. Устройство для армирования кости и профилактики переломов ее при остеопорозе / Патент РФ на полезную модель № 121725, опубликовано 10.11.2012.
13. Матвеев А.Л., Дубров В.Э., Нехожин А.В., Миначов Т.Б., Степанов О.Н. Устройство для профилактического армирования и предупреждения переломов проксимального отдела бедра / Патент РФ на полезную модель № 136703, 2014.
14. Матвеев А.Л., Дубров В.Э., Нехожин А.В., Миначов Т.Б., Степанов О.Н. Устройство для профилактического армирования и предупреждения переломов проксимального отдела бедра / Патент РФ на полезную модель № 140684, 2014 г.
15. Миначов Б.Ш., Миначов Т.Б., Матвеев А.Л., Нехожин А.В. Механические системы кость-имплантат в условиях профилактического армирования проксимального отдела бедра с использованием наноструктурированных материалов // Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии: материалы V конференции с международным участием / ЦИТО им. Н.Н. Приорова. – М., 2012. – С. 79–80.
16. Миронов С.П. Организационные аспекты проблемы остеопороза в травматологии и ортопедии // Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии: V Конференция с международным участием / ФБГУ ЦНИИТО им. Н.Н. Приорова. – М., 2012. – С. 1–2.
17. Поворознюк В.В., Мешталер Т.Р., Мешталер Р.Т. Показатели рентгеноденситометрии у женщин в постменопаузальном периоде с остеопоротическими переломами // Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии: V Конференция с международным участием / ФБГУ ЦНИИТО им. Н.Н. Приорова. – М., 2012. – С. 40–41.
18. Рогожников Г.И., Конюхова С.Г., Няшин Ю.И., Чернопазов С.А., Еремина С.В. Влияние модуля упругости губчатой и кортикальной кости на напряженное состояние в области пластинчатого имплантата при окклюзионной нагрузке // Российский журнал биомеханики. – 2004. – Т. 1, № 8 – С. 54–60.
19. Родионова С.С., Торгашин А.Н., Морозова Н.С. Влияние золедроновой кислоты на прочность проксимального отдела бедренной кости // Материалы X юбилейного съезда травматологов-ортопедов России. – М., 2014. – С. 436.
20. Faucett, Scott C.M.D., M.S.; Genuario, James W MD, MS; Tosteson, Anna N A ScD; Koval, Kenneth J MD, Is Prophylactic Fixation a Cost-Effective Method to Prevent a Future Contralateral Fragility Hip Fracture? // Journal of Orthopaedic Trauma. – February 2010 – Vol. 24 – Issue 2. – P. 65–74.
21. Harlan N. Titanium Bone Implants // Materials Technology. – 2000 – Т. 3, № 15 – С. 185–187.
22. Holzer G., Department of Orthopaedics, Medical University of Vienna. Кортикальная кость и ее роль в обеспечении прочности проксимального отдела бедра // Проблема остеопороза в травматологии и ортопедии: материалы V конференции с международным участием / ЦИТО им. Н.Н. Приорова. – М., 2012. – С. 9–10.
23. Riggs B.L., Melton L.J. III. Epidemiology of fractures // пер. с англ. Остеопороз. Этиология, диагностика и лечение. – СПб.: Изд. «Бином», 2000. – 530 с.
24. Robinovitch S.N., Inkster L., Maurer J., Warnick B. Strategies for avoiding hip impact during sideways falls // J Bone Miner Res. – 2003. – № 18. – P. 1267–73.
25. Zacherl M., Gruber G., Glehr M., Ofner P., Radl R., Greithbauer M., Vecsei V., Windhager R. Surgery for pathological proximal femoral fractures, excluding femoral head and neck fractures. Resection vs. stabilization // Department of Orthopaedic Surgery, Medical University Graz, Austria. – (SICOT) 2011. – № 35. – P. 1537–1543.

УДК 577.156

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ДЫННОГО ДЕРЕВА

¹Пенджиев А.М., ²Абдуллаев А.

¹*Туркменский государственный архитектурно-строительный институт, Ашхабад, e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*

²*Туркменский государственный медицинский университет, Ашхабад*

В статье описываются лечебные особенности протеолитических ферментов полученных из млечного сока дынного дерева. Приведены сравнения антидотной активности папаина отравлении с змеиным ядом, лечебные свойства лекарственных средств выпускаемых лекарственных препаратов из млечного сока дынного дерева, и инструкция по применению этих лекарственных средств в клинической практике.

Ключевые слова: фармакологические, лечебные свойства, млечный сок, протеолитические ферменты, папаин, химопапаин, пептидаза, дынное дерево, гелиотеплица, Туркменистан

MEDICINAL FEATURES OF THE MELON TREE

¹Penjiyev A.M., ²Abdullaev A.

¹*Turkmen State Architecturally-Building Institute, Ashkhabad, e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*

²*Turkmen State Medical University, Ashkhabad*

In article medical features of the proteolytic enzymes received of lacteal juice of a melon tree are described. Comparisons antidotal activity papain a poisoning with snake poison, medical properties of medical products of let out medical products from lacteal juice of a melon tree, and the instruction on application of these medical products in clinical practice are resulted.

Keywords: pharmacological, medical properties, lacteal juice, proteolytic enzymes, papain, chemopapain, peptidase, a melon tree, heliohothouse, Turkmenistan

В современном мире большое внимание уделяется использованию в медицинской практике биологически активных препаратов растительного происхождения.

Мировая медицина ограничивается от использования антибиотиков, так как снижается иммунная система и приводит к другим сложным последствиям. Ученые полагают, что в будущем антибиотики могут быть заменены супер – антителами, для которых не будет препятствием клеточная стенка, которые смогут проникать внутрь клеток и уничтожать болезнетворные бактерии, вирусы и токсины. Они испытывают технологию модификации антител, которая позволяет им свободно проникать в клетки и покидать их [1, 2–4, 34–37].

Одним из основных особенностей данной проблемы явилась Национальная программа Туркменистана «Здоровье», «Закон Туркменистана о лекарственном обеспечении» населения страны лекарственными препаратами за счет лекарств отечественного производства, изучение возможности выращивания ценных лекарственных растений в условиях аридной экосистемы, разработка агротехники возделывания и обеспечение страны биологически ценными медицинскими препаратами и сырьем промышленности Туркменистана [1].

Традиционное тепличное хозяйство является весьма энергоемким, затраты на технический обогрев составляют 40–65 % себестоимости продукции, поэтому при проектировании теплично-парникового хозяйства первостепенное внимание следует уделять выбору наиболее рациональных источников технического обогрева, обосновывая его технико-экономическими расчетами для аридной экосистемы.

Учитывая вышеизложенное, можно решить вопросы удешевления теплофикации и уменьшения капиталовложений в строительство котельных, при этом комбинируя возобновляемые источники энергии (солнце, тепло грунта, геотермальными водами) с промышленными тепловыми отходами.

Анализируя природно-климатические условия аридной экосистемы Туркменистана, специалисты однозначно делают вывод о возможности выращивания в защищенном грунте целого ряда ценных биологически активных лекарственных растений, в том числе и дынного дерева.

Авторы осознают, что при написании статьи не все задуманное удалось реализовать в полном объеме. Прекрасно понимают, что делают научный обзор по использованию лекарственных энзимов растительного происхождения в широком направлении,

поэтому имеются недостатки как в теоретическом плане, так в прикладной, практической части. Но тем не менее вопрос использования нанотехнологий в генной инженерии и, прежде всего расшифровка генома человека позволяют создавать новые лекарственные препараты. Если будем лучше понимать роль генов в развитии болезней и то, как протекают процессы в наших клетках на наноуровне, сможем более целенаправленно вести исследования. С помощью генетики и биотехнологии сможем в будущем более эффективно выявлять причины заболеваний; тем самым исследования в области фармакологии – это существенный шаг вперед в деле создания новых лекарственных средств, устраняющих саму причину болезни. Большой интерес в этом предоставляют протеолитические ферменты растительного происхождения дынного дерева [1].

Сделанный информационно-аналитический обзор, собранные материалы и методика подхода могут быть полезны для применения их не только в клинической медицине Туркменистана, но и в других странах мира.

Исследования проводились, по инициативе авторов и в дальнейшем они собираются остановиться по отдельным видам клинической практики подробно в следующих научных работах.

Краткие исторические сведения об использовании дынного дерева как лекарственное средство

На Антильских островах уже давно пользовались соком незрелых плодов в виде горячих примочек для лечения гнойных ран и других заболеваний кожи. Американские индейцы еще во времена Колумба познали лекарственное действие сока дынного дерева, его плоды называли «ванти», что означает «быть здоровым».

В индийской фармакопее написано, что этот млечный сок является антигельминтиком. Фермент переваривает аскарид, тении, трихуриды и других глистов, у которых нет антипапаина, а имеются антипепсин и антитрипсин.

В США существует мазь, приготовленная из этого сока для лечения изъязвлений, некрозов. В энциклопедическом словаре аптечных работников, написано, что латекс папайи применяется против глистов и для лечения гастрита, язвы желудка, хронических диспепсий, ожогов, укусов ядовитых пауков. Некоторые авторы с помощью энзимов, которые находятся в латексе, определяют группу крови [2–4, 34–37].

Проведя экспериментальное изучение, так L. Thomas (1956), доказал хондролитическое действие папаина на пульпозное ядро. L. Smith в 1964 г. применил папаин для лечения 10 больных с грыжами поясничных дисков. Спустя 10 лет его соотечественник Wiltse сообщил о лечении данным методом 40 000 пациентов.

Исходя из этого, учитывая биологические особенности папайи и природно-климатические условия Туркменистана, пришли к выводу о необходимости подбора конструкции теплиц для ее выращивания. Для этого в 1981 году на базе НПО «Солнце» АН ТССР, была сооружена гелиотеплица траншейного типа.

В 1990 году была построена несколько измененная опытно-промышленная солнечная теплица с комбинированным использованием энергии тепловых отходов Туркменабатского арендного химического предприятия и солнечной энергии. В теплице были высажены 100 дынных деревьев и началось изучение агрометеорологических факторов, формирующих микроклимат в сооружении.

С одного плода при двукратной подсочке в месяц добывается 3 грамма латекса, с одного растения из 5 плодов – 15 граммов, что составляет 180 граммов в год с экземпляра. В составе млечного сока содержится; 10% папаина, 50% химопапаина, 16% лизоцима, 24% протеиназы А и В. С целью повышения добычи фермента с единицы площади плантации можно использовать и черешки листа, где также содержится значительное количество папаина.

По литературным данным существует несколько видов разделения млечного сока папайи. Мы использовали колоночную хроматографию. Разделение проводили при помощи комплекта для хроматографии. Установка включает в себя: градиент; насос; колонку с карбоксиметилцеллюлозой; детектор; коллектор для сбора фракций; самописец.

Следующий этап работы было посвящен получению очищенных препаратов папаина фермента, составляющего около 12% от всего состава белков. О его народно-хозяйственном значении говорилось выше.

В процессе работы подобран ионообменник – карбоксиметилцеллюлоза КМ-32. Колонку набивали этим катионообменником. Размеры колонки составляли: высота – 20 см, диаметр – 2,5 см, объем 70 см³.

В качестве буфера использовали Трис – HCl, pH 7,0. Колонку промывали в течение

24 часов. После установления равновесия в колонку вносили 3 мл 10%-ного раствора млечного сока папайи, предварительно подготовленного и отцентрифугированного в течение 20 минут при 4000 оборотах в минуту. Внесение образца проводили при помощи перестальтического насоса со скоростью 4 мл в час. Элюирование, то есть смывание белков с колонки, проводили 0,05 молярным трисовым буфером pH 7,0. Фракции собирали при помощи автоматического коллектора [33–37].

При начальном промывании колонки сходят неактивные соединения. После этого устанавливали градиент концентрации хлористого натрия от 0,1 до 0,5 М. В результате с колонки сошел белок, обладающий протеолитической активностью. Установление градиента концентрации хлористого натрия от 0,5 до 1,0 М позволяло смыть с колонки еще несколько белков. Необходимо отметить, что эти белки при таких условиях не разделялись, а сошли с колонки, налагаясь друг на друга. В дальнейшем проводился подбор условий для разделения химопапайина, лизоцима и протеоназа.

На следующем этапе был проведен электрофоретический анализ полученного белка. Электрофорез занимает центральное место среди методов исследования белков. Этот метод позволяет разделять макромолекулы, различающиеся по таким параметрам, как молекулярная масса, структура и электрический заряд.

В нашей работе использовали пластины полиакриламидного геля, содержащего 15% акриламида. Электрофорез проводился в кислых условиях, pH разделяющего геля – 4,5, напряжение 250 В, сила тока 45 мА. На электрофореграмме, первым сошел белок с колонки – это папайин. Была определена протеолитическая активность полученного папайина. Она составляет 400 ед./мг белка, это в 2,4 раза выше, чем активность млечного сока папайи.

Полученные в работе ферменты применяли в хирургии. Протеолитические и противовоспалительные свойства папайина позволили применять его для санации различных свищей, очищения от некротических тканей ран и подготовки поверхностей трофических язв к кожной пластике у больных.

После хорошей санации и улучшения состояния мягких тканей конечности удалось удлинить сроки пребывания металлических конструкций, что способствовало достаточной консолидации переломов.

При влажном некрозе после ожога папайин позволяет ускорить очищение поверхности от некротических тканей и подготовке ее для кожной пластики. Ферменты были применены к.м.н. А.А. Абдулаевым в госпитале в/ч 2523 при лечении остеомиелитов, флегмон, сужении пищеводов, маститов о чем свидетельствуют фотографии и справка об использовании [2–5].

Сравнения антидотной активности папайина с отравлениями с змеиным ядом

Змеиные яды представляют собой сложный комплекс соединений белковой природы, обладающих чрезвычайно высокой биологической активностью. Ядовитые змеи объединяются четырьмя семействами: элапиды – типичным представителем которых является кобра; морские змеи; гадюковые и гремушие змеи. Картина отравления, вызываемая ядами змей различных семейств, имеет характерные отличия, в первую очередь обусловленные особенностями химического состава ядов. Так, в состав яда элапид и морских змей входят высокотоксичные полипептиды (нейротоксины), специфически блокирующие синаптическую передачу в холинэргических мионевральных синапсах (так называемое курареподобное действие). Смерть отравленных животных и человека наступает, как правило, от недостаточности дыхания на фоне поражения центральной нервной системы. Структурные изменения в месте инокуляции яда носят умеренный характер (А.Т. Бердыева, 1974; Б.Н. Орлов, И.А. Вальцева, 1977 и др.). Напротив, яды большинства гадюк и гремуших змей обладают мощной системой ферментов с трипсино-, тромбино- и каллекреиноподобными свойствами. В результате отравления развиваются обширные некрозы тканей, так и нарушениями в системе свертывания крови (А.Т. Бердыева, 1972; З.С. Баркаган, П.П. Перфильев, 1967; М.Н. Султанов, 1977; Ту Е.А., 1969; Henrigues, Evseeva, 1969). Наиболее прогрессивным и эффективным методом лечения отравлений змеиными ядами на сегодняшний день несомненно является серотерапия (Russell, 1974; Russell e. a., 1970; McColloch, Gennaro, 1970). Следует отметить, что разработка стандартов на противозмеиные сыворотки представляет сложную проблему в виду многокомпонентности змеиных ядов и различий в их антигенной структуре. Советский период в СССР разработан национальный стандарт сыворотки против яда гюрзы

(А.А. Погуда, 1971) и в промышленном масштабе выпускается поливалентная сыворотка «Антигюрза», нейтрализующая только яды гадюковых змей. В последнее время начаты экспериментальные работы по получению сыворотки против яда среднеазиатской кобры (А.А. Абидов и соавт., 1974). Необходимо подчеркнуть, что противозмеиные сыворотки наиболее эффективны при внутри венном введении (Russell e.a., 1970; А.Т. Бердыева, 1974), что возможно только в условиях стационара. Кроме того, при использовании сывороток всегда приходится учитывать возможность развития анафилактической реакции (З.С. Баркаган, П.П. Перфильев; 1967). Следует также отметить, что наиболее целесообразным является введение моновалентной сыворотки (Russell e.a. 1970), что в свою очередь требует предварительного точного установления вида змеи. Однако последнее, как правило, сопряжено с практическими трудностями.

Таким образом, проблема разработки методов неспецифической терапии отравлений змеиными ядами не только не снята с повестки дня, но напротив является в настоящее время весьма актуальной. Среди подобных средств применяемых в настоящее время следует отметить антихолинэстеразные вещества, новокаин, кортикостероиды, антигипок-санты, гепарин и некоторые другие (Б.Н. Орлов, И.А. Вальцева, 1977; И.А. Вальцева, 1969; З.С. Баркаган, П.П. Перфильев, 1967; Vanergel e.a., 1974; Abraham, Annama, 1973 и многие др.).

Существенные различия в патогенезе интоксикации ядами змей различных видов требуют в каждом конкретном случае и соответствующей тактики лечения, обязательно учитывающей особенности химического состава яда. Одним из возможных подходов к решению рассматриваемой проблемы может явиться использование препаратов протеолитических ферментов для инактивирования нейротропных змеиных ядов, например, яда кобры. Известно, что *in vitro* протеазы эффективно расщепляют нейротоксические полипептиды яда элапид, что широко используется при анализе их аминокислотной последовательности (Grishin e.a., 1973, 1974 и др.).

В литературе имеются противоречивые сведения относительно эффективности использования протеиназ, в частности трипсина, при экспериментальном отравлении змеиными ядами. Так, И.А. Вальцева (1969) указывает на низкую активность трипсина, тогда как в более поздней работе

HsiungYu-Liang e.a., (1975) был установлен выраженный защитный эффект трипсина при отравлении мышей и собак ядом кобры Najanaajaatra.

Все вышеизложенное послужило основанием для проведения исследований по сравнительной антидотной активности более широкого набора протеиназ животного, микробного и растительного происхождения [2–7, 33–41].

В своей научной статье А.А. Тюкина, Б.Н. Орлов, Д.Б. Гелашвили «Сравнительное изучение антидотной активности папаина и других протеиназ при экспериментальном отравлении змеиным ядом» проведённых в Горьковском государственном университете им. Н.И. Лобачевского, НИИ травматологии и ортопедии.

Материалы и методы исследования

При проведение исследования были использованы яд кобры среднеазиатской *Najaoxiana* (Институт зоологии и паразитологии Узбекистана, Ташкент), трипсин и химотрипсин (Ленинградский завод медпрепаратов), террилитин из плесневого грибка *Aspergillusterricola* (Московский завод медпрепаратов), папаин («Рапидаза», Франция), лекопаин /папаин / («ЛЕК», Югославия). Эксперименты были проведены на 800 белых мышках-самцах весом 18 до 23 г. В каждой серии экспериментов животные были разделены на контрольную и опытные группы. Животным контрольной и опытной групп подкожно вводили яд кобры в дозах DL_{84} – DL_{95} . Животным опытных групп через определенные интервалы времени после введения яда инъецировали растворы исследуемых ферментных препаратов в различных дозах. Введение препаратов растворенных extempore в физиологическом растворе всегда осуществляли в место инокуляции яда. Яд и препараты вводили в объеме 0,2 мл. Наблюдение за животными велось в течение 24 часов. Оценку эффективности действия ферментных препаратов проводили на основании сравнения частоты наступления смертельных исходов у животных контрольных и опытных групп. Место введения яда и препаратов подвергали визуальному контролю. Количественную обработку экспериментального материала производили с использованием «т»-критерия Стьюдента и критерия соответствия «хи»-квадрат (М.Л. Беленький, 1963). DL_{50} яда кобры при подкожном введении, определенная методом пробит-анализа составила 1,47 (1,42–1,49) мг/кг. Выбор доз ферментных препаратов был осуществлен с учетом их токсичности: для трипсина, химотрипсина и ггапаина («Рапидаза») при внутримышечном введении по данным А.А. Тюкиной (1973), для террилитина по инструкции к препарату. Токсичность лекопаина не определялась в связи с незначительным количеством препарата находившимся в нашем распоряжении. По этой же причине опыты с лекопаином проведены на ограниченном экспериментальном материале. Протеолитическую активность исследованных ферментных препаратов определяли по методу Anson (1938) [5–18].

**Результаты исследования
и их обсуждения**

Введения яда кобры животным контрольной группы приводило к развитию у них вялого паралича и смерти от остановки дыхания в течение 2–4 часов. Выживаемость животных контрольных групп не превышала 7,5% при дозе яда DL₅₀ и 16,6% при дозе DL₈₄.

Ферментные препараты в зависимости от дозы и интервала времени между введением яда и препарата оказывали существенное влияние на выживаемость отравленных животных в опытных группах. В первой серии экспериментов (табл. 1) трипсин, химотрипсин, террилитин и папаин вводили в дозах кратных DL₅₀, а лекопаин в дозах 0,5; 1,0 и 5,0 мг/кг через 10 минут после инъекции яда кобры. Результаты экспериментов показали, что существует определенная зависимость между дозой вводимого ферментного препарата и оказываемым им защитным действием. Для большинства препаратов оптимальная доза, вызывающая защитный эффект у 50% и более процентов животных лежит между 0,2–0,3 DL₅₀ самого препарата. При увеличении дозы фермента наблюдается снижение процента выживаемости животных. В опытах с папаином

(«Рапидаза») наблюдалась высокая выживаемость в интервале доз 0,3–0,5 DL₅₀. Дальнейшее увеличение дозы препарата в связи с возрастанием его токсичности было нецелесообразным. Лекопаин оказывал выраженный защитный эффект в дозе 5 мг/кг [19–33].

При визуальном осмотре кожных покровов в месте введения яда кобры у животных контрольных групп некротические очаги не были обнаружены. У животных опытных групп появление некротических участков кожи отмечалось при введении ферментных препаратов в высоких дозах. Исключение составил лекопаин, защитный эффект которого проявлялся в значительно меньших дозах, чем у других препаратов. В следующей серии экспериментов изучалась зависимость выживаемости мышей, отравленных ядом кобры от интервала времени между введением яда и ферментного препарата. Максимальный защитный эффект, как правило, достигался при одновременном введении животным яда и препарата (табл. 2). По мере увеличения временного интервала выживаемость животных прогрессивно снижалась. Оптимальный временной интервал, при котором наблюдалась не менее, чем 50% выживаемость животных составил в среднем 15 мин (10–20 мин) [29–33].

Таблица 1

Влияние ферментных препаратов на выживаемость мышей, отравленных ядом кобры среднеазиатской (*Naja oxiana*)

Ферментные препараты	Протеолитическая активность (ед. Ансона)	Дозы		Выживаемость, %
		мг/кг	DL	
Трипсин	6,580	28,5	0,1	30,0 ± 14,5
		57,0	0,2	30,0 ± 14,5
		85,5	0,3	65,0 ± 10,6*
		142,5	0,5	20,0 ± 12,6
Химотрипсин	3,840	39,5	0,1	50,0 ± 15,8*
		79,0	0,2	70,0 ± 10,2*
		118,5	0,3	60,0 ± 15,5*
		197,5	0,5	60,0 ± 15,5*
Террилитин	1,680	22,0	0,1	30,0 ± 14,5
		44,0	0,2	55,0 ± 11,0*
		66,0	0,3	20,0 ± 12,6
		110,0	0,5	20,0 ± 12,6
Папаин («Рапидаза»)	0,560	117,4	0,1	20,0 ± 10,2
		234,8	0,2	85,0 ± 11,2*
		352,2	0,3	100,0 ± 2,7*
		587,0	0,5	100,0 ± 2,7*
Лекопаин («ЛЕК»)	0,200	0,5	–	0
		1,0	–	16,6 ± 15,1
		5,0	–	66,6 ± 14,4*

Примечание. *Достоверные (p < 0,05) различия между данными контроля и опыта.

Таблица 2

Зависимость выживаемости мышей (%), отравленных ядом кобры (*Naja oxiana*) от интервала времени между введением яда и ферментных препаратов

Ферментные препараты	Дозы		Интервалы времени, мин					
	Мг/кг	DL ₅₀	0**	5	10	20	40	60
Трипсин	85,5	0,3	90,0 ± 9,5	–	65,0 ± 10,6*	50,0 ± 5,8*	40,0 ± 15,5	30,0 ± 14,5
Химотрипсин	79,0	0,2	90,0 ± 9,5*	–	70,0 ± 10,3*	30,0 ± 4,5	50,0 ± 15,8*	20,0 ± 12,6
Террилитин	44,0	0,2	70,0 ± 14,5*	–	55,0 ± 11,0*	40,0 ± 5,5	10,0 ± 9,5	0
Папаин («Рапидаз»)»	234,0	0,2	–	–	85,0 ± 11,2*	10,0 ± 6,6	30,0 ± 10,2	10,0 ± 7,2
Лекопаин («ЛЕК»)»	5,0	–	66,6 ± 19,8*	83,5 ± 15,2*	66,6 ± 15,1*	50,0 ± 4,4*	33,3 ± 15,2	–

Примечание. * Достоверные ($p < 0,05$) различия между данными контроля и опыта
** Совместное введение яда и препарата.

Полученный экспериментальный материал свидетельствует, что исследованные ферментные препараты, в зависимости от дозы и времени введения, оказывают существенное влияние на выживаемость животных отравленных ядом кобры. Ряд антидотной активности ферментных препаратов составленный на основе данных по максимальной выживаемости имеет следующий вид папаин > (химотрипсин, лекопаин, трипсин) > террилитин. При расположении ферментных препаратов по их протеолитической активности этот ряд видоизменяется: трипсин > химотрипсин > террилитин > папаин >> лекопаин. Сопоставление этих двух рядов позволяет заключить, что антидотная активность препаратов не является прямым следствием их протеолитической активности. Сравнение минимальных эффективных доз ферментных препаратов (табл. 1), вызывающих 50% выживаемость отравленных животных показывает, что наибольшей активностью обладает лекопаин (5 мг/кг), затем следуют химотрипсин (39,5 мг/кг), террилитин (44,0 мг/кг), трипсин (85 мг/кг) и папаин (234,0 мг/кг). Можно предположить, что различия в антидотной активности между ферментными препаратами животного, микробного и растительного происхождения связаны с особенностями их энзиматического действия и степенью очистки. Более высокую антидотную активность химотрипсина и террилитина по сравнению с трипсином можно связать с более широким спектром энзиматического действия этих препаратов (В.И. Мосолов, 1971 и др.). Препараты растительного происхождения отличаются широкой субстратной специфичностью и более глубоко расщепляют пептидные связи в белках, чем животные протеазы.

По данным Смита и соавт. (1961) папаин гидролизует практически любые связи, за исключением пролина и глутаминовой кислоты с диссоциированной карбоксильной группой. Сравнение антидотной активности папаина и лекопаина показывает, что эффективные дозы последнего значительно ниже (в 60 раз), чем папаина. Вероятно, проявление антидотной активности папаина в высоких дозах связано с низкой степенью его очистки (содержание белка в препарате по данным А.А. Тюкиной (1973) не превышает 45%), а также использованием его в наших экспериментах без активаторов. Подводя итог обсуждению полученных экспериментальных материалов необходимо подчеркнуть, что при выборе антидотных средств предпочтение следует отдавать ферментным препаратам эффективным в малых дозах и не обладающих побочным действием. В этом отношении использование химотрипсина и, особенно, лекопаина представляется наиболее перспективным [8–28].

Применение протеолитических ферментов для лечения отравления змеиными ядами можно рассматривать как новый аспект их клинического использования. При этом возможность применения протеолитических ферментов с антидотными целями не исключает, а напротив предполагает широкое комплексное использование в лечении отравлений змеиными ядами как специфических (сыворотки), так и различных неспецифических.

Выпускаемые лекарственные препараты из млечного сока папайи

В фармакологической промышленности зарубежных стран выпускается более 100 лекарственных препаратов с использованием млечного сока папайи (лекозим,

лекопаин, кариказа, кармаин, кармазим, вобензим, суперсжигатель жира № 1 и др.), широко применяемых в различных областях медицины [3–9].

Карипаин – уникальное средство от остеохондроза и межпозвонковых грыж, полученное из латекса папайи. Эффективность лечения препаратом при остеохондрозе и многих (даже осложненных) грыжах диска достигает 82%! Более 10 тыс. больных прошли успешное лечение препаратом.

Примерно 45% больных, назначенных на операцию, получив лечение Карипаином, в оперативном вмешательстве не нуждаются. Препарат также применяется для лечения суставных контрактур (посттравматических и постинсультных), келоидных рубцов различного происхождения, артрозов, артритов крупных суставов, плече-лопаточного периартрита, церебрального (в том числе оптохиазмального) и спинального арахноидита, некоторых форм невритов лицевого нерва, туннельного синдрома.

По лечебным свойствам Карипаин является аналогом грузинского препарата Карипазим.

Лечение межпозвонковых грыж Карипаином. Методика лечения папаиносодержащими препаратами применяется в медицинской практике более 10 лет.

Эффективность этой методики подтверждена успешной практикой в Центральном НИИ травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова (ЦИТО), в НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, в Омской ГМА Росздрава. В состав Карипаина входят биологически активные вещества растительного происхождения (Папаин, Лизоцим и др.), которые положительно влияют на коллагеновые хрящевые ткани. Из этих тканей состоят межпозвонковые диски и, соответственно, грыжа.

В определенной концентрации Карипаин, введенный методом электрофореза, влияет на саму грыжу. Она начинает постепенно уменьшаться, становится мягкой. Этого, порой, бывает достаточно, чтобы освободить нервное окончание, которое она защемляет, и боли в позвоночнике постепенно проходят. Карипаин также действует на весь межпозвонковый диск. Он становится более эластичным, «упругим», увеличивает высоту.

Препарат усиливает регенерацию тканей диска, который восстанавливает свою нормальную форму и свою функцию амортизатора. Вводимый Карипаин воздействует на несколько соседних межпозвонковых дисков, восстанавливая целый отдел позвоночника. Лечение курсовое – от 1 до

3 курсов по 20–30 процедур каждый, между курсами интервал от 1 до 2 месяцев. Препарат может использоваться в любом медицинском учреждении, где есть аппарат для электрофореза (например «Поток-1») или фонофореза. Методика специально адаптирована для удобного применения в поликлинике, МСЧ, больнице и даже дома.

Дополнительным компонентом комплексного лечения является специальная лечебная гимнастика, укрепляющая мышцы спины, живота, шеи, конечностей, создающая «мышечный корсет» и стабилизирующая позвоночник, что позволяет больному легче переносить физические нагрузки. Кроме того, при необходимости применяются массаж, мягкое вытяжение, осторожная мануальная терапия, противовоспалительная медикаментозная терапия. Между курсами больным рекомендуются занятия в бассейне.

Однако есть формы заболевания – секвестрированные грыжи, с фораменальным ущемлением нервов, с грубым нарушением кровообращения в этой зоне и нестерпимыми, жесточайшими болями, которые требуют безусловного оперативного вмешательства. Вообще же тактика лечения выбирается исключительно врачами и обязательно согласовывается с больным. Инструкция по применению Карипаинафл. 1 г для физиокабинетов Карипаин – протеолитический ферментный препарат прямого действия растительного происхождения, полученный из латекса папайи, в медицинской практике используется раствор его лиофилизированного порошка белого цвета. Единицы активности выражаются по классификации международной федерации фармацевтики (1 фл. Карипаина соответствует 350 Fir-ПЕ) [34–41].

Фармакологические свойства Карипаин характеризуется протеолитической активностью широкого спектра. В состав препарата входят три протеолитических фермента (Папаин, Химопапаин, Протеиназа) и муколитический фермент – Лизоцим, содержащие в своих активных центрах сульфгидрильные группы. Оптимальные условия действия Карипаина – pH 5–7, температура 37°C. Показания к применению Карипаин – высокоэффективный препарат, применяемый в ортопедической, травматологической, нейрохирургической и неврологической клиниках. Особенно эффективен при остеохондрозе позвоночника, в том числе при различных формах грыж межпозвонковых дисков и дискогенных

радикулитах, грыжах Шморля, посттравматических сгибательных контрактурах пальцев, при келоидных рубцах различного происхождения, артрозо-артритах крупных суставов, плече-лопаточном периартрите, церебральном (в том числе оптохиазмальном) и спинальном арахноидитах, невритах лицевого нерва, туннельных синдромах. Побочные действия и меры их предупреждения При применении Карипаина возможны аллергические реакции. При повышенной чувствительности, проявляющейся зудом и повышением температуры, проводится антигистаминная терапия. Между 5-й и 8-й процедурами возможно временное обострение основного заболевания.

Противопоказания. Не применять внутривенно и внутримышечно, при острых воспалительных процессах в тканях, при секвестрации грыжи диска и фораменальном расположении секвестра. Форма выпуска Карипаин выпускается во флаконах 1 г (10 мл) № 10 пач. картон. Условия хранения Препарат хранят в сухом защищенном от света месте при температуре +0...+20°C. Препарат применяется только под наблюдением специалистов. Способ применения и дозы Карипаин вводится методом электрофореза с положительного полюса. Лечение курсовое – 1 курс от 20 до 30 процедур. Допускаются перерывы в 1–2 дня между процедурами. При необходимости – повторные курсы через 30–60 дней.

Другие лекарственные препараты: **Вобэнзим (Wobenzym, MucosPharma, Германия)** – комплексный энзимный препарат. 1 таблетка, покрытая оболочкой, содержит 100 мг панкреатина, 60 мг папаина, 45 мг бромелаина, 10 мг липазы, 10 мг амилазы, 24 мг трипсина, 1 мг химотрипсина, 50 мг рутина. Выпускается по 20, 40 или 200 таблеток.

Основными показаниями к применению являются посттравматические отеки, воспалительные процессы при хирургической патологии и в послеоперационном периоде, лимфедемы различной этиологии, посттромбофлебитический синдром, поверхностные тромбофлебиты, некоторые аутоиммунные и иммунокомплексные заболевания (ревматоидный артрит, рассеянный склероз, гломерулонефрит, васкулит), хронические и рецидивирующие воспалительные процессы верхних и нижних дыхательных путей, уха, мочеполовой системы, пищеварительного тракта, суставов и др [2–4, 34–41].

Дозу препарата подбирают индивидуально с учетом характера и тяжести забо-

левания. Сначала назначают по 5–10 таблеток 3 раза в сутки, поддерживающая доза обычно составляет 3 таблетки 3 раза в сутки. Таблетки рекомендуется принимать за 30 минут до еды, не раскусывая, и запивать большим количеством жидкости (не менее 250 мл).

При тромбофлебитах и посттромбофлебитическом синдроме вобэнзим назначают в зависимости от тяжести заболевания по 5–10 таблеток на прием 3 раза в сутки на протяжении 7–14 дней до ликвидации отека и воспаления, потом дозу снижают до 3–5 таблеток на прием. Обычно эффект наступает на 4-е сутки. Для достижения хороших результатов рекомендуется проводить лечение в течение 1–2 месяцев. При облитерирующем эндартериите сосудов нижних конечностей лечебная доза и продолжительность курса лечения подбираются индивидуально, но не менее 15 таблеток в сутки. Для лечения лимфатического отека II–III степени после мастэктомии вобэнзим назначают по 7 таблеток 3 раза в сутки одновременно с токоферолом (по 100 мг 3 раза в сутки) на протяжении 4 недель, потом препарат употребляют в поддерживающей дозе.

При ревматоидном артрите и болезни Бехтерева вобэнзим назначают по 8–10 таблеток 3 раза в сутки, после достижения ремиссии переходят на поддерживающую дозу – по 5 таблеток 3 раза в сутки на протяжении года и более. При необходимости для скорейшей ликвидации болевого синдрома препарат принимают одновременно с индометацином или другими нестероидными противовоспалительными средствами. Пациентам с реактивными артритом вобэнзим назначают по 5 таблеток 3 раза в сутки на протяжении 3–4 недель в комплексе с антибактериальными и нестероидными противовоспалительными препаратами.

В гинекологии и акушерстве вобэнзим обычно назначают по 5 таблеток 3 раза в сутки на протяжении 16–17 дней, при воспалительных процессах вобэнзим принимают одновременно с антибиотиками.

Для лечения заболеваний вен (тромбофлебитов, посттромбофлебитического синдрома) рекомендуется назначать по 10 таблеток вобэнзима 3 раза в сутки на протяжении 2 недель.

В травматологии при объемных оперативных вмешательствах (эндопротезирование, сложные реконструктивные операции, трансплантация и реплантация) вобэнзим

назначают по специальной схеме: 1-я неделя – по 10 таблеток 3 раза в сутки, 2-я неделя – по 7 таблеток 3 раза в сутки, затем по 5 таблеток 3 раза в сутки на протяжении 1–1,5 месяцев. При консервативном и оперативном лечении пациентов с небольшими повреждениями мягких тканей и мышц, а также с изолированными переломами отдельных сегментов продолжительность терапии может ограничиваться 2–3 неделями.

В спортивной медицине вобэнзим назначают с профилактической целью во время спортивных соревнований (по 5 таблеток 3 раза в сутки), а также при травмах (по 10 таблеток 3 раза в сутки).

Противопоказаниями к применению метода системной энзимотерапии являются выраженные нарушения системы свертывания крови (при гемофилии или тяжелой печеночной недостаточности). При назначении энзимных препаратов пациентам в перед и послеоперационном периоде следует учитывать их фибринолитическое действие. С осторожностью назначают вобэнзим во время беременности.

Следует помнить, что при инфекционно-воспалительных процессах вобэнзим не заменяет антибактериальные средства, а повышает их эффективность.

Побочные явления даже при продолжительном лечении вобэнзимом наблюдаются редко, в основном это изменение цвета, консистенции и запаха кала. Редко возникают аллергические реакции, которые исчезают после отмены препарата.

Вобэ-Мугос Е (Wobe-Mugos E, Mucos Pharma, Германия) – комбинированный препарат натуральных энзимов животного и растительного происхождения. 1 таблетка, покрытая оболочкой, содержит 40 мг хитотрипсина, 40 мг трипсина и 100 мг папаина. Выпускается в упаковке по 20, 40 или 100 таблеток и в виде мази в тубах по 20 г.

Фирмой MucosGmb (Германия) препарат «Вобэ-Мугос» выпускается в виде сублингвальных таблеток по 25 мг, таблеток с оболочкой, которая растворяется в кишечнике по 25 мг, ампул по 100 мг для внутримышечных инъекций, свечей по 100 мг, препарата для клизм по 1000 мг и мази (по 400 мг и 20 г). Для улучшения терапевтического эффекта в состав инъекционных препаратов входит гидролизат тимуса телят.

Препарат активизирует клеточное звено иммунитета (NK-клетки – естественные киллеры, Т-лимфоциты, макрофаги), нормализует концентрацию цитокинов, таким образом повышает эффективность лучевой

и химиотерапии опухолей при одновременном ослаблении побочных эффектов. Вобэ-Мугос Е уменьшает способность опухолевых клеток к адгезии в эндотелии и других тканях, что замедляет темпы прогрессирования первичной опухоли и метастазирования; Вобэ-Мугос Е улучшает реологические свойства крови и микроциркуляцию, которая содействует выводу токсичных продуктов. При патологическом повышении содержания иммунных комплексов Вобэ-Мугос Е вызывает их распад и элиминацию за счет стимулирования фагоцитарной активности макрофагов. Вобэ-Мугос Е повышает концентрацию антибиотиков в крови и в очаге воспаления.

Применяется для адъювантной терапии злокачественных опухолей, вирусных заболеваний (в том числе простого и опоясывающего герпеса), для уменьшения побочных эффектов лучевой (иммуносупрессия, лучевые дерматиты серозиты, фиброз) и химиотерапии. Назначают по 3 таблетки 3 раза в сутки во время проведения курса лучевой или химиотерапии. При необходимости дозу препарата можно увеличить до 15 таблеток (по 5 таблеток 3 раза в сутки). При продолжительном лечении с целью профилактики метастазирования рекомендуется принимать по 2 таблетки 3 раза в сутки. При вирусных заболеваниях назначают по 5 таблеток 3 раза в сутки до исчезновения основных клинических симптомов. Лечение необходимо начинать как можно раньше – при первых симптомах заболевания. Курс лечения – 5–10 дней. Вобэ-Мугос Е принимают за 30–40 минут до еды, запивая большим количеством жидкости (не менее 250 мл), таблетки не разжевывают.

В виде мази препарат применяется для лечения заболеваний вирусной этиологии (опоясывающий лишай, простой герпес), воспалительных заболеваний кожи, плохо заживающих ран, флегмон и язвенно-некротических поражений кожи. Мазь наносят на пораженную поверхность толщиной до 2 мм не втирая. При заболеваниях сосудов и тромбозах рекомендуется нанести мазь на марлю и приложить к пораженному участку. При открытых ранах мазь наносят только на прилегающие участки кожи. Не рекомендуется наносить мазь на слизистые оболочки.

В инъекционной форме препарат «Вобэ-Мугос» применяют при онкологических заболеваниях, в хирургии, для лечения лучевой болезни и некоторых вирусных инфекций (опоясывающий герпес) [34–41].

Препарат противопоказан при повышенной чувствительности к компонентам препарата, нарушении свертывания крови (гемофилия, геморрагии при тяжелых заболеваниях печени), не следует назначать пациентам, которые находятся на гемодиализе. Вобэ-Мугос Е хорошо переносится пациентами, побочных эффектов не наблюдается даже при продолжительном лечении высокими дозами. В отдельных случаях возможны незначительные изменения цвета, запаха и консистенции кала. При приеме высоких доз препарата иногда отмечается метеоризм. Вобэ-Мугос Е следует осторожно применять при беременности.

Panafil® (Rystan, США) – ранозаживляющая и ранозаживляющая мазь, содержащая 10% стандартизированного папаина, 10% мочевины и 0,5% комплекса «медь – хлорофиллин» на гидрофильной основе. Выпускается в тубах по 30 г. Комплекс «медь – хлорофиллин» дополняет протеолитическое очищение комбинации папаина с мочевиной заживляющим действием, стимуляцией грануляционного процесса. Применяется для лечения острых и хронических язв и ран варикозного, диабетического и травматического происхождения, пролежней, ожогов, карбункулов, послеоперационных и инфицированных ран. Мазь прикладывают непосредственно к поврежденной поверхности и перевязывают. Перевязку желателен выполнять ежедневно или 2 раза в день, орошая рану физиологическим раствором для вымывания некротических масс. При обработке раны следует избегать одновременного применения папаина с перекисью водорода и солями тяжелых металлов, которые могут инактивировать папаин.

Meteophyt®-V (OTW, Германия) – драже, содержащее 5 мг бромелаина, 30 мг свиного панкреатина, 30 мг папаина, 30 мг экстракта желчи, 7 мг экстракта алоэ, 4 мг сухого спиртового экстракта куркумы (11:1), 0,4 мг масла тмина, 0,4 мг масла фенхеля, 0,4 мг апельсинового масла, 0,2 мг масла мяты перечной, 0,02 мг масла ромашки и 30 мг диметикона 2000. Применяется по 2 драже не разжевывая во время приема пищи при нарушениях пищеварения, снижении секреции пищеварительных желез, метеоризме, дискинезиях желчевыводящих путей [2–8, 34–41].

Hevert®-Enzym (Hevert, Германия) – драже, содержащее по 20 мг панкреатина, 10 мг папаина, 10 мг экстракта желчи, 0,8 мг трипсина, 30 мг диметикона, 0,4 мг холестерина, 1 мг тиамина хлорида, 2 мг

рибофлавина и 0,3 мг фолиевой кислоты. Применяется при метеоризме, гнилостной диспепсии, недостаточной внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Употребляют по 1–2 драже 3 раза в день перед едой.

Enzym-Tyrosolvetten® (Tosse, Германия) – таблетки для рассасывания, содержащие 5 мг папаина, 5 мг лизоцима, 1 мг тиротрицина, 1 мг цетилпиридинумхлорида и 675 мг сахарозы. Применяются при инфекциях ротовой полости и глотки, болях при глотании, охриплости. Употребляют по 1–2 таблетки под язык до полного растворения несколько раз в день. Максимальная суточная доза – 8 таблеток.

Unexum® MD (Repha, Германия) – драже, содержащее свиной панкреатин (1000 ед. триацилглицероллипазы, 700 ед. амилазы и 50 ед. протеазы), 30 ед. папаина и 150 мг бетаина гидрохлорида. Применяется при нарушениях пищеварения с секреторной недостаточностью, гипо- и анацидных гастритах, хроническом панкреатите, бродильной и гнилостной диспепсии. Употребляют по 2–3 драже во время еды не разжевывая и запивая водой. При необходимости дозу можно увеличить.

Stoffwechselfdragees (Molitor, Германия) – драже, содержащее по 10 мг папаина, 1,5 мг сухого спиртового экстракта плодов тмина (3:1), 1,5 мг сухого спиртового экстракта травы крапивы (5:1), 1,5 мг сухого спиртового экстракта плодов фенхеля (4:1), 1,5 мг сухого спиртового экстракта корневища аира (5:1), 2 мг горна D6, калия-натрия тартрата 110 мг, цитрата натрия 110 мг и гидрокарбоната натрия 220 мг. Употребляется по 3 драже 3–4 раза в день после еды при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и нарушении обмена веществ.

Папаин содержат также препараты Лекозим (**Lek, Словения**) и **Parae® (США)**.

Softlens Enzymatic Contact Lens Cleaner® – раствор для очищения контактных линз, в состав которого входит папаин. Производится в США.

Frugelitten-Früchtewürfel (Natura-Werk, Германия) – прессованные брикеты, содержащие плоды папайи и листья сенны. Применяются при запорах, для очищения кишечника перед диагностическими или оперативными вмешательствами. Употребляют по 1/2–1 брикета перед сном.

Lysopaine ORL® (Boehringer Ingelheim France, Франция) – сублингвальные таблетки, содержащие по 5 мг лизоцима, 2 мг латекса папайи и 200 ед. бацитрацина.

Применяется как противомикробное средство для местного лечения инфекций слизистых оболочек ротовой полости (стоматитов, в том числе афтозного, гингивитов), фарингитов, ларингитов, после операций тонзилэктомии, экстракции зубов. Употребляют сублингвально по 6 таблеток в сутки. Курс лечения не должен превышать 10 дней. При продолжительном применении возникает риск развития дисбактериоза ротовой полости, кандидоза.

Озум (Röhm Pharma, Германия) – таблетки, содержащие по 50 мг амилазы, 50 мг папаина, 400 мг панкреатина и 50 мг высушенной свиной желчи. Употребляют для улучшения пищеварения по 1 таблетке после еды.

Paraine Trouette-Perret® (DB Pharma, Франция) – выпускается в виде эликсира и сиропа во флаконах по 200 мл, содержащих по 0,92 г латекса папайи. Применяется для симптоматического лечения диспептических расстройств. Употребляют во внутрь по 1–2 столовые ложки после еды.

Химопапаин (Chymopapain) – выпускается в виде препаратов **Chymodiactin® (Knoll France, Франция)** и **Discase® (США)**. Применяется при килах межпозвоночных дисков, вводится в пульпозное ядро. Доза препарата 2–4 нКат единиц на диск (1–2 мл инъекционного раствора). Максимальная доза для пациентов, которые требуют лечения нескольких дисков, – 8 нКат единиц. Выпускается в виде порошка во флаконах по 4 нКат единицы, перед введением растворяют в пропорции 1 мл раствора к 2 нКат единиц. Нельзя допускать попадания во флакон спирта, который может инактивировать фермент. Средство должно быть использовано на протяжении 2 часов после растворения, хранение после вскрытия флакона не допускается.

