

European Journal of Biomedical and Life Sciences

Nº 2 2017



«East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH

**Vienna
2017**

European Journal of Biomedical and Life Sciences

Scientific journal

№ 2 2017

ISSN 2310-5674

Editor-in-chief

International editorial board

Todorov Mircho, Bulgaria, Doctor of Medicine
Bahritdinova Fazilat Arifovna, Uzbekistan, Doctor of Medicine
Inoyatova Flora Ilyasovna, Uzbekistan, Doctor of Medicine
Frolova Tatiana Vladimirovna, Ukraine, Doctor of Medicine
Inoyatova Flora Ilyasovna, Uzbekistan, Doctor of Medicine
Kushaliyev Kaisar Zhalitovich, Kazakhstan, Doctor of Veterinary Medicine
Mamylna Natalia Vladimirovna, Russia, Doctor of Biological Sciences
Mihai Maia, Romania, Doctor of Medicine
Nikitina Veronika Vladlenovna, Russia, Doctor of Medicine
Petrova Natalia Gurevna, Russia, Doctor of Medicine
Porta Fabio, Italy, Doctor of Medicine
Ruchin Alexandr Borisovich, Russia, Doctor of Biological Sciences
Sentyabrev Nikolai Nikolaevich, Russia, Doctor of Biological Sciences
Shakhova Irina Aleksandrovna, Uzbekistan, Doctor of Medicine
Skopin Pavel Igorevich, Russia, Doctor of Medicine
Spasennikov Boris Aristarkhovich, Russia, Doctor of Law, Doctor of Medicine
Suleymanov Suleyman Fayzullaevich, Uzbekistan, Ph.D. of Medicine
Tolochko Valentin Mikhaylovich, Ukraine, Doctor of Medicine
Tretyakova Olga Stepanovna, Russia, Doctor of Medicine
Vijaykumar Muley, India, Doctor of Biological Sciences
Zadnipryany Igor Vladimirovich, Russia, Doctor of Medicine
Zhanadilov Shaizinda, Uzbekistan, Doctor of Medicine
Zhdanovich Alexey Igorevich, Ukraine, Doctor of Medicine

Proofreading

Cover design

Additional design

Editorial office

Kristin Theissen

Andreas Vogel

Stephan Friedman

European Science Review

“East West” Association for Advanced Studies
and Higher Education GmbH, Am Gestade 1
1010 Vienna, Austria

Email:

info@ew-a.org

Homepage:

www.ew-a.org

European Journal of Biomedical and Life Sciences is an international, German/English/Russian language, peer-reviewed journal. It is published bimonthly with circulation of 1000 copies.

The decisive criterion for accepting a manuscript for publication is scientific quality. All research articles published in this journal have undergone a rigorous peer review. Based on initial screening by the editors, each paper is anonymized and reviewed by at least two anonymous referees. Recommending the articles for publishing, the reviewers confirm that in their opinion the submitted article contains important or new scientific results.

East West Association GmbH is not responsible for the stylistic content of the article. The responsibility for the stylistic content lies on an author of an article.

Instructions for authors

Full instructions for manuscript preparation and submission can be found through the “East West” Association GmbH home page at:

<http://www.ew-a.org>.

Material disclaimer

The opinions expressed in the conference proceedings do not necessarily reflect those of the «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH, the editor, the editorial board, or the organization to which the authors are affiliated.

East West Association GmbH is not responsible for the stylistic content of the article. The responsibility for the stylistic content lies on an author of an article.

Included to the open access repositories:



eLIBRARY.RU



ULRICHSWEB™
GLOBAL SERIALS DIRECTORY



RePEc

Registry of Open Access
Repositories (ROAR)



© «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH

All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission of the Publisher.

Typeset in Berling by Ziegler Buchdruckerei, Linz, Austria.

Printed by «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH, Vienna, Austria on acid-free paper.

