

Общий показатель многокритериальной оценки гемограммы на принадлежность результатов анализа к состояниям, связанным с дефицитом железа и/или патологией его обмена, складывается из суммы значений пяти вышеуказанных показателей, где каждый показатель имеет равную степень значимости. Общий критерий соответствия $M_{\text{микро}}$ при патологии равен 1,0, в норме равен 0 и рассчитывается по формуле:

$$M_{\text{микро}} = m_{\text{HGB}}/5 + m_{\text{RBC}}/5 + m_{\text{HCT}}/5 + m_{\text{MCH}}/5 + m_{\text{MCV}}/5$$

где $M_{\text{микро}}$ — общий критерий соответствия;

m_{HGB} ; m_{RBC} ; m_{HCT} ; m_{MCH} ; m_{MCV} — критерии соответствия отдельных показателей;
5 — количество учитываемых в равной степени значимости показателей.

Таким образом, предлагаемый математический способ многокритериальной оценки результатов исследования крови позволяет количественно охарактеризовать их принадлежность к различным видам анемий. Эта оценка может быть проведена при смешанных формах патологии (микро- и макроцитарные анемии) и дает возможность количественно охарактеризовать вероятность наличия латентных форм анемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев, Н. А. Анемии: практическое руководство / Н. А. Алексеев. — СПб.: Гиппократ, 2004. — 512 с.
2. Tietz Clinical guide to laboratory tests. — 4-th ed. Ed. — Wu A.N.B.- USA, W.B Saunders Company, 2006 — 1798 p.
3. Основы клинической гематологии: справочное пособие / С. Ю. Ермолов [и др.]. — СПб.: Из-во «Диалект», 2003. — 304 с.

УДК 576.3/7:616-076

ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА КЛЕТКАМИ ТИМУСА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Никитина И. А., Стародубцева М. Н., Грицук А. И.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Инволюция вилочковой железы (тимуса), играющей ведущую роль в формировании Т-клеточной системы иммунитета, во многом обуславливает возрастную иммунодепрессию. Дегенеративные процессы, протекающие в тимусе, в частности, замена паренхимы — тимусных эпителиальных клеток (ТЭК) — жировыми, приводит к угнетению эндокринной функции данного органа и, как следствие, к нарушению дифференцировки и созревания иммунокомпетентных клеток.

Патогенетические механизмы естественного возрастного старения во многом объясняются с позиций гипотезы свободных радикалов. С возрастом повышение уровня образования активных форм кислорода и азота (АФК и АФА), обусловленное постепенным снижением эффективности системы антиокислительной защиты (АОЗ), приводит к накоплению в тканях окислительных повреждений ДНК, окислительно модифицированных белков, липидов и других важных макромолекул. Степень выраженности окислительного стресса в тканях является одним из маркеров их старения. Cutler R.G. продемонстрировал, что суммарная активность ферментов-антиоксидантов, в пересчете на белок ткани, хорошо коррелирует со средней продолжительностью жизни млекопитающих [1].

Согласно перекисной теории старения, митохондрии, являясь центральной органеллой механизма старения, выступают «стартовым» и наиболее уязвимым объектом воздействия АФК. Возрастная дисфункция митохондрий приводит к устойчивому повышению продукции АФК в клетке, как результат — к усилению образования перокси-

нитрита. Пероксинитрит (ONOO^-) — сильный окислитель, образующийся при взаимодействии NO^\cdot с O_2^- — легко реагирует с азотистыми основаниями ДНК, липопротеидами, гидроксимируя и нитрируя ароматические кольца аминокислот и азотистых оснований. Это вещество индуцирует процессы перекисного окисления липидов в мембранах, окисляя $-\text{NH}_2$ и $-\text{SH}$ группы белков.

Стромальные клетки тимуса способны синтезировать ONOO^- , что, как полагают, обеспечивает его участие в процессах негативной селекции тимоцитов. Об этом косвенно свидетельствует наличие тесной связи между степенью апоптоза тимоцитов и концентрацией нитротирозина (продукт реакции ONOO^- с остатками тирозина в белках) в тимусе человека. ONOO^- запускает клеточные ответные реакции, эффективность которых различается от незначительной модуляции сигналинга до тотального окислительного повреждения. Интенсивность этих повреждений определяет выбор пути гибели клетки — апоптоз или некроз. В экспериментах *in vitro* установлено, что сравнительно низкие концентрации ONOO^- (10 мкМ) вызывают апоптоз тимоцитов, тогда как более высокие (50 мкМ) приводят к массовой клеточной гибели посредством некроза.

Митохондрии млекопитающих являются чувствительной мишенью цитотоксического действия ONOO^- . Экзогенное, а также эндогенное повышение концентрации NO^\cdot и его производных, приводит к сильному, быстрому и обратимому ингибированию клеточного дыхания, стимулирует продукцию в митохондриях АФК и АФА. Данное ингибирование, по мнению D. Mastronicola [2], обусловлено конкуренцией NO^\cdot с O_2 за IV комплекс дыхательной цепи (ДЦ) и прямым ее ингибированием. R. Welter [3] отмечает, что NO^\cdot , повреждая структуры железо-серных кластеров II комплекса ДЦ, сильно подавляет его активность. Продолжительная экспозиция NO^\cdot и ONOO^- также вызывает постепенное и устойчивое ингибирование I комплекса ДЦ, обусловленное, вероятно, S-нитрозилированием его тиолов. Многие повреждающие эффекты АФК могут быть легко объяснены образованием ONOO^- при их взаимодействии с NO^\cdot и его последующим действием на клеточные мишени.