Лечение химопапаином следует проводить только в стационарных условиях. Препарат разрешается вводить врачам, имеющим опыт ламинэктомии, дискэктомии и других операций на позвоночнике, которые прошли курс специализированного обучения хемонуклеолизиса. При введении препарата следует обеспечить диагностику и быстрое правильное лечение всех потенциальных осложнений. Отбор пациентов для хемонуклеолизиса требует диагностического и лечебного вертебрологического опыта, поскольку симптомы компрессии нервных корешков могут быть вызваны не только килами межпозвоночных дисков. Препарат

чрезвычайно токсичен при внутривенном введении [40].

Побочное действие. При введении химопапаина приблизительно с частотой 0,5% наблюдается анафилактический шок, который не зависит от типа анестезии и может привести к летальному исходу. Другие нежелательные эффекты – параплегия (парапарез), субарахноидальные или мозговые кровотечения встречаются редко, примерно с частотой 1 на 20000 случаев. Они могут развиваться при проникновении химопапаина в спинномозговую жидкость одновременно с рентгеноконтрастными веществами. Смертность после введения химопапаина составляет около 0,025% (после хирургического лечения – 0,1%). К менее серьезным неврологическим реакциям относятся боли и ощущение жара в поясничной области, боль, слабость и покалывание в ногах, судороги в икроножных мышцах, гипалгезия, парестезии, онемение ног или пальцев стопы. Возможны высыпания на коже, зуд, крапивница, тошнота, паралитическая кишечная непроходимость, задержка мочи, головные боли, головокружение.

Инструкция по медицинскому применению препарата Карпазим

Лекарственная форма Карпазим (Caripazim) это лиофилизированный порошок 350 Г1Е, во флаконе содержится: ферменты получаемые из высушенного млечного сока Папайи (Дынного дерева – *CaricarpaayaL.*, семейство Папасвых – *Caricaceae*), с общей протеолитической активностью 350 ПЕ: папаин, химопапаин А, химопапаин В, пептидаза А и В, муколитический фермент – лизоцим. По описанию: белый, с желтоватым оттенком лиофилизированный порошок или пористая масса со слабым специфическим запахом. Фармако-терапевтическая группа: протсолитическое средство растительного происхождения. Код АТХ-[D03B].

Фармакологическое действие. Протсолитическое средство для наружного применения, расщепляет некротизированные ткани, разжижает вязкие секреты, экссудаты, сгустки крови. По действию близок к химотрипсину и трипсину.

Фармакокинетика. При наружном применении препарат не всасывается и не оказывает системного влияния на организм. При электрофоретическом введении Карпазим селективно накапливается в области пораженных межпозвоночных дисков. Ферменты, входящие в состав

Карипазима, разрушаются и полностью био-трансформируются в печени.

Фармакодинамика. Карипазим относится к протеолитическим средствам растительного происхождения. Свойства препарата обусловлены активностью трех протеолитических ферментов: папаина, химопапаина и протеиназы, а также муколитического фермента-лизоцима, содержащих в своих активных центрах сульфгидрильные группы.

Карипазим путем проникновения в ткани и создания депо в области пораженных межпозвонковых дисков, оказывает местно-избирательное действие на соединительную ткань, в том числе ткань самого диска и грыжевого выпячивания. Карипазим вызывает повышенную секрецию коллагенового белка, что приводит к умеренному рубцеванию рыхловолокнистой части диска. Сохранение биосинтеза хондроитинсульфатов частью клеток повышает трофическую роль пульпозного ядра и восстанавливает тургор диска, делая его более эластичным. Кроме протеолитической активности ферменты, входящие в состав Карипазима, оказывают также мощное противоотечное и противовоспалительное действие. Они улучшают кровообращение, стимулируют фагоцитоз, подавляют активность гиалуронидазы и усиливают регенерацию тканей.

Метод внутридисккового введения папаина (нуклеолизис) при грыжах поясничных дисков впервые применен в Советском Союзе в 1965 г. в клинике нейрохирургии г. Новокузнецка, руководимый А.И. Осна, а затем в клинике вертебральной хирургии Центрального института травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, руководимой А.И. Казьминым. Об эффективности данного метода говорит высокий процент (78–90) отличных и хороших результатов. В последние годы в Советском Союзе стали использовать протеолитические ферменты сока папайи в офтальмологии и нейрохирургии для предупреждения различных заболеваний глаз и при лечении оптохиазмальных арахноидитов, а также травматического поражения периферических нервов, сопровождающегося рубцово-спаечными изменениями. В клинике Центрального института травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова разработаны методики лечения папаином различных видов патологии кисти и раневой инфекции. В соответствии с договором о сотрудничестве, заключенным в марте 1976 г. между Управлением по внедрению новых лекарственных средств

и медицинской техники Министерства здравоохранения СССР, Министерством здравоохранения Словении и фирмой ЛЕК (Любляна, Югославия), был разработан новый препарат протеолитических ферментов дынного дерева, зарегистрированный в декабре 1977 г. под названием Лекозим. Экспериментальные и клинические исследования этого препарата проведены в Центральном институте травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Институте нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Институте глазных болезней им. Гельмгольца (СССР), в ортопедической клинике г. Любляны (Югославия). После тщательного изучения Лекозима разработаны методики лечения им, которые рекомендуются для применения в медицинской практике [2–4, 34–41].

Методики применения препаратов «Карипаин»

Применение препарата Карипаин для лечения заболеваний позвоночника методом физиотерапии. В одном флаконе находится 1 г (порошок) один флакон Карипаина разводятся в 5–10 мл физиологического раствора непосредственно перед процедурой. В раствор добавляется 2–3 капли Димексида. Раствор наносится на фильтровальную бумагу белого цвета, размещенную на прокладках электрода. Размеры электрода-прокладки 10×15 см. Варианты расположения прокладок-электродов: Продольно Карипаин на область шеи (+). Эуфиллин на область поясницы (–). Карипаин на область шеи (+). Эуфиллин на оба плеча раздвоенным электродом (–).

Карипаин на область поясницы (+). Эуфиллин на область бедер раздвоенным электродом. Поперечно Карипаин на область поясницы (+). Эуфиллин на область живота. Температура прокладок в интервале 37–39°C. Контролируется водяным термометром. Сила тока до 10–15 мА (в начале каждой процедуры увеличивается постепенно). Время экспозиции от 10 до 20 минут также увеличивается постепенно. Несоблюдение данных параметров приводит к резкому снижению эффективности препарата.

Электрофорез Карипаина на область келоидных рубцов Карипаин непосредственно на рубец (+). Эуфиллин или йодистый калий на противоположную поверхность, т.е. поперечно (–). Карипаин непосредственно на рубец (+). Эуфиллин продольно на расстоянии 15–20 см от 1-й прокладки (–).

Электрофорез при некоторых формах неврита лицевого нерва. Сила тока от 1 до 5 мА. Карипаин на лицо в виде полумаски Берганье (+). Эуфиллин на межлопаточную область или на противоположном плече (-). Электрофорез Карипаина при арахноидите головного мозга (в т.ч. оптохиазмальном). Сила тока от 1 до 2 мА. Карипаинэндонозально (+). Эуфиллин на нижнешейный – верхнегрудной отдел позвоночника (-). Инструкция по введению Карипаинафл. 1 г методом фонофореза. Фонофорез (ультразвуковое введение) ферментных препаратов, в том числе и Карипаина может проводиться по следующей методике. Флакон с Карипаином растворяют в 5 или 10 мл 1% раствора новокаина (в зависимости от площади озвучивания). Содержимое наносится (шприцем) каплями на пораженную область с последующим растиранием. Затем кладется небольшой слой вазелинового масла, чтобы обеспечить нужный контакт для передачи тканям ультразвуковых колебаний. При лечении поврежденного позвоночника излучателем водят вдоль позвоночного столба, но не по середине, а отступив на 1,5–2 см от центральной оси, по так называемым паравертебральным линиям.

Ультразвуковая головка передвигается медленно при помощи круговых и продольных движений одновременно по поврежденным областям, где нанесен Карипаин, покрытый слоем вазелинового масла. Конкретно, применяют ультразвук частотой 800–1000 кГц на сегментарные зоны паравертебрально с двух сторон, интенсивность 0,3–0,6 Вт/см², режим непрерывный, продолжительность 8–10 мин на поле, при этом площадь одного поля не должна превышать 150–250 см². На один курс лечения назначается 15–30 процедур, процедуры желательно делать ежедневно. Необходимое количество процедур определяет врач. Количество курсов – от 1 до 3, определяет также врач, перерыв между курсами 30–60 дней.

Внимание: данные методики предназначены только для использования специалистами, обладающими необходимыми знаниями и навыками по применению ферментных препаратов методом электрофореза и фонофореза. Применение проводится только на аттестованном оборудовании для физиотерапевтических процедур.

Применение крема Карипаин туба 50 мл для лечения заболеваний позвоночника и суставов. Крем Карипаин рекомендуется регулярно применять при остеохондрозе, межпозвоноковых грыжах, артрите, артрозе,

суставных контрактурах и других заболеваниях позвоночника и суставов. Также крем применяется при келоидных рубцах различного происхождения, стяжках и спаечных процессах. Применяется как самостоятельное лечебное средство или в комбинации с электрофорезом порошка во флаконах Карипаинфл. 1 г (по рекомендации врачей).

Фонофорез крема Карипаин (ультразвуковое введение) Крем Карипаин имеет сбалансированный состав действующих активных веществ с проводниками ультразвука и поэтому не требует при ультразвуковом введении никаких вспомогательных компонентов. По действию Карипаин близок грузинскому Карипазиму. Расход мази при ультразвуковом введении составляет 10 мл на 200 см² озвучиваемой площади тела. Фонофорез (ультразвуковое введение) Карипаина проводится по следующей методике. На пораженную область (позвоночник, суставы, келоидные рубцы, область спаечных процессов) из тубы выдавливают необходимое количество мази и легким растиранием равномерно распределяют по озвучиваемой поверхности. Затем непосредственно приступают к самой процедуре фонофореза [40–41].

При лечении поврежденного позвоночника излучателем водят вдоль позвоночного столба, но не по середине, а отступив на 1,5–2 см от центральной оси, по так называемым паравертебральным линиям. Ультразвуковая головка передвигается медленно при помощи круговых и продольных движений (одновременно) по поврежденным областям, где нанесен слой Карипаина. Конкретно, применяют ультразвук частотой 800–1000 кГц на сегментарные зоны паравертебрально с двух сторон, интенсивность 0,3–0,6 Вт/см², режим непрерывный, продолжительность 8–12 мин на поле, при этом площадь одного поля не должна превышать 200 см². При остром болевом синдроме рекомендуется импульсный режим излучения с длительностью импульсов 10 мс. На один курс лечения назначается 10–30 процедур, процедуры желательно делать ежедневно (допускаются перерывы 1–2 дня). Во время лечения физические нагрузки на организм противопоказаны. Необходимое количество процедур определяет врач. Количество курсов – от 1 до 3, определяет также врач, перерыв между курсами от 1 до 2 месяцев. При лечении суставов интенсивность увеличивают до 0,7–0,9 Вт/см². На область мелких суставов кистей и стоп мазь вводят через мешочек с водой. Для фонофореза лучше

применять аттестованные ультразвуковые аппараты, например, УЗТ-1.01 или УЗТ-1.07.

Это самые универсальные приборы. Их применяют для лечения ультразвуковым методом заболеваний внутренних органов, костно-мышечной и нервной системы. Назначение процедуры фонофореза производит врач, а непосредственно процедуры может выполнять как врач-физиотерапевт, так и медицинская сестра. Они предупреждают больного, что во время процедуры он будет ощущать приятное тепло. Сильное жжение или сильная боль говорят о нарушении правил проведения процедуры, о чрезмерной интенсивности или о плохой переносимости ультразвука (что бывает крайне редко). Инструкция по наружному применению крема Карипаин. Карипаин в своем составе содержит гиалуроновую кислоту, которая помимо собственных лечебных свойств является «транс-портным» агентом по дозированной доставке других активных веществ Карипаина в поврежденные области тела. Поэтому применение Карипаина даже без специальных физиотерапевтических процедур (ультразвука) является эффективным. Применение Крем наносится на соответствующие участки тела массирующими движениями до полного впитывания в кожу 2–3 раза в день. Курс применения – 20–30 дней. При необходимости делают повторные курсы. Перерыв между курсами – от 1 до 2 месяцев. Во время применения Карипаина тяжелые физические нагрузки на организм не рекомендуются. Применять можно при лечебном массаже, в условиях физиокабинетов или в обычных домашних условиях. Противопоказания: индивидуальная непереносимость компонентов крема. Лечение должно проводиться под наблюдением специалистов на аттестованном оборудовании [40–41].

Выводы

Исходя из экспериментальных исследований, пришли к заключению, что полученный нами протеолитический фермент обладает такими же хондролитическими свойствами, как импортный препарат из фармацевтических зарубежных фирм на что и был получен сертификат.

Применение отечественного папаина позволяет эффективно лечить больных, ограничив при этом, применение дефицитных, дорогостоящих импортных препаратов, указанных выше.

Анализ агрометеорологических факторов, влияющих на микроклимат солнечных

теплиц для выращивания дынного дерева по регионам Туркменистана: северный – Конеургенч; восточный – Туркменабад; центральный – Ашгабат; юго-западный – Етрек, свидетельствует о том, что для поддержания комфортного температурного режима (18–22 °С) зимой необходимо количество тепловой энергии по регионам страны; в Конеургенчском 467,3–968,76 МДж; в Туркменабатском 131,4–342,0 МДж; в Ашгабатском 83,5–106,2 МДж; в Етрекском 21,1–0000 МДж.

Технико-экономические показатели, приведенные в работе, подтверждают возможность, а также несомненную перспективность и экономическую рентабельность выращивания дынного дерева в условиях Туркменистана в защищенном грунте с использованием возобновляемых источников энергии и промышленных тепловых отходов себестоимость 1 грамма продукта – 4,28 \$.

Список литературы

1. Бердымухаммедов Гурбангулы Лекарственные растения Туркменистана. 1–3 тома. – Ашгабат, 2009.
2. Абдуллаев А.К., Пенджиев А.М. Применение протеолитических ферментов папаина в лечении гнойных ран // Здравоохранение Туркменистана. – 1998. – № 4.
3. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Средство и способ энтерального лечения гнойных инфекций / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012.
4. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Способ лечения воспаления железистых органов / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012. (антигипоксанты, кортикостероиды и др.) и симптоматических средств.
5. Абилов А.А., Синяшин Н.И., Лисоченко Л.Г. и др. Получение сыворотки нейтрализующей яд среднеазиатской кобры // Вакцины и сыворотки: материалы по производству. – М., 1974. – Вып. 20. – С. 49–51.
6. Баркаган З.С., Перфильев П.П. Ядовитые змеи и их яды. – Барнаул: Алтайское книжное изд., 1967.
7. Беленкий М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л., 1963.
8. Бердыева А.Т. Змеиные яды, их токсическое действие и меры оказания помощи при укусах змей. – Ашхабад: Ылым, 1974.
9. Вальцева И.А. Патологические особенности действия ядов змей, обитающих на территории СССР, и некоторые вопросы экспериментальной терапии. – М., 1969.
10. Мосолов В.В. Протеолитические ферменты. – М.: Наука, 1971.
11. Орлов Б.Н., Вальцева И.А. Яды змей (токсикологические, биохимические и патофизиологические аспекты). – Ташкент: Медицина, 1977.
12. Погуда А.А. Сыворотки против ядов змей гюрзы, эфы, корбы и методы их стандартизации: автореф. дис. ... канд. – М., 1971.
13. Смит Э., Хилле Р., Киммел Д.: Некоторые данные о структуре и ферментативной активности папаина // Современные проблемы биохимии. – М., 1961. – С. 67–99.
14. Султанов М.Н. Укусы ядовитых животных. – М.: Медицина, 1977.

15. Тюкина А.А. Экспериментальное обоснование и клинический опыт некроли-тической терапии глубоких ожогов: автореф. дис. ...д-ра. – Горкий, 1973.
16. Abraham P.T., Annama M. Neurotoxic snakelike leading to respiratory arrest // I. Christ. Med. Assoc. – India, 1973. – Vol. 48, № 2. – P. 74–75.
17. Ansan M.L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and catapsin with hemoglobin // I. Gen. physiol. – 1938. – № 1. – P. 79–83.
18. Banergel R.N., Sanni A.L., Chacko K.M. Neostigmine in the treatment of Elapidae bite // In: 4th international symposium on animal, plant and microbial toxins. – Tokyo, 1974. – P. 35.
19. Grishin E.V., Sukhikh A.P., Lukyanchuk L.N. e.a. Amino acid sequence of neurotoxin 2 from Najnajaoxiana venom // FEBS Lett. – 1973. – Vol. 36, 1. – P. 77–78.
20. Grishin E.V., Sukhikh A.P., Slobodyan L.N. e.a. Amino acid sequence of neurotoxin 1 from Najaoxiana venom // FEBS Lett. – 1974. – Vol. 45, 1. – P. 118–121.
21. Henriques O., Evseeva L. Proteolic, esterase and kinn-releasing activities of some Soviet snake venoms. – Toxicon, 1969. – Vol. 6, 3. – P. 205–210.
22. Hsiung Yu-Liang, Tsou Yu-Chin, Hou Yi-ti e.a.: Experimental studies on curing elapid bite with trypsin // Sci. sinica. – 1975. – Vol. 18, 3. – P. 396–405.
23. Jimenez-Porras J.M. Pharmacology of peptides and proteins in snake venoms // Ann. Rev. Pharmacol. – 1968. – Vol. 8. – P. 299–318.
24. Kocholaty W., Edit B., Ledford E.B., Daly J., Billings T. Toxicity and some enzymatic properties and activities in the venoms of Crotalidae, Elapidae and Viperidae. – Toxicon, 1971. – Vol. 9, 2. – P. 131–138.
25. McCollouch N., Gennaro J. Treatment of venomous snake bite in the USA. Clin. – Toxicol, 1970. – Vol. 3, 3. – P. 483–499.
26. Meldrum B.S. The actions of snake venoms on nerven and muscle. The pharmacology of phospholipase A and polipeptide toxins // Pharmacol. Rev. – 1965. – Vol. 17, 4. – P. 393–495.
27. Russell F.E. Clinical aspects of snake venom poisoning in North America. – Toxicon, 1969. – Vol. 7. – P. 33–37.
28. Russell F.E. Prevention and treatment of venomous animal injuries. – Experientia, 1974. – Vol. 30, 1. – P. 8–12.
29. Russel F.E., Timmermann W., Meadows P. Clinical use of antivenin prepared from goat serum. – Toxicon, 1970. – Vol. 8, 1. – P. 63–65.
30. Tu A.T., Homma M., Hong B.S. Hemorrhagic, myonecrotic, thrombotic and pro- teolytic activities of viper venoms. – Toxicon, 1969. – Vol. 6, 3. – P. 175–178.
31. Пенджиев А.М. Агротехника выращивания дынного дерева (*Caricarpa ya L.*) в условиях защищенного грунта в Туркменистане: автореф. дис. ... д-ра наук. – М., 2000. – 54 с.
32. Пенджиев А.М. Применение протеолитических энзимов папайи (*Caricarpa ya L.*) в медицинской практике // Химико-фармацевтический журнал. – М., 2002. – № 6.
33. Пенджиев А.М. Применение отечественных протеолитических энзимов растительного происхождения в медицинской практик // *Saglyksyýasaty-Serdar Sahawaty*. – Ашхабат, 2000.
34. Пенджиев А.М. Получение отечественных протеолитических ферментов из плодов папайи для применения в клинической медицине.
35. Петровский Б.В. Избранные лекции по клинической хирургии. – М.: Медицина, 1968.
36. Стручков В.К. Руководство по гнойной хирургии. – М.: Медицина, 1984.
37. Лекарственные средства: справочник / под ред. М.А. Клюева, В.Я. Ермакова, Р.С. Скулкова, О.А. Волкова. – 8-е изд. – С. 10, ООО «Книжный дом ЛОКУС», 2000.
38. Кочергина И.Г. Справочник практического врача. – М.: Медицина, 1967.

УДК 615.015.4(075.8); 620.383; 621.472

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЛЕЧНОГО СОКА ДЫННОГО ДЕРЕВА

¹Пенджиев А.М., ²Абдуллаев А.¹*Туркменский государственный архитектурно-строительный институт,
Ашхабад, e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*²*Туркменский государственный медицинский университет, Ашхабад*

В статье описываются фармакологические особенности, биологическая особенность протеолитических ферментов, полученных из дынного дерева выращенные в условия защищенного грунта Туркменистана с использованием возобновляемых источников энергии и промышленных тепловых отходов для создания микроклимата. Приведены целебные химические, физические и фармакологические свойства протеолитических ферментов, полученных из плодов дынного дерева млечный сок, содержащие полезные вещества и их применения в медицинской промышленности.

Ключевые слова: фармакологические, физические, химические свойства, млечный сок, протеолитические ферменты, папайин, химопапайин, пептидаза, дынное дерево, гелиотеплица, Туркменистан

PHARMACOLOGICAL FEATURES OF LACTEAL JUICE OF THE MELON TREE

¹Penjiyev A.M., ²Abdullaev A.¹*Turkmen State Architecturally-Building Institute, Ashkhabad, e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*²*Turkmen State Medical University, Ashkhabad*

In article pharmacological features, biological feature proteolytic enzymes received of a melon tree grown up in conditions of the protected ground of Turkmenistan with use of renewed energy sources and an industrial thermal waste for microclimate creation are described. Curative chemical, physical and pharmacological properties proteolytic enzymes received of fruits of a melon tree the lacteal juice, containing useful substances and their applications in the medical industry are resulted.

Keywords: pharmacological, physical, chemical properties, lacteal juice, proteolytic enzymes, papain, chimopapain, peptidaza, a melon tree, heliohothouse, Turkmenistan

На исходе XX-го века биотехнология, фармакология и генная инженерия, развивались чрезвычайно динамично. В XXI-м же веке им предстоит играть роль ведущих отраслей науки. Их применение будет способствовать прогрессу в медицине и здравоохранении, сельском хозяйстве и производстве продуктов питания.

Несмотря на огромный прогресс в медицине и успех в фармакологии, достигнутые в прошлом, перед учеными все еще непочатый край работы. Сегодня врачи научились устранить причину лишь одной третьей из примерно 30 тысяч известных заболеваний. Что касается остальных двух третей, то доктор вынужден либо лечить симптомы, либо вообще ничего не предпринимать. Кроме того, возникают дополнительные проблемы: известные, считавшиеся побежденными возбудители болезней приобретают резистентность. По всему миру быстро распространяются новые заболевания, чему способствует растущая мобильность людей. В промышленно развитых странах с ростом числа пожилых людей увеличивается доля хронических и возрастных заболеваний.

Генная инженерия и, прежде всего расшифровка геном человека позволяют создавать новые лекарственные препараты. Если мы будем лучше понимать роль генов в развитии болезней и то, как протекают процессы в наших клетках на молекулярном уровне, сможем более целенаправленно вести исследования. С помощью генетики и биотехнологии мы сможем в будущем более эффективно выявлять причины заболеваний; тем самым исследования в области фармакология – это существенный шаг вперед в деле создания новых лекарств, устраняющих саму причину болезни. Большой интерес в этом предоставляют протеолитические ферменты растительного происхождения [1].

На заседании Кабинета Министров Туркменистана, состоявшемся 14 августа 2015 г., Президент страны Гурбангулы Бердымухамедов подчеркнул необходимость увеличения числа тепличных хозяйств по производству сельхозпродукции с целью круглогодичного обеспечения ею населения страны. Опыт работы тепличных хозяйств Лебапского велаята свидетельствует о том,

что помимо овощей и фруктов, в них можно выращивать и другие растения, например, дынное дерево [1–5].

Химические и физические свойства протеолитических ферментов дынного дерева

1. Биологические активные вещества дынного дерева

Биологические активные вещества. Методом электрофореза в кислой среде в латексе дынного дерева (*Carica papaya L.*) идентифицировано 7 белков: липаза, хитиназа, лизоцим и комплекс протеолитических ферментов:

Папаин (ЕС 3.4.22.2) – монотиоловая цистеиновая эндопротеаза. По характеру ферментативного действия ее называют «растительным пепсином». Но, в отличие от пепсина, папаин активен не только в кислых, но и в нейтральных и щелочных средах (диапазон pH 3–12, оптимум pH 5). Он сохраняет активность в широком температурном диапазоне. В каталитическом центре папаина содержится дитиоацильная группа. Фермент связывается с субстратом в местах локализации дисульфидных связей, отдавая преимущество ароматическому аминокислотному остатку в следующей позиции (Jacquet A. etc., 1989). Ген папаина клонирован и секвенирован (Cohen L.W. etc., 1986). Установлено, что он продуцируется растением в виде пропапаина, который после отщепления пептидного фрагмента превращается в активный фермент – папаин. Ген пропапаина, полученный из плодов папайи, клонирован в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Ramjee M.K. etc., 1996) [2–19].

Химопапаин (ЕС 3.4.22.6) – монотиоловая цистеиновая протеиназа. Благодаря субстратной специфичности похожа на папаин, но отличается от него электрофоретической подвижностью, стойкостью и растворимостью. Это полипептид, состоящий из 218 аминокислотных остатков, проявляет значительное структурное сходство с папаином и протеиназой w папайи, включая консервативный каталитический участок и дисульфидные связи (Watson D.C. etc., 1990). Из латекса в процессе хроматографии выделяется несколько изоферментных фракций химопапаина: химопапаин А, В и М. Тем не менее иммунологические исследования указывают на их гомогенность (Buttle D.J. и Barrett A.J., 1984). Установлено, что химопапаин М идентичен ранее описанным цистеиновым протеиназам папайи пептидазе В и протеиназе IV (Thomas M.P.

etc., 1994). По специфичности ферментативного действия напоминает папаин, поскольку связывается с субстратом в сайтах локализации дисульфидных связей, но, в отличие от папаина, расщепление субстрата происходит только в том случае, если в следующей позиции находятся лейцин, валин, треонин или пролин. Активность химопапаина измеряют в нанокаталитических (нКат) и пикокаталитических (пКат) единицах; 1 мг фермента содержит по крайней мере 0,52 нКат единиц [2–19].

Протеиназа IV – цистеиновая протеиназа, основная протеиназа латекса, составляет около 30% присутствующего в нем белка (Buttle D.J. etc., 1989). Проявляет высокую степень гомологии с протеиназой III папайи (81%), химопапаином (70%) и папаином (67%). Очень близка к химопапаину по молекулярной массе и заряду молекулы. Загрязнение этим ферментом химопапаина является причиной его гетерогенности в ходе исследований. М.Р. Thomas и соавт. (1994) относят этот фермент к фракции химопапаина М.

Карикаин (ЕС 3.4.22.30) – наиболее щелочная среди цистеиновых протеиназ латекса папайи. Подобно папаину, он сначала продуцируется в форме неактивного зимогена прокарикаина, содержащего ингибиторный прорегион из 106 N-терминальных аминокислот. Активация фермента заключается в отщеплении прорегиона молекулы без ее последующих конформационных изменений. Строение протеиназ папайи изучено с помощью рентгенструктурного анализа (Maes D. etc., 1996) [2–19].

Протеиназа w (эндопептидаза А, пептидаза А) – монотиоловая цистеиновая протеиназа. Это полипептид, содержащий 216 аминокислотных остатков и 3 дисульфидные связи. Для проявления его ферментативной активности важно наличие свободного остатка цистеина в активном центре (Dubois T. etc., 1988). Проявляет высокую степень гомологии с папаином (68,5%). По специфичности ферментативного действия напоминает папаин, поскольку связывается с субстратом в участках локализации дисульфидных связей. Расщепление происходит тогда, когда в следующей позиции находятся лейцин, валин или треонин. Пептидаза II – щелочная монотиоловая цистеиновая протеиназа. В каталитическом центре содержит дитиоацильную группу. Глицил-эндопептидаза (ЕС 3.4.22.25) [2–19].

В латексе незрелых плодов папайи содержатся также ингибиторы протеолитических ферментов: цистатин (ингибитор

протеиназ с молекулярной массой 11 262 Да) и белок со свойствами ингибитора цистеиновых протеиназ, молекула которого состоит из 184 аминокислотных остатков, содержит 2 дисульфидные связи и 2 углеводных остатка в позициях Asp84 и Asp90 (Odani S. etc., 1996). Последний обладает способностью блокировать активность трипсина крупного рогатого скота и α -химотрипсина за счет экранирования участков связывания этих ферментов на их субстратах. Важное медицинское значение имеет комплекс ферментов латекса папайи – папаин. В состав этого комплекса входит несколько протеолитических ферментов, среди которых пептидаза I (расщепляющая белки на ди- и полипептиды), ренинподобный коагулирующий фермент (свертывает казеин молока), амилалитический фермент, свертывающий фермент, подобный пектазе, и слабый липолитический фермент [2–19].

Свойство папаина. Папаин расщепляет белки до полипептидов и аминокислот, причем гидролизует любые пептидные связи, за исключением связей пролина и связей глутаминовой кислоты с дисоциированной карбоксильной группой. Папаин обладает большей способностью к расщеплению белков по сравнению с большинством протеаз животного и бактериального происхождения. Хотя активность препаратов папаина отличается в зависимости от способа приготовления, он обладает способностью расщеплять нежирное мясо в количестве, в 35 раз превышающем его собственную массу. Папаин высокого качества переваривает яичный альбумин, количество которого в 300 раз больше его собственной массы. При кипячении папаин инактивируется. Глютатион, цистеин и тиосульфат повышают активность папаина, а медь и переизбыток водорода – угнетают ее. Резко повышает активность папаина синильная кислота в микродозах, которые могут быть введены перорально (семена яблок, вишен, миндаля или абрикос). E. Smith и соавт. в 1955 г. обнаружил и получил в кристаллическом виде из млечного сока дынного дерева лизоцим, который отличается от лизоцимов другого происхождения (белка куриного яйца, селезенки кролика и собаки) большей молекулярной массой (приблизительно 25000 кДа) и аминокислотным составом. В плодах папайи найдено 56 летучих органических кислот, среди которых преобладает бутановая кислота (1,2 мг/кг), а также терпеновые соединения, в частности линалоолоксиды. В спелых плодах дынного дерева содержится 8–12%

сахара, значительное количество витаминов А, В1, В2, С и D, тонизирующие вещества. В листьях папайи выявлены свободные и связанные фенольные соединения, танины, органические кислоты и алкалоиды. Другие возможности папаина приведены на схеме.

В кулинарии, помимо уникальных качеств, у папайи есть еще одно немаловажное достоинство – универсальность. Она может использоваться и как фрукт, и как овощ, и как лекарство. Как так? – удивитесь вы. Очень просто. Спелая папайя – фрукт, ее едят на десерт, слегка полив соком лимона или лайма, незрелая – овощ, и используется как компонент овощных салатов и гарниров. А высушенные и размолотые зерна папайи – прекрасная специя, которую добавляют в соусы и винегреты [2–19].

Внутри плодов находятся семена, в состав которых входят: олеиновая, пальмитиновая, стеариновая, линолевая, архидоновая кислоты, применяемые для лечения атеросклероза, и других болезней, а также для изготовления моющих средств, пластификаторов, пеногасителей и прочих изделий, широко применяемых в различных отраслях промышленности.

В листьях имеются свободные и связанные фенольные соединения, танины, органические кислоты, стероидные и три-терпеновые сапонины, флавоноиды, липиды, кумарины, глюкозы, алкалоиды, применяемые при лечении туберкулеза и обладающие желче- и мочегонными свойствами. В Перу листья папайи славятся как незаменимое средство для заживления ран [16–21].

Недавно папайя произвела сенсацию в медицинском мире: индийские ученые обнаружили, что в коре дынного дерева (на котором, как мы говорили, и растения папайя) содержится вещество, в 250 раз более эффективно подавляющее рост раковых клеток, чем самые современные и продвинутое лекарства. Сейчас ведутся исследования (кора никогда прежде не использовалась в медицине), если не будут выявлены противопоказания, папайя даст миру действенное средство от страшной болезни.

В пищевой промышленности плоды дынного дерева идут на приготовление тонизирующих напитков, соков, сиропов, желе.

В пивоваренном производстве и виноделии протеолитический фермент папаин используется для осветления растворов и увеличения срока хранения.

В текстильной промышленности добавка папаина уменьшает скручивание нити и предотвращает усадку шерсти.

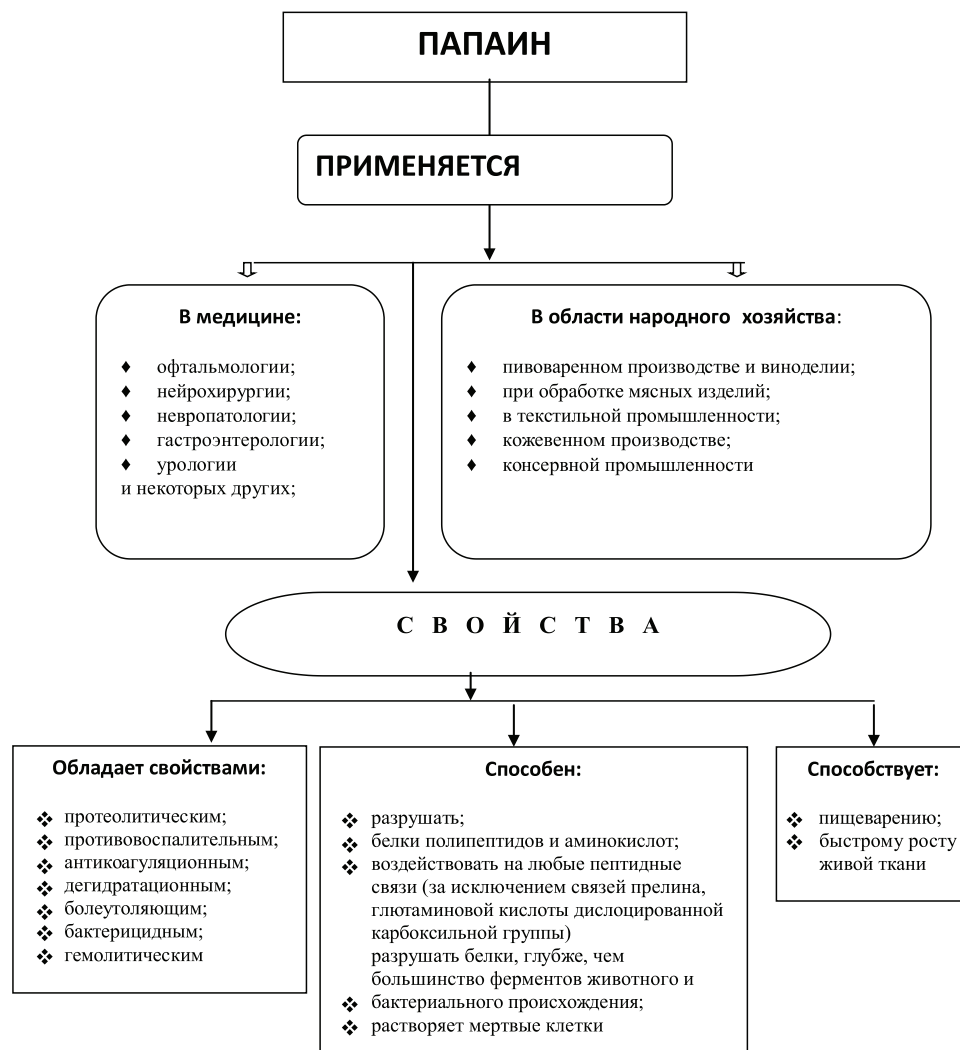


Рис. 1. Схема свойств и применения фермента папаина в народном хозяйстве

В фармацевтической промышленности зарубежных стран выпускается более 100 лекарственных препаратов (лекозим, лекопаин, вобензим, карпазим, кариказа, супер – сжигатель жира N1, бионормалайзер и многие др.), широко применяемых в различных областях медицины [2–5, 16–21].

Например, лекарственный препарат Лекозим – лиофилизированная смесь растительных протеолитических ферментов динного дерева. Она белого цвета, без запаха и вкуса, хорошо растворимая в воде.

Химически Лекозим – 99% белок, состоящий из папаина (12,4%), химопапаина (43,5%), лизоцина (17,4%) и протеиназы X (26,7%). Специфическая активность – 6–7 МЕД ед./мг, что соответствует FIP единицам (FIP – Международная фармацевтическая федерация). Известны различия в аминокислотном составе отдельных

протеолитических ферментов, входящих в Лекозим. Папаин не содержит метионина, в химопапаине его очень мало, а в лизоцине много. Во всех ферментах высоко содержание глицина, а химопапаине, в отличие от других двух энзимов, больше лизина.

N – терминальная группа папаина – изолейцин, химопапаина – глутаминовая кислота, лизоцина – глицин. Ферменты, входящие в состав Лекозима – основные белки, имеющие изоэлектрическую точку в щелочной области. Приблизительный молекулярный вес папаина – 21 000, химопапаина – 36 000, лизоцима – 25 000. Энзимы эти легко окисляются и связываются с тяжелыми металлами, которые ингибируют их; при температуре более 70° они инактивируются. При длительном сохранении в растворенном состоянии теряют активность. Неочищенная смесь стабильная больше года,

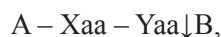
очищенный препарат менее стабилен. Папаин, химопапаин и протеиназа X – протеолитически активные энзимы, лизоцим-мукополисахарид.

2. Дизайн субстратов цистеиновых пептидаз семейства C1

В своей научно-исследовательской работе Т.А. Семашко «Новые селективные пептидные субстраты цистеиновых пептидаз семейства папаина» рассмотрела задачу получения пептидных субстратов семейства папаина, которые отвечали бы следующим требованиям:

1) соответствие аминокислотной последовательности субстратов специфичности ферментов;

2) наличие в субстратах таких структурных элементов, которые обеспечивали бы возможность прямого детектирования ферментативной активности. В соответствии с этим структура субстратов может быть выражена общей формулой



где A = Glp (пироглутамил) Abz (о-аминобензоил); B = pNA (п-нитроанилид), AMC (7-амидо-4-метилкумарин) и AFC (7-амидо-4-трифторметилкумарин); Xaa = Phe, Val; Yaa = Ala; место предполагаемого гидролиза субстратов показано стрелкой. Поскольку субстратсвязывающая область цистеиновых катепсинов невелика по размерам, предлагаемые субстраты – короткие ди- и трипептиды. Исходя из анализа имеющихся литературных данных, мы предположили, что в подцентре P1 субстратов может находиться небольшой по размеру аминокислотный остаток аланина (Yaa = Ala). В положении P2, которое является определяющим для специфичности пептидаз семейства C1, находятся гидрофобные остатки (Xaa = Phe, Val). N-концевая группировка субстратов (A) представлена остатками пироглутаминовой (Glp) и о-аминобензойной кислот (Abz). Остаток пироглутаминовой кислоты, являясь более гидрофильным, чем большинство используемых защитных групп, введен для обеспечения растворимости субстратов в водно-органических смесях. Группировка Abz является флуорогенным маркером. В качестве C-концевых остатков (B) использованы хромогенная п-нитроанилидная (pNA) и флуорогенные 7-амино-4-метил- и 7-амино-4-трифторметилкумаридные группировки (AMC) и (AFC) соответственно, присутствие которых обеспечивает простоту и высокую чувствительность анализа

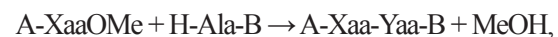
ферментативной активности по изменению спектральных и флуоресцентных характеристик субстратов в ходе гидролиза. Таким образом, нами были предложены следующие субстраты: Glp-Phe-Ala-pNA (I), Glp-Val-Ala-pNA (II), Abz-Phe-Ala-pNA (III), Glp-Phe-Ala-AMC (IV) и Glp-Phe-Ala-AFC (V).

Возможность всех предложенных соединений являться субстратами цистеиновых пептидаз семейства C1 была проверена с помощью метода молекулярного докинга. На рис. 2, а–г показано возможное связывание предложенных субстратов с молекулами папаина, катепсинов B и L и моделью бромелаина, построенной гомологичным моделированием на основе пространственной структуры химопапаина. На рис. 2, д представлены модули энергии связывания полученных комплексов. Было показано, что все вышеперечисленные соединения могут связываться в районе активного центра выбранных пептидаз в конформации, благоприятствующей дальнейшему расщеплению субстратов только по предполагаемой для гидролиза пептидной связи, и, следовательно, являться субстратами исследованных пептидаз.

3. Химико-энзиматический синтез субстратов цистеиновых пептидаз семейства C1

На первом этапе был проведен химический синтез карбоксильных и ряда аминокислотных компонентов пептидной конденсации. Для получения карбоксильных компонентов – Abz-Phe-OMe, Glp-Phe-OMe, Glp-Val-OMe были разработаны методики, основанные на применении метода активированных эфиров. Синтез аминокислотных компонентов пептидной конденсации – Ala-pNA и Gln-pNA проводили с Вос-производными аминокислот и п-нитроанилином в присутствии POCl₃ с последующим удалением защитных групп.

Заключительной стадией синтеза субстратов являлась ферментативная конденсация компонентов: фермент



где A = Glp, Abz; Xaa = Phe, Val; B = pNA, AMC, AFC.

Ферментативное образование пептидной связи гарантировало селективность протекания реакции, обеспечивало оптическую чистоту целевых соединений, а также позволило упростить схему синтеза и выделения продуктов. В качестве катализаторов использовались пептидазы α-химотрипсин

(ХТР) и субтилизин Карлсберг (СЛ), специфичность которых удовлетворяла структуре синтезируемых субстратов. Возможность проведения ферментативного синтеза субстратов была исследована в двух вариантах: (1) под действием нативных ХТР и СЛ в смеси DMF/водный буфер 50/50 об.% и (2) с использованием модифицированных ферментов в безводной среде полярных органических растворителей (DMF-МеСN (20/80 об. %)).

В случае проведения синтезов под действием нативных ферментов концентрация исходных соединений составляла 0,13 М, концентрация ферментов – 50 мкМ ([S]:[E] = 2600:1). Смещение равновесия в сторону синтеза определялось ускорением образования ацилфермента за счет активации карбоксильного компонента, содержащего сложноэфирную группу.

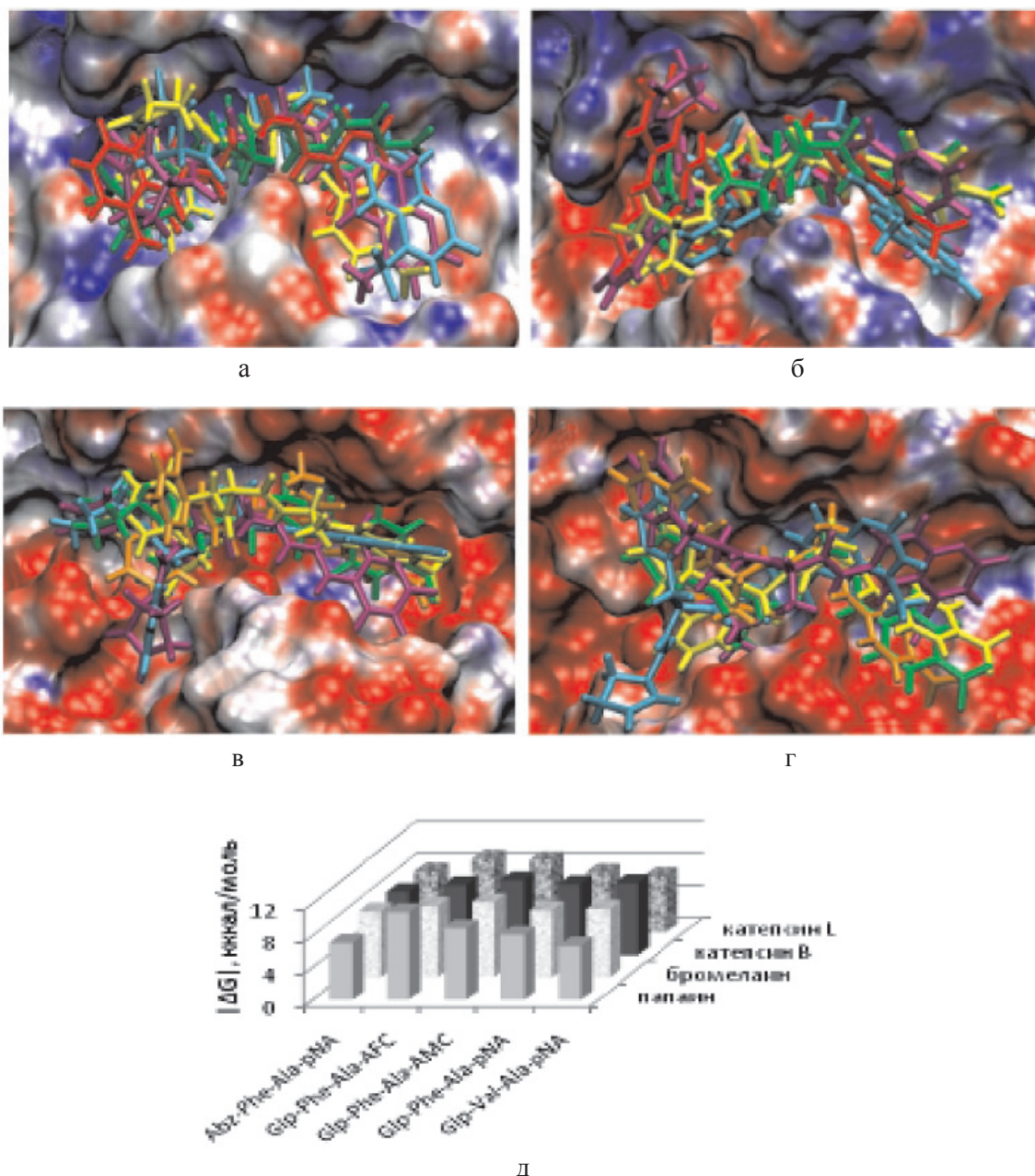


Рис. 2. Моделирование положения субстратов (I)–(V) в зоне связывания папаина (а), бромелина (б), катепсина В (в), ктпсина L (z). Glp-Phe-Ala-pNA (I) – отмечен желтым цветом, Glp-Val-Ala-pNA (II) – зеленым, Abz-Phe-Ala-pNA (III) – красным, Glp-Phe-Ala-AMC (IV) – голубым и Glp-Phe-Ala-AFC (V) – фиолетовым. д – модуль энергии связывания полученных комплексов

Дополнительным фактором смещения равновесия в сторону синтеза являлось выведение продукта из сферы реакции за счет выпадения его в осадок.

Было показано, что под действием нативных пептидаз в водно-органической среде может быть проведен синтез только некоторых субстратов – Glp-Phe-Ala-pNA (I) под действием ХТР и СЛ с выходами 70 и 66% соответственно, Abz-Phe-Ala-pNA (III) под действием ХТР с выходом 70% и Glp-Phe-Ala-AFC (V) под действием ХТР и СЛ с выходами 50 и 18% соответственно.

Более универсальным оказалось проведение ферментативного синтеза субстратов в безводной органической среде под действием ХТР и СЛ, иммобилизованных на криогеле поливинилового спирта (КПВС). Реакция проводилась в смеси DMF-MeCN (20/80 об. %), молярные соотношения фермент/субстрат составляли для синтеза с использованием СЛ 1/(3600–5600), ХТР – 1/(800–2200). Сдвиг равновесия в сторону синтеза осуществлялся благодаря недостатку воды в реакционной смеси. В отличие от водной среды, в органических растворителях под действием иммобилизованных ферментов удалось получить все субстраты, однако эффективность синтеза была различна. В исследованных нами условиях синтез субстратов (I) и (III)–(V), содержащих остаток Phe, проходил гораздо лучше под действием иммобилизованного ХТР (выходы целевых соединений варьировались от 11 до 100% (в случае Glp-Phe-Ala-AMC)), в то время как под действием иммобилизованного СЛ выходы не превышали 44% (Glp-Phe-Ala-pNA (I)). Вместе с тем, синтез Glp-Val-Ala-pNA (II) удалось осуще-

ствить только с использованием СЛ – в присутствии ХТР образования этого пептида не наблюдалось.