Section 1. Clinical medicine

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-3-7>

*Yuldasheva Sura Zarifovna,
Tashkent Pediatric Medical Institute
Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology
E-mail: maxfira@mail.ru*

*Tillashayhova Munavvar Kholmukhamedovna,
Tashkent Pediatric Medical Institute
Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology*

Integration of digestive-absorption and immune function in the mucosa of the small intestine and regulation of homeostasis

Abstract: In this article are reviewed the mechanisms of formation of digestive digestive-absorbing and immune systems integration in a mucous membrane of a small intestine in early post-natal ontogenesis. The used materials and methods, and also the results of the research are in detail described.

Keywords: small intestine, homeostasis, nutrient, immune system, digestive- absorbing system, a mucous membrane, regulation of a homeostasis.

*Юлдашева Сурая Зарифовна,
Ташкентский педиатрический медицинский институт
доцент кафедры акушерства и гинекологии
E-mail: maxfira@mail.ru*

*Тиллашайхова Мунаввар Холмухамедовна,
Ташкентский педиатрический медицинский институт
ассистент кафедры акушерства и гинекологии
E-mail: maxfira@mail.ru*

Интеграция пищеварительно-всасывательной и иммунной функции в слизистой оболочке тонкой кишки и регуляция гомеостаза

Аннотация: В данной статье изучаются механизмы формирования интеграции пищеварительно-всасывательной и иммунной систем в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе. Подробно описываются использованные материалы и методы, а также полученные результаты в ходе исследования.

Ключевые слова: тонкая кишка, гомеостаза, нутриент, имунная система, пищеварительно-всасывательная система, слизистая оболочка, регуляция гомеостаза.

Согласно многочисленным исследованиям, слизистая оболочка тонкой кишки, как и всей пищеварительной трубки, находилась на границе раздела внешне-внутренней среды, испытывая на себе постоянное

воздействие различных по химической природе веществ, развивает и формирует структуры, функции которых в расщеплении, формировании барьеров, регуляции гомеостаты внутренней среды организма [4; 11; 23].

Если последовательная физико-химическая деградация различных нутриентов осуществляется благодаря интеграции органов пищеварения в функциональную систему [4; 15; 16; 19], то барьерно-защитная — иммунитет системы слизистых оболочек [21], ее интеграция с функциональным предметом является интенсивными исследованиями.

При рождении млекопитающих структуры и функции тонкой кишки относительно хорошо развиты [22]. Однако периферические органы иммунной системы, в частности ИССО, находятся в зачаточном состоянии.

В-лимфоциты отличаются «неотвечаемостью» на антигены пищевого и микробного происхождения [6]. При биологической целесообразности автономного становления, как пищеварения, так и иммунной динамики смены естественного молочного питания на дефективное, возникает необходимость изучения механизмов их интеграции как наиболее оптимального способа регуляции гомеостаза, оптимизации адаптации функциональной системы как органа, так и органа в целом.

Цель настоящего исследования: изучение механизмов формирования интеграции пищеварительно-всасывательной и иммунной систем в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы: Согласно цели исследования свето- и электронно-микроскопических исследований слизистая оболочка тощего и подвздошного отделов, тонкой кишки белых беспородных крыс в возрасте 1, 3, 7, 14, 21 (естественное вскармливание грудным молоком) и 90 (дефинитивное питание) суток после рождения. Под микроскопом МБС-9 стереоскопически в динамике возраста и вдоль тонкой кишки осуществлен подсчет числа бляшек морфологически (свето- и электронно-микроскопически) установлено число лимфатических узелков в них, линейные параметры, взаимоотношения стромальных и иммунных клеток. Для светооптических исследований кусочки тканей слизистой оболочки тонкой кишки и жировой бляшки фиксировали в жидкости Карнуа или 12% нейтральном формалине. После соответствующей проводки они залиты в парафин. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашены гематоксилинэозином, по Хейли [7].

