

Результаты однофакторного дисперсионного анализа, проведенные по ДО и МОД, не отмечают зависимости их от возраста, так как для этой выборки критерий Фишера составляет 0,19 при уровне значимости $> 0,05$. Самым значимым в возрастном аспекте показателем объемных и скоростных параметров при форсированном дыхании для студенток оказался МОС50 — критерий Фишера составляет 17,9 при уровне значимости $< 0,01$. При этом 55 % варьирования дисперсии обусловлено влиянием изучаемого фактора — возрастом. У студентов этот показатель МОС50 не зависит от возраста, так как критерий Фишера составляет 0,27 при уровне значимости $> 0,05$. Полученные данные показывают снижение МОС50 в возрастном периоде 20–22 года.

Выводы

Не отмечен факт патологического изменения в дыхательной системе обследованных студентов, т. к. все параметры внешнего дыхания близки к нормативам показателей здорового взрослого человека. Установлена зависимость влияния возраста студентов на ЖЕЛ — критерий Фишера составляет 15,3 при уровне значимости $< 0,05$ (у студенток) и 5,64 при уровне значимости $< 0,01$ (у студентов).

Максимальные объемные скорости воздуха на уровне 50 % форсированной ЖЕЛ (МОС50) с 95 % доверительной вероятностью находились в диапазоне 3,47–6,18 л/с для девушек и 8,17–9,40 л/с для юношей [4].

Для каждого из обследованных рассчитаны должные параметры внешнего дыхания и проведено сопоставление фактических параметров дыхания с должными. Установлено, что фактически наблюдаемые параметры полностью соответствуют должным и даже превосходят их.

ЛИТЕРАТУРА

1. Уэст, Дж. Физиология дыхания. Основы / Дж. Уэст; под ред. А. М. Генина. — М.: Мир, 1988. — 198 с.
2. Старшов, А. М. Спирография для профессионалов / А. М. Старшов, И. В. Смирнов. — М.: Медицина, 2003. — С. 6–9.
3. Белов, А. А. Оценка функции внешнего дыхания / А. А. Белов, Н. А. Лакшина. — М.: Медицина, 2002. — 109 с.
4. Организация работы по исследованию функционального состояния легких методами спирографии и пневмотахографии, применение этих методов в клинической практике / О. И. Турина [и др.]. — М.: Медицина, 2002. — 39 с.

УДК 577.322

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СТЕКЛОВАНИЕ БЕЛКОВ

Егоренков Н. И., Стародубцева М. Н.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Основа живых организмов (человека, животных, растений и др.) — высокомолекулярные вещества (биополимеры). Основным биополимером является белок, имеющий многоуровневый характер структурной организации (от первичной до четвертичной). Молекула белка с четвертичной структурой это уже не молекула в привычном смысле (ковалентная связь атомов), а работающая как одно целое совокупность (ансамбль) молекул, соединенных нековалентными связями. Ее целесообразно называть комолекулой (кооперативной молекулой). Белки — аморфные или аморфно-кристаллические вещества. Биологическими свойствами обладают лишь обладающие строго определенной структурной организацией белки. Эта структура формируется в процессе синтеза белка в организме и определяется его первичной структурой и окружающей формирующийся белок средой. Этот процесс целесообразно назвать натурарованием, натурализацией или натурацией белка. Ее нарушение приводит, несмотря на сохранение первичной структуры, к утрате биологических свойств (*денатурация*, денатурации белка). Денатурация происходит при воздействии ряда факторов, например, при нагреве до температур 45–55 °С и выше или действии растворителей. Денатурация — физический процесс, то есть по своей природе денатурация является в принципе обратимой. У некоторых белков иногда (например, при охлаждении в условиях, близких к равновесным) нативная структура может восстанавливаться (ренатурация). В большинстве реальных случаев денатурация белков необратима.

Аморфные полимеры, как хорошо известно, существуют в трех структурно-релаксационных состояниях: стеклообразном, высокоэластическом и вязко-текучем. В первом случае релаксация напряжений определяется движением атомов цепи и функциональных групп (поведение полимера упругое, деформация незначительна, пропорциональна приложенной силе и обратима), во втором — сегментальной подвижностью, то есть движением участков цепи, включающих от нескольких до двух-трех десятков атомов цепи (деформация большая — до тысяч процентов, но также обратимая), в третьем — движением (перемещением) всей макромолекулы (деформация большая и необратимая). Считается, что природа структурно-релаксационного

состояния является кинетической, так как наблюдается температурно-временная (скоростная) аналогия: увеличение температуры аналогично по характеру уменьшению скорости механического воздействия. Соответственно, различают структурное и механическое стеклование (при уменьшении скорости механического воздействия температура механического стеклования приближается к температуре структурного стеклования и в квазиравновесных условиях они практически совпадают).