Возможность повторного использования иммобилизованных биокатализаторов была показана на примере синтезов Glp-Phe-Ala-pNA (I) и Glp-Phe-Ala-AMC (IV) под действием ХТР, иммобилизованного на КПВС. Выход пептида (I) был достаточно высоким (70–80%) и практически не менялся даже после 6-кратного использования одного и того же образца биокатализатора. В случае Glp-Phe-Ala-AMC эффективность синтеза была одинаковой на протяжении двух циклов. За 4 ч выход (IV) составил 50% и достиг количественного за 48 ч.

В целом, эффективность синтеза производных с Phe выше при использовании ХТР, а с Val – при использовании СЛ. Перспективным методом является получение целевых соединений в органических растворителях с использованием иммобилизованных на КПВС ХТР и СЛ, поскольку в этом случае решается проблема растворимости гидрофобных компонентов.

Иммобилизация пептидаз в этом случае позволяет повысить устойчивость белков к денатурации и дает возможность повторного использования катализаторов. При проведении пептидного синтеза в водно-органических смесях под действием нативных ХТР и СЛ выход целевых продуктов, как правило, выше, синтез проходит быстрее и с меньшим количеством биокатализатора.

Все синтезированные пептиды представляют собой устойчивые кристаллические соединения. Все соединения охарактеризованы величинами хроматографической подвижности в нескольких системах (ТСХ),

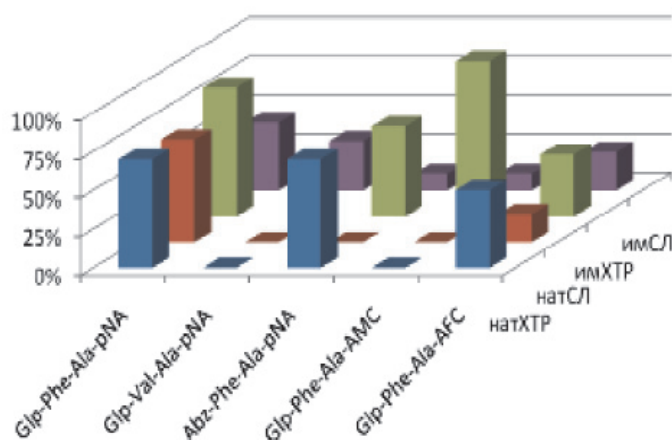


Рис. 3. Ферментивный синтез субстратов (I)–(V) с использованием нативных и иммобилизованных ферментов

временами удерживания (ВЭЖХ), данными аминокислотного анализа, масс-спектрометрии и ЯМР (табл. 1). Получены спектры поглощения п-нитроанилидных производных, а также спектры возбуждения и испускания соединений, содержащих флуоресцентные маркерные группировки. Полученные физико-химические характеристики синтезированных соединений (I)–(V) свидетельствуют об их химической гомогенности и спектральной чистоте.

казана на примере гидролиза их папаином методом ВЭЖХ.

Субстраты (I)–(VI) сравнивались по двум характеристикам: (1) по эффективности гидролиза цистеиновыми пептидазами семейства С1, которая характеризуется скоростью гидролиза и оценивается коэффициентом специфичности ферментативной реакции k_{cat}/K_M и (2) по селективности, т.е. устойчивости субстратов к действию пептидаз других кланов.

Таблица 1

Физико-химические характеристики синтезированных субстратов

Субстрат	АК анализ	ТСХ	ВЭЖХ ³	Мг (рассч./обнар.)	ЯМР ¹ H, DMSO-D ₆ , δ, м.д.
Abz-Phe-Ala-pNA	Phe:Ala 1,04:1	$R_f = 0,32$ ¹	23,5 мин	475,1/ 475,1	1,32 д (3H, -CH ₃), 2,91 (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 3,09 д.д (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 4,39 д.д (1H, -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅), 4,65 м (1H, -CH ₂ -CH ₂), 6,20 с (2H, -NH ₂), 6,42 д.д (1H, -o-C ₆ (O)H ₄ -NH ₂), 6,57 д (1H, -o-C ₆ (O)H ₄ -NH ₂), 7,05 д.д (1H, -o-C ₆ (-NH ₂)H ₄ -O), 7,1-7,30 м (5H, -C ₆ H ₅), 7,39 д (1H, -o-C ₆ (-NH ₂)H ₄ -O), 7,80 д (2H, -o-C ₆ (-NH ₂)H ₄ -NO ₂), 8,16 д (2H, -o-C ₆ (-NH ₂)H ₄ -NO ₂), 8,16 с (1H, -C(O)-NH-CH- в Ala), 8,49 с (1H, -C(O)-NH-CH- в Phe), 10,6 с (1H, -C(O)-NH-CH- в pNA)
Glp-Phe-Ala-pNA	Glu:Phe:Ala 1,02: 1:1,05	$R_f = 0,86$ ¹	19,7 мин	467,2/ 467,2	1,38 д (3H, -CH ₃), 1,73 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,02 м (2H, -C(O)-CH ₂ -CH ₂ -), 2,20 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,81 д.д (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 3,09 д.д (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 3,97 д.д (1H, -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅), 4,44 м (1H, -CH ₂ -CH ₂), 4,58 м (1H, -NH-CH ₂ -CH ₂ -), 7,17-7,27 м - (5H, -C ₆ H ₅), 7,71 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Glp), 7,88 д (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -NO ₂), 8,08 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Ala), 8,25 д (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -NO ₂), 8,46 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Phe), 10,61 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в pNA)
Glp-Phe-Ala-AMC	Glu:Phe:Ala 1,08:1:1	$R_f = 0,32$ ¹	15,9 мин	504,2/ 504,2	1,31 д (3H, -CH ₃ в Ala), 1,73 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,01 м (2H, -C(O)-CH ₂ -CH ₂ -), 2,20 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,39 с (3H, -CH ₃ в AMC), 2,73 м (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 2,87 м (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 3,95 д.д (1H, -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅), 4,44 м (1H, -CH ₂ -CH ₂), 4,56 м (1H, -NH-CH ₂ -CH ₂ -), 6,27 с (1H, -CH ₂ -C ₆ H ₅), 7,27 м - (5H, -C ₆ H ₅), 7,48-7,73 м (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -O-F ₃), 7,75 (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Glp), 7,77 (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -O-F ₃), 8,07 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Ala), 8,43 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Phe), 10,44 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в AMC)
Glp-Phe-Ala-AFC	Glu:Phe:Ala 1,4:1:1,2	$R_f = 0,53$ ¹	23,0 мин	558,2/ 558,3	1,35 д (3H, -CH ₃), 1,71 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 1,99 м (2H, -C(O)-CH ₂ -CH ₂ -), 2,18 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,70 м (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 2,87 м (1H, -CH-CH ₂ -C ₆ H ₅), 3,93 д.д (1H, -CH ₂ -CH ₂ -C ₆ H ₅), 4,39 м (1H, -CH ₂ -CH ₂), 4,54 м (1H, -NH-CH ₂ -CH ₂ -), 6,89 с (1H, -CH ₂ -C ₆ H ₅), 7,23 м - (5H, -C ₆ H ₅), 7,52-7,69 м (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -O-F ₃), 7,88 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Glp), 7,92 (2H, -NH-o-C ₆ H ₄ -O-F ₃), 8,03 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Ala), 8,41 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Phe), 10,59 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в AFC)
Glp-Val-Ala-pNA	Glu:Phe:Ala 1:0,7:1,2	$R_f = 0,88$ ²	21,0 мин	419,2/ 419,2	0,83 д.д (6H, -CH ₃ в Val), 1,15 м (1H, (CH ₂) ₂ -CH-CH-), 1,30 д (3H, -CH ₃ в Ala), 1,87 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 2,09 м (2H, -C(O)-CH ₂ -CH ₂ -), 2,22 м (1H, -CH ₂ -CH ₂ -CH-), 4,13 м (1H, -CH-CH(CH ₃) ₂), 4,20 м (1H, -CH-CH ₃), 4,57 (1H, -NH-CH ₂ -CH-), 7,83 д (2H, -NH-C ₆ H ₄ -NO ₂), 7,91 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Val), 7,93 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Ala), 8,22 д (2H, -NH-C ₆ H ₄ -NO ₂), 8,34 д (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в Glp), 10,59 с (1H, -C(O)-NH ₂ -CH- в pNA)

Примечания: ¹В системе бензол-ацетон-уксусная кислота(100:25:4);

²В системе н-бутан-вода-пиридин-уксусная кислота (15:12:10:3);

³0,1% TFA в линейном градиенте MeCN (1 мл/мин) от 10 до 70% за 30 мин на колонке C₁₈ (4,6×250 мм).

4. Гидролиз субстратов цистеиновыми пептидазами семейства С1

Гидролиз полученных пептидометиков (I)–(V) изучали под действием цистеиновых пептидаз семейства С1 – растительных ферментов папаина, бромелаина, фицина, а также лизосомальных катепсинов млекопитающих и человека В и L. Для анализа субстратной специфичности вышеперечисленных пептидаз мы использовали также Z-Ala-Ala-Gln-pNA (VI).

Все исследуемые субстраты расщеплялись цистеиновыми пептидазами семейства С1. Однозначность расщепления соединений (I)–(VI) по единственной связи между аминокислотным остатком в Р1-положении и соответствующей маркерной группировкой (pNA, AMC, AFC) была по-

4.1. Кинетика гидролиза субстратов цистеиновыми пептидазами семейства С1

Кинетические константы гидролиза синтезированных субстратов цистеиновыми пептидазами представлены на рис. 4. Видно, что флуорогенные субстраты по эффективности гидролиза, определяемой величиной k_{cat}/K_M , на порядок превосходят хромогенные субстраты, причем для всех изученных ферментов, за исключением катепсина L, Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC расщеплялись гораздо лучше, чем Abz-Ala-Phe-pNA. В случае флуорогенных субстратов k_{cat}/K_M была максимальной при гидролизе Abz-Phe-Ala-pNA катепсином L, а в случае хромогенных субстратов – при расщеплении Glp-Phe-Ala-pNA папаином. Наибольшая эффективность

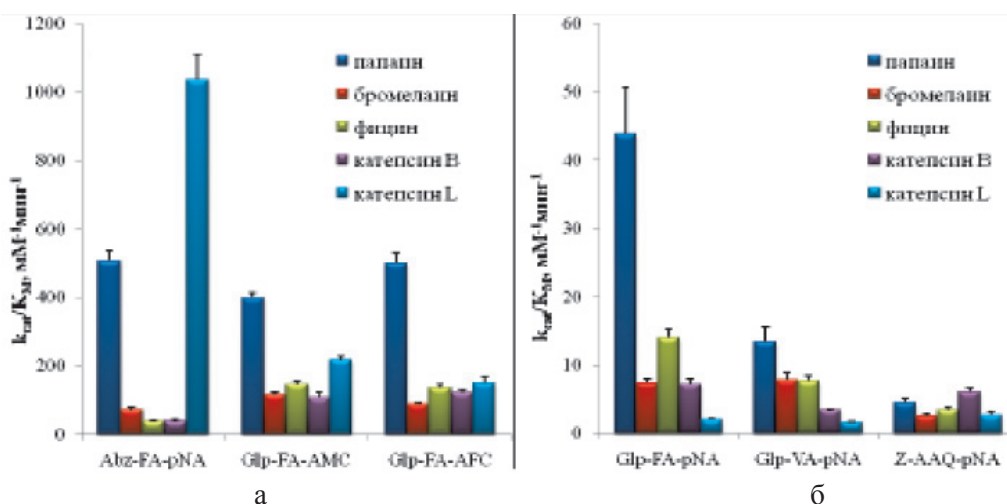


Рис. 4. Эффективность гидролиза флуоренных (а) и хромогенных (б) субстратов цитированных пептидаз семейства С1. Условий реакции: рН 5,6 1 мМ DTT, 2,5% DMF, концентрация пептидаз 20–50 нМ, диапазон концентрации флуорогенных субстратов 1,25–75 мкМ, хромогенных субстратов 25–1000 мкМ

гидролиза всех хромогенных субстратов наблюдалась для папаина, а наименьшая – для катепсина L; в случае папаина, фицина и катепсина В наилучшим субстратом являлся Glp-Phe-Ala-pNA; бромелаин с сопоставимой эффективностью гидролизовал также Glp-Val-Ala-pNA; катепсин L лучше всего гидролизовал Z-Ala-Ala-Gln-pNA.

4.2. Селективность субстратов цистеиновых пептидаз семейства С1

Селективность синтезированных субстратов была исследована с использованием сериновых пептидаз – трипсина, α-химотрипсина, субтилизина Карлсберг; аспартильной – пепсина и металлопептидазы – термолитина. Активность ферментов была измерена в условиях, оптимальных для работы цистеиновых пептидаз: в слабощелочной среде и в присутствии восстановителя дитиотреитола. Полученные данные представлены на рис. 5.

Синтезированные нами флуорогенные субстраты Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC были селективны для цистеиновых пептидаз семейства С1 и не гидролизовались пептидазами других кланов. Субстрат Abz-Phe-Ala-pNA расщеплялся химотрипсином с высокой скоростью и, следовательно, селективным не являлся (рис. 5, а–б).

Среди хромогенных субстратов селективными являются Glp-Phe-Ala-pNA и Glp-Val-Ala-pNA. Субстрат Z-Ala-Ala-Gln-pNA расщеплялся субтилизином Карлсберг (рис. 5, в–г).

Была исследована также селективность распространенных коммерческих хромогенных субстратов Z-Phe-Arg-pNA (VII),

Z-Arg-Arg-pNA (VIII), Bz-Arg-pNA (IX), которые в настоящее время широко используются для тестирования ферментативной активности цистеиновых пептидаз семейства С1. Z-Phe-Arg-pNA (VII) является специфичным субстратом для всего семейства цистеиновых пептидаз семейства С1, Z-Arg-Arg-pNA (VIII) позволяет разделить по активности катепсина В и L, а Bz-Arg-pNA (IX) является самым распространенным субстратом для определения активности цистеиновых пептидаз семейства С1. Для сравнения проводили гидролиз коммерческих субстратов (VII)–(IX) использованными в работе цистеиновыми пептидазами и перечисленными выше пептидазами других кланов (рис. 5, д–е). Z-Phe-Arg-pNA хорошо расщеплялся всеми исследованными цистеиновыми пептидазами, причем наибольшую активность проявлял папаин. Субстрат Z-Arg-Arg-pNA расщеплялся бромелаином и катепсином В, а Bz-Arg-pNA гидролизовался всеми цистеиновыми пептидазами, но с низкой скоростью.

Таким образом, все коммерческие субстраты не являются селективными, т.к. с высокой скоростью расщепляются трипсином.

4.3. Постэлектрофоретическая детекция активности папаина с использованием синтезированных субстратов

Выявленные преимущества синтезированных флуорогенных субстратов Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC позволили разработать высокочувствительный экспресс-метод детекции активности цистеиновых пептидаз после нативного электрофореза в ПААГ.

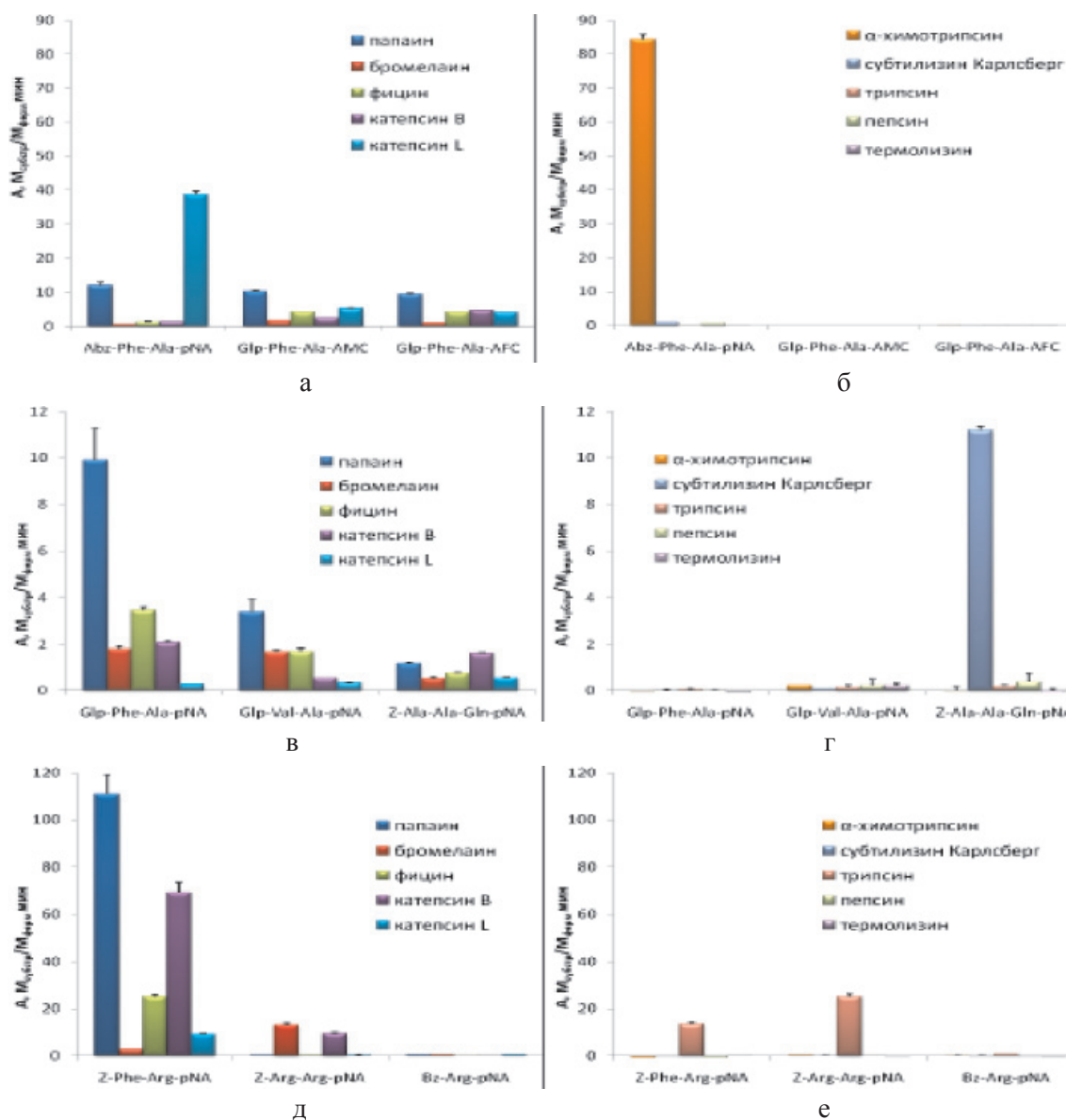


Рис. 5. Активность цистеиновых пептидаз семейства C1 и пептидаз других каналов при гидролизе исследуемых субстратов. Условия реакции: pH 5,6 1 mM DTT, 2,5% DMF, концентрация пептидаз 20–100 нМ, диапазон концентрации флуорогенных субстратов 25 мкМ, хромогенных субстратов 200 мкМ

Активность пептидаз в геле детектировали визуально под УФ-светом. На рис. 6 представлены результаты детекции папаина в геле (в диапазоне 9–174 пмоль) с использованием предложенного подхода в сравнении с другими способами детекции. На полосе А показаны результаты визуализации фермента при окраске геля кумасси, ниже – детекция папаина с использованием хромогенного субстрата Glp-Phe-Ala-pNA (I). Этот метод обнаружения фермента – непрямой и включает наложение на гель мембраны, пропитанной субстратом, с последующим диазотированием выделя-

ющегося п-нитроанилина. На полосах В и Г показаны результаты визуализации папаина с использованием синтезированных нами Glp-Phe-Ala-AMC (IV) и Glp-Phe-Ala-AFC (V). В отличие от использования хромогенного субстрата Glp-Phe-Ala-pNA, применение флуорогенных соединений (IV) и (V) позволяет детектировать активность непосредственно в геле без проведения дополнительных операций. Преимуществом этого подхода является также повышение чувствительности детекции и возможность безошибочной локализации в геле белковой полосы для дальнейшего анализа.

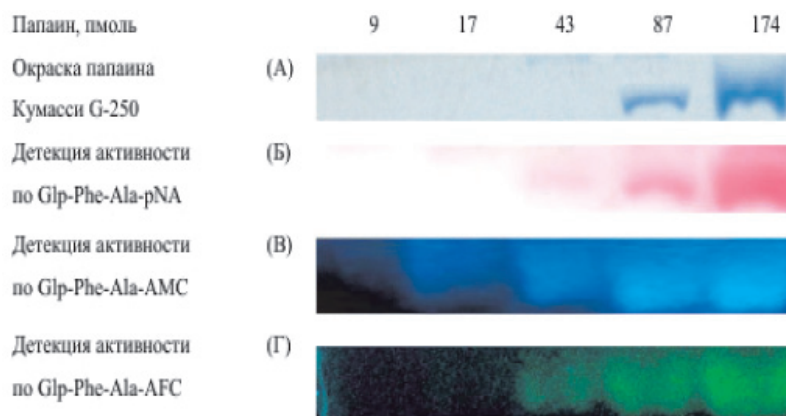


Рис. 6. Различные способы детекции папаина после нативного электрофореза в ПААГ

5. Идентификация и характеристика цистеиновых пептидаз *Tenebrio molitor*

5.1. Фракционирование пептидаз *Tenebrio molitor*

Синтезированные нами субстраты оказались незаменимы и очень эффективны при исследовании цистеиновых пептидаз личинок жука-вредителя зерновых и крупяных запасов большого мучного хрущака *T. molitor* (*Coleoptera: Tenebrionidae*). Отличительной чертой этих ферментов является их высокая нестабильность, обусловленная как их склонностью к автолизу, так и нахождением в составе многокомпонентного пищеварительного комплекса *T. molitor*. Представление о сложном составе пищеварительного комплекса этого насекомого иллюстрируют

результаты хроматографического разделения методом гель-фильтрации экстракта пищеварительных ферментов (рис. 7). В составе комплекса выявлены цистеиновые пептидазы по субстратам Glp-Phe-Ala-pNA и Z-Ala-Ala-Gln-pNA, трипсиноподобные – по Bz-Arg-pNA, химотрипсиноподобные – по Glp-Ala-Ala-Leu-pNA, пролилкарбоксипептидаза по – Z-Ala-Pro-pNA, дипептидилпептидаза IV – по Ala-Pro-pNA, а также ряд других экзопептидаз.

В связи с этим использование синтезированных нами селективных субстратов являлось необходимым залогом успеха в детектировании и идентификации цистеиновых пищеварительных пептидаз *T. molitor*. На рис. 8 приведены профили элюции пептидаз, тестированных по синтезированному нами

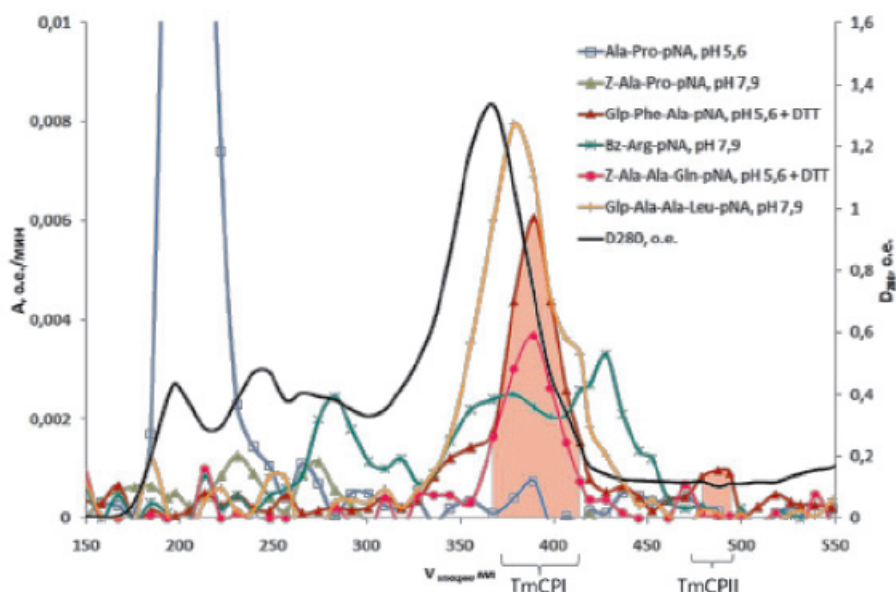


Рис. 7. Фракционирование экстракта пищеварительных пептидаз личинок *Tenebrio molitor* на колонке с *SephadexG-100*, элюция 0,01 М фосфатным буфером, pH 5,6, содержащим 0,5 М NaCl

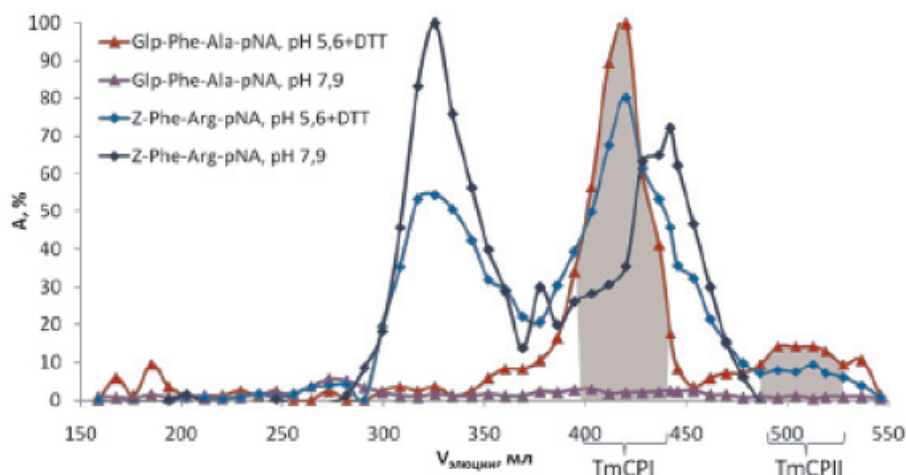


Рис. 8. Использование синтезированного субстрата *Glp-Phe-Ala-pNA* в сравнении с коммерческим *Z-Phe-Arg-pNA* для выявления цистеиновых пептидаз при фракционировании экстракта пищеварительных ферментов личинок *T. Molitor* на колонке с *SephadexG-100*. Условия эксперимента аналогично рис. 7

Glp-Phe-Ala-pNA и коммерческому субстрату цистеиновых пептидаз *Z-Phe-Arg-pNA* в условиях, оптимальных для работы цистеиновых пептидаз (pH 5,6, 1 mM DTT) и трипсиноподобных пептидаз (pH 7,9, без DTT). Видно, что активность по субстрату *Glp-Phe-Ala-pNA* детектировалась только в условиях, оптимальных для работы цистеиновых пептидаз, в пиках TmCPI и TmCPII. Активность по субстрату *Z-Phe-Arg-pNA* проявлялась в обоих рассматриваемых условиях, а также в большем количестве фракций, которые соответствовали элюции не только цистеиновых, но и трипсиноподобных пептидаз. Таким образом, только использование предложенных в нашей работе селективных субстратов позволило однозначно выявить активность цистеиновых пептидаз в столь сложной природной смеси, как пищеварительный комплекс личинок *T. molitor*.

5.2. Идентификация цистеиновых пептидаз *Tenebrio molitor*

Нами были предприняты многочисленные попытки очистить цистеиновые пептидазы TmCPI и TmCPII с помощью ионообменной и гидрофобной хроматографии, ковалентной хроматографии с пиридилдисульфидным сорбентом, а также аффинной хроматографии с использованием в качестве лиганда соевого ингибитора трипсина. Однако все способы и их различные комбинации оказались неэффективными ввиду значительной потери активности пептидаз

и невозможности получить очищенные ферменты. В связи с этим мы разработали методику на основе предложенных нами селективных флуорогенных субстратов, позволившую идентифицировать пептидазы *T. molitor* после всего лишь одной хроматографической стадии очистки. Частично очищенные препараты TmCPI и TmCPII (рис. 7 и 8) подвергали дальнейшему фракционированию посредством нативного электрофореза, после чего непосредственно в геле детектировали активность цистеиновых пептидаз по расщеплению *Glp-Phe-Ala-AMC* (рис. 9). Флуоресцирующие полосы вырезали из геля и анализировали триптические гидролизаты TmCPI и TmCPII с помощью масс-спектрометрии.

Последовательности некоторых из полученных триптических пептидов были определены методом MS/MS. Чистота полученных ферментных препаратов была показана с помощью электрофореза в денатурирующих условиях. Поиск подходящих аминокислотных последовательностей белков был проведен в базах данных NCBI и предоставленной д-ром Брендой Опперт (США) базой кДНК из кишечника личинок *T. molitor*. Таким образом, препарат TmCPI был идентифицирован как катепсин В-подобная пептидаза *T. molitor* (25 кДа).

Препарат TmCPII был идентифицирован как катепсин L-подобная пептидаза (25 кДа), присутствующая в виде близких изоформ, различающихся несколькими аминокислотными заменами.

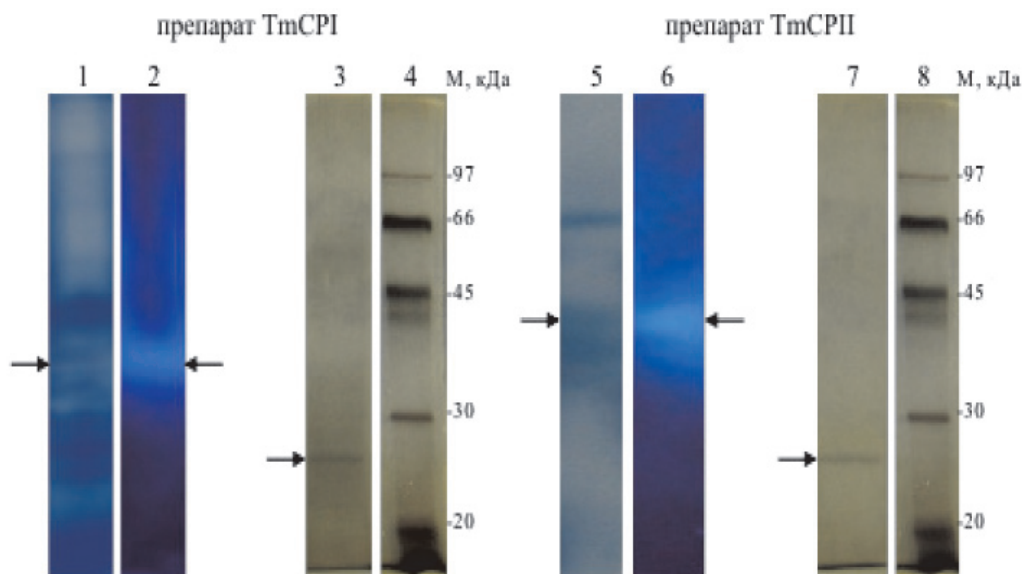


Рис. 9. Электрофоретический анализ TmCPI и TmCPII (показаны стрелками). После нативного электрофореза дорожки 1 и 5 окрашивали Кумасси G-250 для визуализации белка. На дорожках 2 и 6 тестировали активность цистеиновых пептидаз с использованием Glp-Phe-Ala-AMC. На дорожках 3 и 7 представлены результаты электрофореза в денатурирующих условиях фракций TmCPI и TmCPII, изолированных из дорожек 2 и 6, соответственно. Дорожки 4 и 8 – маркеры молекулярной массы. Дорожки 3, 4, 7 и 8 окрашивали серебром

5.3. Субстратная специфичность цистеиновых пептидаз *T. molitor*

Субстратную специфичность идентифицированных пептидаз *T. molitor* изучали с использованием синтезированных (I)–(VI) и коммерческих (VII)–(IX) субстратов.

Активность TmCPI и TmCPII была определена с учетом титрования активных центров ферментов специфическим необратимым ингибитором E-64 (L-транс-эпоксисукцинил-лейциламидо(4-гуанидино) бутаном) и измерена в присутствии ингибиторов сериновых пептидаз PMSF (фенилметилсульфонилфторида) и STI (соевого ингибитора трипсина Куница). Обе пептидазы расщепляли все исследуемые субстраты, но с разной эффективностью (рис. 9). Наибольшую активность пептидазы проявляли при гидролизе субстрата Z-Phe-Arg-pNA. С удовлетворительной скоростью расщеплялись хромогенный субстрат Glp-Phe-Ala-pNA и его флуорогенные аналоги Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC. Катепсин В-подобная пептидаза, как и ее гомолог из млекопитающих, также хорошо расщепляла Z-Arg-Arg-pNA. Специфичность катепсин L-подобной пептидазы из *Tenebrio molitor* не коррелирует со специфичностью катепсина L млекопитающих (рис. 5).

5.4. Гидролиз аналогов токсических пептидов глиадинов катепсинами из различных источников

В работе были использованы флуорогенные аналоги токсических пептидов глиадинов Abz-LPYRQPQLPQ-EDDnp (X) и Abz-QRQQPFQ-EDDnp (XI), любезно предоставленные д-ром Луисом Джулиано (Бразилия). Это пептидомиметики с внутримолекулярным тушением флуоресценции (Abz – флуорофор, EDDnp (этилендиамин 2,4-динитрофенил) – тушитель флуоресценции). Поскольку цистеиновые пептидазы TmCPI и TmCPII способны расщеплять пептидные связи после остатка Gln в субстрате Z-Ala-Ala-Gln-pNA (рис. 10), нами было предположено, что они могут расщеплять и токсические пептиды глиадинов. Активность цистеиновых пептидаз *T. molitor* по субстратам (X) и (XI) была измерена в присутствии ингибиторов сериновых пептидаз PMSF и STI. Для сравнения в этих же условиях был проведен также гидролиз этих субстратов гомологичными пептидазами млекопитающих – катепсинами В и L.

Оказалось, что аналоги токсических пептидов расщеплялись катепсин L-подобными пептидазами и не гидролизировались катепсин В-подобными пептидазами из разных источников (рис. 11). Субстрат

(XI) гидролизовался обоими катепсинами L с сопоставимой скоростью, в то время как субстрат (X) расщеплялся в 5 раз эффективнее пептидазой TmCPII. Таким образом, пищеварительная цистеиновая пептидаза TmCPII из личинок *T. molitor* может быть предложена в качестве кандидата для создания лекарственного препарата против целиакии.

Как видно из проведенных научных исследований Т.А. Семашко можно сделать следующие выводы:

1. Проведен дизайн и осуществлен химико-энзиматический синтез ряда хромогенных и флуорогенных субстратов цистеиновых пептидаз семейства C1: Glp-Phe-Ala-pNA, Glp-Val-Ala-pNA, Abz-Phe-Ala-pNA, Glp-Val-Ala-pNA, Glp-Phe-Ala-AMC, Glp-Phe-Ala-AFC.

2. Определены кинетические параметры гидролиза синтезированных субстратов пептидазами семейства C1 различного происхождения: растительными ферментами папаином, бромелаином и фицином, а также катепсинами В и L млекопитающих и человека. Показано, что эффективность гидролиза флуорогенных субстратов значительно выше, чем хромогенных.

3. Синтезированные пироглутамилпептиды Glp-Phe-Ala-pNA, Glp-Val-Ala-pNA, Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC селективны для цистеиновых пептидаз семейства C1 и, в отличие от коммерчески доступных субстратов, не расщепляются пептидазами других кланов.

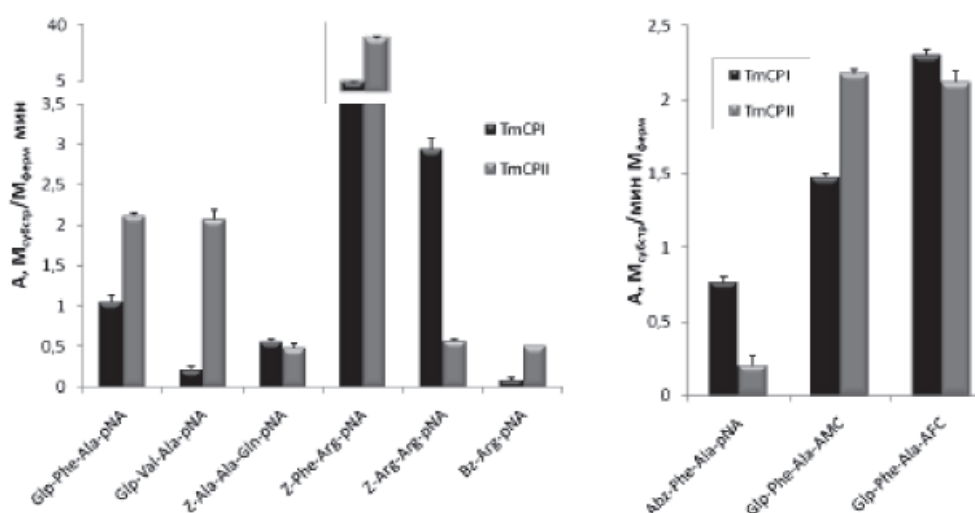


Рис. 10. Субстанция специфичности цистеиновых пептидаз *T. molitor*. Условия реакции: pH 5,6, 1 mM DTT, 2,5% DMF, концентрация хромогенных субстратов 200 мкМ, флуорогенных субстратов 25 мкМ

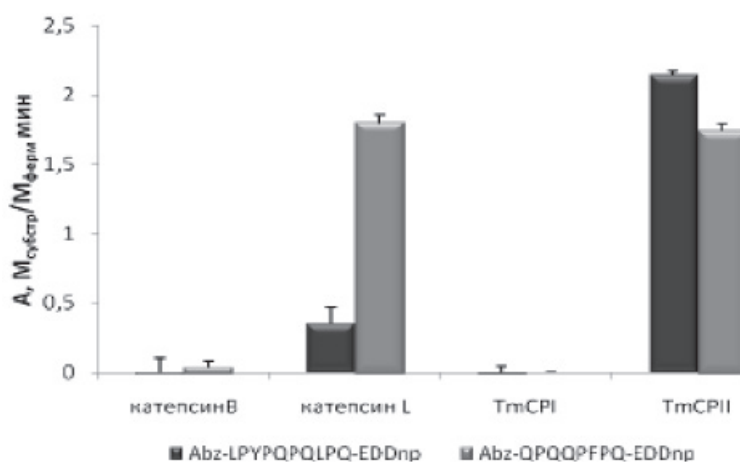


Рис. 11. Гидролиз аналогов токсических пептидов глиадинов катепсин-подобными цистеиновыми пептидазами. Условия реакции: pH 5,6 1 mM DTT, 2,5% DMF, концентрация субстратов 25 мкМ

4. Предложен высокочувствительный экспресс-метод детекции цистеиновых пептидаз семейства C1 после нативного электрофореза в ПААГ с использованием синтезированных флуорогенных субстратов Glp-Phe-Ala-AMC и Glp-Phe-Ala-AFC.

5. С использованием синтезированных субстратов идентифицированы и охарактеризованы катепсин В- и катепсин L-подобные пищеварительные цистеиновые пептидазы из личинок большого мучного хрущака *Tenebrio molitor*.

Более подробно результаты освещены в научных трудах [7–15, 22].

Фармакологические особенности протеолитических ферментов дынного дерева

Фармакологические особенности. Папаин является протеолитическим ферментом, действие которого напоминает действие пепсина. Заместительная терапия папаином существенным образом улучшает процессы пищеварения в желудочно-кишечном тракте. Исследованиями J.L. Breeling установлено, что папаин проявляет локальное действие в желудочно-кишечном тракте и резорбируется в минимальных количествах, что предотвращает негативное побочное действие на внутренние органы, особенно на печень. Папаин разрушает токсины многих возбудителей инфекционных заболеваний, в том числе столбняка. Противомикробные свойства проявляет содержащийся в латексе дынного дерева лизоцим, который гидролизует Я-1,4-связи между остатками N-ацетилмурамовой кислоты и 2-ацетиамидо-2-дезоксид-глюкозы и таким образом разрушает пептидогликан (муреин) – основной компонент клеточной стенки бактерий. Наибольшей чувствительностью к лизоциму характеризуются грамположительные микроорганизмы.

Папаин проявляет антикоагулянтные (фибринолитические) свойства, обладает способностью активировать пламиноген (профибринолизин), вследствие чего последний превращается в плазмин (фибринолизин), расщепляющий фибрин. Фибринолитическое действие папаина более мягкое по сравнению с трипсином. Папаин ускоряет заживление ран, трофических язв, пролежней, способствуя их очищению от некротических масс. При лечении экспериментальных ран у морских свинок и мышей он сокращает продолжительность воспалительной фазы раневого процесса, ускоряет очищение раны от патогенной микрофло-

ры (стафилококков), создает оптимальные условия для репаративных процессов. Папаин стимулирует переваривание нежизнеспособных белковых масс, но вместе с тем является безопасным для жизнеспособных тканей в связи с присутствием в них ингибиторов протеаз. Тем не менее при самостоятельном применении папаин малоэффективен, поскольку для проявления переваривающей функции требуется активатор. Поэтому в препаратах, применяемых в хирургической практике, папаин часто сочетают с цистеином (донором сульфгидрильных групп) или мочевиной, которая обеспечивает активацию сульфгидрильных групп, находящихся в поврежденных нежизнеспособных тканях, но не всегда доступных. Кроме того, мочевина содействует денатурации нежизнеспособных белковых масс и таким образом делает их более чувствительными к ферментативному перевариванию. В эксперименте доказано, что комбинация папаина с мочевиной обеспечивает более сильное (почти вдвое) переваривание телятины в сравнении с чистым папаином. В экспериментальной травматологии продемонстрировано положительное влияние папаина на заживление травматических повреждений. Введение этого фермента в виде препарата «Лекозим» в зону перелома позвонка и лучевой кости кролей содействует лизису некротических структур и созданию условий для ангиогенеза и остеогенеза. При экспериментальных эрозиях роговицы у кроликов инстиляция 0,5–1 % раствора папаина ускоряет процесс эпителизации. Действие на слизистую оболочку конъюнктивы кроликов и ротовой полости человека 10 % раствора папаина (что в 10 раз превышает лечебные дозы) проявляется в кратковременном слушивании поверхностных слоев эпителия, которые быстро регенерируются без дальнейших последствий. Папаин и млечный сок папайи проявляют также противогельминтные свойства [23].

Папаин широко применяется в биологических и биомедицинских научных исследованиях и в биотехнологии, незаменим при исследовании рецепторного аппарата клеток, структуры белков, при химическом анализе и очистке различных биологически активных веществ. Классическими стали исследования структуры иммуноглобулинов путем их ограниченного протеолиза папаином, проведенные Нобелевскими лауреатами G.M. Edelman (нар. 1929) и R.R. Porter (1917–1985). С помощью папаина получают

блокирующие F(ab)₂-фрагменты моноклональных антител, которые нашли применение как в экспериментальной, так и в клинической медицине [23].

Папаин входит в состав полиэнзимных препаратов, содержащих естественные ферменты растительного и животного происхождения. В последнее время они нашли широкое применение в клинической практике как лекарственные средства, влияющие на разные звенья метаболизма. Новым направлением клинического применения ферментных препаратов является метод системной энзимотерапии. Он базируется на комплексном влиянии на гомеостаз специально подобранных комбинаций гидролитических ферментов животного и растительного происхождения. Экспериментальные исследования свидетельствуют, что полиэнзимные препараты более эффективны в сравнении с моноэнзимными.

Фармакологические свойства полиэнзимных препаратов обусловлены их влиянием на разные процессы, обеспечивающие гомеостаз. Они улучшают реологические свойства крови, обладают противовоспалительным, некролитическим, обезболивающим, фибринолитическим и иммуномодулирующим действием, улучшают региональную микроциркуляцию и регенеративные процессы.

Гемореологическое действие полиэнзимных препаратов обусловлено угнетением агрегации тромбоцитов (антитромботический эффект), повышением фибринолитической активности, уменьшением временного периода спонтанного фибринолиза за счет активации плазминогена, увеличением эластичности (флексibility) эритроцитов, снижением адгезии форменных элементов крови к сосудистой стенке [2–5, 15–23].

Противовоспалительное действие энзимных препаратов обусловлено влиянием на иммунные и неиммунные механизмы воспаления. Ферменты разрушают медиаторы воспаления, в том числе простагландины, лизоцим, гаптоглобин, брадикинин, С-реактивный белок, а также влияют на разные звенья процесса воспаления (метаболизм арахидоновой кислоты, системы комплемента, кининов и факторы свертывания крови). Инактивация медиаторов воспаления предопределяет обезболивающий эффект. Энзимные препараты расщепляют плазматические белки, которые проникают при остром воспалении в соединительную ткань, облегчают элиминацию белко-

вого детрита и депозитов фибрина из зоны воспаления, что обеспечивает улучшение микроциркуляции в зоне повреждения и уменьшение локального отека. Поддерживая физиологический процесс ликвидации воспаления, энзимные препараты препятствуют переходу его в хроническую форму. Кроме того, они повышают локальную концентрацию антибиотиков в тканях и содействуют их проникновению в очаг воспаления, способны потенцировать и пролонгировать действие антибиотиков. Доказана способность энзимных препаратов улучшать переносимость полихимиотерапии при онкологической патологии.

Полиэнзимные препараты проявляют иммуномодулирующее действие. Их влияние на иммунную систему заключается прежде всего в модификации иммунного ответа за счет стимуляции иммунокомпетентных клеток, регулирующего действия на молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1, LFA и др.) и иммуносупрессивные механизмы, разрушения и противодействию образованию иммунных комплексов. Основными механизмами иммуномодулирующего действия энзимных препаратов является: стимуляция фагоцитоза, повышение цитотоксичной активности макрофагов, активация в 8–100 раз НК-клеток (естественных киллеров), индукция синтеза цитокинов (фактора некроза опухолей – TNF, интерлейкина-1), угнетение активации комплемента и уменьшение индуцированных им повреждений, элиминация фиксированных в тканях иммунных комплексов, предотвращение образования новых иммунных комплексов, участие в разрушении циркулирующих иммунных комплексов, влияние на аутоиммунные процессы через систему Т-хелперов.

Подробно изучена фармакокинетика полиэнзимного препарата «Вобэнзим», в состав которого входит папаин. После приема внутрь энзимы всасываются в тонком кишечнике в активной форме, сохраняя гидролитическую активность. Всасывание в тонком кишечнике некоторых ферментов достигает 20%. В крови макромолекулы энзимов связываются с антипротеазами α₁-антитрипсином и α₂-макроглобулином. Благодаря этому экранируются антигенные детерминанты протеаз, которые не вызывают сенсибилизацию организма. Максимальная концентрация компонентов полиэнзимных препаратов достигается через 2 часа, поддерживается на стабильном уровне в течение 4 часов, а потом снижается в течение

2 часов. Период полувыведения составляет 8 часов. Энзимы, циркулирующие в крови, частично захватываются звездчатыми ретикулоэндотелиоцитами печени и другими клетками системы мононуклеарных фагоцитов. Около 10% препарата выводится с мочой, около 45% – с калом. Препарат, не абсорбированный в кишечнике, участвует в процессах пищеварения.

При экспериментальной алиментарной гиперхолестеринемии кроликов подтверждено, что препарат «Вобэнзим» проявляет выраженное гиполипидемическое и антиатерогенное действие. Наряду со снижением уровня холестерина сыворотки он тормозит в 2,8–3,2 раза интенсивность захвата липопротеидов плазмы культурой мышечных макрофагов. Предотвращение резкого повышения атерогенности плазмы связывают со снижением интенсивности процессов перекисного окисления липидов (замедлялось увеличение концентрации малонового диальдегида в плазме и моноцитах, повышалась скорость снижения индуцированной хемилюминесценции) при сохранении активности антиоксидантных ферментов (каталазы), снижением активности моноцитов.