В живой клетке можно выделить две важнейшие составные части: поверхность, осуществляющую реакции обмена с окружающей средой веществом, энергией и информацией, и цитоплазму со всеми органеллами, в которой протекают основные энергетические метаболические процессы.

Пространственно-временные изменения механических свойств клетки вообще, и особенно ее поверхности, определяются комплексом физико-химических и биохимических процессов, косвенный анализ которых может быть осуществлен путем изучения механических свойств поверхности клетки. Цитоскелет, как известно, непосредственно участвует во внутриклеточном распределении митохондрий, соответствующем местам высокого потребления энергии, регулируя, тем самым, интенсивность клеточного потребления кислорода. Связь между интенсивностью энергетических процессов и особенностями структуры клеточной поверхности становится более очевидной при патологических процессах.

Несмотря на достаточно большое количество исследований, посвященных значению ONOO^- в функционировании клеток, остается открытым вопрос о его влиянии на энергетический метаболизм клеток тимуса. Также по-прежнему актуален поиск возможной связи эффектов воздействия ONOO^- с возрастными изменениями в организме. Следует отметить, что имеется заметный дефицит информации о взаимосвязи топологии поверхности клеток с уровнем митохондриального дыхания в процессе старения организма. Решение данного вопроса откроет перспективу разработки новых средств и способов нормализации состояния иммунной системы человека.

Материалы и методы

В эксперименте тимоциты выделяли из тимуса белых крыс 3-месячного и 8-месячного возраста. В исследованиях использовали концентрации ONOO^- 30 и 120 мкМ. ONOO^-

синтезировали в реакции подкисленной H_2O_2 с нитритом натрия. Потребление тимоцитами кислорода оценивалось полярографическим методом [4] при температуре 18°C в растворе Хэнкса с использованием закрытого платинового электрода Кларка и установки Record 4 (ИТЭБ РАН, Пушкино, Россия). Скорость поглощения кислорода выражали в нмоль O_2 за 1 мин на 10^7 клеток, количество которых подсчитывали в камере Горяева. Состояние энергетического обмена исследуемых клеток определяли по скорости потребления кислорода тимоцитами на эндогенных субстратах ($V_{\text{энд}}$). Для оценки относительного вклада электронно-транспортной цепи и цитохромоксидазы в суммарное потребление кислорода клетками (митохондриальное потребление), применялось добавление азида натрия. Одномолярный раствор ингибитора вносили непосредственно в полярографическую ячейку 4–5 порциями (титрометрически) по 3 мкл, добиваясь максимального снижения скорости потребления кислорода ($V_{\text{аз}}$). Разница между $V_{\text{энд}}$ и $V_{\text{аз}}$ составляет митохондриальное дыхание ($V_{\text{мит}}$).

Площадь поверхности клетки измерялась с помощью атомно-силового микроскопа «НТ-206» («МикроТестМашины», Беларусь) в контактном режиме сканирования с использованием игл типа CSC38 («MicroMash»).

Удельное потребление кислорода клеткой рассчитывалось как отношение скорости использования клеткой кислорода к площади клеточной поверхности (аттомоль $\text{мин}^{-1} \text{мкм}^{-2}$).

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что уровень потребления кислорода митохондриями тимоцитов крыс 3- и 8-месячного возраста находится примерно на одном уровне и значительно не отличается (таблица 1). Однако при окислительном стрессе, вызванном добавлением в среду пероксинитрита, скорости потребления кислорода тимоцитами животных различного возраста статистически достоверно различаются. Для тимоцитов более молодых крыс характерно концентрационно-зависимое уменьшение интенсивности потребления кислорода после их обработки ONOO^- . В свою очередь, добавление к клеткам тимуса 8-месячных животных 30 μM ONOO^- увеличивает, а 120 μM уменьшает потребление ими кислорода.

Таблица 1 — Площадь поверхности тимоцитов и потребление кислорода

Вариант	$V_{\text{энд}}$, нмоль O_2 $\text{мин}^{-1} * 10^7$	$V_{\text{аз}}$, нмоль O_2 $\text{мин}^{-1} * 10^7$	Общая площадь поверхности клетки, мкм^2	Удельное митохондриальное потребление O_2 клеткой, аттомоль $\text{мин}^{-1} \text{мкм}^{-2}$	Удельное немитохондриальное потребление O_2 клеткой, аттомоль $\text{мин}^{-1} \text{мкм}^{-2}$
3 месяца					
Контроль	5,8 (5,00–7,11)	2,4 (1,61–2,91)	92,00 (82,45–108,70)	6,3	2,6
ONOO^- , 30 μM	4,9* ^x (4,65–5,06)	2,6 ^x (2,18–2,84)	88,19 ^x (79,44–92,54)	5,4	3,0
ONOO^- , 120 μM	4,5* ^x (4,25–4,94)	3,2 (2,59–4,06)	85,97 (62,28–87,87)	5,2	3,7
8 месяцев					
Контроль	5,7 (4,56–6,65)	1,9 (1,19–2,34)	87,09 (83,24–92,4)	6,5	2,8
ONOO^- , 30 μM	5,9 ^x (4,98–6,35)	1,9 ^x (1,54–1,92)	54,38* (50,11–60,02)	10,8	3,4
ONOO^- , 120 μM	3,1* ^x (2,55–3,34)	2,2 (1,69–3,20)	67,15 (53,11–98,37)	4,7	3,3