Существует множество способов изменения структурно-релаксационного состояния синтетического полимера (например, перевод его из высокоэластического в стеклообразное состояние): охлаждение (температура), увеличение скорости механического воздействия, удаление низкомолекулярных веществ (если он содержит пластификаторы) и др. Наиболее распространены два первых способа. Увеличению температуры структурного стеклования способствует увеличение степени полимеризации, химическая сшивка макромолекул, введение в них полярных функциональных групп и др.

Одним из основных свойств биополимеров, включая белки, являются механические, в первую очередь, структурно-релаксационные свойства. Особенно важны структурно-релаксационные свойства для белков цитоскелета (например, клеток крови). Предполагается, что белки цитоскелета биологических клеток находятся при физиологических условиях (температурах) в состоянии (soft glass — мягкого стекла) [1].

Цель

Провести сравнительный экспериментально-теоретический анализ физического (структурно-релаксационного) состояния белков цитоскелета и синтетических аморфных полимеров.

Материал и методы исследования

Исследовали клетки человека и мыши (эритроциты, лейкоциты, тимоциты, фибробласты кожи, мезенхимальные клетки и раковые клетки: карциномы Эрлиха, легкого, гортани и др.). Клетки фиксировали 0,5 % раствором глутарового альдегида (30 мин) и высушивали на воздухе. В качестве синтетического аморфного полимера использовали поливинилбутираль (ацеталь поливинилового спирта и масляного альдегида). АСМ-исследования клеток проводили на атомно-силовом микроскопе «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования с использованием игл-зондов CSC38 («MicroMash»): уровни А и В, коэффициент жесткости 0,01–0,2 Н/м. Сканирование проводили при стандартных комнатных условиях: влажность 55 ± 10 % и температура 22 ± 5 °С. Для определения температурных зависимостей физико-механических свойств использовали термоплатформу ТТ-01.

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке 1 (а, б) представлены температурные зависимости средних значений латеральных сил Z_{mean} (рисунок 1, а) и разброса вокруг этих средних значений R_a (рисунок 1, б) для участков поверхности аморфного полимера — поливинилбутираля. Величина средних значений латеральных сил участка поверхности образца существенно не изменяется при его нагреве от комнатной температуры до температуры 50–55 °С. При температуре 55 °С и выше средние значения латеральных сил и разброс величин вокруг средних значений значительно увеличиваются. При температурах выше 60 °С разброс значений по величине может достигать или превышает средние значения этих параметров. При этом визуально полимер становится прозрачным и практически бесцветным, а тон визуальных карт латеральных сил существенно темнеет (рисунок 2, ж, з, и). Область температур 55–60 °С, как известно, является температурной областью структурного стеклования поливинилбутираля [2], она разделяет его стеклообразное и жидкое состояния: высокоэластическое (при значимой скорости механического воздействия) или вязко-текучее (при бесконечно медленной скорости механического воздействия) состояния.

На рисунке 1 (в, г) представлены температурные зависимости средних значений латеральных сил Z_{mean} (рисунок 1, в) и разброса вокруг этих средних значений R_a (рисунок 1, г) для участков поверхности эритроцита. При температуре выше 40 °С средние значения латеральных сил и разброс величин вокруг средних значений увеличиваются. Согласно литературным данным в этой температурной области наблюдается раскручивание спиральных участков и денатурация белка спектрина [3]. Следует отметить, что примерно в этой же области температур для эритроцитов (40–50 °С) другими методами фиксируется фазовый переход в липидном бислое. Липидные монослои мембран могут находиться, как известно, в двух структурно различающихся состояниях — в жидкокристаллическом состоянии и в состоянии геля. Однако экспериментально показано, что сдвиговая жесткость эритроцитов обусловлена только их мембранным скелетом. Липидный же бислой практически не оказывает влияние на модуль упругости эритроцитов при сдвиге. На величину боковых отклонений АСМ-зонда (параметр Z_{mean}) при сканировании поверхности материала оказывает влияние именно сопротивление деформации сдвига. Такой же характер температурных зависимостей Z_{mean} и R_a имеет место и для других исследованных клеток в области 40–60 °С. Аналогично изменению тона визуальных карт латеральных сил поливинилбутираля изменяется тон визуальных карт латеральных сил биологических

клеток (рисунок 2, в, г, д), в то время как тон их топографических карт (рисунок 2, а, б, в) и, соответственно рельеф (топография) поверхности остаются практически без изменений.

Факторы, изменяющие свойства и упаковку макромолекул, оказывают аналогичное влияние на характер температурных зависимостей физико-механических свойств синтетических полимеров и биологических клеток (например, химические вещества, сшивающие макромолекулы, в частности глутаровый альдегид и в высоких концентрациях пероксинитрит) [4]. При этом следует учитывать, что белки в отличие от чисто аморфных синтетических полимеров могут частично упорядочиваться и разупорядочиваться (как синтетические аморфно-кристаллические полимеры).