В опытах *in vitro* полиферментный препарат «Вобэ-Мугос» нейтрализует инфекционную активность вирусов полиомиелита и осповакцины в культурах клеток мышей, HeLa и амниона человека, а также вируса табачной мозаики при экспериментальном инфицировании растений [2–5, 15–23].

Доказаны противоопухолевые свойства комбинированных энзимных препаратов. При общем культивировании эксплантатов нормальной и раковой ткани установлено, что препараты проявляют выборочное цитолитическое действие только на трансформированные клетки. На животных доказаны антимагистатические свойства препарата «Вобэ-Мугос».

Химопапаин гидролизует неколлагеновые полипептиды и белки, поддерживающие третичную структуру хондропротейна. Уменьшение осмотической активности и абсорбции жидкости приводит к снижению внутрисуставного давления, уменьшению компрессии, следовательно, и боли в пояснице. Этот механизм действия установлен в опытах на животных *in vitro* и *in vivo*. В экспериментах на взрослых собаках через 48 часов и 14 дней после введения химопапаина в поясничный межпозвоночный диск с помощью радиографии выявлено сужение межпозвоночного

пространства. При патологоанатомическом исследовании собак на 14-й день эксперимента наблюдалась кавитация пульпозного ядра. Химопапаин растворяет пульпозное ядро собак и кроликов в дозе 100 и 50 пКат единиц на диск соответственно. Опытами *in vitro* доказано, что химопапаин гидролизует белково-мукополисахаридный комплекс пульпозного ядра межпозвоночного диска человека, но не действует на его коллагеновые структуры.

Экстракты эпикарпа, эндокарпа и семян как незрелых, так и зрелых плодов папайи обладают выраженной бактериостатической и бактерицидной активностью в отношении *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* (Emeruwa A.C., 1982; Osato J.A. etc., 1993). МИС для грамотрицательных бактерий составляет 0,2–0,3 мг/мл, для грамположительных – 1,5–4 мг/мл. Установлено, что антибактериальные вещества плодов папайи имеют белковую природу. Сведения о противомикробных свойствах экстракта листьев папайи довольно противоречивы: J.A. Osato etc. (1993) и С.А. Jimenez Misas etc. (1979) указывают на антибиотическую активность экстракта листьев, а А.С. Emeruwa (1982) – отрицает ее.

Экстракт зрелых семян папайи обладает противоамебными свойствами (МИС < 100 мкг/м) (Tona L. etc., 1998).

In vitro препарат папайи проявляет выраженную противогельминтную активность в отношении паразита птиц *Ascaridia galli*, причем активность превосходит действие пиперазина гексагидрата (Lal J. etc., 1976). Латекс папайи (2–8 г/кг в виде водной суспензии *per os* на протяжении 22 дней) проявляет дозозависимые антигельминтные свойства при естественном аскаридозе свиней (Satrija F. etc., 1994), оксиуридозе мышей (Mehta R.K. и Parashar G.C., 1966), экспериментальной инвазии мышей интестинальными нематодами *Heligmosomoides polygyrus* (Satrija F. etc., 1995).

Латекс папайи угнетает рост дрожжеподобных грибов *Candida albicans* при добавлении в культуру в экспоненциальной фазе роста. Полное угнетение роста грибов наблюдается при концентрации белка около 138 мкг/мл (Giordani R. etc., 1996). Из латекса выделено 2 фермента – α-D-маннозидаза и N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза, которые, особенно первый, угнетают рост грибов

Candida, а в комбинации их действие потенцируется. Фунгистатический эффект обусловлен разрушением клеточной стенки грибов, поскольку после обработки ферментами латекса она теряет полисахариды в поверхностном слое (а при применении N-ацетил-b-D-глюкозаминидазы – и во внутреннем) (Giordani R. etc., 1991). В дозе 0,41 мг белка/мл латекс вдвое потенцирует противогрибковую активность флуконазола в отношении *Candida albicans* (Giordani R. etc., 1997). Как установлено с помощью электронной микроскопии, в основе этого синергического эффекта лежит частичное повреждение клеточной стенки грибов.

Экстракт латекса папайи обладает утеротоническими свойствами, максимально проявляющимися на поздних сроках беременности крыс, которая коррелирует с пиковым уровнем эстрогенов в плазме крови (Cherian T., 2000). Не беременная матка крыс также проявляет чувствительность к экстракту латекса. Предшествующая экспозиция ткани матки с феноксибензамином неконкурентно блокирует эффект экстракта, а блокада рецепторов 5-гидрокситриптамина метисергидом частично угнетает утеротоническую активность. Ингибитор циклооксигеназы индометацин на этот процесс не влияет. Эксперименты со стабилизатором тучных клеток кромогликатом исключают опосредованность утеротонического эффекта экстракта латекса дегрануляцией тучных клеток и их медиаторами (гепарином, биогенными аминами, простагландинами). Очищенный папаин в небольших дозах вызывает кратковременное сокращение мускулатуры матки, а в высоких – его энзиматическое влияние испытывают рецепторные белки. Таким образом, утеротонические свойства экстракта латекса обуславливаются комплексом ферментов, алкалоидов и других веществ, влияющих на а-адренорецепторы матки.

Неспелые семена папайи при пероральном введении крысам в дозе 100 мг/кг на протяжении 8 недель вызывают дегенеративные изменения в герминативном эпителии яичек, уменьшение количества клеток Лейдига. Наблюдалось опустошение трубочек придатков яичек, обнаруживались дегенеративно измененные сперматозоиды (Udoh P. и Kehinde A., 1999). Аналогичное действие проявляет водный экстракт семени папайи при пероральном и внутримышечном введении (Chinoy N.J. и George S.M., 1983; Lohiya N.K. etc., 1994). Результаты исследований указывают на то, что вещества с анти-

сперматогенными свойствами локализуются в хлороформном экстракте семени папайи, в частности в бензольной хроматографической фракции и этилацетатной субфракции (Lohiya N.K. etc., 1992, 1999, 2000). При пероральном введении кролям в дневной дозе 50 мг на животного в течение 150 дней бензольная фракция экстракта уже на 15-й день эксперимента индуцировала азооспермию, которая сохранялась на протяжении всего периода исследования. При этом гематологические параметры, концентрация тестостерона в крови, масса яичек, придатков яичек, семенных пузырьков, простаты и уровень фруктозы, глицерофосфохолина, кислой фосфатазы и лактатдегидрогеназы в плазме спермы оставались нормальными, не изменялось либидо животных, но они были бесплодными. У кролей наблюдалось угнетение подвижности сперматозоидов, олигоспермия и повышение процента аномальных сперматозоидов при минимальных изменениях пролиферативных процессов в яичках. На протяжении 60 дней после отмены препарата жизнеспособность спермы кролей восстанавливалась. Исследование *in vitro* подтверждают, что этилацетатная субфракция хлороформного экстракта семени папайи угнетает подвижность сперматозоидов животных и человека (Lohiya N.K. etc., 2000). При этом движение сперматозоидов человека через 20–25 минут экспозиции полностью прекращалось. С помощью сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии доказано, что биологически активные вещества экстракта семян папайи приводят к повреждению цитоплазматической мембраны в головке и шейке сперматозоидов. Тест на жизнеспособность и анализ числа аномальных сперматозоидов показывают, что после инкубации они становятся бесплодными. Эффект является спермицидным и необратимым. Водный экстракт семени контрацептивными свойствами не обладает. Таким образом, биологически активные вещества семян папайи могут рассматриваться как перспективное контрацептивное средство обратимого действия для мужчин, мишенью которого являются сперматозоиды.

Методом электронно-спиновой резонансной спектроскопии доказано, что экстракты эпикарпа, эндокарпа и семени плодов папайи действуют как эффективные сквенджеры радикалов супероксида (IC50 2,1; 10,0 и 8,7 мг/мл соответственно); проявляют также супероксиддисмутазную активность (соответственно 32, 98 и 33 ед./мл).

В качестве возможных антиоксидантных компонентов папайи рассматриваются витамин С, глюкоза, малатная и лимонная кислоты (Osato J.A. etc., 1993). Выраженные антиоксидантные свойства сохраняются и в продуктах дрожжевой ферментации папайи, входящих в состав пищевой добавки Bio-Normalizer (Bio-catalyzer № 11). Методом электронно-спигового резонанса доказано, что в концентрации 50 мг/мл продукты дрожжевой ферментации папайи поглощают 80% гидроксильных радикалов, образовавшихся в ходе реакции Фентона (IC₅₀ 12,5 мг/мл). Bio-Normalizer эффективно угнетает образование свободных радикалов кислорода в бесклеточной среде (в реакции Фентона, в системах ксантин/ксантинооксидаза, перекись водорода/пероксидаза хрена, перекись водорода/гидрохлорид/пероксидаза хрена), а также частично уменьшает спонтанную и стимулированную менадионом продукцию аниона супероксида в эритроцитах. Одновременно он усиливает безвредную внутриклеточную продукцию аниона супероксида как неактивированными, так и активированными нейтрофилами периферической крови человека и перитонеальными макрофагами крыс (Osato J.A. etc., 1995). Кроме того, он дозозависимо усиливает индуцированные интерфероном- γ (IFN- γ) продукцию оксида азота, фактора некроза опухолей β (TNF- β) и интерлейкина-1 β (IL-1 β) макрофагами мышей RAW 264.7 (Kobuchi H. и Packer L., 1997). Пероральное введение ферментированного препарата папайи крысам в течение 4 недель уменьшает накопление липидных перекисей в коре головного мозга и угнетает формирование эпилептиформных очагов под влиянием внутричерепного введения солей железа. При этом в коре мозга и гипокламе повышалась активность супероксиддисмутазы (Santiago L.A. etc., 1991, Imao K. etc., 1998). В связи с этим препарат имеет перспективы для применения с целью профилактики неврологических нарушений, обусловленных старением и влиянием свободных радикалов.

Латекс незрелых плодов папайи проявляет терапевтический эффект при экспериментальной язве желудка крыс, значительно снижает желудочную секрецию, индуцированную внутривенной инфузией гистамина. Аналогичным эффектом обладает очищенный папаин (Chen C.F. etc., 1981). Экстракты папайи обладают терапевтическим эффектом при экспериментальной желтухе, вызванной у крыс введением сапонозидов

Brenanin briei (Boum B. etc., 1978). Карпаин, выделенный из листьев папайи, тонизирует сердечную деятельность.

Неочищенный этанольный экстракт незрелых плодов папайи проявляет выраженный гипотензивный эффект у крыс с гипертензией, вызванной дезоксикортикостероном и солевой нагрузкой. Вазорелаксирующие свойства этого экстракта подтвердили исследования *in vitro* на полосках аорты, почечных и мозговых артериях кролей (Ено А.Е. etc., 2000). Поскольку гипотензивное действие исследуемого экстракта не проявлялось на фоне предшествующего введения животным пропранолола, а вазорелаксирующему эффекту противодействует фентоламин, авторы делают вывод о α -адреноблокирующей активности компонентов этого экстракта.

Технико-экономические показатели возделывания дынного дерева в Туркменистане

Протеолитические ферменты дынного дерева обладают высокой коммерческой стоимостью (табл. 2). Например, по каталогу «Sigma» за 2015 год; 1 грамм высокоочищенного папаина стоил – 879.0 Евро (EUR), 250 UN химопапаина – 255.0 (EUR). В связи с этим остро стоит вопрос о решении этой проблемы своими силами и средствами.

Традиционное тепличное хозяйство является весьма энергоемким, затраты на технический обогрев составляют 40–65% себестоимости продукции, поэтому при проектировании теплично – парникового хозяйства первостепенное внимание следует уделять выбору наиболее рациональных источников технического обогрева, обосновывая его технико-экономическими расчетами.

Теплую воду (30–70°C), получаемую в результате производственного процесса на заводах и тепловых электростанциях, приходится специально охлаждать в градирнях или брызгальных бассейнах, для того, чтобы ее можно было снова использовать. Огромное количество тепловой энергии, которая могла бы пойти на обогрев сооружения защищенного грунта, теряется при этом безвозвратно. На тепловых и атомных электростанциях около 50–55%: теплоты уносятся охлаждающей водой конденсаторов турбин. Следовательно, для тепловой станции мощностью 1 млн кВт потери теплоты в конденсаторах турбин составляют около 15 млн ГДж в год, что эквивалентно 500 тыс. т условного топлива. Значительным источником тепловых

сбросов являются тепловые электростанции, нефтеперерабатывающие, химические предприятия [2–5, 15–21]. Анализ агрометеорологических факторов аридной экосистемы, влияющих на микроклимат солнечных теплиц для выращивания дынного дерева по регионам Туркменистана: северный – Конеургенч; восточный – Туркменабад; центральный – Ашгабат; юго – западный – Етрек, свидетельствует о том, что для поддержания комфортного температурного режима (18–22 °С) зимой необходимо количество тепловой энергии по регионам страны; в Конеургенчском 467,3–968,76 МДж; в Туркменабатском 131,4–342,0 МДж; в Ашгабатском 83,5–106,2 МДж; в Етрекском 21,1–0000 МДж [2–9].

Следовательно, с 1 га можно добывать 45000 г или 45 кг млечного сока. В одном грамме млечного сока содержится: 10% – папина (45 кг); 16% – лизоцима (472 кг); 50% – химопапина (225 кг); 24% – пеп-

тидаы (108 кг). Соответственно с ценами указанные в табл. 2 можно получить из: папина – 39 555 000 евро, химипапина – 162 225 евро; лизоцима – 24 827,2 евро; пептдазы – 2 310 336 евро. Итого получается: 42 052 388,2 евро.

Технико-экономические показатели теплицы Израильского производства площадью 1 га для выращивания дынного дерева и получения млечного сока приведены в табл. 3.

Технико-экономические показатели, подтверждают возможность интродукции возделывания в аридной экосистеме, а также несомненную перспективность и экономическую рентабельность дынного дерева в условиях Туркменистана в условиях защищенного грунта с использованием возобновляемых источников энергии и промышленных тепловых отходов при этом себестоимость 1 грамма продукта обходится – 2,21 евро.

Таблица 2

Стоимость высокоочищенных протеолитических ферментов дынного дерева по каталогу «Sigma» за 2015 год

Артикул-Пак Размер	Наличие	Цена (EUR)
<i>Высокоочищенного: папина</i>		
P4762 – 50 мг	Расчетное 17.06.2015 Доставка – ОТ	85.00
P4762 – 100 мг	Расчетное 17.06.2015 Доставка – ОТ	146.50
P4762-1G	Расчетное 17.06.2015 Доставка – ОТ	879.00
<i>Химопапина</i>		
C8526-1KU	Расчетное 17.06.2015 Доставка – ОТ	721.00
C8526-250UN	Расчетное 17.06.2015 Доставка – ОТ	255.00

Таблица 3

Технико-экономические показатели теплицы для выращивания дынного дерева и получения млечного сока с площадью 1 га

№ п/п	Экономические показатели	Сумма в евро
1.	Капиталовложения	18 042 388,2
2.	Общее количество добываемого млечного сока в год из плодов в граммах	450 000
3.	Общая выручка	42 052 388,2
4.	<i>Эксплуатационные расходы</i> В том числе: амортизационные отчисления текущий ремонт зарплата топливо на обогрев расходы на удобрение прочие не предвиденные расходы <i>Итого:</i>	285 057,32 108 259,2 54 129,6 52 325,28 54 129,6 7578,44 8635,2 2089377,32
5.	Прибыль в год	39 963 010,88
6.	Себестоимость 1 грамм	2,21
7.	Срок окупаемости (год)	2,5

Традиционное тепличное хозяйство является весьма энергоемким, затраты на технический обогрев составляют 40–65 % себестоимости продукции, поэтому при проектировании теплично – парникового хозяйства первостепенное внимание следует уделять выбору наиболее рациональных источников технического обогрева, обосновывая его технико – экономическими расчетами.

Теплую воду (30–70 °С), получаемую в результате производственного процесса на заводах и тепловых электростанциях, приходится специально охлаждать в градирнях или брызгальных бассейнах, для того, чтобы ее можно было снова использовать. Огромное количество тепловой энергии, которая могла бы пойти на обогрев сооружения защищенного грунта, теряется при этом безвозвратно. На тепловых и атомных электростанциях около 50–55 %: теплоты уносятся охлаждающей водой конденсаторов турбин. Следовательно, для тепловой станции мощностью 1 млн кВт потери теплоты в конденсаторах турбин составляют около 15 млн ГДж в год, что эквивалентно 500 тыс. т условного топлива. Значительным источником тепловых сбросов являются тепловые электростанции, нефтеперерабатывающие, химические предприятия.

Исходя из научного аналитического анализа учитывая биологическую активность, физико-химические свойства, фармакологическую особенность дынного дерева, а также технико-экономические показатели и природно-климатические условия аридной экосистемы, пришли к выводу о необходимости подбора конструкции гелиотеплиц для ее выращивания создания микроклимата с использованием возобновляемых источников энергии и промышленных тепловых отходов в Туркменистане.

Список литературы

1. Бердымухаммедов Гурбангулы Лекарственные растения Туркменистана. 1–3 тома. – Ашгабат, 2009.
2. Абдуллаев А.К., Пенджиев А.М. Применение протеолитических ферментов папайи в лечении гнойных ран // Здравоохранение Туркменистана. – 1998. – № 4.
3. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Средство и способ энтерального лечения гнойных инфекций / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012.
4. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Способ лечения воспаления железистых органов / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012. (антигипоксанты, кортикостероиды и др.) и симптоматических средств.
5. Абдуллаев А.К., Пенджиев А.М. Применение протеолитических ферментов папайи в лечении гнойных ран // Здравоохранение Туркменистана. – 1998. – № 4.
6. Аникина О.М., Семашко Т.А., Оксенойт Е.С., Лысогорская Е.Н., Филиппова И.Ю. Субтилизин Карлсберг, нативный и модифицированный, эффективный катализатор синтеза пептидной связи в органической среде // Биоорганическая химия. – 2006. – Т. 32, № 2. – С. 116–121.
7. Семашко Т.А., Лысогорская Е.Н., Оксенойт Е.С., Бачева А.В., Филиппова И.Ю. Химико-энзиматический синтез новых флуорогенных субстратов цистеиновых протеиназ семейства папайна // Биоорганическая химия. – 2008. – Т. 34, № 3. – С. 376–381.
8. Belyaeva A.V., Semashko T.A., Lysogorskaya E.N., Lozinsky V.I., Filippova I.Yu. Enzymatic synthesis of high specific substrate for cysteine proteases assay // Proceedings of the 29th European Peptide Symposium. – 2006, Poland, Gdansk. – P 0319.
9. Semashko T., Popletaeva S., Oksenoit E., Lysogorskaya E., Filippova I. New selective substrates for detection of cysteine proteinases // Proceedings of the 30th European Peptide Symposium. – 2008, Finland, Helsinki. – P. 468–469.
10. Семашко Т.А., Лысогорская Е.Н., Филиппова И.Ю. Новые флуорогенные субстраты папайна // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Четвертый московский международный конгресс, секция 6 «Биокатализ и биокаталитические технологии». – М., 2007. – Ч. 2. – С. 303.
11. Semashko T.A., Lysogorskaya E.N., Filippova I.Yu. Synthesis of substrates for cysteine proteinases catalyzed by immobilized enzymes // Biocatalysis in Non-Conventional Media: 2nd International Conference. – М., 2008. – P. 49.
12. Semashko T.A., Lysogorskaya E.N., Bacheva A.V., Lozinsky V.I., Filippova I.Yu. Stable Biocatalysts Based on Proteases Immobilized on Poly(vinyl alcohol) Cryogel for Peptide Bond Formation // 8th International Conference on Protein Stabilisation. – 2009, Austria, Graz. – P. 73.
13. Семашко Т.А., Оксенойт Е.С., Лысогорская Е.Н., Бачева А.В., Филиппова И.Ю. Биокаталитическая схема синтеза пептидных субстратов протеаз // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Пятый Московский международный конгресс. – М., 2009. – т. 2. – С. 308.
14. Семашко Т.А. Предсказание субстратной специфичности цистеиновых пептидаз семейства С1 // Ломоносов: XVI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных, секция «Биоинженерия и биоинформатика», подсекция «Биоинформатика». – М., 2009. – С. 23.
15. Семашко Т.А., Поплетаева С.Б., Бабкин П.А., Гоптарь И.А., Филиппова И.Ю., Элпидина Е.Н. Поиск протеиназ, способных расщеплять трудногидролизующие пептиды глиаина // Белки и пептиды: IV Российский симпозиум. – Казань, 2009. – С. 380.
16. Пенджиев А.М. Агротехника выращивания дынного дерева (Caricarpa papaya L.) в условиях защищенного грунта в Туркменистане: автореф. дис. ... д-ра наук. – М., 2000. – 54 с.
17. Пенджиев А.М. Применение протеолитических энзимов папайи (Caricarpa papaya L.) в медицинской практике // Химико-фармацевтический журнал. – М., 2002. – № 6.
18. Пенджиев А.М. Применение отечественных протеолитических энзимов растительного происхождения в медицинской практик // Saglyklyýasaty-SerdarSahawaty. – Ашхабат, 2000.
19. Пенджиев А.М. Получение отечественных протеолитических ферментов из плодов папайи для применения в клинической медицине // Здравоохранение Туркменистана. – 1997. – № 1.
20. Penzhiev A.M. The technology of growing the papaya (Carica papaya) under conditions of arid zone Problems of desert development, allerton press. – Inc. New-York, 1997. – № 2.
21. Penzhiev A.M. Ecoenergy resources of greenhouse facilities in the arid zone Problems of desert development, allerton. – Inc. New-York 1998. – № 5.
22. Semashko T.A., Popletaeva S.B., Filippova I.Yu., Elpidina E.N. Digestive cysteine cathepsins against celiac disease. 9th Young Scientist Forum and 34th FEBS Congress, 2009, Czech Republic. – Prague. FEBSJournal. – Vol. 276. – P. 388.
23. Лекарственные средства: справочник / под ред. М.А. Клюева, В.Я. Ермакова, Р.С. Скулкова, О.А. Волкова. – 8-е изд. – С. 10, ООО «Книжный дом ЛОКУС», 2000.

УДК 577.156; 615.015.4(075.8); 620.383; 621.472

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПАПАЙИ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ

¹Пенджиев А.М., ²Абдуллаев А.

¹*Туркменский государственный архитектурно-строительный институт, Ашхабад,
e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*

²*Туркменский государственный медицинский университет, Ашхабад*

В статье рассмотрены биотехнологические особенности протеолитических ферментов дынного дерева выращенные в условия защищенного грунта Туркменистана с использованием возобновляемых источников энергии и промышленных тепловых отходов для создания микроклимата. Описана химическая модификация комплекса протеиназ папайи синтетическими полимерами – полиамидом, полиуретаном. Изучены свойства модифицированных ферментных препаратов: показана их устойчивость к протеолизу при физиологических условиях и деструкция в щелочной области pH. Модификация комплекса протеиназ папайи усиливает влияние цистеина на стабильность модифицированных препаратов. Осаждение их при кислых значениях pH позволяет легко отделять биокатализатор от реакционной смеси. Обсуждаются перспективы дальнейшего исследования полученных производных. Приведены химические и физические лекарственные свойства препарата полученных из млечного сока «Лекозима» и его методы применение в ортопедии, нейрохирургии, офтальмологии.

Ключевые слова: фармакологические, лечебные свойства, млечный сок, протеолитические ферменты, папайин, химопапайин, пептидаза, дынное дерево, гелиотеплица, Туркменистан

EFFICIENCY OF USE OF PROTEOLITIC ENZYMES OF THE PAPAYA IN MEDICAL PRACTICE

¹Penjiyev A.M., ²Abdullaev A.

¹*Turkmen State Architecturally-Building Institute, Ashkhabad, e-mail: ampenjiev@rambler.ru;*

²*Turkmen State Medical University, Ashkhabad*

In article biotechnological features proteolytic enzymes of a melon tree grown up in conditions of the protected ground of Turkmenistan with use of renewed energy sources and an industrial thermal waste for microclimate creation are considered. Preparations of proteinase papaya complex modified by synthetic polymers (polyamide, polyurethane) were obtained. The properties of derivatives were analyzed. It was demonstrated that despite chemical modification of enzymes they are still activated by sulfhydryl reagents. Modified preparations are resistant enough to proteolysis under physiological conditions and are destructed at alkaline pH. Modification potentiates the regulatory effect of cysteine on the stability of enzyme derivatives. They can be easily separated from the reaction medium by sedimentation at acidic pH. Further trends in the study of modified preparations are discussed. Chemical and physical medicinal properties of a preparation received of lacteal juice «Lekozima» and its methods применение in orthopedy, neurosurgery, ophthalmology are resulted.

Keywords: pharmacological, medical properties, lacteal juice, proteolytic enzymes, papain, chemopapain, peptidase, a melon tree, heliohothouse, Turkmenistan

Одной из основных задач Национальной программы «Здоровье» основателем которого является Президент Туркменистана Гурбангулы Беодымухамедов – обеспечение населения страны лекарственными препаратами за счет лекарств отечественного производства, изучение возможности выращивания ценных лекарственных растений в условиях Туркменистана, разработка агротехники возделывания и обеспечение страны медицинскими препаратами и ценным сырьем для промышленности [1].

В современном мире большое внимание уделяется использованию в медицинской практике биологически активных препаратов растительного происхождения.

Мировая медицина ограничивается от использования антибиотиков, так как

снижается иммунная система и приводит к другим сложным последствиям. Ученые полагают, что в будущем антибиотики могут быть заменены супер-антителами, для которых не будет препятствием клеточная стенка, которые смогут проникать внутрь клеток и уничтожать болезнетворные бактерии, вирусы и токсины. Они испытывают технологию модификации антител, которая позволяет им свободно проникать в клетки и покидать их [1, 2–9, 12].

Авторы осознают, что при написании статьи не все задуманное удалось реализовать в полном объеме. Прекрасно понимают, что делают научный обзор по использованию лекарственных энзимов растительного происхождения в широком направлении, поэтому имеется недостатки как в теоретическом

плане, так в прикладной, практической части. Но тем не менее вопрос использования нанотехнологии в генной инженерии и, прежде всего расшифровка геном человека позволяют создавать новые лекарственные препараты. Если будем лучше понимать роль генов в развитии болезней и то, как протекают процессы в наших клетках на наноуровне, сможем более целенаправленно вести исследования. С помощью генетики и биотехнологии сможем в будущем более эффективно выявлять причины заболеваний; тем самым исследования в области фармакология – это существенный шаг будет в деле создания инновационных лекарственных средств, устраняющих саму причину болезни. Большой интерес в этом представляют протеолитические ферменты растительного происхождения дынного дерева [1–4].

Сделанный научно-информационный обзор, собранные материалы и методика подхода могут быть полезны для применения их не только в клинической медицине Туркменистана, но и в других странах мира.

Биотехнологические особенности дынного дерева

Ботаническое описание. Дынное дерево или папайя (*Carica papaya L.*) – многолетнее тропическое пальмоподобное растение высотой до 4–6 м семейства папайевых (*Caricaceae*). Ствол зеленый, травянистый, не деревенеющий, не имеет ветвей. Плоды свисают на черенках под кроной, сочные, очень большие (длиной до 10–30 см, массой до 1–4 кг), по размерам и форме напоминают дыню. Спелые плоды желтого цвета – съедобные. Внутри полость, наполненная черными семечками [2–9].

Лекарственное сырье. В качестве лекарственного сырья используют высушенный млечный сок – латекс. Коагулированные комья латекса крошат и высушивают на солнце или при легком искусственном подогревании (в последнем случае получают папаин более высокого качества). Полученный латекс растворяют в воде и осаждают спиртом для очистки папаина. В меньших количествах папаин содержится и в других частях растения, в частности в листьях (*Folia Caricae Papayae*) [2–4, 8–11].

Биологически активные вещества. Методом электрофореза в кислой среде в латексе *Carica papaya L.* идентифицировано 7 белков: липаза, хитиназа, лизоцим и комплекс протеолитических ферментов:

Папаин (ЕС 3.4.22.2) – монотиоловая цистеиновая эндопротеаза. По характеру ферментативного действия ее называют «растительным пепсином». Но, в отличие от пепсина, папаин активен не только в кислых, но и в нейтральных и щелочных средах (диапазон pH 3–12, оптимум pH 5) [2–4, 8–11, 17–20].

Химопапаин (ЕС 3.4.22.6) – монотиоловая цистеиновая протеиназа. Благодаря субстратной специфичности похожа на папаин, но отличается от него электрофоретической подвижностью, стойкостью и растворимостью [2–4, 12, 13].

Протеиназа IV – цистеиновая протеиназа, основная протеиназа латекса, составляет около 30% присутствующего в нем белка (Buttle D. J. etc., 1989). Проявляет высокую степень гомологии с протеиназой III папайи (81%), химопапаином (70%) и папаином (67%). Очень близка к химопапаину по молекулярной массе и заряду молекулы. Загрязнение этим ферментом химопапаина является причиной его гетерогенности в ходе исследований. М.Р. Thomas и соавт. (1994) относят этот фермент к фракции химопапаина М [2–4, 8–11, 15, 16].

Карикаин (ЕС 3.4.22.30) – наиболее щелочная среди цистеиновых протеиназ латекса папайи. Подобно папаину, он сначала продуцируется в форме неактивного зимогена прокарикаина, содержащего ингибиторный прорегион из 106 N-терминальных аминокислот. Активация фермента заключается в отщеплении прорегиона молекулы без ее последующих конформационных изменений. Строение протеиназ папайи изучено с помощью рентгенструктурного анализа (Maes D. etc., 1996) [2–4, 11–18].

Протеиназа w (эндопептидаза А, пептидаза А) – монотиоловая цистеиновая протеиназа. Это полипептид, содержащий 216 аминокислотных остатков и 3 дисульфидные связи. Для проявления его ферментативной активности важно наличие свободного остатка цистеина в активном центре (Dubois T. etc., 1988). Проявляет высокую степень гомологии с папаином (68,5%). По специфичности ферментативного действия напоминает папаин, поскольку связывается с субстратом в участках локализации дисульфидных связей. Расщепление происходит тогда, когда в следующей позиции находятся лейцин, валин или треонин. Пептидаза II – щелочная монотиоловая цистеиновая протеиназа. В каталитическом центре содержит дитиоацильную группу.

В латексе незрелых плодов папайи содержатся также ингибиторы протеолитических ферментов: цистатин (ингибитор протеиназ с молекулярной массой 11 262 Да) и белок со свойствами ингибитора цистеиновых протеиназ, молекула которого состоит из 184 аминокислотных остатков, содержит 2 дисульфидные связи и 2 углеводных остатка в позициях Asp84 и Asp90 (Odani S. etc., 1996) [2–4, 12–19].

В зрелых плодах дынного дерева содержится 8–12% сахара, значительное количество витаминов А, В₁, В₂, С и D, тонизирующие вещества. В листьях папайи выявлены свободные и связанные фенольные соединения, танины, органические кислоты и алкалоиды.

В листьях имеются свободные и связанные фенольные соединения, танины, органические кислоты, стероидные и тритерпеновые сапонины, флавоноиды, липиды, кумарины, глюкозы, алкалоиды, применяемые при лечении туберкулеза и обладающие желче- и мочегонными свойствами [2–4, 11–20].

Фармакологические свойства. Эти протеолитические ферменты растительного происхождения обладают противовоспалительными, антикоагуляционными, диградационными, болеутоляющими, бактерицидными, гемолитивными свойствами. Данные ферменты широко применяются в медицинской практике: офтальмологии, хирургии, нейрохирургии, ортопедии, урологии, гастроэнтрологии и др. Они способствуют разрушать белки полупептидов и аминокислот, растворяют мертвые клетки, при этом не влияя на нормальные.

Модификация комплекса протеиназ папайи синтетическими полимерами. Изучение деструкции ферментных препаратов

Проблема повышения эффективности терапии во многом решается благодаря поиску новых лекарственных средств, важное место среди которых отводится модифицированным производным биокатализаторов с пролонгированным терапевтическим действием [6–8]. Как правило, модификацию ферментов выполняют с использованием растворимых полимеров. В Институте молекулярной биологии и биологической физики АН Грузинской ССР получены водорастворимые и биосовместимые производные полиуретанов и полиамидов [6]. Ранее уже была показана их пригодность для использования в качестве стабилизи-

рующих фермент (трипсин, химотрипсин) носителей [12]. В настоящей работе изучена модификация этими полимерами терапевтически значимого ферментного препарата – комплекса протеиназ папайи [12, 13].

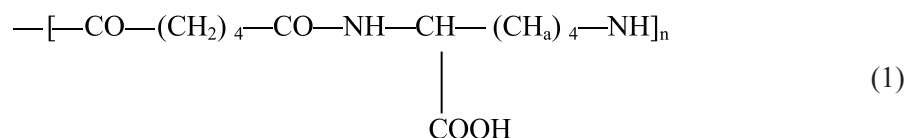
С целью определения целесообразности дальнейшего медико-биологического испытания модифицированных ферментов проведено сравнительное изучение их деструкции под действием экстремальных рН и протеаз. Сопоставление данных о целостности набора молекул ферментного препарата (на основе результатов молекулярно-массового распределения и его каталитической активности) позволяет не только оценить влияние носителя на лекарственный агент, но и сформулировать рекомендации для фармакологического исследования модифицированных препаратов биокатализаторов.

В своей научной статье А.В. Максименко, Л.А. Надирашвили, В.В. Абрамова, Г.С. Еркомаишвили, Р.Д. Кацарава, В.П. Торчилин «Модификация комплекса протеиназ папайи синтетическими полимерами. Изучение деструкции ферментных препаратов» проведенных в Институт экспериментальной кардиологии Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР и Институт фармакохимии имени И.Р. Кутателадзе АН Грузинской ССР, Тбилиси.

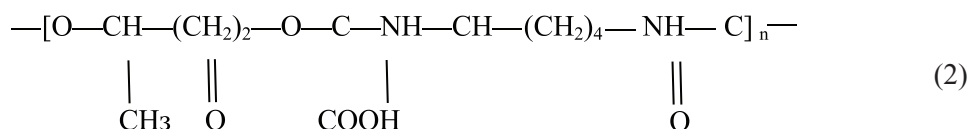
В статье авторами описана химическая модификация комплекса протеиназ папайи синтетическими полимерами – полиамидом, полиуретаном. Изучены свойства модифицированных ферментных препаратов: показана их устойчивость к протеолиту при физиологических условиях и деструкция в щелочной области рН. Модификация комплекса протеиназ папайи усиливает влияние цистеина на стабильность модифицированных препаратов. Осаждение их при кислых значениях рН позволяет легко отделять биокатализатор от реакционной смеси. Обсуждаются перспективы дальнейшего исследования полученных производных.

Условия проведения эксперимента

Реагенты. Нативный препарат комплекса протеиназ папайи (КПЛ) из млечного сока дынного дерева был выделен и охарактеризован по описанному методу [6, 7]. Полимерные носители были получены из Института физиологии им. И.С. Бериташвили АН Грузинской ССР. Ими были водорастворимый полиамид с молекулярной массой 50–60 кД.



и полиуретан с молекулярной массой 45–50 кД [4]



Этиловый эфир N-бензол-L-аргинина (BAEE), L-цистеин, «субтилизин Карлсберг» произведены фирмой Sigma (США). Проназа Е, N-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимид, 3-меркапто-1,2-пропандиол – производства фирмы Serva (ФРГ); сефадекG-75 superfine получен от фирмы Pharmacia (Швеция). Все остальные реагенты – продукты производства «Реахим» (СССР) аналитической степени чистоты.

Ковалентное присоединение КПЛ к полимерным носителям. Связывание ферментного препарата с карбоксилсодержащими полимерами проводили через карбодиимидную активацию в соответствии с [8]. 20 мг носителя (полиамида или полиуретана) растворяли в 2 мл 0,01 М раствора трис-буфера, рН 8,0. Затем добавляли 1 мл того же буферного раствора, содержащего 2,5 мг карбодиимида. Смесь инкубировали в течение 30 мин при 4°, после чего добавляли 1 мл раствора того же буфера, содержащего 10 мг нативного КПЛ и 2,5 мг цистеина (для сравнения были выполнены эксперименты и без цистеина в реакционной смеси). Дальнейшую инкубацию проводили в течение 20 ч при 4°. Препараты выделяли методом ультрафильтрации на установке «Amicon» (США) с фильтром ХМ-30, проводя отмывку дистиллированной водой до постоянной оптической плотности промывных вод (220 нм). После этого препараты лиофилизировали. Сравнительное определение молекулярной массы производных проводили методами гель-хроматографии и электрофореза.

Изучение деструкции ферментных препаратов. За деструкцией полимерных образцов следили, сопоставляя профили элюции проб инкубационной смеси с колонки сефадекса G-75 [9]. Инкубацию препаратов проводили в 0,1 М трис-буфере, рН 7,4 и 0,1 М боратном буфере, рН 9,6, при 30° как в отсутствие, так и в присутствии протеаз – проназы или субтилизина. Концен-

трация в инкубационной смеси нативного препарата 1 мг/мл, модифицированных – 1–3 мг/мл; проназы 0,2 мг/мл, субтилизина 0,1 мг/мл; носителей (1 мг/мл). Оптическую плотность проб элюата для нативного и модифицированных препаратов регистрировали при 280 нм, для полимерных носителей – при 208 нм.

Определение каталитической активности. Каталитическую активность ферментных препаратов определяли методом измерения начальных скоростей гидролиза 0,05 М раствора BAEE с 0,1 М КС1 на рН-стате «Radiometer» (Дания) при рН 7,0 и комнатной температуре.

Влияние сульфгидрильных реагентов на каталитическую активность ферментных препаратов исследовали измерением последней до и после (в течение 5 ч) добавления 10 мг/мл меркапто-пропандиола (1 мМ) к растворам биокатализаторов [6].

Измерение термостабильности ферментных препаратов. Растворы нативного и модифицированного полиамидом или полиуретаном (10 мг/мл) комплекса протеиназ папайи инкубировали при 37°С в 0,1 М буферных растворах, рН 7,4 или рН 9,6, в присутствии 6 мг/мл и в отсутствие цистеина. Периодически отбирали пробы из инкубационной смеси (0,2 мл) и определяли на рН-стате их каталитическую активность, как описано выше.

Титрование сульфгидрильных групп ферментных препаратов. Эксперимент проводили по методу Элмана [10], как описано ранее [7]. Титрант – 5,5-дитио-бис-2-нитробензойная кислота (получен от фирмы Calbiochem, США), коэффициент экстинкции 13 600 М·см⁻¹ [6, 7, 12, 13].

В результате получены:

Свойства препаратов комплекса протеиназ папайи, модифицированного синтетическими полимерами. В результате ковалентного присоединения КПЛ к полиамиду или полиуретану с носителем связывается

Таблица 1

Каталитические параметры – ферментативного гидролиза ВАЕЕ нативным и модифицированным комплексами протеиназ папайи (0,1 М КСl, рН 7,0, комнатная температура)

Препарат	Остаточная каталитическая активность, %	Содержание SH-групп	$K_m^{каж}$, мМ	$K_m^{каж} \times_{c-1}$, мМ	рН опт	Молекулярная масса, кД
Нативный КПЛ	100	0,92	50	4,0	6,5–7,0	20–25
КПЛ-полиамид	70	0,60	2,3	2,8	6,8–7,5	70–80
КПЛ-полиуретан	70	0,40	6,4	3,7	6,8–7,5	60–70

около 90% исходного количества белка (как в присутствии, так и в отсутствие цистеина в инкубационной смеси). Однако проведение модификации в присутствии цистеина обеспечивает получение препаратов с большей величиной остаточной каталитической активности, чем без этой аминокислоты. Так, для препаратов КПЛ-полиамид, полученных с цистеином и без него, остаточная каталитическая активность составляет 70 и 50%, соответственно, а для КПЛ-полиуретан – 70 и 20%. Данные титрования сульфгидрильных групп в ферментных препаратах показывают, что, по-видимому, ковалентного присоединения цистеина к полимерной матрице не происходит (табл. 1). Цистеин способствует только реактивации обратимо инактивированных ферментов [6], повышая, как уже говорилось, остаточную каталитическую активность модифицированных препаратов.

Существенного ухудшения каталитических свойств ферментного комплекса модификация не вызывает. рН-оптимум каталитической активности модифицированных биокатализаторов расширяется (табл. 1). Вероятно, его сдвиг в щелочную сторону может быть связан с уменьшением положительного заряда ферментных молекул при модификации [6]. Нативный и модифицированные препараты КПЛ сохраняют способность активироваться под действием сульфгидрильных реагентов (рис. 1). Это свидетельствует о наличии в препаратах доли обратимо инактивированных ферментов и о более мягком воздействии на структуру биокатализаторов их ковалентного присоединения к полиамиду или полиуретану, чем к альдегиддек-странцистеину [6].

Устойчивость модифицированных ферментных препаратов к действию экстремальных рН и протеаз. Представляет интерес изучить устойчивость модифицированных ферментных препаратов в широком интервале рН. Однако модифицированные препараты в области кислотных значений

рН (4,5) являются водонерастворимыми в используемых концентрациях. Поэтому мы исследовали устойчивость разных форм КПЛ при рН 7,4 и 9,6. Как уже отмечалось [9], при рН 7,4 происходит ассоциация нативного препарата за счет тиол-дисульфидного взаимодействия (рис. 2, а).

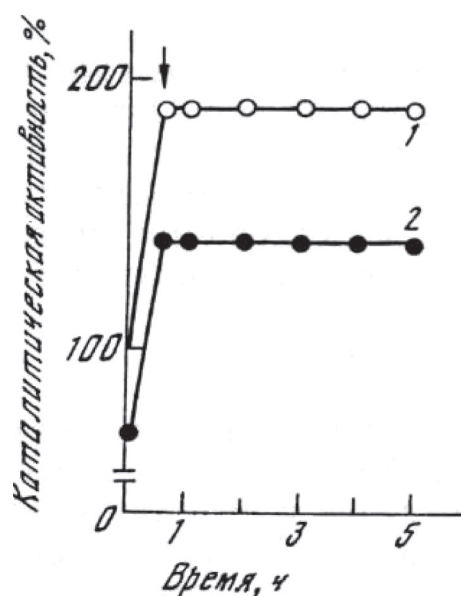


Рис. 1. Влияние 1 мМ меркаптопропандиола (стрелкой показан момент введения этого реагента в инкубационную смесь) на каталитическую активность нативного (1) и модифицированного полиамидом (2) препарата комплекса протеиназ папайи. Условия: рН 7,0, комнатная температура. Аналогичная зависимость имеет место и для препарата КПЛ, модифицированного полиуретаном (не показано). Похожая картина наблюдается и при добавлении цистеина или дитиотреитола

Изменение молекулярно-массового распределения модифицированных препаратов в этих условиях не происходит. При щелочных рН (9,6) стабильность нативного и модифицированного полиуретаном КПЛ приблизительно одинакова. Деструкции подвергается 10–15% препарата. КПЛ,

модифицированный полиамидом, в условиях эксперимента изменений не претерпевает. Дегградация полимерных носителей ни при pH 7,4, ни при pH 9,6 не наблюдается.

Присутствие в инкубационной смеси других протеаз (проназы, субтилизина) усиливает деструкцию препаратов (рис. 2). При pH 7,4 обнаруживается ассоциация нативного КПЛ [8], деструкция КПЛ, модифицированного полиамидом (15–20%), и относительная устойчивость препарата КПЛ-полиуретан. При pH 9,6 происходит деструкция всех ферментных производных. Она усиливается в ряду нативный КПЛ < КПЛ-полиуретан < КПЛ-полиамид. В присутствии протеаз сам по себе полиуретан деструкции практически не подвергается, а полиамид оказывается менее устойчивым: при pH 7,4 наблюдается его 10–12%-ная дегградация, а при pH 9,6 – 25–30%-ная деструкция полимера. Таким образом, ковалентное присоединение КПЛ к синтетическим полимерам способствует сохранению препаратами относительной молекулярной целостности при физиологических условиях и не препятствует их протеолизу в области щелочных pH.

Сравнение данных рис. 2 и 3 показывает, что не деструкция, а термоинактивация является основной причиной потери активности ферментных препаратов. Это подтверждает сделанный ранее вывод [6, 12, 13], что термостабильность ферментов является ключевым фактором для оценки перспектив их практического использования. Заметно, что модификация комплекса протеиназ папайи усиливает регулирующее влияние цистеина на каталитическую активность модифицированных препаратов. Активирующее влияние цистеина, основанное на тиол–дисульфидном взаимодействии [9], носит обратимый характер. Добавление цистеина к пробе ферментного препарата, инкубируемого без цистеина, позволяет перейти в ходе термоинактивации от кривых рис. 3, а к кривым рис. 3, в. Удаление цистеина диализом из пробы фермента ведет к снижению каталитической активности. Обратимым оказывается и переход осадок € раствор для модифицированных препаратов при изменении pH. Ферментативная активность при этом существенно не меняется. Итак, модификация КПЛ повышает устойчивость препарата

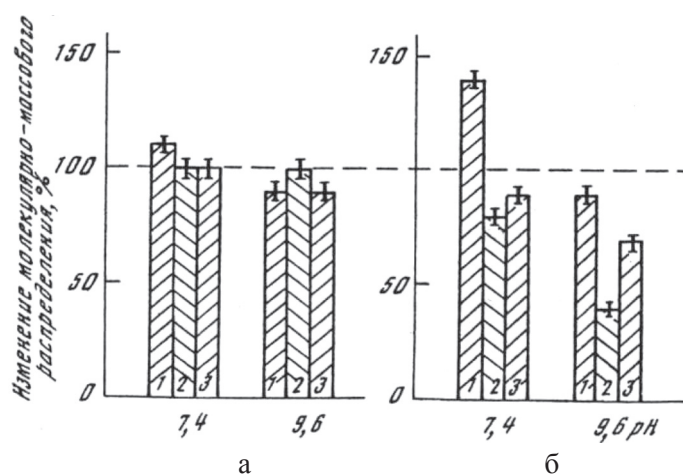


Рис. 2. Изменение молекулярно-массового распределения (см. [9]) ферментных препаратов после трехсуточной инкубации при 37°C: а – в отсутствие других протеаз; б – в присутствии проназы (1,2) или субтилизина (1,3); 1 – нативный КПЛ; 2 – КПЛ-полиамид; 3 – КПЛ-полиуретан

Термостабильность ферментных препаратов. При проведении термоинактивации в отсутствие цистеина в инкубационной смеси модификация вызывает дестабилизацию КПЛ при pH 7,4 и 9,6 (рис. 3, а и б). В присутствии цистеина модифицированные препараты оказываются более стабильными, чем нативный КПЛ (рис. 3, в и г).

к ассоциации в физиологических условиях. Однако полимерный носитель, предотвращая межмолекулярную реакцию тиол–дисульфидного обмена, не препятствует такой внутримолекулярной реакции. Благодаря модификации КПЛ усиливается регуляторное влияние сульфгидрильных реагентов на каталитическую активность и стабильность ферментного препарата. Обратимость его

осаждения при кислотных значениях pH (без существенных потерь каталитической активности) позволяет легко отделять биокатализатор от реакционной среды.