Примечания: над чертой — медиана, под чертой — границы верхнего и нижнего квартилей ($n=6-10$).
* $p < 0,05$ в сравнении с соответствующим параметром до и после обработки пероксинитритом в одной возрастной группе; ^x $p < 0,05$ в сравнении с соответствующим параметром другой возрастной группы.

Немитохондриальное потребление кислорода тимоцитами 3-месячных животных (при блокировании цитохромоксидазы азидом натрия) составляет около 29 % от общего потока в клетку. У 8-месячных животных средняя величина скорости несколько ниже (25 %) в сравнении со средним значением, характерным для группы молодых животных, но эти различия не подтверждаются статистически. При добавлении пероксинитрита выявлена тенденция к повышению уровня потребления кислорода, не используемого в окислительном фосфорилировании.

Воздействие пероксинитрита не вызывает достоверного изменения средней площади поверхности тимоцитов 3-месячных крыс. У животных 8-месячного возраста средняя площадь поверхности тимоцитов в контроле значимо не отличается от площади клеток более молодых животных. Пероксинитрит вызывает существенное уменьшение площади поверхности у тимоцитов 8-месячных крыс. Причем максимальное снижение этого показателя (на 37,5 % по сравнению с контролем) наблюдается при добавлении 30 мкМ пероксинитрита.

Средний удельный поток кислорода в тимоциты 3-месячных крыс составляет 6,3 аттомоль мин⁻¹ мкм⁻². У 8-месячных животных это показатель имеет близкое значение (6,5 аттомоль мин⁻¹ мкм⁻²). Добавление пероксинитрита в концентрации 30 и 120 мкМ в среду инкубации тимоцитов 3-месячных животных вызывает 14–17 % снижение удельного потока кислорода в клетку. В отношении тимоцитов 8-месячных животных, снижение удельного потока в клетку наблюдается лишь при воздействии 120 мкМ ONOO⁻. Если концентрация данного прооксиданта в среде в четыре раза ниже (30 мкМ), наблюдается резкое (на 66 %) увеличение потока кислорода на единицу поверхности клетки. Удельное поступление кислорода, не используемого на окислительное фосфорилирование, при действии ONOO⁻ в разных концентрациях концентрационно-зависимо возрастает.

Таким образом, поток кислорода в тимоциты крыс в норме составляет 6,3–6,5 аттомоль мин⁻¹ мкм⁻². У тимоцитов 3-месячных животных ONOO⁻ в используемых концентрациях вызывает уменьшение удельного потока кислорода, используемого дыхательной цепью митохондрий, с одновременным ростом удельного немитохондриального потока кислорода. Для тимоцитов 8-месячных животных эта зависимость носит немонотонный характер: при 30 мкМ ONOO⁻ наблюдается увеличение удельного потока кислорода, используемого дыхательной цепью митохондрий, при 120 мкМ ONOO⁻ — уменьшение этого параметра в сравнении с параметром контрольной группы. Удельный немитохондриальный поток увеличивается после обработки ONOO⁻ клеток старшей возрастной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Cutler, R. G.* Oxidative stress and aging: catalase is a longevity determinant enzyme / R. G. Cutler // *Rejuvenation Res.* — 2005. — Vol. 8. — P. 138–140.
2. Control of respiration by nitric oxide in Keilin-Hartree particles, mitochondria and SH-SY5Y neuroblastoma cells. / D. Mastronicola [et al.] // *Cellular and molecular life sciences.* — 2003. — Vol. 60, № 8. — P. 1752–1759.
3. *Welter, R.* The effects of nitric oxide on electron transport complexes. / R. Welter, L. Yu, C. A. Yu // *Archives of biochemistry and biophysics.* — 1996. — Vol. 331, № 1. — P. 9–14.
4. Методы исследования потребления кислорода и окислительного фосфорилирования / Е.В. Барковский [и др.] / под ред. А. А. Чиркина // *Современные проблемы биохимии. Методы исследований.* — Минск, Высш. шк.: 2013. — С. 196–212.

УДК 615.825.4:616.711.-007.55

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ МЕТОДИКИ И ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЗАНЯТИЙ ЛФК ПРИ НАРУШЕНИЯХ ОСАНКИ

Новик Г. В., Новик В. С., Ломако С. А.

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

На вопрос: «Что же такое осанка?», наиболее полно ответил автор толкового словаря русского языка В. И. Даль; он определил осанку как внешность, манеру держать