Аналогичный характер изменения температурных зависимостей Z_{mean} и R_a для поверхностного слоя аморфного синтетического полимера в области температур структурного стеклования и этих же физико-механических характеристик поверхностного слоя биологических клеток, аналогичный характер изменения при этом тона визуальных карт латеральных сил, а также аналогичный характер влияния на характер температурных зависимостей Z_{mean} и R_a других факторов позволяет рассматривать наблюдаемый при нагреве структурно-релаксационный переход в биологических клетках в области температур 40–60 °С как расстекловывание.

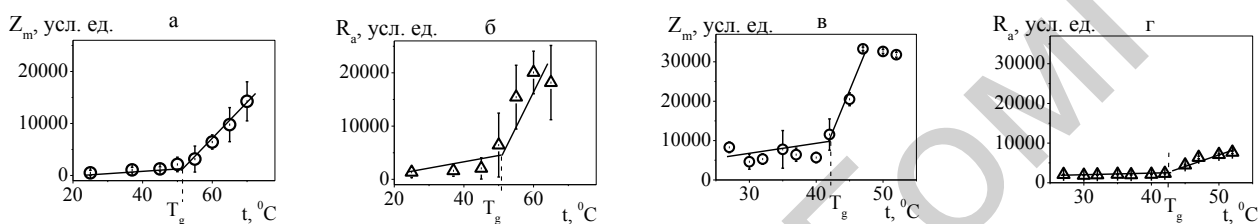


Рисунок 1 — Температурные зависимости средних значений латеральных сил Z_{mean} (а, в) и разброса вокруг этих значений R_a (б, г) для участков поверхности эритроцита (в, г) и аморфного полимера — поливинилбутирала (а, б)

Так как область температур 45–60 °С является областью тепловой денатурации белков, то наблюдаемое нами «расстекловывание» белков поверхностного слоя биологических клеток в этой температурной области позволяет рассматривать денатурацию как именно такой процесс. Но есть существенные отличия. Синтетические аморфные полимеры можно многократно нагревать и охлаждать в области их температур структурного стеклования без существенного изменения их механических свойств (процесс стеклования-расстекловывания обратим). Но при быстром охлаждении белка после его тепловой денатурации ренатурация практически не происходит, то есть белок теряет свои биологические свойства, хотя полностью сохраняется первичная структура его макромолекул и, соответственно, сохраняется, в основном, характер температурных зависимостей его физико-механических свойств. Для процесса стеклования-расстекловывания аморфного полимера конкретная его структура существенного значения не имеет. Вариантов конкретной структуры у аморфного полимера множество, так как она определяется не только его первичной структурой, но и свойствами окружающей среды. У белков как аморфных полимеров биологические свойства присущи только одной из ряда возможных структур, задаваемых первичной структурой. И эта структура формируется, в основном, в процессе его формирования в организме. Ренатурация белков — редкое явление и проявляется только в особых случаях. Образование вторичной и третичной структуры белка (натураирование) в живом организме — это функциональное стеклование белка, контролируемое не только его первичной структурой, но и окружающей средой.

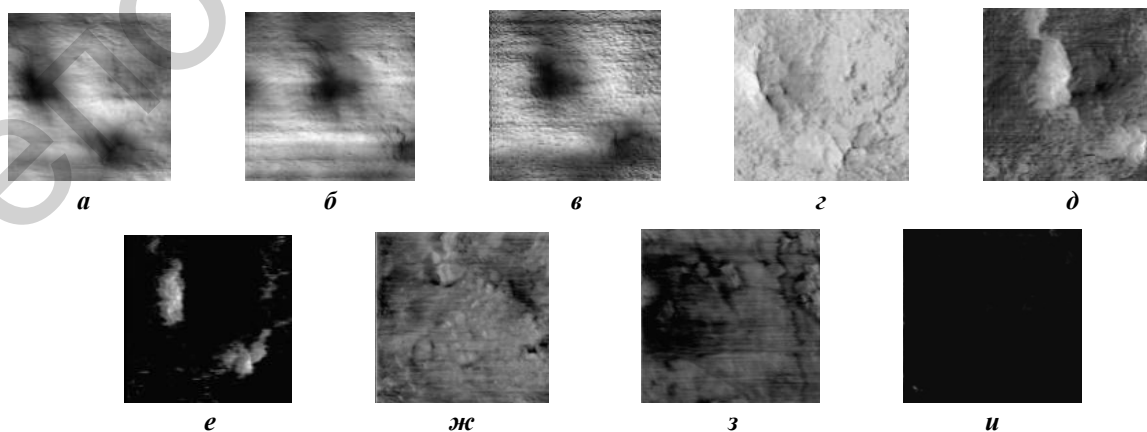


Рисунок 2 — Топография (а, б, в) и карты латеральных сил (г, д, е, ж, з, и) участков (5 × 5 мкм) поверхности мезинхиальных клеток (а-е), фиксированных 0,5% глутаровым альдегидом, и поливинилбутирала (ж, з, и) при температурах: 35 °С (а, г, ж), 60 °С (б, д, з), 80 °С (в, е, и)