Возможность регуляции каталитической активности модифицированных препаратов сульфгидрильными реагентами и легкость осаждения их при кислотных значениях pH

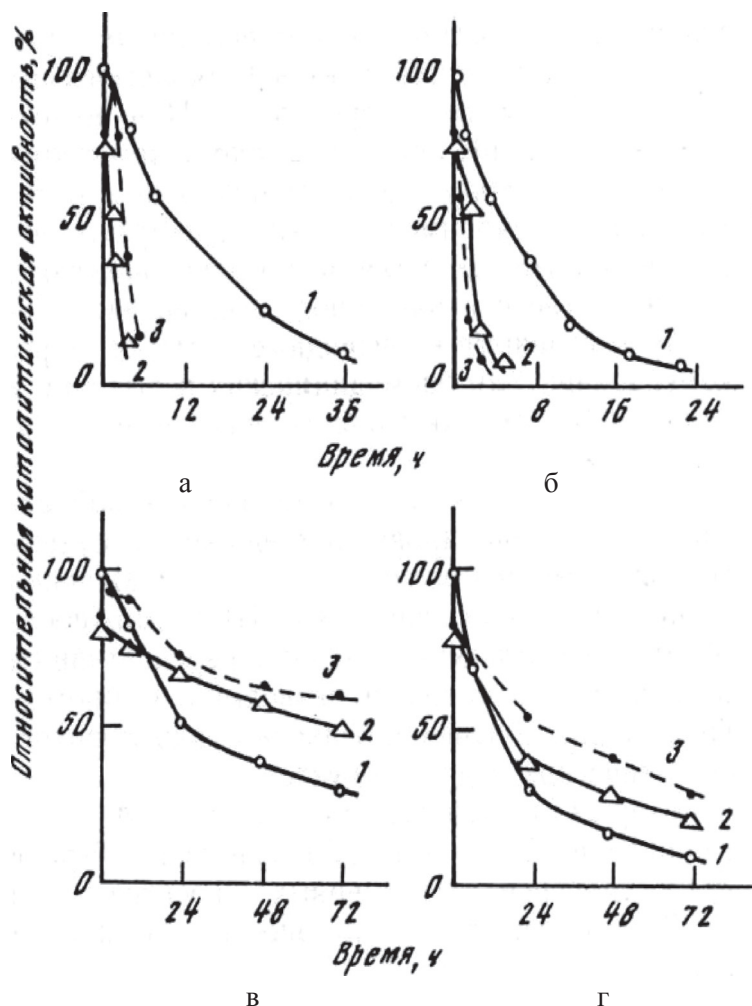


Рис. 3. Кривые термоинактивации ферментных препаратов при 37°C: а – pH 7,4 (без цистеина); б – pH 9,6 (без цистеина); в – pH 7,4 (в присутствии цистеина); г – pH 9,6 (в присутствии цистеина); 1–3 – как на рис. 2

На основании полученных данных можно заключить, что модификация комплекса протеиназ папайи синтетическими полимерами позволяет получить стабильные в физиологических условиях ферментные препараты. При щелочных значениях pH они подвергаются заметному протеолитическому расщеплению. Из-за ограниченной растворимости такие препараты, вероятно, пригодны не для внутреннего введения, а для местного и наружного применения. Поэтому полученные производные могут быть рекомендованы для биомедицинских испытаний в таких областях, как травматология и дерматология.

(возможность обратимого отделения) делают перспективным использование таких производных в биотехнологии для получения белковых гидролизатов, синтетических и др. продуктов.

В фармакологической промышленности зарубежных стран выпускается более 100 лекарственных препаратов с использованием млечного сока папайи (лекозим, лекопаин, кариказа, вобензим, суперсжигатель жира № 1 и др.), широко применяемых в различных областях медицины [2–4, 8].

Исходя из этого, учитывая биологические особенности папайи и природно-климатические условия Туркменистана,

пришли к выводу о необходимости подбора конструкции теплиц для ее выращивания. Для этого в 1981 году на базе НПО «Солнце» АН ТССР, была сооружена гелиотеплица траншейного типа. Настоящее время выращивание распространилась в Лебапском велае (области).

Агротехника выращивания и технология получения ферментов. В 1990 году была построена несколько изменённая опытно-промышленная солнечная теплица с комбинированным использованием энергии тепловых отходов Туркменабатского арендного химического предприятия и солнечной энергии. В теплице были высажены 100 дынных деревьев и началось изучение агрометеологических факторов, формирующих микроклимат в сооружении.

С одного плода при двукратной подсочке в месяц добывается 3 грамма латекса, с одного растения из 5 плодов – 15 граммов, что составляет 180 граммов в год с экземпляра. В составе млечного сока содержится; 10% папаина, 50% химопапаина, 16% лизоцима, 24% протеиназы А и В. С целью повышения добычи фермента с единицы площади плантации можно использовать и черешки листа, где также содержится значительное количество папаина.

По литературным данным существует несколько видов разделения млечного сока папайи. Мы использовали колоночную хроматографию. Разделение проводили при помощи комплекта для хроматографии. Установка включает в себя: градиент; насос; колонку с карбоксиметилцеллюлозой; детектор; коллектор для сбора фракций; самописец.

Следующий этап работы было посвящен получению очищенных препаратов папаина фермента, составляющего около 12% от всего состава белков.

В процессе работы подобран ионообменник – карбоксиметилцеллюлоза КМ-32. Колонку набивали этим катионообменником. Размеры колонки составляли: высота – 20 см, диаметр – 2,5 см, объем 70 см³.

В качестве буфера использовали Трис – HCl, pH 7.0. Колонку промывали в течение 24 часов. После установления равновесия в колонку вносили 3 мл 10% раствора млечного сока папайи, предварительно подготовленного и отцентрифугированного в течение 20 минут при 4000 оборотах в минуту. Внесение образца проводили при помощи перестальтического насоса со скоростью 4 мл в час. Элюирование, то есть смывание белков с колонки, проводили 0,05 молярным трисовым буфером pH 7,0.

Фракции собирали при помощи автоматического коллектора.

При начальном промывании колонки сходят неактивные соединения. После этого устанавливали градиент концентрации хлористого натрия от 0,1 до 0,5 М. В результате с колонки сошел белок, обладающий протеолитической активностью. Установление градиента концентрации хлористого натрия от 0,5 до 1,0 М позволяло смыть с колонки еще несколько белков. Необходимо отметить, что эти белки при таких условиях не разделялись, а сошли с колонки, налагаясь друг на друга. В дальнейшем проводился подбор условий для разделения химопапаина, лизоцима и протеоназа.

На следующем этапе был проведен электрофоретический анализ полученного белка. Электрофорез занимает центральное место среди методов исследования белков. Этот метод позволяет разделять макромолекулы, различающиеся по таким параметрам, как молекулярная масса, структура и электрический заряд.

В нашей работе использовали пластины полиакриламидного геля, содержащего 15% акриламида. Электрофорез проводился в кислых условиях, pH разделяющего геля – 4,5, напряжение 250 В, сила тока 45 мА. На электрофореграмме, первым сошел белок с колонки – это папаин. Была определена протеолитическая активность полученного папаина. Она составляет 400 ед./мг белка, это в 2,4 раза выше, чем активность млечного сока папайи [2–4, 8–14].

Применения протеолитических ферментов дынного дерева в медицине

В последнее десятилетие большое внимание уделяется применению протеолитических ферментов в комплексной терапии различных заболеваний. Плоды дынного дерева – сок папайи – используются в народной медицине тропических стран давно.

На Антильских островах сок незрелых плодов папайи применяют в виде горячих примочек для лечения гнойных ран и различных заболеваний кожи. Американские индейцы уже во времена Колумба знали о лечебных свойствах сока дынного дерева, а его плоды называли «ванти», что значит «быть здоровым». В индийской фармакопее сообщается, что сок папайи является антигельминтиком.

Мазь, приготовленная из сока дынного дерева, используется в США для лечения изъязвлений, некрозов. В энциклопедическом словаре аптечных работников

Советского Союза указывается, что латекс *Caricaparaya* применяется против глистов и для лечения экземы, гнойных ран, прыщей, бородавок и псориаза. В немецком аптекарском журнале от 1971 г. сообщается, что сок *Caricaparaya* полезен для лечения гастрита, язвы желудка, хронической диспепсии, ожогов, укусов ядовитых пауков. Некоторые авторы с помощью ферментов этого сока определяли группу крови.

Дынное дерево входит в большое семейство *Caricaceja*, которое произрастает в тропиках; известны плантации его на Цейлоне, в Восточной Африке, Западной Индии, на Гавайских островах, в Мексике, на юге США. Стебель имеет высоту от 4 до 6 м. Плоды весом от 0,5 до 3 кг, напоминают дыню. Под мягкой корой плода находится мякоть оранжевого цвета, по вкусу похожая на грушу, с запахом дыни. Внутри плода – косточки, внешне похожие на зерна черного перца. У незрелых плодов под корой в многочисленных каналах содержится прозрачная жидкость (латекс), которая на разрезе вытекает и на воздухе быстро мутнеет. Полностью созревшие плоды содержат мало или совсем не содержат латекса.

Экспериментальные исследования L. Thomasa (1956), которыми было доказано хондролитическое действие папаина на пульпозное ядро, позволили L. Smithu (1964) применить его для лечения 10 больных с грыжами поясничных дисков. Спустя 10 лет Wiltsc ообщил о лечении этим препаратом 40 000 пациентов.

Метод внутридискowego введения папаина (нуклеолизис) при грыжах поясничных дисков впервые применен в Советском Союзе в 1965 г. в клинике нейрохирургии г. Новокузнецка, руководимый А.И. Осна, а затем в клинике вертебральной хирургии Центрального института травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, руководимой А.И. Казьминым. Об эффективности данного метода говорит высокий процент (78–90) отличных и хороших результатов.

В последние годы в Советском Союзе стали использовать протеолитические ферменты сока папайи в офтальмологии и нейрохирургии для предупреждения различных заболеваний глаз и при лечении оптохиазмальных арахноидитов, а также травматического поражения периферических нервов, сопровождающегося рубцово-спаечными изменениями. В клинике Центрального института травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова разработаны методики лечения папаином различных видов патоло-

логии кисти и раневой инфекции. В соответствии с договором о сотрудничестве, заключенным в марте 1976 г. между Управлением по внедрению новых лекарственных средств и медицинской техники Министерства здравоохранения СССР, Министерством здравоохранения Словении и фирмой «ЛЕК» (Любляна, Югославия), был разработан новый препарат протеолитических ферментов дынного дерева, зарегистрированный в декабре 1977 г. под названием Лекозим. Экспериментальные и клинические исследования этого препарата проведены в Центральном институте травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Институте нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Институте глазных болезней им. Гельмгольца (СССР), в ортопедической клинике г. Любляны (Югославия). После тщательного изучения Лекозима разработаны методики лечения им, которые рекомендуются для применения в медицинской практике [2–5, 8–11, 14].

Химические и физические свойства «Лекозима»

Лекозим – лиофилизированная смесь растительных протеолитических ферментов. Она белого цвета, без запаха и вкуса, хорошо растворимая в воде. Химически Лекозим – 99% белок, состоящий из папаина (12,4%), химопапаина (43,5%), лизоцина (17,4%) и протеиназы X (26,7%). Специфическая активность – 6–7 МЕД ед./мг, что соответствует FIP единицам (FIP – Международная фармацевтическая федерация). Известны различия в аминокислотном составе отдельных протеолитических ферментов, входящих в Лекозим. Например, папаин не содержит метионина, в химопапайне его очень мало, а в лизоцине много. Во всех ферментах высоко содержание глицина, а химопапайне, в отличие от других двух энзимов, больше лицина. N – терминальная группа папаина – изолейцин, химопапаина – глютаминовая кислота, лизоцина – глицин. Ферменты, входящие в состав Лекозима – основные белки, имеющие изоэлектрическую точку в щелочной области. Приблизительный молекулярный вес папаина – 21.000, химопапаина – 36.000, лизоцима – 25.000. Энзимы эти легко окисляются и связываются с тяжелыми металлами, которые ингибируют их; при температуре более 70°C они инактивируются. При длительном сохранении в растворенном состоянии теряют активность. Неочищенная смесь стабильна больше года, очищенный препарат

менее стабилен. Папаин, химопапаин и протеиназа X – протеолитически активные энзимы, лизоцим-мукополисахарид [5].

Применение Лекозима: в ортопедии

Лечение поясничного остеохондроза методом нуклеолизиса

Показания:

1 – стойкий ирритативный корешковый болевой синдром без органической симптоматики;

2 – длительные боли в пояснично-крестцовой области с органической неврологической симптоматикой (с компрессией корешков);

3 – выраженный стойкий пояснично-крестцовый болевой синдром со сдавлением конского хвоста и нарушением кровообращения вследствие массивного выпадения диска.

Противопоказания. Аллергическое состояние организма; изменения в миокарде после тяжелых инфарктов; наличие задних костных разрастаний тел позвонков; выраженная нестабильность в пораженном позвоночном сегменте; спондилоартроз; эпидурит.

Методика лечения. Под местной анестезией, в ряде случаев под наркозом, в положении больного на боку трансдуральным путем (рис. 4) пунктируют последние 2–3 диска (в зависимости от данных миелографии), поясничного отдела позвоночника. Для дискографии используется 65% раствор гепака или верографина, который вводится в объеме 0,6–1,0 мл (до неполного заполнения дисков). Спустя 20–30 мин после дискографии в дегенеративно измененные диски вводят 0,3–0,5 мл 90% этилового спирта и затем – Лекозим: при дегенеративных изменениях диска без его выпячивания (рис. 5) – в дозе 14 FIP U, при наличии грыжи диска, а также при грыжах диска с чрезсвязочным разрывом – от 21 до 35 FIP U, суммарная для 2–3 дисков максимальная доза колеблется в пределах 56–84 FIP U [5, 12–14].

При выраженных дегенеративных изменениях дисков с нарушением целостности задней продольной связки и вытеканием контрастного вещества в эпидуральное пространство введение этилового спирта противопоказано (рис. 6). Этиловый спирт вводится очень медленно, так, чтобы по мере вытекания из иглы он успевал всасываться в ткани диска и не вытекал по игле в полость позвоночного канала, что может быть при быстром введении. По окончании введения в полость дисков этилового спирта и Лекозима иглу уда-

ляют, за исключением одной, через которую в заднее эпидуральное пространство, в межкостистую связку и паравертебральную – но вводят лекарственную смесь, состоящую из 20 мл 0,5% раствора новокаина, 1000 мкг витамина B₁₂, 25 мг гидрокортизона и 250 мг кефзола или пенициллина [5–14].

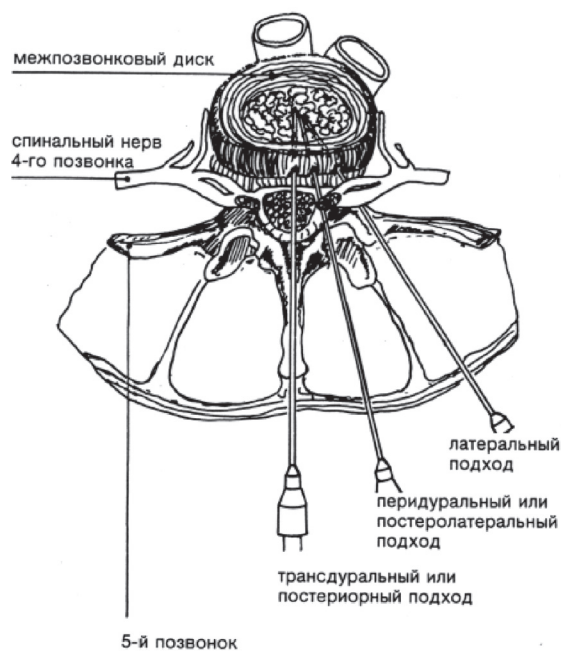


Рис. 4. Доступ для пункции межпозвоночных дисков

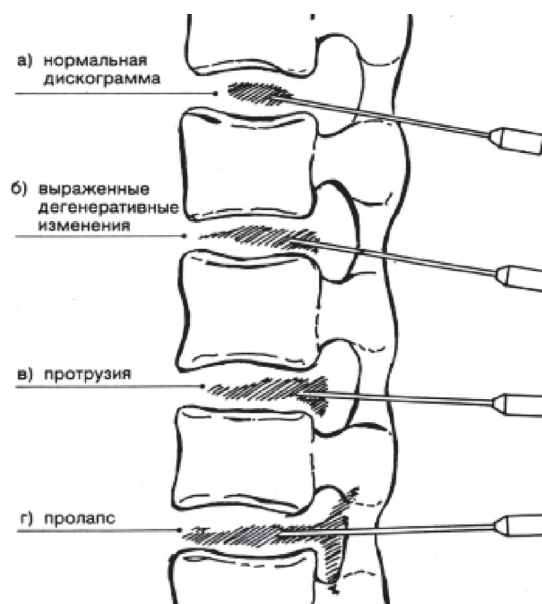


Рис. 5. Нормативные и патологические картины дискографии:
а – нормальная дискограмма;
б – выраженные изменения диска;
в – протрузия диска; г – выпадения диска

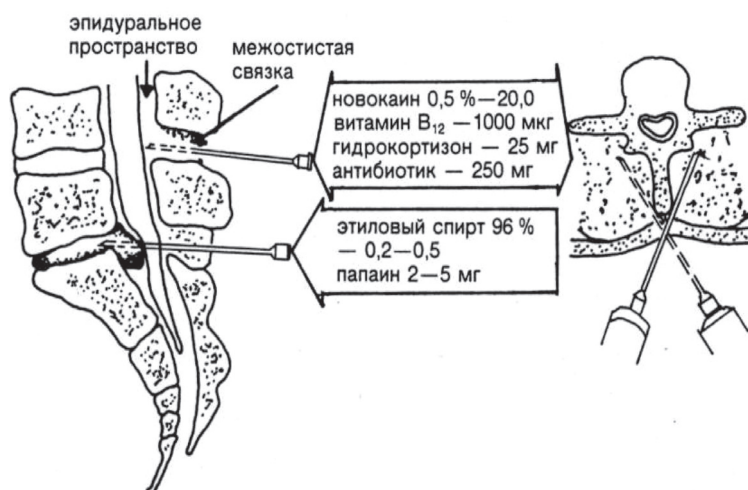


Рис. 6. Схема внутривидеоведения Лекозима при воздействии на диск этиловым спиртом (96%) и введении смеси лекарственных веществ. Тактика лечения больного после введения Лекозима

В заднее эпидуральное пространство и межостистую связку вводят по 5 мл смеси, паравертебрально оставшееся количество (рис. 6). Места проколов обрабатываются йодной настойкой; накладывают антисептическую повязку. Больным вводят внутривенно 20 мл 40% раствора глюкозы и 5 мл 2,4% раствора эуфиллина, после чего переводят в палату.

В течение 4–5 дней соблюдается постельный режим; со 2-го дня разрешаются активные движения в кровати. В первые 5 дней проводится дегидратационная терапия (внутривенно 20 мл 40% раствора глюкозы, 5 мл 40% раствора уротропина). При необходимости применяются обезболивающие средства. На 3–4-е сутки накладываются гипсовый корсет на 1–1,5 месяца. Если остается анталогический наклон туловища, производится вытяжение за тазовый пояс (в течение недели) с грузом 6–8 кг, после чего накладывается гипсовый корсет. Ходьба разрешается на 5–7-е сутки. Больных выписывают из клиники на 2–3-й неделе после лечения Лекозимом. Через месяц гипсовый корсет сменяется полиэтиленовым или корсетом типа Гессинга, в котором больные ходят в течение 1,5 месяца, затем переходят на корсет ленинградского типа. По показаниям некоторым больным сразу после гипсового корсета может быть назначен корсет ленинградского типа. После снятия гипсового корсета больные активно занимаются лечебной гимнастикой, им назначают массаж (для ликвидации неврологической симптоматики), курс медикаментозного

лечения (стекловидное тело ежедневно, 30 инъекций, витамин В₁₂ – 500 мкг и витамин В, – 1 мл 6% раствора – 15, введение с чередованием через день, АТФ ежедневно, 20–25 инъекций). Санаторно-курортное лечение (радоновые и сероводородные ванны) рекомендуются через 2–3 месяца после лечения [2–5, 14].

Побочные явления. В первые сутки после введения Лекозима возможно усиление поясничных болей, увеличение скованности поясничных мышц, поэтому в первые 2–3 дня, наряду с обезболивающими средствами, по показаниям, вводят внутримышечно 2 раза в сутки седуксен по 2 мл. У некоторых больных повышается температура тела до 38–38,5°; в этих случаях рекомендуется внутримышечное введение 5 мл 4% раствора амидопирина.

Лечение остеохондроза позвоночника методом гальванизации с подкожным введением папаина. При электрофорезе Лекозима препарат почти полностью задерживается в коже, поэтому его предварительно вводят подкожно, а затем с помощью электродов обеспечивают проникновение к патологическому очагу – измененному межпозвоночному диску. Перед внедрением в клинику метод был проверен в эксперименте на животных.

Показания:

- 1 – распространенный остеохондроз с преобладанием болевого синдрома в грудном и шейном отделах;
- 2 – упорная люмбагия, не поддающаяся лечению;

3 – острые ирритативные корешковые боли без неврологической симптоматики.

Противопоказания. Аллергическое состояние организма.

Методика лечения. После обработки кожи антисептическим раствором паравертебрально на расстоянии 0,5–1 см от вершины остистых отростков тонкой инъекционной иглой подкожно вводится Лекозим в две точки, отстоящие друг от друга на 10–15 см, в одну точку вводится 14–21 FIP U. На эти точки накладываются электроды площадью 100–150 см² и в течение 20–30 мин проводится гальванизация (плотность тока 10–20 мА/см²), на курс лечения – 10–14 процедур, которые повторяются 2 раза в неделю с двухдневным интервалом. Между процедурами больные получают ручной и подводный массаж, занимаются лечебной гимнастикой. Больным назначаются антигистаминные препараты [2–5, 14].

Побочные явления. В месте введения Лекозима – отек мягких тканей, гиперемия. Эти явления более выражены в области анода. В первые сутки отмечается скованность мышц спины, а также субфебрильная температура.

Применение Лекозима в сочетании с оперативным лечением позвоночника

1. При поясничном остеохондрозе, в случае поражения нескольких дисков с образованием задних грыжевых выпячиваний и наличием псевдоспондилолистеза проводится оперативное лечение из заднего доступа, которое в одних случаях заканчивается удалением грыжи диска на одном уровне и внутридискковым введением на остальных уровнях Лекозима, в других – после скелетирования задних элементов позвоночника – введением фермента в диски на нескольких уровнях. Операции всегда завершаются фиксацией поврежденных сегментов металлической пластинкой Вильсона и задним спондилодезом. Доза Лекозима, вводимая в один диск, составляет 21–28 FIP U.

2. При сколиозе II и III степени осуществляется химическая деструкция (нуклеолизис) пульпозных ядер на вершине искривления с помощью Лекозима. Такая операция производится как самостоятельная при поясничном сколиозе, так и в сочетании с клиновидной резекцией позвоночника или энуклеацией пульпозных ядер на вершине грудного искривления [5, 14].

Методика лечения. После выделения задних элементов позвоночника производится

резекция 3–4 ребер на вершине искривления, экзартикуляция головок ребер и пункция обнаженных дисков. В полость диска вводится 21 FIP U Лекозима. При тяжелых формах сколиоза на вершине искривления производится энуклеация пульпозных ядер или клиновидная резекция позвоночника, а в диски, располагающиеся выше и ниже области энуклеации, вводится Лекозим. Операция заканчивается задним спондилозом на стороне вогнутости. После заживления операционной раны (на 12–14-й день) накладывается гипсовый корсет с головдержателем, в котором осуществляется редрессация. Сочетание операции с нуклеолизисом увеличивает мобилизацию позвоночника и позволяет достигнуть в период редрессации дополнительной коррекции основной грудной кривизны позвоночника [14–20].

Лечение раневой инфекции Лекозимом. Использование Лекозима в комплексной терапии раневой инфекции позволяет активно и целенаправленно вмешиваться в течение нагноительных процессов, ускоряя очищение ран от нежизнеспособных тканей. Препарат оказывает также выраженное противовоспалительное и противоотечное действие и повышает эффективность антибиотиков.

Показания:

1 – гнойные и вялозаживающие раны и тропические язвы;

2 – остеомиелит – свищевая форма;

3 – свищи после операций на костях с применением металлических конструкций и эндопротезов;

Противопоказания. Наличие аллергических заболеваний.

Методика лечения ран и свищей. С помощью иглы с тупым концом или постоянного катетера, установленного в полости фистулы, вводится 0,5–1% раствор Лекозима (содержимое флакона 70 FIP U – 10 мг растворяется соответственно в 2,0 мг или 1,0 мл дистиллированной воды или новокаина). В случаях небольшой свищевой полости концентрация раствора повышается до 2%. Процедура проводится 2 раза в день.

Как правило, после 2–3 введений гной становится жидким и не задерживается в полости свища; с этого момента вместе с ферментами вводятся антибиотики, а в некоторых случаях – гипериммунная антистафилококковая плазма. Иногда раствор Лекозима с антибиотиками инфильтруется в мягкие ткани вокруг свища [5–7, 14–20].

При лечении ран стерильные марлевые салфетки пропитываются раствором Лекозима и накладываются на рану, в отдельных случаях в промежутки между салфетками подводится полиэтиленовый катетер, через который раствор фермента вводится 2 раза в день. При глубоком некрозе тканей Лекозиминфильтруется в них. перевязки делаются через день. Разовая доза Лекозима при лечении ран и свищей – от 20 до 40 мг (140–280 FIP U).

Противопоказано. Применение Лекозима с растворами тяжелых металлов и перекисью водорода, так как они инактивируют фермент.

Побочные явления. Жжение и зуд в области ран в первые часы после применения раствора Лекозима, иногда повышение температуры тела. В таких случаях помогают антигистаминные препараты.

Лечение Лекозимом некоторых заболеваний и последствий повреждений кисти

Показания:

1 – контрактура Дюпюитрена – для лечения начальных ее форм и I степени, профилактика контрактуры пальцев кисти, уменьшение сгибательной контрактуры пальцев и улучшение функции кисти и больных с рецидивами заболевания после неоднократных операций, лечение контрактуры Дюпюитрена II и III степени у лиц пожилого возраста, воздерживающихся от операции, преоперационная подготовка больных с контрактурой пальцев II и III степени. При применении Лекозима достигается размягчение мягких тканей и частичное устранение сгибательной контрактуры, что облегчает выполнение оперативного вмешательства, уменьшается число послеопе-

рационных осложнений и улучшаются исходы лечения;

2 – сгибательная контрактура пальцев после сшивания или пластики сухожилий сгибателей пальцев кисти;

3 – стенозирующий лигаментит;

4 – сухожильные ганглии;

5 – тугоподвижность суставов пальцев кисти после длительной иммобилизации или внутрисуставных повреждений.

Противопоказания. Наличие аллергических заболеваний; кожные заболевания кисти. *Приготовление препарата.* Перед введением препарата содержимое флакона с Лекозимом (70 FIPU) растворяется в 2 мл 2% раствора новокаина [5, 7, 14–20].

Методика лечения при контрактуре Дюпюитрена и сгибательной контрактуре пальцев

После обработки ладонной поверхности кисти 2% раствором йода Лекозим вводится в наиболее выраженные узлы и тяжи ладонного апоневроза непосредственно у сухожилий пальцев (рис. 7). Инъекционную иглу проводят сразу через весь участок, в который необходимо ввести Лекозим. Раствор препарата медленно инфильтруется в рубцовые ткани при медленном вытягивании иглы. В случае наличия плотных тяжей, спаянных с окружающими мягкими тканями, раствор Лекозима вводится обычно с большим трудом, поэтому первые две инъекции делаются в окружающие мягкие ткани, спаянные с тяжем, и только после этого – непосредственно в рубцовый тяж. Следует избегать попадания фермента в малоизмененные ткани ладонного апоневроза, так как это вызывает сильный отек мягких тканей кисти.

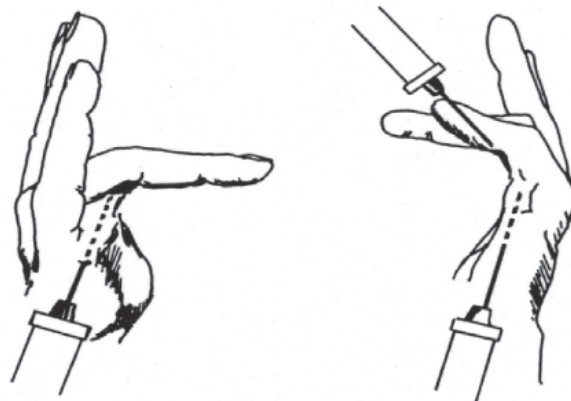


Рис. 7. Схема инфильтрации Лекозима при посттравматических сгибательных контрактурах пальцев кисти и при болезни Дюпюитрена

Сразу после инъекции Лекозима накладывается спиртовая повязка, со вторых суток назначаются ванночки с содовым раствором, массаж и релаксирующая гимнастика, на ночь – ладонная шина, фиксирующая пальцы в положении максимального разгибания. Если после первой инъекции появляются признаки общей реакции, применяются антигистаминные препараты. При узелковой форме контрактуры Дюпюитрена разовая доза Лекозима составляет от 7 до 21 *FIP U*; курс лечения включает 5–7 инъекций. При контрактуре Дюпюитрена I степени разовая доза составляет 14–35 *FIP U*, курс лечения – 5–10 инъекций. При контрактуре Дюпюитрена II и III степени разовая доза 21–42 *FIP U*, в некоторых случаях 56–70 *FIP U*, на курс лечения 5–15 инъекций. В случае сгибательной контрактуры пальцев, связанной с травмой сухожилий сгибателей, доза препарата такая же, как при контрактуре Дюпюитрена II и III степени. Объем жидкости на одну инъекцию – от 0,6 до 1,2 мл. Лекозим вводится раз в неделю. При небольшой разовой дозе препарата инъекции производятся 2 раза в неделю [14].

Побочные явления. Как правило, спустя 30 мин – 1 час в месте введения препарата появляется зуд, который держится до 2–6 час, у всех больных наблюдается отек мягких тканей кисти и болезненность в области инъекции, выраженность и продолжительность которых зависят от введенной дозы препарата. Повышается температура тела.

Осложнения. При подкожном введении препарата иногда появляются пузырьки с серозно-геморрагическим содержанием, но этого можно избежать, если вводить препарат в рубцово-измененные ткани. У некоторых больных появляется

аллергическая реакция, которую можно легко предупредить назначением антигистаминных препаратов (димедрол, пипольфен, супрастин и др.).

Методика лечения стенозирующего лигаментита

После обработки ладонной поверхности антисептическим раствором пальпируется кольцевидная связка или ее узелок. Как правило, при надавливании на кольцевидную связку отмечается резкая болезненность, которая усиливается при попытке согнуть палец. Далее, фиксируя палец в положении разгибания, с помощью тонкой иглы в кольцевидную связку вводится Лекозим. На рис. 8 показаны места расположения кольцевидных связок и точки введения препарата [5, 14].

Препарат вводится 1–2 раза в неделю с интервалом в 3–4 дня и с учетом реактивности организма. В перерывах между инъекциями делаются теплые ванночки и легкий массаж кисти и предплечья. Эффект достигается при введении в кольцевидную связку микродозы Лекозима – 1–3 *FIP U*, иногда 7 *FIP U*. На курс лечения 5–7 инъекций.

Побочные явления. Незначительный отек мягких тканей в течение 1–1,5 суток, в зависимости от разовой дозы препарата, у некоторых больных – субфебрильная температура.

Лечение сухожильных ганглиев

Лекозим вводится в область ганглия. При расположении последнего по ладонной поверхности полное размягчение наступает после 4–5 инъекций энзима в дозе 3–7 *FIP U*, при сухожильных ганглиях в области тыла кисти или лучезапястного сустава эффект достигается после 6–8 введений препарата. Обычно после второй инъекции отмечается уменьшение ганглия и разжижение его содержимого, которое свободно

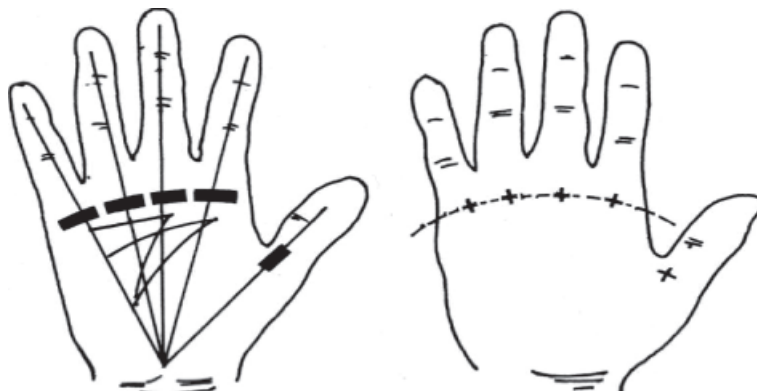


Рис. 8. Места введения микродоз Лекозима в кольцевидные связки при стенозирующем лигаментите

отсасывается шприцом. Одноразовая доза 21–35 FIP U. После инъекции накладывает-ся спиртовая повязка [5, 12–14].

Побочные явления. Отек мягких тканей, иногда субфебрильная температура.

Лечение тугоподвижности суставов пальцев кисти

Лекозим вводится внутрисуставно и параартикулярно, внутрисуставно – 1–2 раза в начале и в середине курса; в промежутках между ними препарат вводится в область боковых связок по обе стороны сустава. Одноразовая доза Лекозима при введении в полость сустава 1–3 FIP U, парартикулярно – по 2–3 FIP U с каждой стороны, на курс лечения 5–7 инъекций. Со вторых суток больным назначаются теплые ванночки и лечебная гимнастика.

Побочные явления. Отек мягких тканей, болезненность, у некоторых больных субфебрильная температура.

Нейрохирургия

Показания:

1 – Базальные арахноидиты (воспалительные, травматические), в том числе опто-хиазмальные арахноидиты;

2 – Остаточные явления травмы периферических нервов с наличием рубцово-спаечных изменений.

Противопоказания абсолютные.

Острая стадия или стадия обострения вышеуказанных заболеваний, сопутствующие воспалительные и инфекционные заболевания. Амавроз любой этиологии, опухоли головного мозга.

Противопоказания относительные.

Повышенная чувствительность к Лекозиму.

Меры предупреждения осложнений, возникших в результате повышенной чувствительности к Лекозиму. Антигистаминная терапия (тавегил, супрастин, диазолин) по 1 таблетке 2–3 раза в день.

Методика применения «Лекозима»

В клинической нейрохирургической практике чаще других применяется электрофорез Лекозима. Используется раствор препарата с рН 6. Это достигается добавлением во флакон 2 мл бидистиллированной воды. Раствором смачивается фильтровальная бумага, сверх которой помещается влажная прокладка, подогретая до температуры 36–40 °С, а затем электрод. Препарат вводится с анода. Доза препарата различная: в зависимости от способа электрофореза и характера заболевания.

1. При интраназальном электрофорезе лечение базальных арахноидитов начинают с дозы 17,5 FIP U и при отсутствии явлений раздражения слизистых носовых ходов через 3–5 процедур переходят к дозе 35 FIP U. Сила тока – 0,5–2 тА, продолжительность процедуры – 20 мин. Курс состоит из 18–25 процедур. Количество курсов 2–3. Интервалы между курсами: 3–5 месяцев. Желательно сочетание физиотерапии с курсом сосудорасширяющих препаратов – эуфиллином, дибазолом, но-шпа, галидором по общепринятой схеме.

2. При электрофорезе через кожу начинают с 35 FIP U и через 5–6 процедур при отсутствии выраженной реакции кожи переходят на 70 FIP U. Сила тока – 2–10 мА, продолжительность процедуры – 20 мин, курс состоит из 20 процедур. Повторность курсов через 3–6 месяцев, количество курсов: 3–4 [5–11, 14–20].

Расположение и площадь электродов:

1 – При интраназальной методике – в каждую ноздрю вводят освобожденный на расстоянии 2–2,5 см от изоляции и опасный конец провода, плотно обернутый слоем ваты, смоченный раствором Лекозима. Оба провода присоединяются к одному полюсу аппарата (анод). Второй электрод размером 8×10 или 5×10 см при соединении его с катодом помещают в области нижних шейных позвонков.

2 – Электрофорез на области конечностей – по общепринятым методикам, продольно или поперечно, в зависимости от места применения.

Схема – Количество раствора, наносимого на прокладку (фильтровальную бумагу) зависит от активности препарата во флаконе (в каждый флакон вводится 2 мл бидистиллированной воды) (табл. 2).

Таблица 2

Сколько единиц надо ввести больному	Сколько мл раствора взять
35 FIP U	1 мл
70 FIP U	2 мл

Офтальмология

Показания к применению:

- вялотекущие кератиты и помутнения роговицы;
- келлоидные рубцы конъюнктивы и кожи век;
- вялотекущие увеиты;
- хрусталиковые массы после травмы и экстракции катаракты;

- адгезивные процессы после операций и травм;

- кровоизлияния в оболочку и среды глаза.

Способы введения:

- электрофорез вводится по двум методикам: через ванночку и эндоназально;

- фонорез по двум методикам: контактная, через ванночку;

- форсированная инстиляция

Методика введения. Для электро- и фонофореза содержимое флакона с активностью 35 FIPU Лекозима разводят 2 мл дистиллированной воды с добавлением 8 мл физиологического раствора. На одну процедуру берется 5 мл приготовленного раствора. pH – около 6. Температура раствора – 36–40°C. Лекозим вводится с анода. Сила тока 0,5–1,5 мА. Продолжительность процедуры – 10–15 мин, при эндоназальной методике – до 20 мин. При фонофорезе интенсивность озвучивания – 0,3 Вт/см², частота ультразвуковых колебаний – 2640 кГц, продолжительность сеанса 5 мин. Курс лечения состоит из 10–15 процедур, проводимых ежедневно. При наличии спаечного процесса лучший результат достигается в тех случаях, когда через 2–3 часа после электрофореза проводится субконъюнктивальная инъекция мидриатических средств [2, 3, 5–11].

Форсированные инстиляции особенно часто используются в детской практике. В связи с возрастом ребенка, его психофизическим состоянием бывает невозможно или резко затруднено проведение физиотерапевтических процедур или инъекций, а также потому, что проведение этих методов введения препарата бывает нецелесообразно в ранние сроки после операции. Инстиляции Лекозима назначаются довольно рано в послеоперационном периоде, начиная с 4-го до 8-го дня после операции. Инстиляции проводятся каждые 5–10 мин в течение часа, 3–4 раза в день (в течение 10–30 дней). Еще более выраженный рассасывающий эффект отмечается от применения комбинации инстиляции Лекозима с физиотерапевтическими процедурами, и инъекциями кислорода под конъюнктиву, которые подключаются к лечению на 6-й и 11-й день после начала инстиляции.

Противопоказания: острые воспалительные процессы глаза.

Побочные явления. Переносимость электро- и фонофореза, как правило, хорошая. У некоторых пациентов могут появиться зуд и гиперемия конъюнктивы глазного яблока. Эти явления быстро купируются инстиляциями в конъюнктивальный мешок 2% раствора хлористого кальция или добавлением

его в ванночку при проведении процедуры. Переносимость инстиляции Лекозима хорошая без побочных явлений.

Список литературы

1. Бердымухаммедов Гурбангулы Лекарственные растения Туркменистана. 1–3 тома. – Ашгабат, 2009.

2. Абдуллаев А.К., Пенджиев А.М. Применение протеолитических ферментов папайи в лечении гнойных ран // Здравоохранение Туркменистана. – 1998. – № 4.

3. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Средство и способ энтерального лечения гнойных инфекций / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012.

4. Абдуллаев А., Пенджиев А.М. Способ лечения воспаления железистых органов / Авторское свидетельство на изобретение патент Туркменистана № 529. 2012. (антигипоксанты, кортикостероиды и др.) и симптоматических средств.

5. Казьмин А.И., Павлова М.Н., Ветрилэ С.Т., Погожева Т.И., Хо-чёл-Рён: Лечение остеохондроза позвоночника подкожным введением папаина (Лекозима) в сочетании с гальванизацией // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1980. – № 4. – С. 25–30.

6. Максименко А.В., Надирашвили Л.А., Ромащенко А.Д. и др. // Биотехнология. – 1990. – № 1.

7. Павлова М.Н., Погожева Т.И., Ветрилэ С.Т., Калязин А.В. Регенерация костной ткани в условиях воздействия протеолитического фермента папаина // Ортопедия, травматол. и протезир. – 1994. – № 4. – С. 72.

8. Пенджиев А.М. Агротехника выращивания дынного дерева (*Caricacarpa L.*) в условиях защищенного грунта в Туркменистане: автореф. дис. ... д-ра наук. – М., 2000. – 54 с.

9. Пенджиев А.М. Применение протеолитических энзимов папайи (*Caricacarpa L.*) в медицинской практике // Химико-фармацевтический журнал. – М., 2002. – № 6.

10. Пенджиев А.М. Применение отечественных протеолитических энзимов растительного происхождения в медицинской практик // *Saglyklysyasaty-Serdar Sahawaty.* – Ашхабат, 2000.

11. Пенджиев А.М. Получение отечественных протеолитических ферментов из плодов папайи для применения в клинической медицине.

12. Петровский Б.В. Избранные лекции по клинической хирургии. – М.: Медицина, 1968.

13. Стручков В.К. Руководство по гнойной хирургии. – М.: Медицина, 1984.

14. Применение протеолитических энзимов растения *Caricacarpa* (Лекозим и Лекопан) в широкой медицинской практике: материалы симпозиума. – М., 18–19 мая 1978.

15. Лекарственные средства: справочник / под ред. М.А. Клюева, В.Я. Ермакова, Р.С. Скулкова, О.А. Волкова. – 8-е изд. – С. 10, ООО «Книжный дом ЛОКУС», 2000.

16. Кочергина И.Г. Справочник практического врача. – М.: Медицина, 1967.

17. Imao K., Wang H., Komatsu M., Hiramatsu M. Free radical scavenging activity of fermented papaya preparation and its effect on lipid peroxide level and superoxide dismutase activity in iron-induced epileptic foci of rats // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 45, № 1. – P. 11–23.

18. Lohiya N.K., Kothari L.K., Manivannan B., Mishra P.K., Pathak N. Humanspermim mobilization effect of *Caricacarpa* seed extracts: an in vitro study // *Asian J. Androl.* – 2000. – Vol. 2, № 2. – P. 103–109.

19. Lohiya N.K., Mishra P.K., Pathak N., Manivannan B., Jain S.C. Reversible azoospermia by oral administration of the benzene chromatographic fraction of the chloroform extract of the seeds of *Caricacarpa* in rabbits // *Adv. Contracept.* – 1999. – Vol. 15, № 2. – P. 141–161.

20. Lohiya N.K., Pathak N., Mishra P.K., Manivannan B. Reversible contraception with chloroform extract of *Caricacarpa* Linn. seeds in male rabbits // *Reprod. Toxicol.* – 1999. – Vol. 13, № 1. – P. 59–66.

УДК 615.828

НЕЛЕКАРСТВЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПЛАСТИЧНОСТИ И МЕЖПОЛУШАРНЫХ СВЯЗЕЙ У ДЕТЕЙ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ

¹Сафоничева О.Г., ²Сязина Н.Ю., ²Рахманина И.Н.

¹ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, e-mail: safonicheva.o@mail.ru;

²ГБУ «Областной реабилитационный центр для детей и подростков с ограниченными возможностями «Коррекция и развитие», Астрахань, e-mail: irinarah.72@mail.ru

Статья посвящена анализу причин и механизмов формирования сложной структуры дефекта, а также разработке технологий восстановления пластичности и межполушарных связей у детей с ограниченными возможностями здоровья. Исследование проведено на базе Областного Реабилитационного Центра города Астраханской для детей и подростков «Коррекция и развитие». Для уточнения диагноза проведено нейропсихологическое, клиническое неврологическое и инструментальное исследование. Обследованы 140 детей дошкольного возраста – 76 мальчиков и 64 девочки. Выявлены психологические, когнитивные особенности, неврологический дефицит, нарушения церебрального метаболизма. В работе проведено обоснование включения нелекарственных методов восстановительного лечения – мануальной терапии и развивающей «гимнастики для мозга» в программу комплексной реабилитации детей с ОВЗ, для повышения их социальной активности, подготовки к школьному процессу и дальнейшей адаптации к социуму.

Ключевые слова: реабилитация детей, церебральный метаболизм, пластичность мозга, мягкотканевая мануальная терапия, адаптивная физическая культура

COMPLEMENTARY TECHNOLOGIES FOR RESTORATION OF PLASTICITY AND INTER-HEMISPHERIC CONNECTIONS IN THE CHILDREN WITH DISABILITIES

¹Safonicheva O.G., ²Syazina N.Y., ²Rakhmanina I.N.

¹First Moscow State Medical University by I.M. Sechenov, The Institute of Post-Graduate education for doctors, Moscow, e-mail: safonicheva.o@mail.ru;

²The Regional Center For Rehabilitation of the children with disabilities «Correction and development», Astrakhan, e-mail: irinarah.72@mail.ru

The article is devoted to analysis of the reasons and mechanisms of the complex defects of formation, as well as development the restorative technologies for brain plasticity and inter-hemispheric connections in the children with disabilities. The study was conducted in the Regional Astrakhan Center for Rehabilitation of the children and adolescents «Correction and Development». 140 preschool children – 76 boys and 64 girls were attended in the study. Neuropsychological, clinical neurological and instrumental investigations were conducted to indicate diagnosis in the children. Psychological, cognitive disorders, neurological insufficiency and disturbance of cerebral metabolism were revealed. Our work substantiated the inclusion of non-drug therapies – manual medicine and adaptive gymnastics for brain development – into the program of complex rehabilitation in children with disabilities to increase their social activity, adaptation and preparation to school.

Keywords: rehabilitation of the children, brain plasticity, cerebral metabolism, soft-tissue manual therapy, adaptive physical activity

Современное состояние медико-демографических процессов в Российской Федерации характеризуется нестабильным состоянием здоровья детей и подростков, снижением функциональных резервов и адаптационных возможностей подрастающего поколения. Множество детей демонстрируют задержку психоречевого развития, несформированность произвольной саморегуляции, различные психопатологические феномены (повышенную возбудимость, истощаемость), соматическую и психосоматическую уязвимость, проявляющуюся в виде сосудистых, костно-мышечных нарушений, снижения им-

мунитета и десинхронизации различных систем организма. В совокупности это приводит к снижению адекватной адаптации к социуму, эмоционально-личностной когнитивной неготовности к обучению в школе и требует пересмотра подходов к реабилитационным процессам. Особая нагрузка ложится на Центры, обеспечивающие комплексную медико-психологическую и социально-бытовую реабилитацию детей со сложной структурой дефекта и ограниченными возможностями здоровья (ОВЗ) [1, 5].

Системный подход к организации восстановительного процесса предполагает

совокупность многих компонентов и этапов реализации: разработка диагностической программы и оценка потенциала ребенка; создание индивидуальных коррекционно-развивающих программ и качественный характер их проведения; анализ и оценка эффективности реабилитации. Важным компонентом системного подхода является преемственность и мультидисциплинарность – вовлечение в программы реабилитации необходимых специалистов из учреждений здравоохранения, социальной сферы, образования, культуры и спорта, а также участие семьи в восстановительных мероприятиях [8].

Сотрудничество специалистов Областного Реабилитационного Центра для детей и подростков города Астрахани с научными сотрудниками кафедры мануальной терапии ИПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» позволило расширить представление об этиопатогенезе некоторых психоневрологических состояний, а также разработать новые научно-практические подходы к реабилитации детей с ОВЗ.

Цель исследования – разработка персонализированных подходов и технологий коррекции и социальной адаптации детей с ОВЗ.

Задачи исследования:

1. Изучить этиологические и патогенетические особенности развития интеллектуальных нарушений у детей с ОВЗ.

2. Разработать и оценить эффективность персонализированных программ восстановления нейропластичности с включением мягкотканевой мануальной терапии в сочетании с дыхательной и «эмоционально-когнитивной» гимнастикой у детей с ОВЗ.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования. В период с 2012 по 2014 годы проведено экспериментальное исследование 140 детей дошкольного возраста (из них 76 мальчиков и 64 девочки) с ОВЗ и синдромом дефицита внимания и гиперактивностью (СДВГ) на базе Областного Реабилитационного Центра Астрахани для детей и подростков «Коррекция и развитие». Согласно классификации DSM-IV выделяют 3 варианта течения синдрома дефицита внимания/гиперактивности в зависимости от преобладающих клинических симптомов: синдром, сочетающий дефицит внимания и гиперактивность; синдром дефицита внимания без гиперактивности; синдром гиперактивности без дефицита внимания. Некоторые исследователи подвергают сомнению объединение синдрома дефицита внимания и синдрома гиперактивности, так как до 40% всех больных страдают только дефицитом внимания без гиперактивности. В настоящее время диагностика СДВГ основывается на клинических критериях, так как для подтверждения этого синдрома не существует специальных критериев или тестов, основан-

ных на применении современных психологических, нейрофизиологических, биохимических, молекулярно-генетических, нейро-радиологических и других методов. Для выявления причин и закономерностей интеллектуальных нарушений нами был проведен анализ течения беременности у матерей воспитанников интерната. Из 48 опрошенных женщин 42 отметили неблагоприятное течение беременности (тяжелый токсикоз, ОРВИ и другие инфекции) и неблагоприятно протекающие роды (быстрые роды, родостимуляция при рождении крупного плода, обвитие пуповиной во круг шеи, асфиксия новорожденного) [5].

Методы исследования:

1. Нейропсихологическое тестирование, клиническое неврологическое и мануально-терапевтическое исследование проводилось с целью изучения влияния биомеханических изменений со стороны шейно-грудного отдела позвоночника на когнитивные способности детей и состояние метаболических процессов мозга [5, 6].

2. Для оценки параметров церебрального метаболизма использовалась регистрация уровня постоянного потенциала (УПП) головного мозга на компьютерно-аппаратном комплексе «Нейроэнергокартограф» (НЭК). Регистрация УПП осуществлялась в пяти отведениях: фронтальном, центральном, окципитальном и двух темпоральных – правом и левом (F, C, O, Td, Ts). Проекции областей регистрации УПП соответствовали основным сосудистым системам: передним мозговым, средним мозговым и вертебрально-базиллярному бассейну. Уровень постоянного потенциала отражает состояние кислотно-щелочного равновесия головного мозга. Для характеристики КЩР принято использовать рН – отрицательный десятичный логарифм концентрации водородных ионов. В зависимости от того, в какую сторону изменяется реакция жидких сред, существует два типа нарушений КЩР: понижение рН по сравнению с нормальным уровнем называется ацидозом, при этом регистрируется повышение УПП; повышение рН по сравнению с нормальным уровнем называется алкалозом, при этом регистрируется снижение УПП.

Изменение рН оказывает влияние на многие метаболические процессы – даже мягкий ацидоз нарушает работу дыхательной цепи митохондрий, в результате чего усиливается образование свободных радикалов кислорода, повреждающих клетку; более выраженный ацидоз (рН 6,5) вызывает гибель нейронов путем апоптоза. Ацидоз способствует образованию малорастворимого амилоидного протеина, нарушая нормальный метаболизм белка – предшественника амилоида, что играет роль в патогенезе болезни Альцгеймера [2, 10]. Поэтому своевременное выявление нарушения КЩР головного мозга и назначение адекватной терапии является залогом здоровья и сохранения его пластичности.

Исследователи ряда клиник (Н.П. Миронов, Л.П. Соколова, Ю.В. Борисова, 2010) указывают, что при повышенном церебральном метаболизме (перевозбуждении мозговой активности и регистрации ацидоза) необходимо снижать функциональную активность мозга с помощью антиоксидантов, психотерапии, исходя из степени выраженности гипоксии [4]. В этой ситуации необходимо избегать стимуляции функциональной активности мозга, на какую бы усталость, утомляемость, снижение памяти и рассеянность пациент не жаловался. Нельзя при повышении энергообмена по данным НЭК назначать ноотропы.

Если же по данным НЭК регистрируется пониженный метаболизм – алкалоз, то при отсутствии противопоказаний (например, судорожная готовность по ЭЭГ) возможна и необходима стимуляция функциональной активности мозга и его метаболизма. В этом случае целесообразно назначение ноотропов. Универсальными препаратами в случае, как повышения метаболизма, так и в случае его понижения, являются антиоксиданты и вегетотропные лекарственные средства.

Для анализа данных использовались математико-статистические методы, включающие вычисление описательных статистик, критериев Колмогорова – Смирнова для одной выборки, Шапиро – Уилкса, Стьюдента для зависимых выборок, а также Вилкоксона. Все расчеты выполнялись с помощью компьютерной программы IBM SPSS Statistics 21.

Результаты исследования и их обсуждение

При нейропсихологическом исследовании у детей с ОВЗ выявлены трудности звукового анализа, ограничение навыков интеллектуальной деятельности и самоконтроля, замедленность процессов восприятия, нестойкость и дефицит внимания, ослабление памяти, нарушение функции равновесия.

Клиническое неврологическое исследование с применением визуальной и кинестезической диагностики выявило многоуровневые биомеханические изменения со стороны опорно-двигательной системы [5, 6, 8]. У всех осмотренных детей выявлен регионарный постуральный дисбаланс мышц плечевого пояса с укорочением лестничных, больших, малых грудных, клювоплечевых и расслаблением антагонистов – широчайших и средних трапециевидных мышц, элевация ключиц. Синдром «верхней апертуры грудной клетки» у детей проявлялся совокупностью функциональных блокад шейных позвоночных двигательных сегментов, фиксацией затылочной кости, повышением тонуса глубоких межпозвонковых мышц. При развитии многоуровневых «туннельных» синдромов выявлено нарушение кинетики мышечно-фасциально-связочных структур, что приводило к дисбалансу в кранио-сакральной ликвородинамической системе. В ходе нашего исследования у детей были выявлены мышечно-тонические синдромы в шейно-грудном отделе позвоночника. У детей с задержкой интеллектуального развития, связанного с гипоксически-травматическими повреждениями мозга выявлены нарушения мышечного тонуса, положения тела в пространстве и последовательности построения движений (несформированность «перекрестной» ходьбы). Все эти биомеха-

нические нарушения приводили к формированию неоптимального статико-динамического стереотипа со смещением центра тяжести от вертикальной оси, в большей или меньшей степени, а так же к снижению адаптационных возможностей [5, 7].

При проведении НЭК-исследования нарушение церебрального метаболизма было выявлено у 100% детей: явления ацидоза головного мозга (78%) и реже – алкалоза (12%).

Обоснование программы реабилитации

Равновесие тела в пространстве, механизмы и причины движений, связь с психическими процессами изучались учеными различных специальностей в течение длительного времени. Еще в 1947 году Н.А. Бернштейн представил движение как психическое действие. Около 30 лет назад появилась постурология, наука изучающая способность сохранять равновесие тела в вертикальном положении вопреки возмущающим внешним воздействиям (гравитационным силам) – одно из важнейших условий при взаимодействии с внешней средой. Регулируют равновесие импульсы, поступающие в ЦНС от глазодвигательных мышц, сетчатки, вестибулярного аппарата и рецепторов подошвенной поверхности стопы (эндогенных датчиков), а также от рецепторов позвоночника, тазобедренных, коленных и голеностопных суставов. Высший контроль за тонусом мышц осуществляет кора больших полушарий, ее моторные, премоторные и лобные области. Кора обеспечивает целесообразность позы, соответствие позы двигательным задачам и уже в 7-летнем возрасте спинальный механизм управления движениями является сформированным. Совершенствование управления движениями в возрасте 7–11 лет связано с процессом становления супраспинальных регуляторных механизмов. Морфологическое созревание коркового отдела двигательного анализатора, фронтальных областей коры и мозжечка обеспечивает возрастающие год от года возможности для формирования все более совершенных моторных программ.

Отклонения в развитии моторной сферы детей с задержкой психического и умственного развития создают, по мнению ряда авторов, определенные трудности в учебной деятельности [1, 2, 9].

Академик П.К. Анохин указывал, что «интеллектуальная» лобная кора не имеет отношения к отдельным функциям мозга – памяти, восприятию, мотивации, эмоциям, – но осуществляет их интеграцию

в целенаправленные, пластические поведенческие реакции.

Проведенные А.Р. Лурия (1969) нейропсихологические исследования показали, что лобные доли головного мозга входят в состав корковых отделов двигательного анализатора. Двигательная кора отвечает за организацию, «программирование» и осуществление произвольной двигательной активности организма – сложный процесс, который опирается на две группы зон, входящих в состав корковых отделов двигательного анализатора.

Мозг человека состоит из множества нейронов, которые отличаются друг от друга генетической программой развития: речь, мышление, постановка целей и их реализация – все это нейропсихологические функции. Известно, что из 15 миллиардов нервных клеток, имеющих в коре больших полушарий, человек использует не более 15%. Это обуславливает наличие больших резервных возможностей нервной системы, которые необходимо учитывать при разработке программ развития и реабилитации детей с врожденными и приобретенными нарушениями нейропсихологической сферы и ограниченными возможностями развития.

В условиях патологии недеференцированность клеток головного мозга является основой компенсации нарушенных функций. Развивая с помощью новых восстановительных технологий сохраненные звенья корковых структур и приспособлявая их к выполнению качественно новых задач (В.М. Астапов 1994), можно добиться убедительных успехов в формировании ослабленных или утраченных возможностей здоровья и психики.

В последние годы получила развитие теория нейропластичности, которая изменила представление о мозге: она говорит о том, что мозг не представляет собой набор специализированных частей, каждая из которых имеет определенное место и функцию, а является динамичным органом, способным перепрограммировать и перестраивать себя в случае необходимости. По данным профессора Нормана Джонса и Президента Международной психоаналитической ассоциации Чарльза Хэнли, мозг способен реорганизовывать себя за счет формирования новых нейронных связей как в детском возрасте, так и на протяжении всей жизни, что может помочь детям преодолеть сложности в обучении, улучшить концентрацию внимания и память. Мышление, обучение и активные действия способны «включить или

выключить» те или иные гены, способствуют развитию и преобразованию мозга.

Поврежденные или неправильно функционирующие клетки и цепи на самом деле могут быть регенерированными и перепрограммированными; местоположение определенной функции, как это ни удивительно, может быть перенесено из одного участка коры в другой. Признание того факта, что мозг пластичен и может менять себя с помощью тренировок и познания представляет собой грандиозный прорыв в истории развития науки XXI века.

Основные структуры мозга, задействованные в **механизмах нейропластичности**: гиппокамп (hippocampus), миндалина (миндалины, n. amigdalae), прилежащее ядро (n. accumbens). Одним из важнейших **факторов нейрогенеза** (формирование новых клеток, внутри-полушарных и межполушарных связей) являются собственная активность мозга, целенаправленные движения и адекватная поставка к глубинным и корковым отделам мозга глюкозы, необходимых питательных веществ и кислорода с кровью, а также удаление метаболитов. Родовые травмы, мышечные спазмы в шейно-черепном отделе, психотравмирующие ситуации в раннем детском возрасте приводят к явлениям гипоксии мозга и перераспределению пластических веществ в пользу стволовых структур, где находятся центры сердечно-сосудистой, дыхательной, пищевой и половой функций. Лобные и височные отделы мозга (где располагаются центры когнитивного развития, мотивации, речи, памяти, а также центр движения) в данном случае испытывают гипоксию, «обкрадывание», что приводит к нарушению познавательных функций ребенка, нарушению обучения и дальнейшей его социализации.

На основании полученных результатов была разработана комплексная нейрореабилитационная методика, включающая техники мягкотканевой мануальной терапии с целью восстановления тонусно-силового баланса мышц плечевого пояса, краниовертебрального перехода, а также улучшения церебрального метаболизма за счет нормализации процессов ликвородинамики, кровоснабжения, кислородного обеспечения стволовых и корковых структур мозга. Длительность и характер воздействия подбирались с учетом индивидуальных особенностей ребенка, в среднем – 8–10 процедур [5, 6]. Стабилизационные и дыхательные упражнения способствовали закреплению достигнутого результата. Применялись

методы развивающей терапии: сказко-терапия, ритмика, элементы образовательной кинезиологии.

Адаптивные физические упражнения были направлены на коррекцию и компенсацию нарушенных высших мозговых функций у этих детей, на развитие «эмоционально-когнитивного мозга».

Комплекс упражнений включал гомолатеральные (односторонние) шаги для активизации нижних отделов ствола головного мозга и отдельных полушарий. Гетеролатеральные движения без пересечения средней линии тела для восстановления межполушарных связей.

Упражнения выполнялись в разных вариантах и напоминали движения ползущей ящерицы или бегущей лошади. Гетеролатеральные форсированные движения с пересечением средней линии, вращением плечевого пояса в одну сторону, а тазового – в другую выполнялись с целью вовлечения большего числа нервных центров и лобных отделов головного мозга в организацию движений, так как требовали осознанности и сосредоточенности при их выполнении [3, 5, 9].

Ориентируясь на результаты НЭК-диагностики, дети получали фоновую терапию одним из лекарственных препаратов (пантокальцин, танакан, кортексин). При выявленном ацидозе детям назначали лекарственные препараты: танакан – 0,5 таб. утром, в течение 1 месяца (либо кортек-

син – 10 мг внутримышечно 1 раз утром 10 дней подряд). При выявленном алкалозе детям назначали пантокальцин в дозировке – 250 мг 2 раза в день в течение 1 месяца. Особенностью ноотропного препарата пантокальцина является нейропротекторная и нейротрофическая направленность, повышение устойчивости мозга к гипоксии и стимуляция анаболических процессов в нейронах. С детьми занимались психологи и логопеды. Программы восстановительного лечения были утверждены Комитетом по этике, родители подписали информированное согласие о необходимости проведения курса лечения и выполнении определенных рекомендации в домашних условиях.

Заключение

В результате применения мягкотканевой мануальной терапии (кожно-фасциального структурирования тканей, тракционных, мышечных техник) у детей отмечено выравнивание психоэмоционального фона и улучшение поструральных показателей: устранение напряжения мышц шейно-затылочного региона, устранение синдрома «верхней апертуры» и восстановление кинетики мышечно-фасциальных структур. Отмечена тенденция в восстановлении оптимальности статического и динамического стереотипа, что оказало влияние на состояние церебрального метаболизма и ликвородинамики.

Таблица 1

Оценка достоверности сдвига при воздействии танакана

Переменные энергообмена	Среднее значение		Значение критерия	Уровень значимости
	До воздействия	После воздействия		
F	13,2419	12,8000	$t = 1,025$	0,363
C	21,2903	18,6000	$t = 0,953$	0,395
O	18,3710	15,4000	$t = 3,142$	0,035
Td	13,1613	11,0000	$t = 3,771$	0,020
Ts	12,4839	14,2000	$t = 1,652$	0,174

Таблица 2

Оценка достоверности сдвига при воздействии пантокальцина

Переменные энергообмена	Среднее значение		Значение критерия	Уровень значимости
	До воздействия	После воздействия		
F	13,2419	10,0000	$t = -0,410$	0,722
C	21,2903	23,3333	$T = -0,535$	0,593
O	18,3710	19,0000	$t = -1,228$	0,344
Td	13,1613	14,0000	$t = -0,898$	0,464
Ts	12,4839	19,0000	$t = -4,804$	0,041

Таким образом, достоверные различия на уровне статистической значимости ($p \leq 0,05$) выявлены после воздействия та-накана (показатели энергообмена снизились в отведениях O, Td) и пантокальцина (показатели энергообмена повысились в отведении Ts).

Анализ статико-динамических нарушений у детей позволяет сделать вывод о ведущей роли передних отделов больших полушарий (премоторной и префронтальной коры) на формирование и построение двигательных программ. Поражение мозга (в том числе и гипоксия) сопровождается нарушением организации движений, положений тела в пространстве и выработки двигательных навыков. Комплекс упражнений, направленный на восстановление «эмоционально-когнитивного мозга», содействует компенсации нарушенных высших корковых функций и может быть использован в системе нейропсихологической реабилитации. Полученные в ходе исследования результаты, позволяют сделать следующие выводы:

1. Изучено влияние различных физических (родовые травмы, мышечные спазмы в шейно-черепном отделе) и психотравмирующих ситуаций раннего детского возраста, которые приводят к явлениям гипоксии мозга, нарушают пластические процессы, нейрогенез, что играет существенную роль в задержке развития ребенка, его когнитивных способностей.

2. При назначении лекарственных препаратов и физиотерапевтических процедур необходимо учитывать особенности кислотно-щелочного баланса головного мозга и прогнозируемые изменения энергообмена в результате их воздействия. Ноотропные препараты, оказывающие нейропротективное действие, рекомендуется назначать при явлениях гипоксии мозга на фоне сниженного энергообмена, а при повышенном

энергообмене рекомендуется назначать препараты с выраженным антиоксидантным действием, а также мягкотканевую терапию, которые дети хорошо переносят.

Таким образом, проведение нейроэнергетического картирования головного мозга (НЭК), наряду с другими исследованиями организма, позволяет приблизиться к персонализации восстановительных программ в назначении терапевтических средств детям, имеющим когнитивные нарушения различной этиологии.

Список литературы

1. Гончарова О.В., Никонова Л.С., Монахов М.В., Хан М.А., Ачкасов Е.Е., Николенко Н.Ю. Состояние здоровья и принципы реабилитации детей с синдромом дефицита внимания с гиперактивностью // Вестник восстановительной медицины. – 2012. – № 2. – С. 45–49.
2. Грибанов А.В., Панков Н.Н., Подоплекин А.Н. Уровень постоянных потенциалов головного мозга у детей при синдроме дефицита внимания и гиперактивности //
3. Кудрявцева Г.Ю. Комплекс упражнений для улучшения внимания, памяти и равновесия при хронической ишемии головного мозга: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новокузнецк, 2005. – 24с.
4. Миронов Н.П., Соколова Л.П., Борисова Ю.В. Нейроэнергетическое картирование. Оценка функционального состояния мозга при когнитивных нарушениях различной этиологии // Вестник «МЕДСИ». – 2010. – № 8. – С. 45–49.
5. Сафоничева М.А. Новые восстановительные технологии в комплексной реабилитации детей с задержкой интеллектуального развития: автореф. дис. ... канд. мед. наук // Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники Министерства здравоохранения РФ. – М., 2011.
6. Сафоничева О.Г. Способ лечения миофасциальной боли / Патент на изобретение RUS 2139030 22.05.1998.
7. Сафоничева О. Г. Синдром верхней апертуры грудной клетки // Врач. – 2006. – № 13. – С. 68–70.
8. Сязина Н.Ю., Сафоничева О.Г. Роль новых восстановительных технологий в формировании индивидуального стиля деятельности детей с ограниченными возможностями здоровья // Вестник восстановительной медицины. – 2014. – № 4 (62). – С. 42–46.
9. Шанина Г.Е. Межполушарные взаимодействия и способы их двигательной коррекции в детско-юношеском возрасте. – М., 2001. – 122 с.
9. Фокин, В.Ф., Пономарёва Н.В. Энергетическая физиология мозга. – М.: АНТИДОР, 2003. – 268 с.

УДК 616.31:613.6

ЭРГОНОМИКА В СТОМАТОЛОГИИ: РАБОТА В ЧЕТЫРЕ РУКИ

Сурина Е.А.

ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»,
Волгоград, e-mail: katerina.surina2013@yandex.ru

Данная обзорная статья посвящена одному из способов решения проблемы современной стоматологии – оптимизации работы врача-стоматолога за счет применения одного из достижений науки эргономики – работы в четыре руки. Обзор включает в себя: ознакомление с главными аспектами работы в четыре руки, освещение преимуществ и особенностей данного метода эргономики, а так же некоторые рекомендации относительно ведения приема пациента с ассистентом, с целью повышения условий взаимодействия врача-стоматолога, пациента и вспомогательного персонала. В процессе написания статьи я пришла к выводу, что для обеспечения полноценного применения метода «работы в четыре руки», необходимо понимать, что инструментарий должен подбираться с учетом выполняемых ими функций, а расположение врача, ассистента и пациента должны напоминать циферблат, так как это позволяет обеспечить безопасную для здоровья работу. Всё это является хорошим подспорьем для увеличения процента эффективности лечения пациентов, так как позволяет целесообразно распределить время приема.

Ключевые слова: работы в четыре руки, эргономика

ERGONOMICS IN DENTISTRY: THE WORK OF FOUR HANDS

Surina E.A.

Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: katerina.surina2013@yandex.ru

This review article addresses one of the ways of solving the problems of modern dentistry – optimization of work of a dentist through the use of one of the science of ergonomics – work in four hands. This includes: familiarization with the main aspects of the work of four hands, lighting advantages and features of this method of ergonomics, as well as some recommendations for the management of a patient with an assistant, with the aim of improving the conditions of interaction between dentist, patient and auxiliary personnel. In the process of writing I came to the conclusion that to ensure the full application of the method «work of four hands», you need to understand that the Toolkit should be chosen taking into account their functions and the location of the doctor, assistant and patient should remind the dial, as this allows us to provide safe health work. All this is a good tool for increasing the percentage of efficiency of treatment of patients, as it allows it is advisable to allocate the time.

Keywords: work for four hands, ergonomics

Одной из наиболее актуальных задач в современной стоматологии, во всех точках земного шара, до сих пор остается – повышение уровня производительности труда врача-стоматолога, с сохранением его психического и физического здоровья. Для поиска её рационального решения большое внимание уделяют эргономике, которая направлена на охрану работы стоматологов, повышение эффективности и качества их работы, создание для них нормальной рабочей обстановки, обеспечение безопасности и комфортности для пациентов, а также на разработку новейшего стоматологического оборудования [3, 7, 8, 10].

Целью является изучить принципы и основы одной из методик эргономии – работы в четыре руки.

Обзор литературы по выбранной теме

Эргономика представляет собой сочетание многих постулатов социологии, психологии, физиологии и т.д. Её цель, как науки, в снижении усталости, заболеваемости, травматизма работников и одно-

временно в более полном использовании физических и умственных способностей человека [3, 11, 12, 13, 14].

Поэтому на протяжении длительного времени во многих странах мира при стоматологических школах организуются комитеты и разрабатываются программы по изучению эргономических проблем стоматологии. Одна из таких программ, появившихся в университете Алабамы, положила начало концепции стоматологической работы в четыре руки, которая позже была поддержана и одобрена многочисленными стоматологами, получив развитие не только на национальном, но и на международном уровнях [1, 10, 15, 17, 19].

Что же такое работа «в четыре руки»? Прежде всего, это командная методика, где высококвалифицированные специалисты работают вместе в эргономичной среде, итогом такого взаимодействия является повышение производительности труда и качества работы без ущерба физическому состоянию их здоровья [2, 6, 16, 18, 20].

К сожалению, сегодня лишь малое количество стоматологических школ нашей страны уделяют должное внимание методике «работы в четыре руки». В результате чего многие выпускники учатся работать в четыре руки непосредственно на своём рабочем месте. Большинство из них, действительно, пытаются применять в своей работе данную методику, но из-за несоблюдения элементарных правил, страдают из-за физического стресса и нерационального обустройства офиса. Инструменты и оборудование находятся вне досягаемости членов рабочей команды. Функции ассистента остаются не задействованными в полном объёме. Такой подход в организации труда лишен истинных принципов концепции работы в четыре руки. Так как для получения максимальной пользы нужно учитывать все тонкости взаимодействия стоматолога и ассистента [1, 3, 6, 11].

Рассматривая различные варианты соотношения стоматолог – вспомогательный персонал, стоит обратить внимание на главное условие-стоматологу в его работе должны помогать как минимум один помощник, не считая зубных техников и санитарок [1, 3, 21, 23, 25].

Но при этом необходимо понимать, что простое количественное увеличение вспомогательного персонала само по себе не сможет повысить эффективность работы стоматолога. Так как существует прямая зависимость эффективности работы врача-стоматолога от квалификации его ассистента. Это все связано с тем, что вспомогательному персоналу предлагается передать часть манипуляций врача: первичную обработку кариозной полости, инъекция лекарственных веществ, удаление зубных отложений [1, 9, 20, 22, 24].

Таким образом, определяющее значение вспомогательного персонала состоит в том, что он высвобождает время стоматолога на более сложные процедуры, требующие высокой квалификации [33, 34, 35].

Для наглядности слов, сказанных выше, можно привести данные эксперимента, направленного на учет затрат времени стоматологов в процессе проведения основной работы при приеме с ассистентом и без его участия. Затраты времени стоматолога во время приема одного пациента, не связанные напрямую с его лечением (манипуляции с креслом, накрывание пациента салфеткой, настройка светильника, ожидание сплевывания пациента в плевательницу и т.д.) состав-

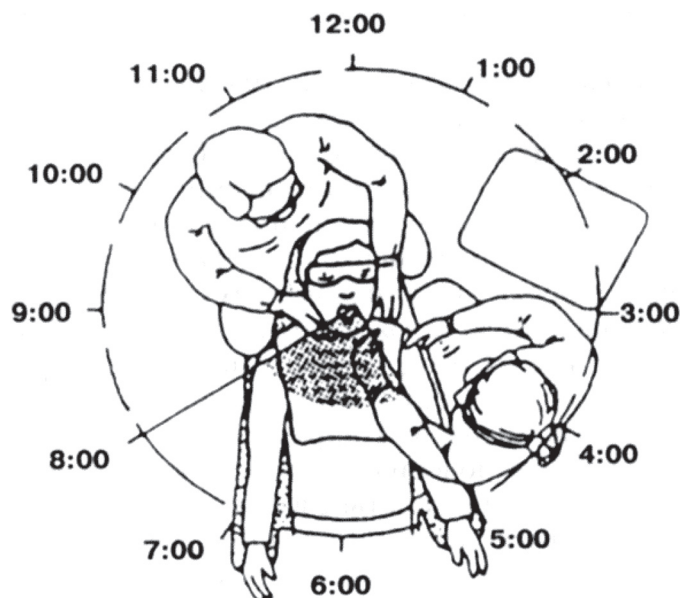
ляют: на приеме без вспомогательного персонала в пределах 12 мин, а на приеме с ним – 0,5 мин. В результате, общая экономия рабочего времени врача-стоматолога при работе с ассистентом может достигать 32,7% [1, 3, 26, 28, 32, 33, 34].

Так же, еще одним из постулатов «работы в четыре руки» является сохранение долготелней трудоспособности и качества труда врача-стоматолога за счёт экономии рабочих движений и работы с пациентом в оптимальной позе. Именно с целью экономии движений, Dr. Chasteen E.J. (1978) предпринял попытку классифицировать движения врача, и в результате им была предложена следующая типология:

- 1-й класс – движения пальцев (при обмене инструментами);
- 2-й класс – движения пальцев и кисти (при работе инструментом во рту пациента);
- 3-й класс – движения пальцев, кисти и предплечья (управление стоматологическим креслом с помощью пульта управления, взятие наконечника с панели инструментов врача);
- 4-й класс – движение всей руки от плеча (регулировка источника освещения, наложение коффердама);
- 5-й класс – движение всей руки от плеча и поворот тела (движение в направлении предмета, находящегося за пределами оптимальной рабочей зоны).

Основной идеей данной классификации является ограничение движений врача движениями 1, 2 и 3 класса. Следовательно, 4 и 5 класс допускаются лишь в минимальном количестве, благодаря совместной работе с ассистентом [6, 11, 23, 25, 27, 29].

Для того, чтобы позволить наиболее рационально использовать рабочее пространство во время работы в четыре руки, сегодня, многие западные школы рекомендуют несколько позиций врача. Общей рекомендацией является применение горизонтальной позиции пациента. При этом стоматолог сидит непосредственно за головой больного в положении «8–12 часов» на абстрактном циферблате (рисунок). Эта зона не должна содержать что-либо, мешающее свободным движениям врача. Район от 12:00 до 2:00 носит название статистической зоной, она необходима для передвижения столика с инструментами и материалами. Зона от 2:00 до 5:00 принадлежит ассистенту. Промежуток от 5:00 до 8:00 служит для передачи инструментов, необходимых для совершения манипуляций [1, 5, 10, 26, 28, 30].



Эргономичное положение врача, ассистента и пациента

Одним из важных преимуществ при этом является то, что пациент не видит инструментария, таким образом, возможно исключение дополнительных психологических нагрузок во время приема.

Дополняя вышесказанное, стоит выделить несколько советов по организации совместного приема [6, 4, 29, 31, 33]:

1. Уменьшать количество инструментов, стараясь максимально использовать каждый для нескольких видов манипуляций.
2. Инструменты в лотке должны размещаться исходя из частоты их использования.
3. Подготавливать инструменты, материалы и оборудование заранее, насколько это возможно.
4. Движение глаз от ярко освещенного поля в сторону удаленных объектов должно быть сведено к минимуму.
5. В работе использовать плавные непрерывные движения.

Результаты исследования и их обсуждение

Обобщая сказанное ранее, можно составить основные принципы лечения в четыре руки [10]:

- Использование квалифицированного помощника.
- Рациональное расположения оборудования.
- Применение оптимальной рабочей позы врача, ассистента и пациента.
- Попытка максимального сохранения движений.

Неудивительно то, что концепция работы «в четыре руки» набирает популярность. Соблюдение всех её правил и основ позволяет врачу-стоматологу эффективно распределять своё рабочее время, а так же уменьшить риск ухудшения своего здоровья с годами.

Вывод

В заключение стоит отметить значимость и результативность улучшения стоматологического приема путем использования метода работы «в четыре руки». Именно он помогает облегчить клиническую работу с пациентом и предоставляет наиболее удобное планирование дальнейшего его лечения.

Список литературы

1. Володько А.А. Эргономика в стоматологии: история развития. // Белорусское республиканское общественное объединение специалистов стоматологии. – 2012. – № 1(4). – С. 74.
2. Володько А.А. Работа в четыре руки: экономия движений // Белорусское республиканское общественное объединение специалистов стоматологии. – 2013. – № 2(9). – С. 78–79.
3. Данилина Т.Ф., Колесова Т.В., Моторкина Т.В. Современный стоматологический прием: технологические и эргономические аспекты // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 11. – С. 84.
4. Леус П.А. Эргономика и организация рабочего места врача-стоматолога: учеб.-метод. пособие / П.А. Леус, В.И. Даревский, А.А. Володько. – Минск: МГМИ, 1995. – 18 с.
5. Садовский В.В. Стоматология в 4 руки. – М.: ОАО «Стоматология», 1999. – С. 12–13; 18–20.
6. Chasteen J.E. Four-Handed Dentistry in Clinical Practice. – St. Louis, C.V. Mosby Co., 1978.

7. Finkbeiner B.L. Four-Handed Dentistry Revisited // *J. Contemp. Dent. Pract.* – 2000. – Vol. 1. – № 4.
8. Mangharam J., McGlothlan JD. Ergonomics and dentistry: a literature review. In: Murphy DC, editor. *Ergonomics and the dental care worker* // Washington, DC, USA: American Public Health Association. – 1998. – P. 25–75.
9. Nixon G.S. Chairside ergonomics // *J. Int. Dental.* – 1971. – Vol. 21. – № 2. – P. 270–277.
10. Wagner B. Optimal Working Posture // *Quint. Inter.* – 1984. – № 1. – P. 77–81.
11. Данилина Т.Ф. и др. Коронка для дифференциальной диагностики гальваноза / Патент на полезную модель РФ. – № 119601.
12. Данилина Т.Ф., Наумова В.Н., Жидовинов А.В. Литье в ортопедической стоматологии: монография. – Волгоград, 2011.
13. Данилина Т.Ф. и др. Способ диагностики непереносимости ортопедических конструкций в полости рта // *Современные наукоемкие технологии.* – 2013. – № 1.
14. Данилина Т.Ф. и др. Профилактика гальваноза полости рта у пациентов с металлическими зубными протезами // *Вестник новых медицинских технологий.* – 2012. – Т. 19. – № 3.
15. Жидовинов А.В. Обоснование применения клинико-лабораторных методов диагностики и профилактики гальваноза полости рта у пациентов с металлическими зубными протезами: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2013.
16. Данилина Т.Ф. и др. Расширение функциональных возможностей потенциалометров при диагностике гальваноза полости рта // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* – 2013. – № 1. – С. 260.
17. Данилина Т.Ф. и др. Диагностические возможности гальваноза полости рта у пациентов с металлическими ортопедическими конструкциями // *Современные наукоемкие технологии.* – 2012. – № 2.
18. Данилина Т.Ф., Жидовинов А.В. Гальваноз как фактор возникновения и развития предракловых заболеваний слизистой оболочки полости рта // *Вестник ВМА.* – 2004. – № 12. – С. 80–81.
19. Данилина Т.Ф. и др. Клинико-лабораторная оценка эффективности комплексного лечения пациентов с дефектами зубных рядов // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2008. – Т. 10. – № 4.
20. Шемонаев В.И. и др. Способ временного протезирования на период остеоинтеграции дентального имплантата // *Современные наукоемкие технологии.* – 2013. – № 1.
21. Жидовинов А.В. Обоснование применения клинико-лабораторных методов диагностики и профилактики гальваноза полости рта у пациентов с металлическими зубными протезами: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2013.
22. Данилина Т.Ф. и др. Способ профилактики гальваноза в полости рта // Т.Ф. Данилина, Д.В. Михальченко, А.В. Порошин, А.В. Жидовинов, С.Н. Хвостов / Патент на изобретение RUS. – 2011. – Т. 2484767. – № 23.12.
23. Данилина Т.Ф. Литье в ортопедической стоматологии. Клинические аспекты: монография / Данилина Т.Ф., Михальченко Д.В., Наумова В.Н., Жидовинов А.В. – Волгоград, 2014.
24. Гумилевский Б.Ю. и др. Взаимосвязь иммунного воспаления и клинических проявлений гальваноза полости рта // *Фундаментальные исследования.* – 2014. – № 7–2.
25. Мануйлова Э.В. и др. Использование дополнительных методов исследования для оценки динамики лечения хронического верхушечного периодонтита // *Современные проблемы науки и образования.* – 2014. – № 6.
26. Жидовинов А.В., Павлов И.В. Изменение твердого неба при лечении зубочелюстных аномалий с использованием эджуайз-техники // *Сборник научных работ молодых ученых стоматологического факультета ВолГМУ. Материалы 66-й итоговой научной конференции студентов и молодых ученых. Редакционная коллегия: С.В. Дмитриенко (отв. редактор), М.В. Кирпичников, А.Г. Петрухин (отв. секретарь).* – 2008. – С. 8–10.
27. Михальченко Д.В. и др. Социальные проблемы профилактики стоматологических заболеваний у студентов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2014. – № 5. – С. 474.
28. Михальченко Д.В. и др. Мониторинг локальных адаптационных реакций при лечении пациентов с дефектами краниофациальной локализации съемными протезами // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 4.
29. Медведева Е.А., Федотова Ю.М., Жидовинов А.В. Мероприятия по профилактике заболеваний твердых тканей зубов у лиц, проживающих в районах радиоактивного загрязнения // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015. – № 12–1. – С. 79–82.
30. Поройский С.В. и др. К вопросу об остеоинтеграции дентальных имплантатов и способах ее стимуляции // *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* – 2015. – № 3 (55).
31. Шемонаев В.И., Михальченко Д.В., Порошин А.В., Величко А.С., Жидовинов А.В. Эффективность применения боров фирмы «рус-атлант» при препарировании зубов под металлокерамические коронки // *Волгоградский научно-медицинский журнал.* – 2013. – № 1 (37). – С. 45–46.
32. Жидовинов А.В. и др. Проблема выбора метода очистки провизорных конструкций на этапах ортопедического лечения // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 3.
33. Михальченко Д.В. и др. Динамика иммунологических показателей в процессе адаптации к несъемным ортопедическим конструкциям // *Современные проблемы науки и образования.* – 2015. – № 4.
34. Данилина Т. Ф. и др. Качество жизни пациентов с гальванозом полости рта // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2012. – Т. 14. – № 2. – С. 134.
35. Mikhalchenko D.V., Zhidovinov A.V., Mikhalchenko A.V., Danilina T.F. The local immunity of dental patients with oral galvanosis // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* – 2014. – Т. 5. – № 5. – С. 712–717.

УДК 612.111.44:615.373.34

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ АГГЛЮТИНАЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ,
ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛЕКТИНАМИ,
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ**

^{1,2}Циркин В.И., ³Анисимов А.Ю., ⁴Дмитриева С.Л., ⁴Братухина О.А.,

⁵Хлыбова С.В., ²Шушканова Е.Г., ²Марьяна А.В., ²Безмельцева О.М.

¹ГОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Казань, e-mail: tsirkin@list.ru;

²ГОУ ВО «Вятский государственный университет, Минобра РФ, Киров, e-mail: tsirkin@list.ru;

³ГОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
Екатеринбург, e-mail: kuanisimov@mail.ru;

⁴КОГБУЗ «Кировский областной клинический перинатальный центр» Минздрава РФ,
Киров, e-mail: swdmtr09@yandex.ru;

⁵ГОУ ВО «Кировская государственная медицинская академия», Киров, e-mail: svekhlybova@yandex.ru

Цель обзора – привлечь внимания исследователей к использованию лектинов (фитогемагглютининов, ФГА) для диагностики преждевременных родов по характеру фоновой и вызванной (адреналином и другими гормонами) агглютинации эритроцитов. Рассматривается феноменология и механизм агглютинации эритроцитов, антигены эритроцитов и факторы, модулирующие агглютинацию. Дается общее представление о лектинах, их строении, истории открытия, классификации, физиологической роли, в частности об участии эндогенных лектинов в процессах адгезии, репродукции, иммунитете, противоопухолевой защите, в реализации детоксикационной функции и о применения лектинов в клинической и лабораторной практике. Рассматривается способность лектинов вызывать агглютинацию эритроцитов, в том числе с учетом природы источника и групповой принадлежности крови, механизмы агглютинации, индуцируемые лектинами. Охарактеризованы лектины гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) в связи с их использованием авторами обзора. Приводятся сведения об изменении агглютинативности и скорости фоновой и вызванной агглютинации эритроцитов, вызываемой различными способами, в том числе лектинами, у женщин при беременности, при наличии угрозы преждевременных родов (УПР) и родовой деятельности. Авторы заключают, что использование лектин-вызванной агглютинации эритроцитов как доступного и несложного метода исследования повысит точность прогнозирования преждевременных родов.

Ключевые слова: эритроциты, агглютинация, лектины, беременность, роды, угроза преждевременных родов

**OUTLOOK STUDY OF ERYTHROCYTE AGGLUTINATION INDUCED LECTIN
TO DIAGNOSE OF PRETERM LABOR**

^{1,2}Tsirkin V.I., ³Anisimov A.Yu., ⁴Dmitrieva S.L., ⁴Bratuhina O.A., ⁵Hlybova S.V.,

²Shushkanova E.G., ²Maryina A.V., ²Bezmeltseva O.M.

¹Kazan State Medical University, Kazan, e-mail: tsirkin@list.ru;

²Vyatka State University, Kirov, e-mail: tsirkin@list.ru;

³Ural State Medical University, Ekaterinburg, e-mail: kuanisimov@mail.ru;

⁴Kirov Regional Clinical Perinatal Center, Kirov, e-mail: Swdmtr09@yandex.ru;

⁵Kirov State Medical Academy, Kirov, e-mail: svekhlybova@yandex.ru

The purpose of the review – to attract the attention of researchers to the use of lectins (phytohemagglutinins PHA) for the diagnosis of preterm labor in character background and evoked (adrenalin and other hormones) agglutination of erythrocyte. We consider the phenomenology and the mechanism of erythrocyte agglutination, antigens of erythrocyte and factors that modulate erythrocyte agglutination. It provides an overview of lectins, their structure, the history of its opening, classification, physiological role, in particular on the participation of endogenous lectins in adhesion processes, reproduction, immunity, anti-tumor protection in the implementation of deintoxication function and use of lectins in clinical and laboratory practice. We consider the ability of lectins cause agglutination of the erythrocyte, including with regard to the nature and source of blood groups, and mechanisms of agglutination induced by lectins. We characterize lectins of pea (*Pisum sativum* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in connection with their use of the review authors. Provides information about changing of agglutinability and speed of the background and the evoked agglutination of erythrocyte caused by a variety of ways, including lectins, in women during pregnancy, in the presence of preterm or term labor. The authors conclude that the use of lectin-induced agglutination of erythrocytes as a available and simple method of research will improve the accuracy of prediction of preterm labor.

Keywords: erythrocytes, agglutination, the lectins, pregnancy, labor, the threat of premature labor

Преждевременные роды (ПР), на долю которых приходится 5–12% от всех родов, являются самой актуальной проблемой акушерства, так как они сопровождаются

высокой перинатальной заболеваемостью и смертностью, высоким уровнем инвалидности детей и подростков и многими другими негативными последствиями для

ребенка [12, 47, 54]. Угроза преждевременных родов (УПР) наблюдается значительно чаще, чем ПР, так как во многих случаях все-таки удается предотвратить переход УПР в начавшиеся ПР [12, 54]. Но, к сожалению, до настоящего времени ежегодно во всем мире преждевременно рождаются до 15 миллионов детей [47]. Поэтому оценка вероятности перехода УПР в ПР, т.е. прогнозирование ПР – одна из актуальных задач, которую сегодня решают отечественные и зарубежные акушеры. Наш обзор посвящен изучению изменения фоновой и/или вызванной (например, адреналином) способности эритроцитов к агглютинации, индуцированной различными способами (сывороточными поликлональными антителами, моноклональными антителами, или цитокинами, лектинами) при неосложненном течении беременности и родов, а также при УПР. При этом, базируясь на представлениях о том, что с самого начала беременности формируется иммунологическая толерантность матери к полуаллогенному плоду, а индукция родов представляет собой разрешение иммунного конфликта между матерью и плодом, которое протекает по типу воспаления [48, 79], мы предполагали, что эритроциты могут отражать изменения иммунных процессов, которые происходят при беременности и родах, а также отражать изменения реактивности клеток организма к адреналину, ацетилхолину, окситоцину, серотонину, прогестерону, эстрогенам и к другим биологически активным веществам (БАВ), в том числе при УПР. Аналитическому обзору этих данных мы предпосылаем экскурс в вопросы агрегации, адгезии и агглютинации эритроцитов и участия лектинов в этом процессе. В связи с относительной малочисленностью информации о лектинах в обзоре также сообщается о распространенности лектинов в природе и их физиологической роли. Конечной целью обзора является привлечение внимания исследователей к использованию лектинов в диагностике преждевременных родов и их прогнозировании.

1. Агрегация, адгезия и агглютинация эритроцитов

Агглютинация эритроцитов рассматривается отдельными авторами как частный случай межклеточного взаимодействия, в том числе как вариант агрегации или адгезии эритроцитов, и как вариант иммунной реакции, так как при агглютинации имеет место взаимодействие антитела, или его

аналога в виде фитогемагглютинаина (ФГА), с антигеном [76].

1.1. Агрегация эритроцитов. Основными механизмами агрегации являются электростатическое взаимодействие между эритроцитами и взаимодействие эритроцитов по типу макромолекулярного связывания [13, 14, 15, 27]. Считается, что электростатические силы взаимодействия обусловлены притяжением между двумя противоположно заряженными ионизированными группами, например аминогруппой NH лизина, входящего в состав одного белка, и карбоксильной группой COO глютаминовой кислоты, входящей в состав другого белка. Однако этому процессу противостоит электростатическое отталкивание одноименно заряженных частиц на эритроцитах. Сила отталкивания характеризуется ζ -потенциалом (дзета-потенциалом), или «электрораспором», который в норме составляет 15 мВ со знаком минус по отношению к плазме крови. Полагают, что у эритроцита 2% отрицательного заряда поверхности обусловлено нейраминовыми кислотами, а 5% – сиаловыми кислотами. Снижение этого потенциала позволяет эритроцитам сближаться, т.е. агрегировать. Агрегации способствуют и водородные связи (силы Ван-дер-Ваальса), образующиеся между такими гидрофильными группами как OH, NH₂ и COOH, которые находятся на поверхности эритроцитов. Но эти связи относительно слабы. Согласно мостиковой теории, агрегация эритроцитов может быть обусловлена процессами сорбции фибриногена, глобулинов, иммуноглобулинов, полиглобулина и других макромолекул на мембране эритроцита, которые образуют мостики между эритроцитами. Если макромолекула типа фибриногена имеет размеры, которые превышают барьер отталкивания, то она одновременно прикрепляется и на соседнем эритроците, образуя между этими эритроцитами «мостик», что и приводит к агрегации эритроцитов. В процессе агрегации или адгезии эритроцитов выделяют 4 этапа:

- 1) транспорт;
- 2) клеточную активацию (эндогенную или экзогенную);
- 3) морфологические, физические или пространственные перегруппировки;
- 4) образование межклеточных контактов [76].

1.2. Агглютинация. Считается [13–15, 27], что в нормальных условиях агглютинация эритроцитов не происходит. Она возникает при появлении в среде иммуноглобулинов,

либо их аналогов – ФГА, которые взаимодействуют с «рецепторами» эритроцитов. В роли последних выступают агглютиногены (по современной классификации – антигены) А, В, Н, а также Rh-антигены (D, C, E, d, c, e), антигены систем Келл, Кидд, Даффи, Льюис и других систем. В результате происходит необратимое склеивание эритроцитов между собой и выпадение в осадок. Агглютинаты представляют собой плотные образования, которые не образуют сетчатой структуры, и размер которых сильно варьирует. Разрушение агглютинатов сопровождается гемолизом эритроцитов.

1.3. Механизм агглютинации. Считается [13, 27, 64, 71, 76], что при наличии антител (или ФГА) в среде и соответствующих антигенов на поверхности эритроцитов происходит их взаимодействие, в результате которого снижается отрицательный заряд эритроцитов, что ведет к их сближению и к склеиванию. Следовательно, агглютинацию эритроцитов можно отнести к иммунной реакции. С этих позиций, время начала агглютинации (ВНА), вероятнее всего, отражает процесс взаимодействия антител (фитоагглютиногена) с антигенами эритроцитов, сближение эритроцитов и образования прочной связи между ними. Вероятно [76], что процесс агглютинации (как и процесс агрегации или адгезии) идет в 4 этапа: транспорт, клеточная активация, морфологические, физические или пространственные перегруппировки и образование межклеточных контактов.

Полагают, что при агглютинации эритроцитов (как и при их агрегации) участвуют силы электростатического взаимодействия, силы Ван-дер-Ваальса и силы молекулярного перекрытия [13, 53, 70, 76, 80–82], но эти силы при агглютинации на порядок выше, чем при агрегации [13]. Однако, по мнению ряда авторов [64], процессы, которые возникают при агглютинации эритроцитов в присутствии иммуноглобулинов (IgM, IgG) или ФГА, существенно отличаются от процесса спонтанного образования агрегатов или адгезии эритроцитов. В целом, можно утверждать, что агглютинация происходит в том случае, когда силы связывания намного превышают силы отталкивания, обусловленные отрицательным зарядом клеточной поверхности эритроцитов.