Заключение

На основании литературных и полученных нами данных по изменению физико-механических свойств поверхностного слоя биологических клеток и синтетических технических аморфных полимеров под влиянием температуры и химических агентов можно сделать вывод о том, что денатурация белков как физический процесс — это их «расстекловывание», а формирование вторичной и третичной структуры белка в живом организме — это функциональное стеклование, то есть особый вид стеклования белка как аморфного или аморфно-кристаллического полимера, обеспечивающее его биологические свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lenormand, G.* Deformability, dynamics, and remodeling of cytoskeleton of the adherent living cell / G. Lenormand, J. J. Fredberg // *Biorheology*. — 2006. — Vol. 43. — P. 1–30.
2. *Розенберг, М. Э.* Поливинилбутираль / М. Э. Розенберг // *Энциклопедия полимеров*: в 3 т. — М.: Советская энциклопедия, 1971. — Т. 2.
3. Pathway shifts and thermal softening in temperature-coupled forced unfolding of spectrin domains / R. Law [et al.] // *Biophys. J.* — 2003. — Vol. 85, № 5. — P. 3286–3293.
4. *Starodubtseva, M. N.* Thermo-mechanical properties of the cell surface assessed by atomic force microscopy / M. N. Starodubtseva, N. I. Yegorenkov, I. A. Nikitina // *Micron*. — 2012. — Vol. 43, № 12. — P. 1232–1238.

УДК 616.137.74

ВАРИАНТЫ ОТХОЖДЕНИЯ СРЕДНЕЙ ПРЯМОКИШЕЧНОЙ АРТЕРИИ У МУЖЧИН И ЖЕНЩИН

Егоров С. В., Кузьменко А. В., Шкварко М. Г.

**Учреждение образования
«Витебский государственный медицинский университет»
г. Витебск, Республика Беларусь**

Введение

Основными источниками кровоснабжения прямой кишки и анального канала являются непарная верхняя прямокишечная артерия, парные средние и нижние прямокишечные артерии.

Однако в специальной литературе имеется множество описаний количеств и величины, кровоснабжающих прямую кишку сосудов и прежде всего, средних прямокишечных артерий (СПКА).

При классическом (студенческом) варианте СПКА — парный сосуд, отходящий от внутренней подвздошной артерии и достигающий среднего отдела прямой кишки на уровне мышцы, поднимающей задний проход. Однако анализ специальных исследований вариантов этих артерий показал, что СПКА характеризуется выраженным непостоянством как места отхождения, так и величины. Как правило, СПКА имеет небольшой диаметр и часто локализуется только с одной стороны, однако крупные ветви обнаруживаются в случае гипоплазии ствола верхней прямокишечной артерии или ее ветвей.

Цель

Установить размеры длин и диаметров средней прямокишечной артерии в зависимости от варианта отхождения. Установить частоту встречаемости артерий с малым диаметром (менее 2 мм), а также артерий с малой длиной (менее 2 см). Выявить половые различия отхождения артерий.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 35 трупах (возраст от 20 до 90 лет), из которых мужских — 20, женских — 15. Материал собирался на базе УГК судебных экспертиз по Витебской области в соответствии с законами Республики Беларусь. Доступ к сосудам осуществляли путем выполнения полной срединной лапаротомии. После получения доступа в брюшную полость рассекали задний листок париетальной брюшины в проекции общих подвздошных сосудов, отделяли ее от них при помощи анатомических пинцетов и хирургического скальпеля. А. rectalis media обнажали от места ее отхождения до прямой кишки. После этого устанавливали локализацию, уровень отхождения, длину и диаметр средней прямокишечной артерии. С целью повышения уровня визуализации исследуемых сосудов накладывали зажим Кохера на проксимальную треть общей подвздошной артерии и вводили в нее 60 мл контрастного раствора красной туши 20 мл шприцом. Диаметр исследуемых артерий измеряли штангенциркулем. На всех исследуемых трупах выполнялось измерение роста при помощи ленты ATLAS TAPE MEASURE, прошедшей метрологический контроль.

Обработку количественных данных проводили в среде пакета статистического анализа «Statistica» 10.0. Процесс статистической обработки полученных вариационных рядов, содержащих количественные данные, начинали с проверки на нормальность. В зависимости от размера выборки применялся критерий χ -квадрат или критерий Шапиро-Уилка. Рассчитывались доверительный интервал и критерий Стьюдента.