1.4. Оценка силы, вызывающей агглютинацию эритроцитов. Этот вопрос детально изучался многими авторами, так как величина этой силы косвенно отражает аффинность антител или ФГА к их

«рецепторам», расположенным на поверхности эритроцита, т.е. к антигенам [53, 70, 80–82]. Указанными авторами предложен метод оценки энергии, необходимой для реализации процесса агглютинации, т.е. для прочного сцепления эритроцитов под влиянием антител или ФГА. В основе этого метода лежит определение силы, необходимой для дезагглютинации, т.е. для разрыва дублета эритроцитов. При этом предложено оценивать значения нормальной силы (F_n), действующей вдоль оси дублета, и значение силы сдвига (F_{shear}), действующей перпендикулярно оси дублета. При этом предполагается, что клетки сшиты антителом, длина которого не превышает 20 нанометров [81]. Для вычисления нормальной силы (F_n) и силы сдвига (F_{shear}) предложено [80, 82] наблюдать в трубке диаметром в 178 или 150 микрон судьбу дублета эритроцитов в потоке крови, протекающем самотеком между двумя резервуарами (с постепенно возрастающей скоростью) и с записью на видеопленку поступательных и вращательных движений дублетов до того момента, пока не произойдет их разрыв. Показано [82], что с увеличением в среде концентрации антител значительно возрастают F_n (от 0,060 до 0,197 наноН) и F_{shear} (от 0,023 до 0,072 наноН), хотя при такой методике не удастся определить какая сила (F_n или F_{shear}) ответственна за разделение дублета. По данным D. Tees et al. [80], величина F_n , необходимая для разрыва мостиков, образованными антителами IgM или IgA, колеблется от 2 до 200 пикоН, при этом она тем больше, чем выше концентрация иммуноглобулина, т.е. чем больше мостиков, связывающих два эритроцита между собой. Подобную зависимость от концентрации моноклональных антител (анти-А) на эритроците выявили L. Plá et al. [70]. Установлено [53], что при агглютинации, индуцированной антителами А или В, либо ФГА из улитки виноградной (*Helix pomatia* L.), сила сцепления эритроцитов в процессе агглютинации постепенно увеличивается. Это объясняется тем, что при начальной сборке агглютината лишь небольшая часть антител или ФГА формирует поперечные мостики, но затем по мере преодоления сил отталкивания, которые обусловлены микроскопическими «шероховатостями» и стерическими несоответствиями, число мостиков постепенно возрастает. Таким образом, все эти исследования показали, что сила сцепления эритроцитов при агглютинации выше, чем при агрегации или

адгезии, и она прямо пропорциональна концентрации антитела или ФГА в среде.

1.5. Характеристика антигенов эритроцитов. Система АВ0 представлена антигенами А, В и Н [15, 27]. При этом существует несколько изоформ антигена А, в том числе сильный антиген А1, или Аcomt, и слабые антигены: А2, А3, Am, Aint, Aand. Аналогично в отношении изоформ антигена В – среди них имеются сильные антигены (В1 и В2), и слабые антигены (В3, Вx, Вw, Вm), которые встречаются редко. Количество антигенных мест (А и В) на эритроцитах человека достигает 10^6 , или колеблется от 810 тысяч до 1170 тысяч в расчете на 1 эритроцит и до 140-300 тысяч для антигена А2 [27]. Антигены А, В и Н в основном имеют один и тот же химический состав и они относятся к водорастворимым гликопротеидам, т.е. ковалентно связанным углевод-белковым биополимерам, которые на 80–90% состоят из углеводов. Отличия между ними определяются терминальными сахарами, прикрепленными к основной цепи антигена. Для антигена Н терминальным сахаром является L-фруктоза, для антигена А – N-ацетилгалактозамин, для антигена В – это D-галактоза. Большое число олигосахаридов каждого из этих типов детерминант связаны с одиночными полипептидами и образуют подобие дендритной структуры. Детерминанты строятся с помощью добавления остатков сахаров к углеводородной цепи предшествующей молекулы (Н-антиген) при участии гликозилтрансферазных ферментов: N-ацетилгалактозаминтрансферазы и D-галактозилтрансферазы. Гены групп крови контролируют образование и функционирование этих энзимов, необходимых для формирования антигенных детерминант посредством прикрепления соответствующих углеводных остатков, выступающих в роли иммунодоминантных сахаров каждой детерминантной структуры. Таким образом, именно гликозилтрансферазы выступают в качестве катализатора процесса переноса сахара от нуклеотидного углеводорода к акцепторной структуре гликопротеидной или гликолипидной молекулы [27]. Ослабление выраженности или полная утрата антигенных детерминант на эритроцитах происходит у больных онкологическими заболеваниями и лейкозами [27]. Природа этих изменений не ясна. Возможно, что это связано с нарушением синтеза гликозилтрансфераз А и В, ответственных за формирование антигенных детерминант [27]. Вы-

раженность антигенов А и В на эритроцитах меняется под влиянием гормональных препаратов, а также при беременности [7, 27]. Так, показано [7], что у женщин группы А уровень антигена А до беременности составил 114,8 усл. ед., в I триместре он снижается до 63,1 усл. ед., во II триместре возрастает (до 263 усл. ед.), в III триместре вновь снижается (до 109,6 усл. ед.). Аналогичная динамика отмечена в отношении изменения концентрации антигена В. Автор [7] полагает, что изменение числа антигенов на поверхности эритроцитов, а, следовательно, изменение агглютинабельности эритроцитов, при беременности обусловлено тем, что на эритроцитах сорбируются продукты распада, которые меняют число свободных антигенов на его поверхности, что делает агглютиногены недоступными для антител (агглютининов).

В системе Резус (Rh) известно 48 антигенов, из которых самым сильным является антиген Rh6 (D), в то время как остальные антигены этой системы (С, Е, d, с, е) слабые [27]. Все антигены Rh-системы – это полипептидные цепи с молекулярной массой 30 кДа, которые многократно пересекают мембрану эритроцитов. Часть цепей содержит гликозилированный компонент, а также фрагменты липидной природы, т.е. ковалентно связанные жирные кислоты. Поэтому по своей природе резус-антигены – это липопротеиды [27]. В среднем, на 1 эритроците находится 11–13 тысяч каждого из антигенов Rh-системы [27]. Антитела системы Rh имеют аутоиммунное происхождение (за исключением анти- Rh39) [27].

1.6. Антитела (гемагглютинины) как индукторы агглютинации. В обычных условиях агглютинация эритроцитов индуцируется анти-А антителами (прежнее название – альфа-агглютинины), или анти-В антителами (прежнее название – бета-агглютинины) или резус-агглютинидами, т.е. анти-Д антителами [15]. Циркулирующий пул анти-А антител и анти-В антител состоит из двух классов иммуноглобулинов – в основном IgM, проходящими через плаценту, и, в меньшей степени, IgG [15, 27]. Rh-антитела, в том числе анти-Д антитела, также представлены иммуноглобулинами класса IgM и IgG [15, 27].

1.7. Модуляция агрегации и агглютинации. Отдельные вещества способны повышать спонтанную агрегацию (и, вероятно, агглютинацию) эритроцитов человека [10, 14, 19, 34, 40, 45, 68, 71]. Среди них ионы лантана [10, 19, 40], алциановый голубой

[14, 34, 68, 71], декстран [71], а также фибриноген [45]. Ее также повышает звуковое давление (величиной 520–1800 мм рт.ст.) в условиях *in vitro* [71] и УЗИ-воздействие [13, 71]. Уровень анти-А и анти-В антител может меняться и тем самым модулировать агглютинабельность эритроцитов, т.е. их способность к агглютинации [27]. В частности, уровень этих антител снижается при тяжелой общей инфекции, при лейкемии и при опухолевых процессах [27].

1.8. Влияние иммунодепрессантов на индуцированную агглютинацию эритроцитов. Сообщается [16], что иммунодепрессанты (кортикостероидные гормоны, эпсилон-аминокапроновая кислота, мочевины), введенные в изогемагглютинирующую сыворотку крови, уменьшают ее способность индуцировать агглютинацию эритроцитов. Действительно, введение гидрокортизона (25 мг/мл), преднизолона (30 мг/мл), эпсилон-аминокапроновой кислоты (100–400 мг/мл) или мочевины (100–500 мг/мл) в геагглютинирующую сыворотку крови человека (в соотношении 1:1) с последующим инкубированием в течение 0,5–1 часа при 37°C сопровождалось резким уменьшением способности этой сыворотки вызывать агглютинацию эритроцитов или лейкоцитов у лиц, имеющих группу А или группу В. Так, если исходно анти-А и анти-В антитела проявляли свой эффект при титре 1:16–1:32, то после инкубации с указанными веществами они вызывали агглютинацию лишь при титре 1:2 или 1:4. Аналогично, указанные вещества уменьшали способность Rh-антител взаимодействовать с Rh-фактором. Авторы показали, что иммунодепрессанты не разрушали антигены, а снижали способность антител связываться с соответствующими антигенами. Исходя из этих данных, можно предположить, что изменение времени начала агглютинации (ВНА) эритроцитов может быть связано с изменением содержания в крови эндогенных иммунодепрессантов (например, с ростом содержания глюкокортикоидов).

1.9. Определение групп крови по АВ0-, Rh- и другим системам. Моноклональные антитела (целиклены, или изосероклены). Для определения групповой принадлежности крови (в частности, по системе АВ0, или по Rh-системе) используют изогемагглютинирующие сыворотки (поликлональные сывороточные антитела) или моноклональные антитела (целиклены или изосероклены) [15, 27], а в отдельных случа-

ях предложено использовать ФГА для дифференцировки субантигенов А1 и А2 [32] или субантигенов В1, В2 и В3 [31]. С учетом наличия нескольких изоформ антигена А и антигена В, порождающих ошибки при определении групповой принадлежности крови (особенно в отношении антигена А), в клинике вместо сывороточных поликлональных антител стали применять моноклональные антитела в виде целиклонов или изосерокленов. [15, 27, 84]. Целиклон – это солевой раствор моноклональных антител к антигенам, расположенным на поверхности эритроцитов человека. Моноклональные антитела для целиклонов получают при помощи гибридом, или определенных штаммов бактерий, полученных специально для этих целей методами генной инженерии. В частности, моноклональные анти-А и анти-В антитела продуцируются двумя мышинными гибридами и принадлежат к иммуноглобулинам класса IgM. Целиклоны изготавливаются из асцитной жидкости мышей-носителей анти-А и анти-В гибридом. Целиклон анти-АВ представляет собой смесь моноклональных анти-А и анти-В антител. В последние годы применяют целиклон анти-А1 (лектин), который вызывает агглютинацию только при наличии сильного антигена А1, что позволяет среди носителей А-антигена выбрать популяцию носителей лишь с А1-антигеном. Для выявления слабых А-антигенов используют целиклон анти-Асл.

Целиклоны анти-Д бывают нескольких модификаций [15, 27]. Один из них содержит IgM, т.е. полные антитела (например, целиклон Анти-Д Супер, и его аналог изосероклон™ анти-Д IgM-реагент). Этот вид целиклона позволяет определять наличие сильного резус-антигена D. Второй вариант целиклонов (например, целиклон Анти-Д) содержит IgG, т.е. неполные антитела. С помощью этого целиклона в присутствии 10% желатина можно определять слабые изоформы антигена D и другие слабые варианты резус-антигенов (С, Е, с, d, е). Кроме того, для выявления слабых резус-антигенов (С, с) используют целиклоны анти-С или анти-с. У реципиентов рекомендуется определять наличие резус-антигена D, т.е. сильного Rh-антигена, а у доноров – определять и наличие слабых изоформ анти-Д или других видов резус-антигенов. Поэтому определение Rh-антигенов проводят дифференцировано в зависимости от цели исследования, применяя соответствующие модификации целиклонов Анти-Д [27].

В ряде исследований, в которых требуется вызвать индукцию эритроцитов человека (независимо от их групповой принадлежности) или животных применяются так называемые лектины, сведения о которых приводятся ниже.

2. Лектины, или фитогемагглютинины

2.1. Общие представления о лектинах.

Лектины, или гемагглютинины, представляют собой вещества растительного (фитогемагглютинины, или ФГА) или животного (зоогемагглютинины) происхождения [1, 3, 21, 30, 38, 49]. Они являются белками или мультимерными гликопротеинами неиммуноглобулиновой природы, способные распознавать специфические углеводы или углеводные остатки, расположенные на поверхности клетки, высокоспецифично связываться с ними (как с рецепторами), и тем самым вызывать их агглютинацию или другие эффекты. В частности, ФГА взаимодействуют с углеводными остатками антигенов А, В и Н, резус-антигенов и других антигенов эритроцитов и, снижая отрицательный заряд эритроцитов, позволяют эритроцитам агглютинировать. Лектины могут связывать как растворенные углеводы, так и функциональные группы углеводов в составе гликопротеинов или гликолипидов. В отличие от ферментов-гликозидаз, лектины не вызывают химического превращения углеводов, с которыми они взаимодействуют. В целом, лектины рассматривают как углеводраспознающие белки (мультимерные гликопротеины), не относящиеся к классу иммуноглобулинов, т.е. в организме растений, животных и человека они играют роль биосенсоров, способных распознавать чужеродные углеводы или углеводные остатки.

Лектины различаются между собой по способности узнавать различные остатки моносахаридов, так как среди них имеются 4 основные группы с разным положением групп ОН при атомах С-3 и С-4 в пирановом кольце, т.е. в моносахаридах, находящихся в циклической форме и содержащие шестичленное (пирановое) кольцо. В связи с такой биосенсорной активностью лектины рассматриваются в качестве эволюционных предшественников иммуноглобулинов [1, 21, 30, 38].

Структура молекул лектина весьма разнообразна. Их молекулярная масса находится в пределах от 5 до 400 тысяч; молекулы содержат от 1 до 20 субъединиц. Большинство лектинов – гликопротеины, многие содержат координационно связанные Ca^{2+}

и Mn^{2+} , которые необходимы для проявления биологической активности. Для некоторых лектинов известна пространственная структура, которая впервые была изучена в отношении конканавалина А, выделенного из канавалии мечевидной (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.). Его молекула построена из четырех одинаковых полипептидных цепей с молекулярной массой около 26 кДа. В каждой цепи находится по одному иону Ca^{2+} и Mn^{2+} и по одному сайту связывания углевода [17, 21]. Сведения о строении ФГА гороха и ФГА фасоли представлены ниже (разделы 4.4. и 4.5.).

2.2. История открытия лектинов.

Первоначально лектины были выделены из семян растений, однако позже они были найдены у большинства живых организмов, в том числе и человека [29, 30]. Первое описание лектина дал Питер Герман Штильмарк (Peter Hermann Stillmark (1860–1923) в тезисах диссертации, представленной к защите в 1888 году в Дерптском (Тартуском) университете [21, 30]. За 13 лет до открытия изогемагглютинации и за 14 лет до получения гетероиммунных сывороток анти-А и анти-В, он выделил из семян клещевины обыкновенной (*Ricinus communis* L.) белок, названный им рицином. Под влиянием этого белка эритроциты разных животных подвергались агглютинации. Именно изучение влияния лектинов на эритроциты позволило в 1901 году К. Ландштейнеру (Karl Landsteiner) выделить три группы крови (А, В и С), а в 1907 году Я. Янскому удалось открыть четвертую группу крови (АВ) и дать современную классификацию групп крови по системе АВ0, а К. Ландштейнеру, А. Винеру и Ф. Левину (Karl Landsteiner, Alexander Wiener, Ph. Levene) в 1940 году открыть резус-фактор (Rh-фактор). В 1948 г. Ренконен (K. Renkonen) сделал открытие [30], которое послужило началом нового этапа изучения ФГА. Исследуя экстракты из семян 99 видов растений, он установил, что 6 из них агглютинируют эритроциты крови человека в соответствии с групповой принадлежностью к системе АВ0. В 66 экстрактах не содержалось агглютининов, т.е. они не вызывали агглютинацию эритроцитов. Некоторые экстракты действовали на эритроциты вне зависимости от наличия тех или иных агглютиногенов, т.е. обладали свойством панагглютинабельности.

Термин «лектин» (от латинского *legere*-выбираю) предложили в 1954 году известный американский иммунолог Бойд (W.C. Boyd) и его сотрудник Шапи

(E. Shapleigh). Занимаясь изучением групп крови человека, они оценили способность белков растительного происхождения (ФГА) узнавать антигены, в связи с чем и предложили данный термин «лектины» [30, 44]. Этим термином в настоящее время пользуются наряду с термином фитоагглютинин или фитогемагглютинин (ФГА) [1, 3, 21, 30, 38].

Почти сразу же после открытия реци-на известная химическая фирма «Merck» (ныне – Sigma-Aldrich, Германия) начала выпуск таких ФГА как рицин и абрин. Это токсичный лектин из семян растения семейства Бобовые – абрус молитвенный (*Abrus precatorius* L.), приготовленные по технологии Г. Штильмарка [17]. Первым лектином, получаемым в промышленных масштабах, стал конканавалин А. Этот белок был выделен из семян растения канавалия мечевидная (*Canavalia ensiformis*), родиной которой является Центральная Америка. В настоящее время конканавалин А широко используется в биологии и в биохимии, в том числе для очистки и характеристики сахаросодержащих молекул и клеточных структур, а также как митоген (следует не путать конканавалин А с канавалином, который является аминокислотой, близкой по своим свойствам к аргинину).

В настоящее время выделено несколько сотен лектинов, в том числе вирусолектины, бактолектины, миколектины, фитолектины и зоолектины [21, 38].

2.3. Лектины микроорганизмов и их функции. Полагают [17], что лектины, расположенные на поверхности вирусов и бактериальных вирусов (фагов), служат для избирательного связывания с клетками макро- и микроорганизмов и их инфицирования. Лектины позволяют вирусам (в частности вирусам гриппа) вызывать агглютинацию клеток человека или животных. Лектины стрептококков, живущих в полости рта, приводят к формированию зубного камня, что учитывается при разработке средств защиты полости рта. Лектины микроорганизмов, колонизирующих тонкий кишечник человека и животных, определяют форму симбиотического сосуществования макро- и микроорганизмов, что предохраняет от размножения патогенных микроорганизмов в кишечнике.

2.4. Лектины грибов (миколектины). Сообщается [3], что в экстрактах таких грибов как белый гриб (*Boletus edulis* Bull.), ли-сичка обыкновенная (*Cantharellus cibarius* Fr.), опенок осенний (*Armillariella mellea*

(Vahl) P. Kumm), масленок обыкновенный (*Suillus luteus* (L.) Gray.), шампиньон полевой (*Agaricus arvensis* Schaef.), подосиновик красный (*Leccinum aurantiacum* (Bull.) Gray.), вешенка обыкновенная (*Agaricus ostreatus* Jacq.), шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), а также в экстрактах ряда трутовиков имеются лектины, которые вызывают агглютинацию эритроцитов 0 и А групп.

2.5. Фитолектины и их функции. Сообщается [21, 49], что фитолектины, или ФГА, встречаются в таких продуктах питания как пшеница, кукуруза, помидоры, арахис, фасоль, бананы, горох, чечевица, соя, рис и картофель. Важнейшими источниками лектинов являются семена растений, особенно бобовых (в последних их содержится 2–10% от общего количества белков). Лектины также имеются в семенах овсяницы луговой и, подсолнечника и в кожуре апельсинов [28]. Полагают [17, 18], что лектины необходимы для развития растений из семян, так как с их участием контролируется деление клеток при прорастании, в том числе в процессе органогенеза. По этой причине в растениях лектины преимущественно сосредоточены в семенах. Лектины корневой системы защищают растения от болезнетворных микроорганизмов и низших грибов, находящихся в большом количестве в почве, т.е. лектины выполняют иммунную функцию [17, 18]. Лектины растений способствуют привлечению бактерий-симбионтов (напр., азотфиксирующих бактерий) к корневым волоскам растения-хозяина [17, 18]. Кроме того, фитолектины участвуют в регуляции жизнедеятельности растений, так как помимо углеводов они способны связывать такие вещества как аденин, ауксины, индолуксусную кислоту, которые считаются фитогормонами [17, 18].

2.6. Лектины животных и человека и их функции. Лектины имеются у большинства животных и человека, в связи с чем их называют эндогенными лектинами [29, 30, 38, 43, 55, 60]. В частности, сообщается [38], что такие гидробионты как мидия, асцидия, морской червь, морской еж и кукумария содержат лектины, для которых характерна узкая специфичность по отношению к углеводам. Поэтому их предложено использовать в качестве маркеров ряда опухолей женской половой сферы, в том числе рака шейки матки, так как лектины указанных морских животных способны улавливать изменения в структурах углеводных

цепей, находящихся на поверхности клеток при их злокачественной трансформации. Эндогенные лектины выполняют разнообразные функции

2.6.1. Эндогенные лектины как регуляторы адгезии. Сообщается [29, 69, 72, 74], что в организме животных и человека лектины весьма широко представлены в виде адгезивных мембранных белков – интегринов, селектинов и кадгерин, а также в виде рецепторов, ассоциированных с G-белком, среди которых альфа- и бета-адренорецепторы [69]. Считается, что интегрины, кадгерин и селектины за счет их способности узнавать углеводы и углеводные остатки регулируют процесс адгезии клеток и тем самым модулируют процессы иммунитета, привлекая в места воспаления нейтрофилы, моноциты и лимфоциты и обеспечивая их выход из кровотока. В частности, бета₁-, бета₂- и бета₃-интегрины локализованы на поверхности лейкоцитов и тромбоцитов и обеспечивают их адгезию к эндотелиоцитам, на которых имеются соответствующие «интегриновые рецепторы». Интегрины также обеспечивают адгезию нейтрофилов с объектами фагоцитоза. E- и P-кадгерин способствуют образованию Ca-зависимого контакта между эпителиальными, мышечными и нервными клетками. Однако к истинным лектинам относят L-, P-, n-, E-селектины, так как их N-концевой домен способен вызывать агглютинацию эритроцитов. Компоненты селектинов «узнают» углеводные остатки на поверхности клеток, в том числе сиалил-фукозу, что характерно для P- и E-селектинов, которые находятся на поверхности активированных (гистамином, цитокинами) эндотелиоцитов и обеспечивают поступление лейкоцитов в очаг воспаления. Кроме того, P-селектин имеет и на поверхности активированных тромбоцитов. Он обеспечивает их адгезию с эндотелиоцитами. L-селектин расположен на поверхности лейкоцитов, обеспечивая их контакт с эндотелиоцитами по капиллярных венул лимфоузлов (за счет наличия гликопротеинов) и выход лейкоцитов из сосудистого русла в лимфатический узел. Иначе говоря, L-селектин реализует процесс хоминга. Показано, что экспрессия селектинов на моноцитах и их функциональная активность возрастает при стрессе или при действии адреналина (максимальный эффект – при концентрации 10⁻⁷ M, реализуемый за счет активации бета-адренорецепторов), что повышает функцию этих клеток [72]. Показано [74], что

лектины эндотелиальных клеток, в частности, E-селектин, участвует в реализации влияния активации бета₃-AP жировых клеток, которое происходит за счет повышения экспрессии цитокинов IL-1, CCL2 и TNF-α. Так, эти авторы [74] показали, что у диких мышей при активации бета₃-AP происходит нейтрофильная инфильтрация жировой ткани, которая вызывает ее воспаление. Однако этот процесс отсутствует у E-селектин-нулевых мышей. Это указывает на то, что E-селектин является посредником при активации бета₃-AP, так как с его участием повышается экспрессия цитокинов IL-1, CCL2 и TNF-α, необходимых для нейтрофильной инфильтрации жировых клеток. Сообщается [69], что в эндотелии коронарных сосудов имеются лектины (интегрины и селектины), которые активируются под влиянием коронарного потока крови, и тем самым паракринно вызывают выделение факторов, регулирующих интенсивность коронарного кровотока. Авторы данного исследования оценивали лектины миокарда и коронарных сосудов морской свинки. Они выявили не менее 167 видов лектинов. Три из них – это селектины, другие лектины – это рецепторы, ассоциированные с G-белком, среди которых рецепторы ангиотензина II, брадикинина (B2-R), аденозина (A1 и A2), пролактина, эндотелина, тромбоспандина (A2), инсулина. А также адренорецепторы (AP), в том числе альфа₁-AP, бета₁-AP и бета₃-AP. Часть этих рецепторов, как известно, чувствительны к потоку крови. Эта чувствительность реализуется с участием лектинов, т.е. интегринов и селектинов, которые взаимодействуют с олигосахаридом (гиалуронозой кислотой).

К группе лектинов отнесены и многие цитокины, в том числе фактор некроза опухоли альфа, интерлейкины, некоторые интерфероны, факторы роста и другие БАВ [1, 38], а также фибронектин, обеспечивающий межклеточную кооперацию, необходимую для специфического иммунного ответа [26].

2.6.2. Эндогенные лектины и процессы репродукции. Сообщается [17], что эндогенные лектины играют важную роль в репродукции человека и животных. В частности, они обеспечивают адгезию сперматозоидов на поверхности яйцеклетки, которая происходит за счет углеводов-белкового узнавания, реализуемого эндогенным лектином. Для шпорцевой лягушки показано, что на кортикальных гранулах их яйцеклеток имеются матриксные лектины, которые защищают оплодотворенную яйцеклетку от других

сперматозоидов. Важную функцию лектины выполняют в процессах дифференциации оплодотворенной яйцеклетки, в связи с чем этот вид лектинов назван эмбриональным лектином [17]. Предполагается, что в основе ряда генетических заболеваний человека и животных лежит дефект, приводящий к нарушению образования некоторых лектинов и их функций [17].

Лектины вырабатываются в плаценте животных [55] и человека [43, 60]. В частности, у овцы плацента синтезирует лектин (65 кДа), который связывает сиаловые кислоты и агглютинирует эритроциты кролика и крысы, но не человека (А, В или 0) [55]. В плаценте человека на определенных стадиях ее развития появляется Са²⁺-независимый лектин, связывающий сиаловую кислоту на поверхности эритроцитов млекопитающих и вызывающий их агглютинацию [43]. Кроме того, в плаценте человека выявлен лектин (14,4 кДа), связывающий гепарин, который, как известно, тормозит агглютинацию эритроцитов; этот лектин также вызывает агглютинацию эритроцитов [60].

2.6.3. Эндогенные лектины как компоненты иммунной системы. Лектины вызывают ряд характерных иммунологических реакций, в том числе агглютинацию клеток, включая агглютинацию эритроцитов (отсюда синоним лектинов – фитогемагглютинины, который обычно используют применительно к лектину фасоли), а также лектины вызывают преципитацию (осаждение) гликопротеинов [1, 3, 17, 21, 30, 38, 49, 51]. Эта активность подавляется гаптенами, в роли которых выступают углеводы. По этой причине лектины рассматриваются как компоненты иммунной системы, или как эволюционные предшественники антител. В частности они оказывают бактерицидный эффект по отношению к определенным видам патогенных бактерий, они способны инактивировать действие некоторых вирусов, участвуют в регулировании иммунного ответа за счет активации системы комплемента, которая является древней белковой системой врожденного иммунитета и системой распознавания чужеродных белков. В частности, связываясь с маннозой одного из компонентов системы комплемента, лектин запускает активацию комплемента. Поэтому он получил название лектин (или белок), связывающий маннозу (mannose-binding lectin, MBL), или лектин, связывающий маннан (полимер маннозы). Лектины также усиливают Т-клеточную цитотоксич-

ность и способны изменять производство различных интерлейкинов. Иммунная система опирается на способность лектинов распознавать и связывать углеводы на поверхности клеточных мембран клеток-мишеней (т.е. клеток, на которые направлен удар иммунной системы). Установлено [1, 3, 21, 30, 38, 49, 51], что эндогенные и экзогенные лектины, в том числе ФГА фасоли, индуцируют переход клеток из стадии G₂ в митоз, т.е. обладают избирательной митогенной активностью в отношении различных субпопуляций лейкоцитов, вызывая бласттрансформацию лимфоцитов, т.е. вызывают превращение лимфоцита в лимфобласт. Тем самым лектины также способствуют реализации функций иммунной системы. Поэтому фитомитогены широко применяются при изучении факторов, влияющих на митоз.

2.6.4. Лектины как модуляторы эффективности активации рецепторов и ионных каналов. Лектины могут влиять на эффективность активации гормональных рецепторов. В частности, показано, что растительные лектины (например, конкавалин А), влияет на эффективность активации инсулиновых рецепторов, так как они способны связываться с рецепторами инсулина. Кроме того, что эндогенные лектины могут менять активность ионных каналов мембраны, что лежит в основе токсичности многих лектинов, в том числе рицина [17].

2.6.5. Детоксикационная (клиренсная) функция эндогенных лектинов. Ряд эндогенных лектинов с различной углеводной специфичностью (в основном, они содержатся в клетках печени) способны «улавливать» те или иные фрагменты углеводных структур, подлежащие деградации, и тем самым очищать организм от ставших ненужными ему структур [17].

2.6.6. Противоопухольевый эффект экзогенных лектинов. Ряд лектинов растительного происхождения обладают противораковыми свойствами как в условиях *in vitro*, так и в условиях *in vivo* [49]. Поэтому предложено использовать лектины как вариант химиотерапии [1, 49, 73], так как они селективно связываются с клеточными мембранами раковых клеток, вызывая цитотоксический эффект, апоптоз и ингибируя их рост. Кроме того, под влиянием лектинов раковые клетки могут подвергаться агглютинации и/или агрегации. В частности, полагают [73], что лектин из семян арахиса (*Arachis hypogaea* L.), который устойчив к действию ферментов ЖКТ, может

служить защитой от раковых заболеваний, в том числе от рака желудка, прямой кишки и молочной железы. Конечно, все эти представления требуют тщательной проверки.

2.6.7. Другие эффекты эндогенных и экзогенных лектинов. Сообщается [49], что лектины могут подавлять активность теломераз, связываться с рибосомами и ингибировать синтез белка, регулировать синтез гликопротеинов и тем самым менять содержание белка в крови, ингибировать ангиогенез, усиливать или тормозить апоптоз (за счет изменения активности различных каспаз).

2.6.8. Токсичность экзогенных лектинов. Некоторые лектины, например, рицин и абрин, обладают высокой токсичностью для человека и животных [1, 17, 30]. Вероятно, это связано с тем, что лектины повышают выделение слизи в кишечнике, что тормозит процесс всасывания питательных веществ [52]. Лектины арахиса и других бобовых и пшеницы (при отсутствии термической обработки пищи) способны блокировать активность пищеварительных ферментов, а также (за счет адгезии) нарушать в местах адгезии процессы регенерации клеток и повышать проницаемость стенок кишечника для патогенных микроорганизмов, что, в целом, нарушает процесс пищеварения. Но, с учетом того, что лектины растительного и животного происхождения являются термолабильными соединениями, т.к. они не выдерживают нагрева свыше 80°C, а также подвергаются гидролизу в желудочно-кишечном тракте [1], их негативное воздействие на организм человека и животных выражено в меньшей степени, если пища подвергнута термической обработке (при нагревании до 100°C в течение хотя бы 5 минут) и если функция пищеварения, особенно, желудочного, не нарушена. В то же время часть лектинов может не разрушаться в пищеварительном тракте. Поэтому, всасываясь в кишечнике в неповрежденном виде, эти лектины попадают в кровь, сохраняя полную биологическую активность. Особенно высокая вероятность проявления токсичности при употреблении соевых бобов, в которых содержится соевый агглютинин [1]. Практически у всех людей в крови присутствуют антитела к пищевым лектинам.

3. Применение лектинов в клинической и лабораторной практике

Лектины применяют для аффинной очистки гликопротеинов и гликолипидов, при исследовании структуры углеводных цепей, для изучения распределения и структуры углеводных детерминант поверхности

клеточных мембран, для стимуляции лимфоцитов (конканавалином А, фитогемагглютинином фасоли и некоторыми другими лектинами), а также для диагностики групп крови и выявления групповых детерминант в гликопротеинах биологических жидкостях [1, 3, 21, 30, 38, 49, 51]. Лектины находят применение в клинической диагностике. В частности на основе лектинов, выделенных из растений и микроорганизмов, изготавливаются наборы для практического применения [38]. Например, компания Wako Diagnostics производит AFP-L3-тест для обнаружения и прогноза гепатоцеллюлярной карциномы, фирма GP Biosciences Ltd. производит микрочипы, включающие панель из 41 лектина для скрининга биомаркеров. Несколько производителей (Invitrogen, EY Laboratories Inc., Vector Laboratories) выпускают конъюгаты лектинов с разными метками для последующего их использования в гистохимии, проточной цитометрии, вестерн-блоттинге, иммуноферментном анализе [38]. И.В. Чикаловец и соавт. [38] предложили использовать лектины из морских организмов, или гидробионтов (мидии, асцидии, морского червя, морского ежа, кукумарии) в качестве маркеров ряда опухолей женской половой сферы, в том числе рака шейки матки, так как высокоспецифичные лектины из гидробионтов подобны моноклональным антителам, а в некоторых случаях они обладают рядом преимуществ. Эти авторы [38] разработали метод твердофазного лектин-ферментного анализа (ТЛФА), дающий возможность выявлять трофобласт-специфический β -1-гликопротеин (ТБГ), позволяющий оценивать функциональное состояние плаценты, в том числе при угрозе преждевременных родов (УПР). Предложено с помощью лектинов разделять клетки крови при цитофотометрии [1, 75, 86]. Например, лектин арахиса является уникальным инструментом для дифференцировки человеческих кортикальных (незрелых) и медуллярных (зрелых) тимоцитов [86]. С использованием лектина из арахиса (*Arachis hypogaea* L.), который подобно Т-агглютинину сыворотки крови человека тропен к сиаловым кислотам, показано, что стареющие (в процессе циркуляции) эритроциты крови теряют сиаловые кислоты [75]. Подобный эффект наблюдается при обработке эритроцитов нейраминидазой, которая, уменьшая число сиаловых кислот на поверхности эритроцита, одновременно уменьшая вероятность их агглютинации под влиянием лектина арахиса [75].

Найдены фитогемагглютинины для дифференцировки субантигенов А1 и А2 [32] и для дифференцировки субантигенов В1, В2 и В3 [31]. В частности, фитогемагглютинин анти В1 выявлен в семенах софоры японской (*Sophora japonica* L.) [31]. Вероятно, в перспективе можно использовать бумажные носители для применения ФГА-агглютинации в клинической практике. Такое предположение основано на данных литературы [56], согласно которым использование биоактивной бумаги и биоактивных нитей для определения групп крови у человека показали огромный потенциал этого недорогого метода при создании био-датчиков групповой принадлежности крови. В частности, И.В. Чикаловец и соавт. [38] загружали антитела (анти-А, анти-В, анти-Д) в бумажные полоски. При погружении такой полоски в порцию крови антитела, диффундируя в среду, проявляли свою активность при наличии в исследуемых эритроцитах соответствующих антигенов (А, В, D). Способность лектинов вызывать агглютинацию некоторых патогенных организмов дает возможность их диагностики, а фармацевтической промышленности позволяет модифицировать многие противобактериальные, противогрибковые и противовирусные лекарственные препараты [1, 17]. Лектины используются для диагностики ряда наследственных заболеваний [17], а также в биотехнологии в качестве специфических реагентов, избирательно сорбирующих те или иные сложные вещества: гликопротеиды, гормоны, сиалопротеиды и т.д. [17]. Весьма перспективно создание нового поколения препаратов – своеобразных гибридов лектинов и антител для воздействия на те органы и ткани, где действие лектина полезно для человека [17]. Например, для лечения рака лимфатических узлов предложено использовать рицин, «сшитый» с антителами, которые способны избирательно доставить рицин к опухоли [17]. С нашей точки зрения, весьма перспективно применение лектинов как агглютининов, позволяющих индуцировать агглютинацию эритроцитов человека, независимо от группы крови. Доказательство этому приводятся в разделах 4 и 5.

4. Особенности агглютинации эритроцитов, вызываемой фитогемагглютинами

4.1. Методика получения экстрактов ФГА и очищенных препаратов ФГА. Существуют различные способы пригото-

вления экстрактов, содержащих лектины. [3, 28, 30] и методы очищения лектинов [57, 63, 66, 67, 77, 83]. Так, М.И. Потапов [30] указывает, что ему удалось изучить 30 образцов семян от 21 вида растений. Для этих целей сухие семена размалывали в ступке и просеивали через сито для получения тонкой однородной муки. Экстрагировали 1 г муки в плоскодонной колбе, добавляя в нее 10 мл стерильного физиологического раствора с рН = 7,0 (первые 2 часа – при 37°C, а последующие 18–20 часов – при 7°C). Жидкость центрифугировали, фильтровали через обеззоленный бумажный фильтр и сохраняли при 7°C в закрытой пробирке без добавления антибактериальных веществ. Хранение экстрактов в течение 3 недель при температуре 7°C почти не отражалось на титре лектинов. Большинство готовых экстрактов представляло собой жидкость, похожую на сыворотку светлого желтовато-зеленоватого цвета с рН 5–6. Агглютинационную способность каждого экстракта испытывали несколькими образцами эритроцитов 0, А и В групп путем титрования. Экстракт разводили физиологическим раствором в 2, 4, 8 раз и т. д. так, чтобы в каждой пробирке оставалось по 3 капли жидкости. После во все пробирки добавлялось по капле 2%-ной взвеси стандартных эритроцитов с известной групповой характеристикой в отношении групп систем АВ0, MN и Rh. Смесь оставляли на 1–0,5 часа при разных температурных режимах: 3–7, 20 и 37°C, центрифугировали в течение 1 минуты при 1000–1500 оборотов и встряхивали в штативе. Результаты реакции агглютинации наблюдали невооруженным глазом и под микроскопом (на предметных стеклах под покровными стеклами). Показано [30], что экстракты из ряда семян, в том числе из семян фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), горошка посевного (*Vicia sativa* L.) агглютинировали эритроциты групп 0, А и В. Из семян четырех видов растений, а именно бобовника анагировидного, или золотого дождя (*Laburnum anagyroides* L.), раkitника русского (*Cytisus ruthenicus* Fisch), лядвенца четырехгранного (*Lotus tetragonolobus* L.) и раkitника сидячелистного (*Cytisus sessilifolius* L.) были получены экстракты, содержащие фитагглютинин (лектин) анти-Н. Из семян коровьего гороха (*Dolichos biflorus* L.) и луновидной фасоли, или лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.) был получен экстракт, избирательно агглютинирующий эритроциты группы А (лектин анти-А). Неразведенный

экстракт лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.) агглютинировал эритроциты групп А, В и АВ и не агглютинировал эритроциты группы 0. Таким образом, этот экстракт содержал лектины анти-А и анти-В или их комплекс анти-АВ. В то же время М.И. Потапов [30] указывает, что свойства лектинов, т.е. их способность агглютинировать эритроциты разных групп крови зависят от того, из каких мест получены семена и в каком году они были собраны. По его мнению, территориальные условия произрастания растений оказывают большое влияние на наличие в семенах ФГА и его свойства. В то же время лектины сохраняются в семенах длительный промежуток времени. Так, еще Штильмарк выявил сильные агглютинины в семенах 30-летней давности, а по данным М.И. Потапова [30], специфичный агглютинин анти-А был обнаружен в семенах коровьего гороха (*Dolichos biflorus* L.), собранных 26 лет назад.

Методика приготовления экстракта из семян овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.), подсолнечника (*Helianthus* L.) и из кожуры апельсина (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck.), по Н.А. Мойсеенко, Л.И. Иржак [28], заключалась в том, что экстракция размолотых семян или кожи проводилась 0,85% раствором хлористого натрия в течение двух суток при 4°C. Вес сухой навески относился к объему раствора как 1:5. Вытяжки фильтровали и хранили при -4°C. Агглютинацию учитывали количественно путем подсчета (в камере Горяева) числа эритроцитов, не подвергнутых агглютинации. Л.Р. Баймуратова [3] получала лектины белого гриба (*Boletus edulis* Bull.) и других грибов путем их эстрагирования ацетатным буфером (рН 3,8). Смесь оставлялась на экстракцию на 12 часов на холоде. Осадок отделяли центрифугированием в течение 15 минут при 2500 об/мин. Присутствие лектинов в экстракте определяли реакцией прямой гемагглютинации.

Однако многие авторы, начиная с пионерской работы Р. Nowell [67], предварительно очищали лектин, т.е. получали белок в чистом виде и исследовали его эффекты [57, 63, 66, 67, 77, 83]. При этом очистку лектинов осуществляют так же, как и других белков, в том числе с помощью аффинной хроматографии, используя в качестве сорбентов полисахариды, гликопротеины и синтетические углеводы, иммобилизованные на носителе. Имеется ряд патентов на способ получения очищенного ФГА из фасоли, но преимущественно речь идет о фитомитогенной активности [20, 41].

В настоящее время освоено изготовление очищенных лектинов в том числе фирмой ICN Biomedicals Inc. (USA) [26], а также фирмой Sigma-Aldrich (Merck) в виде «Фитогемагглютинин Р (ФГА), лиофилизированный порошок для исследования митогенной активности». Российские фирмы также выпускают препараты ФГА, например, Росмедбио (Санкт-Петербург), научно-производственное объединение ПанЭКО (Москва), но они предназначены для исследования митогенной активности лектинов.

4.2. Зависимость фитогемагглютинации от групповой принадлежности крови и источника ФГА. Часть лектинов характеризуется высокой специфичностью связывания с углеводными остатками (моносахариды, дисахариды или полисахариды), расположенными на поверхности эритроцита и определяющими группы крови, т.е. эти лектины можно считать специфическими или селективными реагентами (анти-А, анти-В, или анти-Н), так как они способны присоединяться к молекулам антигенов одной группы крови, не взаимодействуя с антигенами другой группы крови. [1, 30, 59, 77]. Так, лектин семян четырехкрыльника пурпурного (*Tetragonolobus purpureus*, синонимы – четырехкрыльник пурпурный, спаржевый горох) способен агглютинировать только эритроциты 0 группы, а лектины лимской фасоли (*Phaseolus lunatus* L.; синонимы – фасоль лунная, фасоль луновидная, фасоль лунообразная) – только эритроциты А группы [1, 30]. Один из лектинов семян мышиного горошка (*Vicia cracca* L.), а именно N-ацетилгалактозаминсвязывающий лектин, выполняет функцию анти-А антигена [77], лектин из семян коровьего гороха (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) выступает как анти-А1 [30], лектин от семян кустарника гриффония простолостная (*Griffonia simplicifolia*) – как анти-В [77], а лектин семян софоры японской (*Sophora japonica* L.) – как анти-В1 [31].

Однако большинство лектинов, в том числе ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и ФГА фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) не проявляют выраженной селективности к эритроцитам человека, т.е. они способны распознавать эритроциты всех четырех групп система АВ0, т.е. А, В, АВ и 0 группы и тем самым вызывать их агглютинацию [1, 6, 23, 25, 30, 51, 57, 62, 58, 77]. К такому же типу лектинов относится и томатный лектин, т.е. ФГА томатов (*Solanum lycopersicum* L.). Он способен агглютинировать клетки любой группы крови [49].

4.3. Механизмы, лежащие в основе агглютинации эритроцитов под влиянием лектинов. По данным литературы, приводимой в работе В.Н. Минеева и соавт. [26], в эритроците человека число мест, связывающих различные лектины, колеблется от $2,1 \cdot 10^5$ до $4,9 \cdot 10^6$, а константы ассоциации, характеризующие сродство лектина к рецептору, варьируют от $2,7 \cdot 10^6$ до $12,7 \cdot 10^6$ М. При этом плотность «лектиновых рецепторов» варьирует от $1,75 \cdot 10^3$ до $4,0 \cdot 10^4$ на 1 мкм^2 площади мембраны эритроцита. В эритроцитах человека рецепторы различных лектинов представлены, в основном, такими гликопротеидами, как гликофорин А, белок полосы 3 и, в меньшей степени, гликофорин Б и белки цитоскелетного комплекса. Главным рецептором для лектинов фасоли, в частности для ФГА фасоли, является гликофорин. Для него характерно большое число остатков сиаловой кислоты. Поэтому, обработка клеток нейраминидазой полностью блокирует взаимодействие ФГА с рецептором [35].

Сообщается [26, 42, 65, 78], что после взаимодействия лектинов с эритроцитами происходит быстрая реакция эритроцитов, т.е. возрастает проницаемость мембраны эритроцитов для ионов Ca^{2+} , K^+ и Na^+ , возрастает внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , Na^+ и цГМФ, повышается жидкость мембраны (за счет активации мембранных метилтрансфераз, и за счет активации фосфоинозитидного механизма), и возрастает транспорт глюкозы [42]. Медленная компонента реакции наблюдается даже через сутки после индукции агглютинации и она проявляется в изменении уровня цГМФ в эритроците [26].

Связь лектинов с углеводными остатками эритроцитов реализуется за счет многочисленных водородных и гидрофобных взаимодействий [3, 26]. Каждая молекула лектина содержит обычно два или более углеводсвязывающих участков (сайтов), что позволяет лектинам перекрестно сшивать клетки, в том числе эритроциты [3].

4.4. Свойства и строение ФГА гороха посевного (*Pisum sativum*), его способность индуцировать агглютинацию эритроцитов и использование в исследованиях. Показано [77], что семена горошка мышиного (*Vicia cracca* L.), содержат два лектина: N-ацетилгалактозамин-связывающий лектин, который вступает в реакцию специфически с эритроцитами человека группы крови А, и глюкоза-манноза-связывающий лектин, неспецифический по от-

ношению к группам крови человека, т.е. он вызывает агглютинацию эритроцитов всех групп человека. Нативный глюкоза-манноза-связывающий лектин имеет молекулярную массу 44 кДа и состоит из двух небольших субъединиц (5,7 кДа), содержащих 53 аминокислотных остатка, и двух больших субъединиц (17,5 кДа). Этот лектин высоко гомологичен лектинами гороха посевного (*Pisum sativum* L.), а также лектинам горошка посевного, или вики (*Vicia sativa* L.), горошка русского, или конского (*Vicia faba* L.) и чечевицы пищевой (*Lens culinaris* Medik., синонимы – чечевица обыкновенная, чечевица культурная). В то же время гомология с N-ацетилгалактозамин связывающим лектином из горошка мышиного минимальна.

T. Ng et al. [66] выделили манноза-глюкоза-специфический лектин из одной из разновидностей гороха посевного (*Pisum sativum* L.) – green splitpeas. Это гетеротетрамер (50 кДа), состоящий из двух субъединиц с молекулярной массой 6 и 19 кДа каждая. N-концевая последовательность этого лектина имеет определенную степень гомологии с лектинами из других видов бобовых. Белок проявляет гемагглютинирующую активность, которая подавлялась глюкозой, маннозой и сахарозой и ослаблялась при значениях pH выше 12 или ниже 3, но сохранялась при температурах ниже 80°C . Кроме того, этот белок оказывал и митогенный эффект при воздействии на мышечные спленоциты, а также и ингибировал активность ВИЧ-1 обратной транскриптазы (HIV-1 reverse transcriptase).

Показано, что экстракт гороха посевного (*Pisum sativum* L.) способен агглютинировать эритроциты все групп системы АВ0 человека [23, 25, 30, 62, 77]. Он применялся для оценки активности эндогенного ингибитора ФГА, находящегося в сыворотке крови у матери и пуповинной крови их новорожденных во время беременности и родов [62] для оценки способности ФГА гороха повышать цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека [2] и (в ковалентно конъюгированной форме с наночастицами золота) для характеристики гликоформ методом лектин-аффинной хроматографии [63].

4.5. Свойства и строение ФГА фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), его способность индуцировать агглютинацию эритроцитов и применение в исследованиях. Содержание лектина в семенах фасоли намного больше, чем у большинства растений и составляет 1–3 г на кг семян [1].

Показано [57], что в экстрактах семян североамериканской фасоли Great Northern bean, которая является разновидностью фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), имеется два лектина, а именно GNL-1 (175 кДа) и GNL-2 (145 кДа). Оба белка содержат три субъединицы: альфа – (34,5 кДа), бета – (37,0 кДа) и гамма – (39,0 кДа), каждая из которых может связываться с углеводными остатками, но при этом они не проявляют специфичность в отношении моно- и дисахаридов. Оба белка являются гликопротеинами, т.е. содержат углеводы (в GNL-1 до 5,1%, в GNL-2 до 4,5%). Оба белка вызывают агглютинацию эритроцитов кролика и эритроцитов человека (все группы). Кроме того, GNL-1 вызывает митогенный эффект, который у GNL-2 отсутствует. Это согласуется с известными данными о способности экстракта фасоли вызывать митогенный эффект, т.е. индуцировать переход клеток из стадии G₂ в митоз [21]. Таким образом, способность экстракта фасоли обыкновенной агглютинировать эритроциты человека (и кролика) обусловлена наличием в нем двух белков: GNL-1 и GNL-2. Показано [51], что агглютинацию эритроцитов, вызываемую ФГА фасоли, блокирует 2-ацетамидо-2-дезоксид-галактоза и D-галактоза, в то же время ее не блокируют такие моносахариды как D-глюкоза, D-фруктоза, D-манноза, I-0-метил-бета-D-галактопираноза, 2-амино-2-дезоксид-глюкоза, 2-амино-2-дезоксид-галактоза, 2-ацетамидо-2-дезоксид-глюкоза, а также лактоза, лактулоза, раффиноза, стахиозы и другие ди-, три- и тетрасахариды.

Показано, что ФГА фасоли агглютинируют эритроциты человека, причем, эритроциты всех групп системы АВ0 [1, 6, 30, 35, 51, 57, 58]. Однако G. Dupuis, B. Leclair [51] полагают, что ФГА фасоли преимущественно агглютинируют эритроциты человека группы А, в меньшей степени – группы 0 и еще меньше – группы В. Так, концентрации ФГА, необходимые для обеспечения 50%-агглютинации эритроцитов, составляли 8 мкг (группа А), 12 мкг (группа 0) и 22 мкг (группа В), а для 100% – агглютинации необходимы соответственно 15, 40 и 40–50 мкг. По мнению авторов, причина такой относительной селективности связана с тем, что углеводные остатки на поверхности эритроцитов, с которыми взаимодействует ФГА фасоли, разные по своей природе, в том числе по конфигурации в положениях 2 и 4 пиранового кольца. В частности, по данным этих авторов [51],

углеводным остатком гликопротеидов антигена А являются 0-альфа 2-ацетоамидо-2-деокси-D-галактопиранозил-(1 → 3)-бета-D-галактопиранозил, для антигена В – это 0-альфа-D- галактопиранозил-(1 → 3)-бета-D-галактопиранозил, а для антигена Н – это 0-бета-D-галактопиранозил-(1 → 3)-бета-ацетоамидо-2-деокси-D-глюкопиранозил. Помимо эритроцитов человека ФГА фасоли вызывает агглютинацию эритроцитов кролика [46, 57], коровы [46] и крысы [24, 33, 39]. Считается, что основным рецептором для ФГА фасоли, является гликофорин, для которого характерно большое число остатков сиаловой кислоты. Поэтому, обработка эритроцитов нейраминидазой полностью блокирует способность ФГА вызывать агглютинацию эритроцитов [35].

Следует подчеркнуть, что в семенах фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), как и в семенах арахиса (*Arachis hypogaea* L) имеется еще один лектин, который обладает иммунодепрессивным действием [83]. Это тетрамерный белок (94 кДа), который подавляет иммунный ответ организма на введение чужеродного белка. Действительно, внутрибрюшинное введение 50 мкг этого белка мышам за 2 дня до иммунизации эритроцитами барана полностью ингибировало выработку антител.

Сообщается об использовании ФГА фасоли при изучении природы гликопротеина эритроцитов, с которым взаимодействуют антитела А и В [51, 61] при оценке способности ряда противомаларийных препаратов уменьшать агглютинацию эритроцитов человека [58], а ФГА фасоли – повышать цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека [2] и для диагностики бронхиальной астмы [26]. В частности, используя очищенный препарат ФГА фасоли (ICN Biomedicals Inc., USA) В.Н. Минеев и соавт. [26], установили, что у здоровых людей и у пациентов с аллергической формой бронхиальной астмы (БА) он ускоряет скорость оседания эритроцитов (СОЭ), а у пациентов с неаллергической БА или с аспириновой БА, наоборот, он замедляет ее. Под влиянием глюкокортикоидной терапии происходило восстановление способности ФГА фасоли повышать СОЭ [26].

5. Изучение агглютинации эритроцитов, индуцированной антителами или лектинами, для оценки вероятности перехода УПР в ПР

Как отмечалось выше, беременность протекает на фоне иммунологической

толерантности матери по отношению к полуаллогенному плоду. Толерантность проявляется в снижении активности Т- и В-лимфоцитов и повышении активности нейтрофилов и моноцитов, а индукция срочных и преждевременных родов рассматривается как следствие воспалительного процесса, возникающего под влиянием инфекции или других причин [48, 79]. С этих позиций следует ожидать, что при беременности должна меняться способность эритроцитов к агрегации, индуцированной поликлональными или моноклональными антителами, либо ФГА. К нашему удивлению, имеются лишь единичные исследования в этом направлении [7, 22, 62, 85].

5.1. Изменение способности эритроцитов к агрегации при беременности. Известно, что способность эритроцитов к агрегации прогрессивно повышается при беременности, начиная с 10 недели, увеличиваясь к 38 недели беременности на 40% от исходного уровня [14]. Показано, что у беременных женщин (III триместр) агрегация эритроцитов, индуцированная алциановым голубым, выше, чем у небеременных женщин [14, 34]. Полагают, что повышение агрегационной способности эритроцитов при беременности обусловлено увеличением в крови уровня фибриногена [14], который, как известно, повышает способность эритроцитов к спонтанной агрегации [45].

5.2. Изменение агглютинабельности эритроцитов при беременности. Этот вопрос отражен в ряде работ [7, 22, 62, 85]. В частности, М.Г. Василевский [7] показал, что при беременности у женщин число неагглютинабельных эритроцитов, т.е. эритроцитов, которые не агглютинируют, несмотря на присутствие в среде агглютининов, меняется. Так, у женщин с группой крови А до беременности доля неагглютинабельных эритроцитов достигала 8,3%, в I триместре – 2,6%, во II триместре – 14,2%, в III триместре – 6,8%, а у рожениц – 2,0%. Аналогично, у женщин с группой крови В эти значения составили соответственно 10,1; 6,5; 18,3; 7,2 и 1,7%. Таким образом в I триместре их доля снижается, во II триместре существенно возрастает, а в III триместре падает и еще больше снижается в родах, т.е. когда способность взаимодействия антитела с антигеном должна возрастать, исходя из представления о родах как воспалительном процессе. В этой работе было также установлено, что динамика агглютинабельности эритроцитов при беременности обусловлено изменением числа

свободных антигенов А и В на поверхности эритроцита, что объясняется сорбированием продуктов распада на поверхности эритроцитов. Так, у женщин с группой крови А уровень антигена А до беременности составил 114,8 усл. ед., а при беременности в I, II и III триместре – соответственно 63,1; 263 и 109,6 усл. ед., т.е. это число снижалось в I триместре, но существенно повышалось во II триместре и вновь снижалось в III триместре. Аналогичная динамика отмечена в отношении антигена В.

По данным С. Wahl et al. [85] при беременности в эритроцитах появляется так называемый Th-антиген. Он выявляется у 11% женщин и у 13,5% плодов при использовании в качестве индуктора агглютинации лектина из арахиса (*Arachis hypogaea* L.). Вероятность выявления этого антигена у беременных женщин возрастает при наличии у них бактериальных инфекций или при врожденной гипопластической анемии.

К. Lange-Konior [62] оценивал активность эндогенного ингибитора агглютинации эритроцитов 0 группы, вызываемой ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Анализировалась сыворотка крови 152 беременных женщин и рожениц (Щецин, в 1992-1993 годы) и в сыворотке пуповинной крови их новорожденных ($n = 156$). Авторы полагали, что сыворотка крови содержит ингибитор фитогемагглютинации, вызываемой ФГА гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Уровень этого ингибитора ($I_{\text{ФГА}}$) в сыворотке оценивали косвенно – по предельному титру ее разведения, при котором оно тормозит агглютинацию, вызываемую ФГА гороха. Установлено, что в сыворотке крови матери уровень $I_{\text{ФГА}}$ не зависел от срока беременности. Не удалось выявить $I_{\text{ФГА}}$ в сыворотке крови плодов, рожденных при ПР (31–37 недель), или рожденных в срок, но с массой тела менее 2500 г, либо рожденных в срок, но путем кесарева сечения. Но этот фактор содержался в сыворотке крови плодов, рожденных через естественные родовые пути при срочных родах. Уровень $I_{\text{ФГА}}$ в крови таких новорожденных не зависел от их состояния (по шкале Апгар), но он был выше у плодов, рожденных при затяжных (на 4 часа) родах. Автор полагал, что в период интенсивных делений клеток, их дифференцировки, т.е. при внутриутробном периоде развития плода активность $I_{\text{ФГА}}$ в биологических жидкостях очень низкая или вообще не проявляется, а с увеличением зрелости плода содержание $I_{\text{ФГА}}$ в сыворотке крови и других средах

постепенно повышается. Автор рассматривал $I_{\text{ФГА}}$ в качестве эндогенного лектина, который, вероятно, имеет отношение к индукции срочных родов и который блокирует взаимодействие антигена с антителом. Эти наблюдения перекликаются с данными Е.А. Зотикова и соавт. [16], согласно которым появление в крови иммунодепрессантов снижает способность сывороточных поликлональных антител агглютинировать эритроциты. К. Lange-Konior [62] предполагает, что $I_{\text{ФГА}}$ по своей природе является эндогенным лектином, который может появляться в крови не только при беременности и в родах, но и при опухолях, блокируя механизмы иммунного надзора и тем самым способствуя размножению раковых клеток. К удивлению, мы не нашли другие статьи этого автора по данной тематике или работы других исследователей в этом направлении.

В нашей лаборатории была исследована зависимость времени начала агглютинации (ВНА) эритроцитов человека от пола, а у женщин – от этапа репродуктивного процесса (при отсутствии в среде БАВ, т.е. «фоновое» ВНА). При этом использовали три разновидности индукторов агглютинации: либо изогемагглютинирующую сыворотку 0 группы, т.е. сывороточные поликлональные антитела [4, 8, 9, 36]; либо моноклональные антитела, в частности изосероклонTM Анти-D IgM-реагент [5, 22, 37], либо солевой экстракт семян гороха (ФГАг) в разведении 1:5 [22, 25], или семян фасоли (ФГАф) в разведении 1:50 [22]. По понятным причинам, при индукции агглютинации поликлональными или моноклональными антителами из исследований исключались лица с 0 группой крови, что существенно ограничивает возможности исследования. Однако это ограничение снималось при использовании ФГАг или ФГАф в качестве индуктора агглютинации. Было установлено, что значения ВНА на протяжении беременности и в родах, а также при наличии УПР не меняются, если индукция агглютинации эритроцитов вызывается сывороточными поликлональными антителами (анти-А, анти-В), или моноклональными антителами (анти- D), но они изменяются при индукции агглютинации фитогемагглютинаинами, в частности, ВНА существенно возрастает в родах (ФГАг и ФГАф) и при УПР (ФГАф). Таким образом, характер этих изменений, особенно, в отношении эритроцитов женщин с УПР, зависит от вида ФГА (ФГАг или ФГАф).

Действительно, при индукции агглютинации эритроцитов сывороточными поликлональными антителами, т.е. изогемагглютинирующей сывороткой 0 группы [4, 8, 9, 22, 36] или моноклональными антителами, в частности, изосероклонTM Анти-D IgM- реагентом [5, 22, 37], установлено, что ВНА агглютинации эритроцитов у женщин практически не зависит от этапа репродуктивного процесса, в том числе от наличия родовой деятельности или угрозы ПР. Так, А.И. Володченко и соавт. [8, 9] при исследовании эритроцитов гепаринизированной венозной крови (в каждой группе по 10 человек) небеременных женщин в фолликулярную или в лютеиновую фазы цикла, беременных женщин (I, II и III триместры), рожениц (латентная фаза I периода срочных родов) показали, что фоновая ВНА эритроцитов (т.е. ВНА при внесении эритроцитов в изогемагглютинирующую сыворотку в присутствии раствора Кребса) у женщин в фолликулярную фазу цикла составило (медиана) 18 с, в лютеиновую фазу – 15 с (различия между ними незначимы), у женщин в I, II и III триместрах – соответственно 13 с, 13 с и 12 с (различия с небеременными женщинами и между собой незначимы), а у рожениц – 11 с, что статистически значимо ниже, чем в группе у небеременных, но не отличается от беременных. Таким образом, при физиологическом течении беременности ВНА фоновой агглютинации эритроцитов существенно не меняется, но уменьшается (в сравнении с небеременными) в родах, т.е. скорость агглютинации в родах имеет тенденцию к росту. Эти данные были подтверждены и в другой нашей работе [36], в которой помимо указанных выше групп женщин исследовали эритроциты гепаринизированной венозной крови 10 женщин с угрозой преждевременных родов (УПР), не перешедшей в ПР. Показано, что ВНА у женщин в фолликулярную и лютеиновую фазы цикла, а так же у беременных (I, II и III триместры), рожениц и женщин с УПР составило соответственно 17 с, 14 с, 13 с, 13 с, 12 с, 11 с и 10 с. При этом значения ВНА у беременных, рожениц и женщин с УПР были статистически ниже, чем у небеременных, а различия между беременными, роженицами и женщинами с УПР были незначимы. В целом, незначительное снижение ВНА, т.е. повышение фоновой скорости агглютинации эритроцитов при беременности и в родах авторы объяснили повышением при беременности и, особенно, в родах, уровня фибриногена, что

установлено многими авторами [50]. Как известно [45], фибриноген повышает способность эритроцитов к спонтанной агрегации. Таким образом, фоновая скорость агглютинации эритроцитов у женщин, судя по характеру изменения ВНА, не зависит от фазы менструального цикла, незначительно возрастает уже в I триместре физиологически протекающей беременности и сохраняется на этом уровне вплоть до родов, в том числе и при УПР. Близкие данные были получены О.М. Безмельцевой, и соавт. [4], согласно которым ВНА эритроцитов, индуцированной сывороточными поликлональными антителами, у мужчин составило 10 с, у небеременных женщин (без учета фазы цикла) – 6 с, у беременных в I, II и III триместрах – соответственно 10 с, 9 с и 10 с, у рожениц – 9,5 с, а у женщин с УПР – 8 с. При этом все различия значений ВНА между небеременными, беременными, в том числе с УПР, и роженицами были статистически незначимы. Итак, использование сывороточных поликлональных антител в качестве индуктора агглютинации не позволило обнаружить различия между роженицами и беременными, в том числе при наличии у них УПР.

При использовании моноклональных антител (в частности изосероклона™ анти-D-реагента) как индукторов агглютинации эритроцитов установлено [5, 22, 37], что и в этом случае ВНА эритроцитов у женщин практически не зависит от этапа репродуктивного процесса, в том числе от наличия родовой деятельности или УПР. Так, по данным О.М. Безмельцевой и соавт. [5], фоновое ВНА у мужчин (доноров крови) составило 11,0 с, у женщин в I, II и III триместрах беременности – соответственно 16 с, 11,5 с и 11 с, у рожениц (латентная фаза I периода родов) – 11 с, и у женщин с УПР – 10 с (различия между группами были статистически незначимы). В аналогичных исследованиях А.В. Марьина [22] показала, что ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II и III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов) и беременных с УПР (22–31 нед.) составило соответственно – 17 с, 11 с, 13,5 с, 14,5 с и 11 с, а у мужчин – 10 с. При этом ВНА эритроцитов у женщин было статистически значимо выше, чем, мужчин (11–17 с против 10 с), однако у женщин ВНА не зависело от срока беременности, наличия родовой деятельности или УПР, т.к. различия были незначимы. В.И. Циркин и соавт. [37] в аналогичных условиях также показали, что ВНА бере-

менных (II триместр), рожениц (латентная фаза I периода родов) и женщин с УПР (24–36 нед.) составило соответственно 18 с, 15 с, и 10,5 с, а у мужчин – 10,5 с. При этом все различия между группами были статистически незначимы. Таким образом, применение моноклональных антител (анти-D) в качестве индуктора агглютинации не позволило обнаружить различия между роженицами и беременными, в том числе при наличии УПР.

При использовании в качестве индуктора агглютинации солевого экстракта гороха посевного (*Pisum sativum* L.) при соотношении субстрата и раствора Кребса, равное 1:5, А.В. Марьина [22] установила, что фоновое ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов), у женщин с УПР (22–31 нед.) и у мужчин составило соответственно (медиана) 34,5 с, 73 с, 70 с, 116,5 с, 56 с и 47 с. При этом, у женщин во всех группах, за исключением беременных (I триместр), ВНА было больше, чем у мужчин; у женщин во II и в III триместрах беременности ВНА было больше, чем у женщин в I триместре; у рожениц ВНА было больше, чем у беременных женщин (I, II и III триместры) соответственно на 238; 60 и 66%, а женщин с УПР было таким же, как у беременных без УПР во II и III триместрах, но статистически значимо ниже, чем у рожениц (56 с против 116,5 с).

При использовании в качестве индуктора агглютинации солевого экстракта фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), при соотношении 1:50, в этом же исследовании было установлено [22], что фоновое ВНА эритроцитов у беременных женщин (I, II, III триместры), рожениц (латентная фаза I периода родов), у женщин с УПР и у мужчин составило соответственно (медиана) 18,0 с, 21,5 с, 20,5 с, 35,0 с, 27,5 с и 14,0 с. При этом ВНА у женщин в I, II и III триместрах не отличалось от ВНА мужчин, а ВНА у рожениц (35 с) было выше, чем у беременных женщин во II триместре беременности (на 63%) и в III триместре (на 71%). У женщин с УПР значения ВНА были значимо выше (на 34%), чем у женщин в III триместре (27,5 с против 20,5 с), но ниже, чем у рожениц (27,5 с против 35 с). Следует подчеркнуть, что выявленное в исследованиях А.В. Марьиной [22] повышение ВНА у рожениц (ФГАг, ФГАф) и у женщин с УПР (ФГАф) в определенной степени согласуются с данными К. Lange-Konior [62] о появлении при срочных родах

фактора, ингибирующего агглютинацию эритроцитов, которая вызывалась ФГА семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Не исключено, что наличие этого фактора и вызывает в исследованиях А.В. Марьиной [22] повышение ВНА эритроцитов рожениц и, частично, у женщин с УПР.

Таким образом, результаты исследований нашей лаборатории позволяют заключить, что при беременности, в родах и при УПР меняется способность эритроцитов к агглютинации, но характер изменений выявляется лишь при использовании в качестве индуктора агглютинации лектинов (ФГАг и ФГАф), но не обнаруживается при использовании в качестве индукторов агглютинации сывороточных поликлональных антител или моноклональных антител (целиклонов). В частности, применение ФГАг и ФГАф в качестве индуктора агглютинации позволило обнаружить повышение ВНА во II и III триместрах беременности по сравнению с I триместром (выявлено при использовании ФГАф), а также повышение (на 60–77%) ВНА эритроцитов рожениц по сравнению с ВНА эритроцитов беременных женщин (выявлено при использовании ФГАг и ФГАф) и повышение ВНА эритроцитов женщин с УПР (на 34%) по сравнению с беременными без УПР (выявлено при использовании ФГАф). Это указывает на возможность определения срока родов при доношенной беременности и оценку риска перехода УПР в ПР по ВНА эритроцитов при использовании в качестве индуктора агглютинации лектинов ФГАф или ФГАг. Мы не исключаем, что можно будет найти такой индуктор агглютинации (ФГА), который бы с высокой вероятностью указывал на возможность перехода УПР в ПР или наоборот – на отсутствие такого перехода. Следовательно, задача будущих исследований заключается в нахождении таких лектинов (растительного или животного происхождения).

5.3. Изменение реакции эритроцитов на адреналин и другие БАВ при УПР, определяемое по БАВ-зависимой агглютинации эритроцитов. В нашей лаборатории была исследована реакция эритроцитов небеременных и беременных женщин, а также рожениц и женщин с УПР на различные вещества по БАВ-зависимой агглютинации эритроцитов, в том числе реакция на адреналин [8, 9, 23, 36, 37], ацетилхолин [36], окситоцин [4], серотонин [5], прогестерон [37] и эстрадиол [37]. При исследовании влияния адреналина были использованы три вида индукторов агглютинации

эритроцитов: сывороточные поликлональные антитела [8, 9, 22, 36, 37]; моноклональные антитела [23, 37], а также ФГА гороха и фасоли [23]. При исследовании остальных веществ в качестве индуктора агглютинации эритроцитов женщин в основном применяли сывороточные поликлональные антитела [4, 36] и моноклональные антитела [5, 11, 37]. Резюмируя кратко результаты этих исследований, отметим, что при беременности и в родах меняется реакция эритроцитов на воздействие указанных гормонов, что объясняется изменением эффективности активации соответствующих G-белок-ассоциированных рецепторов, находящихся на поверхности эритроцитов. Эти изменения могут быть важными индикаторами готовности организма к родам или основанием для прогнозирования перехода УПР в ПР. В целом, установлено что по одним показателям эритроциты у женщин с УПР весьма схожи с эритроцитами рожениц – это реакция эритроцитов на адреналин и на ацетилхолин, при воздействии которых ВНА снижается и у рожениц, и у женщин с УПР [36]. Это также реакция эритроцитов на водорастворимый препарат эстрадиола (Прогинова), который не влияет на ВНА эритроцитов и у рожениц, и у женщин с УПР [37]. Это характер влияния водорастворимых препаратов прогестерона (дидрогестерона, или Дюфастона) и эстрадиола валериата (Прогинова) на эффективность активации альфа₁-адренорецепторов, которая не изменяется под влиянием этих препаратов у эритроцитов беременных женщин, но возрастает у эритроцитов рожениц и женщин с УПР [37]. В то же время эритроциты женщин с УПР отличаются от эритроцитов рожениц по реакции на окситоцин, который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но повышает ВНА у рожениц [4], по реакции на серотонин, который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но снижает ВНА у рожениц [5], по реакции на водорастворимый гестаген (дидрогестерон, или Дюфастон), который не влияет на ВНА у женщин с УПР, но снижает ВНА у рожениц [37]. Важно подчеркнуть, что при использовании в качестве индуктора агглютинации ФГА результаты исследования адренореактивности [23] совпадают с теми, что получены при оценке адренореактивности эритроцитов, агглютинация которых вызывалась сывороточными поликлональными антителами [8, 9, 22, 36, 37] или моноклональными антителами [23, 37]. Это говорит о перспективности применения лектинов, в том

числе ФГАф для характеристики состояния БАВ-реактивности эритроцитов, что может быть использовано с целью оценки сроков наступления родов при доношенной беременности и для оценки риска перехода УПР в ПР. Это может быть полезным при выборе тактики купирования УПР.

Список сокращений:

- БА – бронхиальная астма;
- ВНА – время начала агглютинации;
- И_{ФГА} – ингибитор агглютинации, вызываемой фитогемагглютинином гороха;
- ПР – преждевременные роды;
- СОЭ – скорость оседания эритроцитов;
- УПР – угроза преждевременных родов;
- ФГА – фитогемагглютинин (ы);
- ФГАг – фитогемагглютинин из семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.);
- ФГАф – фитогемагглютинин из семян фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*)

Список литературы

1. Антонок В.А. Роль лектинов как биологически активных веществ в фармацевтических препаратах // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2014. – № 1. – С. 14–20.
2. Ахматова Н.К., Лебединская О.В., Киселевский М.В., Шехмамеев Р.М., Лебединская Е.А., Мелехин С.В. Влияние растительных лектинов на цитотоксическую активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови человека // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 3. – С. 35.
3. Баймуратова Л.Р. Гемагглютинирующая активность лектинов базидиомицетов // Интеллектуальный потенциал XXI века: ступени познания (Уфа, Башкирский государственный университет). – 2012. – № 11. – С. 20–22.
4. Безмельцева О.М., Махнева А.И., Шушканова Е.Г., Циркин В.И., Черепанова Т.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С., Хлыбова С.В., Костяев А.А. Влияние окситоцина на скорость агглютинации эритроцитов человека, индуцированной изогемагглютинирующей сывороткой // Медицинский альманах. – 2014. – № 5. – С. 71–74.
5. Безмельцева О. М., Циркин В. И., Дмитриева С. Л., Братухина О.А., Черепанова Т. В. Костяев А.А. Влияние серотонина на скорость агглютинации эритроцитов, индуцированной Анти-D IgM-реагентом, у беременных женщин, рожениц и женщин с угрозой преждевременных родов // Медицинский альманах. – 2015. – № 4(39). – С. 55–58.
6. Безмельцева О. М., Марьина А. В. Влияние прогестерона на способность серотонина и окситоцина изменять скорость агглютинации эритроцитов мужчин, индуцированную фитогемагглютиномом фасоли. Эффект атозибана // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 20–25. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Киров: VSU, 2016. – P. 20–25.
7. Василевский М.Г. Влияние беременности на серологические свойства эритроцитов // Акушерство и гинекология. – 1983. – № 12. – С. 36–38.

8. Володченко А.И., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л. Адренореактивность эритроцитов, определяемая по их адренезависимой агглютинации, у женщин на различных этапах репродуктивного процесса // Вятский медицинских вестник. – 2013. – № 1. – С. 25–31.
9. Володченко А.И., Циркин В.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л. Изменение скорости адренезависимой агглютинации эритроцитов у женщин на различных этапах репродуктивного процесса // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13, № 6. – С. 10–15.
10. Воскобой И.В. Лектининдуцированная агрегация эритроцитов и тромбоцитов у больных нестабильной стенокардией // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – № 1. – С. 42–46.
11. Вырво А.В., Марьина А.В. Влияние эстрогена и прогестерона на скорость агглютинации эритроцитов человека, индуцированной анти-D IgM-реагентом // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, – 2016. – С. 41–46. Vyrvov A. V., Mar'ina A. V. Vliyaniye ehstrogena i progesterona na skorost' agglyutinacii ehritroцитов cheloveka, inducirovannoj anti-D IgM-reagentom // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Киров: VyatGU, 2016. – S. 41-46 (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Киров: VSU, – 2016. – P. 41–46.
12. Гунько В.О., Погорелова Т.Н, Линде В.А. Протеомное профилирование сыворотки крови в прогнозировании преждевременных родов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 161, № 6. – С. 789–792.
13. Дворецкий К. Н. Увеличение разрешающей способности фотометрического метода регистрации агглютинации эритроцитов человека in vitro: Автореферат дис. канд. физ-мат. наук. – Саратов, – 2005. – 16 с.
14. Долгушина Н.А. Морфофункциональное состояние эритроцитов при физиологически протекающей и осложненной гестозом беременности. – Киров: КОГУЗ «Медицинский информационно-аналитический центр», – 2009. – 190 с. Dolgushina N. A. Morfofunkcional'noe sostoyaniye ehritroцитов pri fiziologicheski protekayushchej i oslozhennoj gestozom beremennosti. – Киров: KOGUZ «Medicinskij informacionno-analiticheskij centr», – 2009. – 190 s. (Morphological and functional state of erythrocytes at physiologically proceeding and complications of preeclampsia pregnancy). – Киров: KOGUZ «Medical Information and Analytical Center», – 2009. – 190 p.
15. Жибурт Е.Б. Трансфузиология. – СПб.: Питер, – 2002. – 736 с. Zhiburt E.B. Transfuziologiya. SPb.: Piter, – 2002. – 736 s. (Transfusiology). – SPb.: Peter, – 2002. – 736 p.
16. Зотиков Е.А., Манишкина Р.П., Файнштейн Ф.Е. Хорошко Н.Д., Фриновская И.В. Об ингибирующем действии кортикостероидных гормонов, эпсилон-аминокапроновой кислоты и мочевины на агглютинирующую активность антител // Доклады академии наук СССР. – 1969. – Т. 185, № 5. – С. 1161–1163.
17. Игнатов В.В. Углеводузнающие белки – лектины // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 14–20.
18. Игнатов В.В. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. – М.: Наука, 2005. – 262 с. Ignatov V.V. Molekulyarnye osnovy vzaimootnoshenij associativnyh mikroorganizmov s rasteniyami. – М.: Nauka, – 2005. – 262 s. (Molecular basis of the relationship associative microorganisms with plants) – М.: Science, 2005. – 262 p.
19. Киричук В.Ф., Россошанская С.И., Ребров А.П. Лектин-индуцированная агрегация эритроцитов у больных с хронической сердечной недостаточностью I функционального класса // Гемореология в микро- и макроциркуляции: материалы международной конференции. – Ярославль, 2005. – С. 216; Kirichuk V.F., Rossoshanskaya S.I.,

- Rebrov A.P. Lektin-inducirovannaya agregatsiya ehritrocytov u bol'nyh s hronicheskoy serdechnoy nedostatochnost'yu I funktsional'nogo klassa // Gemoreologiya v mikro- i makrocirkulyacii. Materialy mezhdunarodnoj konferencii Yaroslavl'. – 2005. – S. 216. Hemorheology in macro- and microcirculation: Proceedings of the international conference. – Yaroslavl, 2005. – P. 216.
20. Луцки М.Д., Ниедра И.Ю., Малей С.М. Способ получения фитогемагглютинаина // Патент России. № 571267. – 1977. – Бюлл № 33.
21. Луцки М.Д., Панасюк Е.Н., Луцки А.Д. Лектины. – Львов: Изд-во «Вища школа» при Львовском государственном университете, – 1981. – 156 с. Lucik M.D., Panasyuk E.N., Lucik A.D. Lektiny // – L'vov, izd-vo Vishcha shkola» pri L'vovskom gosudarstvennom universitete, – 1981. – 156 p. (Lectins) Lviv, publishing high school; Lviv State University, – 1981. – 156 p.
22. Марьяна А.В. Время начала агглютинации эритроцитов человека, индуцированной изосероклоном ТМ – Анти-D IgM и фитогемагглютинаинами фасоли и гороха // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2015. – С. 95–99. Mar'ina A.V. Vremya nachala agglutinacii ehritrocytov cheloveka, inducirovannoj izoseroklonom TM – Anti-D IgM i fitogemagglutininiami fasoli i goroha // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGGU, 2015. – P. 95–99. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII all-russian youth scientific conference). – Kirov: VSU, 2015. – P. 95–99.
23. Марьяна А.В. Время начала агглютинации эритроцитов человека в присутствии адреналина, адreno-блокаторов и в зависимости от индукторов агглютинации // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 123–128. Mar'ina A.V. Vremya nachala agglutinacii ehritrocytov cheloveka v prisutstvii adrenalina, adrenoblokatorov i v zavisimosti ot induktorov agglutinacii // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 123–128. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII all-russian youth scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 123–128.
24. Марьяна А.В., Чистякова Л.В., Бышева М.В. Адreno-реактивность эритроцитов небеременных крыс, оцениваемая по изменению времени начала агглютинации под влиянием адреналина и адreno-блокаторов // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 129–133. Mar'ina A. V., Chistyakova L. V., Bysheva M. V. Adrenoreaktivnost' ehritrocytov neberemennyh krysov, ocenivaemaya po izmeneniyu vremeni nachala agglutinacii pod vliyaniem adrenalina i adrenoblokatorov // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 129–133. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 129–133.
25. Махнева А.И., Безмельцева О.М. Мойсенко Н.А., Циркин В.И., Дмитриева С.Л., Попова В.С., Черепанова Т.В., Хлыбова С.В. Влияние адреналина на скорость агглютинации эритроцитов человека, вызванную фитогемагглютинаином // Медицинский альманах. – 2014. – № 5. – С. 77–80.
26. Минеев В.Н., Нестерович И.И. Андреева А.В. Характеристика мембранно-рецепторного комплекса эритроцитов с помощью фитогемагглютинаина при бронхиальной астме // Медицинская иммунология. – 2003. – № 5–6. – С. 547–554.
27. Минеева Н.В., Мороков В.А. Эритроцитарные антигены и методы их выявления // Руководство по общей, производственной и клинической трансфузиологии. – 2-е изд., изм. и дополн / под ред. Е.П. Сведенцова. – М.: Медицинская книга, 2012. – С. 49–96. Mineeva N.V., Morokov V.A. Ehritrocytarnye antigeny i metody ih vyyavleniya // Rukovodstvo po obshchej, proizvodstvennoj i klinicheskoj transfuziologii. Izd. 2-e, izm. i dopoln. Pod red. E.P. Svedencova. – M.: Medicinskaya kniga, – 2012. – P. 49–96. (Erythrocyte antigens and methods for their detection // Manual of general, industrial and clinical transfusionology. Ed. 2nd, rev. and complementary. Ed. E.P. Svedentsov). – M.: Medical Book, 2012. – P. 49–96.
28. Мойсенко Н.А., Иржак Л.И. Агглютинация эритроцитов кролика при напряженном эритропоэзе // Журн. общей биологии. – 1972. – Т. 33, № 6. – С. 779–786.
29. Мушкабаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология: учебное пособие для студентов медицинских вузов. – М.: Медицинское информационное агентство, 2007. – С. 260–300. Mushkabarov N.N., Kuznetsov S.L. Molekulyarnaya biologiya // -Uchebnoe posobie dlya studentov medicinskih vuzov. – M.: «Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2007. – P. 260–300. (Molecular biology: schoolbook for medical students) – M.: Medical News Agency, 2007. – P. 260–300.
30. Потапов М.И. Гемагглютинирующие свойства (фитагглютинаины) экстрактов из семян семейства бобовых (Сообщение I) // Судебно-медицинская экспертиза. – 1961. – № 3. – С. 20м26.
31. Потапов М.И. Определение антигенов А1 и А2 эритроцитов фитогемагглютинаинами // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – № 1. – С. 16–19.
32. Потапов М.И. Определение антигенов А1 и А2 эритроцитов фитогемагглютинаинами // Судебно-медицинская экспертиза, – 2004. – № 6. – С. 32–35.
33. Ситникова Е.Ю., Харина В.А., Марьяна А.В. Влияние ацетилхолина, прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации эритроцитов небеременных крыс, индуцируемой фитогемагглютинаином // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 169–173. Sitnikova E.Yu., Harina V.A., Mar'ina A.V. Vliyanie acetilholina, progesterona i ehstrogena na skorost' agglutinacii ehritrocytov neberemennyh krysov, inducirovannoj fitogemagglutininiom // Voprosy fundamental'noj i prikladnoj fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 169–173. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 169–173.
34. Трошкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А., Ивашкина Е.П. Оценка адreno-реактивности эритроцитов небеременных и беременных женщин с физиологической протекающей и осложненной гестозом беременностью // Пермский медицинский журнал. Приложение. «Проблемы репродуктивного здоровья и безопасное материнство». – 2007. – Т. 24, № 1–2. – С. 140–145.
35. Хомутовский О.А., Луцки М.О., Передрей О.Ф. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран. – Киев: Наук. Думка, 1986. – 168 с. Homutovskij O.A., Lucik M.O., Peredrej O.F. Ehlektronnaya gistohimiya receptorov kletochnyh membran. – Kiev: Nauk. Dumka, 1986. – 168 p. (Electronic histochemistry of cell membrane receptors. – Kiev: Nauk. Dumka, 1986. – 168 p.
36. Циркин В.И., Володченко А.И., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Братухина О.А. Адreno- и М-холинореактивность эритроцитов женщин на протяжении репродуктивного процесса // Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия «Медико-биологические науки». – 2014. – № 2. – С. 78–90.
37. Циркин В.И., Бышева М.В., Чистякова Л.В., Дмитриева С.Л., Черепанова Т.В., Братухина О.А., Костяев А.А.,

- Марьяна А.В. Влияние прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации и адренореактивность эритроцитов беременных женщин и рожениц // Медицинский альманах. – 2015. – № 4(39). – С. 52–55.
38. Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Булгаков А.А., Черников О.В., Петрова И.Ю., Лукьянов П.А. Использование лектинов морских гидробионтов для диагностики ряда социально значимых заболеваний человека // Вестник ДВО РАН. – 2010. – № 5. – С. 125–130.
39. Чистякова Л.В., Бышева М.В., Марьяна А.В. Влияние адrenalина, прогестерона и эстрогена на скорость агглютинации эритроцитов, индуцируемой фитогемагглютинином, у небеременных крыс // Вопросы фундаментальной и прикладной физиологии в исследованиях студентов вузов: материалы VIII всероссийской молодежной научной конференции. – Киров: ВятГУ, 2016. – С. 196–200. Chistyakova L.V., Bysheva M.V., Mar'ina A.V. Vliyanie adrenalina, progesterona i ehstrogena na skorost' agglyutinacii ehritrocytov, induciруемой fitogemagglyutininom, u neberemennyh kryс // Voprosy fundamental'noy i prikladnoy fiziologii v issledovaniyah studentov vuzov: Materialy VIII vserossijskoj molodezhnoj nauchnoj konferencii. – Kirov: VyatGU, 2016. – P. 196–200. (Questions of fundamental and applied research in the physiology of university students: Proceedings of VIII All-Russian Youth Scientific conference). – Kirov: VSU, 2016. – P. 196–200.
40. Шереметьев Ю.А., Сулов Ф.Ю. Использование ионов лантана для оценки состояния мембран эритроцитов // Гематология и трансфузиология. – 1993. – № 5. – С. 35–36.
41. Шульмина А.И., Будникова А.В., Романченко. А.И., Лахтин В.М. Способ получения митолектина (фитогемагглютинина) из семян фасоли / Патент № 113506. – 1984. – Бюлл. – № 48 (72).
42. Эшмен Р.Ф. Иммунология – В 3-х т. – Т. 1 / пер. с англ.; под ред. У.Пола. – М.: Мир, 1987. – 476 с. Eshshmen R.F. Immunologiya – V 3-h t. – T. 1 / Per.s angl. Pod red. U. Pola. – M.: Mir, 1987. – 476 p. (Immunology -in 3 volumes – Vol. 1 / translated from English – Ed. W. Paul. – M.: Mir, 1987. – 476 p.
43. Ahmed H., Gabius H.J. Purification and properties of a Ca²⁺-independent sialic acid-binding lectin from human placenta with preferential affinity to O-acetylsialic acids // J Biol Chem. – 1989. – Vol. 264, № 31. – P. 18673–18678.
44. Boyd W.C, Shapleigh E. Separation of individuals of any blood group into secretors and non-secretors by use of a plant agglutinin (lectin) // Blood. – 1954. – Vol.9, № 12. – P. 1194–1198.
45. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // Thromb. Res. – 2004. – Vol. 114, № 5–6. – P. 409–414.
46. Brown J.W., Osborn T.C., Bliss F.A., Hall T.C. Bean lectins : Part I: Relationships between agglutinating activity and electrophoretic variation in the lectin-containing G2/albumin seed proteins of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) // Theor Appl Genet. – 1982. – Vol. 62, № 3. – P. 263–271.
47. Chang H.H., Larson J., Blencowe H., Spong C.Y., Howson C.P., Cairns-Smith S., Lackritz E.M., Lee S.K., Mason E., Serazin A.C., Walani S., Simpson J.L., Lawn J.E. Born Too Soon preterm prevention analysis group. Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index // Lancet. – 2013. – Vol. 381, № 9862. – P. 223–234.
48. Cordeaux Y., Tattersall M., Charnock-Jones D., Smith G. Effects of medroxyprogesterone acetate on gene expression in myometrial explants from pregnant women // J Clin Endocrinol Metab. – 2010. – Vol. 95, № 2. – P. 437–447.
49. De Mejía E.G., Priscararu V. Lectins as bioactive plant proteins: a potential in cancer treatment // Crit Rev Food Sci Nutr. – 2005. – Vol.45, № 6. – P. 425–445.
50. de Moerloose P., Casini A., Neerman-Arbez M. Congenital fibrinogen disorders: an update // Semin Thromb Hemost. – 2013. – Vol. 39, № 6. – P. 585–595.
51. Dupuis G., Leclair B. Studies on *Phaseolus vulgaris* phytohemagglutinin. Structural requirements for simple sugars to inhibit the agglutination of human group A erythrocytes // FEBS Lett. – 1982. – Vol. 144, № 1. – P. 29–32.
52. Duranti M. Grain legume proteins and nutraceutical properties // Fitoterapia. – 2006. – Vol. 77, № 2. – P. 67–82.
53. Evans E., Berk D., Leung A., Mohandas N. Detachment of agglutinin-bonded red blood cells. II. Mechanical energies to separate large contact areas // Biophys J. – 1991. – Vol. 59, № 4. – P. 849–860.
54. Haram K., Mortensen J.H., Morrison J.C. Tocolysis for acute preterm labor: does anything work // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2015. – Vol. 28, № 4. – P. 371–378.
55. Iglesias M., Cymes G.D, Wolfenstein-Todel C. A sialic acid-binding lectin from ovine placenta: purification, specificity and interaction with actin // Glycoconj J. – 1996. – Vol. 13, № 6. – P. 967–976.
56. Jarujamrus P., Tian J., Li X., Siripinyanond A., Shiowatana J., Shen W. Mechanisms of red blood cells agglutination in antibody-treated paper // Analyst. – 2012. – Vol. 137, № 9. – P. 2205–2210.
57. Kamemura K., Furuichi Y., Umekawa H., Takahashi T. Purification and characterization of novel lectins from Great Northern bean, *Phaseolus vulgaris* L // Biochim Biophys Acta. – 1993. – Vol. 1158, № 2. – P. 181–188.
58. Kaur K., Shrivastava P.K. Effect of antimalarial drugs on erythrocyte agglutination by lectins // Acta Anthropogenet. – 1985. – Vol. 9, № 4. – P. 202–205.
59. Khan F., Khan R.H., Sherwani A., Mohmood S., Azfer M.A. Lectins as markers for blood grouping // Med Sci Monit. – 2002. – Vol. 8, № 12. – P. 293–300.
60. Kohnke-Godt B., Gabius H.J. Heparin-binding lectin from human placenta: further characterization of ligand binding and structural properties and its relationship to histones and heparin-binding growth factors // Biochemistry. – 1991. – Vol.30, № 1. – P. 55–65.
61. Kornfeld S., Kornfeld R. Solubilization and partial characterization of a phytohemagglutinin receptor site from human erythrocytes // Proc Natl Acad Sci US A. – 1969. – Vol. 63, № 4. – P. 1439–1446.
62. Lange-Konior K. [Activity of agglutinin inhibitor of the kujavian pea (*Pisum sativum* L.) in mothers' blood and umbilical cord blood considering the course of pregnancy and delivery]. [Article in Polish] // Ann Acad Med Stetin. – 1999. – Vol. 45. – P. 41–54.
63. Liu X., Wang Y., Tu Y., Zhu Z., Li X., Zhang Q., Zhao W., Li Y., Gai H. A rapid and simple approach for glycoform analysis // Anal Chim Acta. – 2015. – Vol. 865. – P. 71–75.
64. Miller M.R., Thompson W.R., Casella J.F., Spevak P.J. Antibody-mediated red blood cell agglutination resulting in spontaneous echocardiographic contrast // Pediatr Cardiol. – 1999. – Vol. 20, № 4. – P. 287–289.
65. Nakajima M., Tamura E., Irimura T. Mechanism of the concanavalin A-induced change of membrane fluidity of chicken erythrocytes // I. Biochem. – 1981. – Vol. 89, № 2. – P. 665–675.
66. Ng T.B., Chan Y.S., Ng C.C., Wong J.H. Purification and characterization of a lectin from green split peas (*Pisum sativum*) // Appl Biochem Biotechnol. – 2015. – Vol. 177, № 6. – P. 1374–1385.
67. Nowell P.C. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes // Cancer Res. – 1960. – Vol. 20. – P. 462–466.
68. O'Brien J.R., Heywood J.B., Heady J.A. The quantitation of platelet aggregation induced by four compounds: a study in relation to myocardial infarction // Thromb. Diath. Haemorrh. – 1966. – Vol. 16, № 3. – P. 752–767.
69. Perez-Aguilar S., Torres-Tirado D., Martell-Gallegos G., Velarde-Salcedo J., Barba-de la Rosa A.P., Knabb M., Rubio R. G protein-coupled receptors mediate coronary flow-and agonist-induced responses via lectin-oligosaccharide interactions // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2014. – Vol. 306, № 5. – P. 699–708.

70. Plá L., Rasia R.J., Valverde J.R., Muller S., Stoltz J.F. Evaluation of the energy of red blood cell agglutination by monoclonal antibodies // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2000. – Vol. 277, № 2. – P. 381–385.
71. Pohl E.E., Rosenfeld E.H., Pohl P., Millner R. Effects of ultrasound on agglutination and aggregation of human erythrocytes in vitro // *Ultrasound Med Biol.* – 1995. – Vol. 21, № 5. – P. 711–719.
72. Rainer T.H., Lam N., Cocks R.A. Adrenaline upregulates monocyte L-selectin in vitro // *Resuscitation.* – 1999. – Vol. 43, № 1. – P. 47–55.
73. Rhodes J.M., Campbell B.J., Yu L.G. Lectin-epithelial interactions in the human colon // *Biochem Soc Trans.* – 2008. – Vol. 36, Pt 6. – P. 1482–1486.
74. Roth Flach R.J., Matevossian A., Akie T.E., Negrin K.A., Paul M.T., Czech M.P. β 3-Adrenergic receptor stimulation induces E-selectin-mediated adipose tissue inflammation // *J Biol Chem.* – 2013. – Vol. 288, № 4. – P. 2882–2892.
75. Skutelsky E., Marikovsky Y., Cividalli L., Danon D. The relationship between sialic acid content and peanut agglutinin binding on senescent and enzyme treated human erythrocytes // *Mech Ageing Dev.* – 1985. – Vol. 31, № 1. – P. 13–23.
76. Stoltz J.F., Senger B., Voegel J.C., Delamaire M., Schaf P., Boisseau M. [Rheologic and biophysical aspects of cellular adhesion and aggregation: importance in hemorheology]. [Article in French] // *J Mal Vasc.* – 1995. – Vol. 20, № 4. – P. 247–251.
77. Strosberg A.D., Rüdiger H. Purification and characterization of a mannose/glucose-specific lectin from *Vicia cracca* // *Eur J Biochem.* – 1982. – Vol. 122, № 1. – P. 105–110.
78. Struneska A., Kmonickova E., Krpejsova I., El Descuiki N.L., Hrusova N., Palecek J. Phosphoinositide signaling system in human erythrocyte and its role in cell pathology // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1990. – Vol. 49, № 2–3. – P. 141–146.
79. Tan H., Yi L., Rote N.S., Hurd W.W., Mesiano S. Progesterone receptor-A and -B have opposite effects on proinflammatory gene expression in human myometrial cells: implications for progesterone actions in human pregnancy and parturition // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 97, № 5. – P. 719–730.
80. Tees D.F., Coenen O., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. IV. Time and force dependence of break-up // *Biophys J.* – 1993. – Vol. 65, № 3. – P. 1318–1334.
81. Tha S.P., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. I. Theoretical // *Biophys J.* – 1986. – Vol. 50, № 6. – P. 1109–1116.
82. Tha S.P., Shuster J., Goldsmith H.L. Interaction forces between red cells agglutinated by antibody. II. Measurement of hydrodynamic force of breakup // *Biophys J.* – 1986. – Vol. 50, № 6. – P. 1117–1126.
83. Vargas-Albores F., Hernandez J., Cordoba F., Zenteno E. Isolation of an immunosuppressive lectin from *Phaseolus vulgaris* L. cv Cacahuete using stroma // *Prep Biochem.* – 1993. – Vol. 23, № 4. – P. 473–483.
84. Voak D. Monoclonal antibodies as blood grouping reagents // *Baillieres Clin Haematol.* – 1990. – Vol. 3, № 2. – P. 219–242.
85. Wahl C.M., Herman J.H., Shirey R.S., Kickler T.S., Ness P.M. Th activation of maternal and cord blood // *Transfusion.* – 1989. – Vol. 29, № 7. – P. 635–637.
86. Wu W., Harley P.H., Punt J.A., Sharrow S.O., Kearse K.P. Identification of CD8 as a peanut agglutinin (PNA) receptor molecule on immature thymocytes // *J Exp Med.* – 1996. – Vol. 184, № 2. – P. 759–764.