Для электронно-микроскопических исследований та же ткань фиксировалась в зарубежном растворе 2,5% глютар-альдегида (20 мкм) и 1% растворе осмиевой кислоты (1,5 часа) при рН 7,2–7,3. После обезвоживания в спиртах возрастающей консистен-

ции кусочки тканей заливали в аралдий. Полутонкие (1–2 мкм) и ультратонкие (600 Å) срезы получены на ультрамикротоме LKB-4.800. Полутонкие срезы окрашены основным фуксином — метиленовым синим; ультратонкие — контрастированы в уранил ацетате и свинце (Reynolds, 1963). Просмотр ультратонких срезов произведен в микроскопе JEM-100S (Япония).

Иммунологические методы. Иммуноглобулиновые рецепторы на плазмах энтероцитов ворсинок тонкой кишки и лимфоцитов выявлены иммунопероксидазным методом. Криостатные срезы кусочков тонкой кишки или жировой бляшки после фиксации в 1% (раствор глютаральдегида рН 7,3: t=30 мин) инкубировали с антисывороткой К IgA, JgM, JgG< конъюгированной с пероксидазой хрена). После окончания инкубации срезы обрабатывали раствором 3,3 — диаминобензидина (10 мин). После фиксации в 1% растворе осмиевой кислоты (60 мин) и обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации они залиты в аралдий. Ультратонкие срезы просматривали без контрастирования. Продукт реакции на тироксидазу, конъюгированную с иммуноглобулином А, выявляется в составе надэпителиального слоя слизи, в виде своеобразной каймы на мембранах микроворсинок энтероцитов, плазматических клеток (В-лимфоциты). Продукт реакции выявляется также на внутренней поверхности эндоцитозных образований у основания микроворсинок энтероцитов, что связано с неспецифической сорбцией иммуноглобулинов Fc-рецепторами. Статистическая обработка всех количественных результатов произведена с применением налета программ «Stotustika». При этом установлены М — достоверность. Достоверны различия при $D < 0,05$.

Результаты собственных исследований: У 3 мес. половозрелых крыс с нормальной гистологической светооптической и электронно-микроскопических кишечной микрофлоры афферентное звено ИССО состоит из 5–6 в среднем лимфатических узелков, куполообразно выпячивающихся в тонкие кишки, и выстланных одним слоем призматического эпителия, инфильтративного, многочисленными лимфоцитами.

Структурно-функционально лимфатический узелок имеет зародышевый (герминативный) центр, фолликулярную (В-лимфоциты; Вл) парафолликулярную (Т-лимфоциты; Тл) зоны, купол (Тл и Тв). Поверхность купола образована М- единичными нейрорецепторными [5] и многочисленными метэпителиальными Т-лимфоцитами. Согласно ли-

температуры, М-клетки, рецептор-опосредованным эндоцитозом из кишки транспортируют антигены к межэпителиально расположенным антигенсвязывающим Т-клеткам [23; 18], которые регулярно мигрируют в зону купола лимфатических узелков бляшек. В последней, взаимодействуя с макрофагами, стимулируют Т — и В-бласты. Если Г. В. Пинегин, М. М. Карсова [11] характерной особенностью макрофагов считают высокую функциональную активность и слабую способность синтезировать провоспалительные цитокины, то в зоне купола их деятельность определяется свойствами перевариваемого антигена. На этом основании в зоне купола регулируется дифференцировка стимулируемых Т- и В-бластов.

Зоны лимфатического узелка имеют в бляшках вдоль тонкой кишки характерный состав клеток, и он существенно не различается при сравнении с данными других авторов [12; 14].

Если у 3-мес. крыс количество пейеровых бляшек вдоль тонкой кишки варьирует от 17 до 28 (в среднем $24,5 \pm 1,8$), то у односуточных крыс они едва выявляются в частности 12-перстной и подвздошной кишки. Они представляют собой диффузное скопление лимфоцитов с собственной пластинке слизистой оболочки. В динамике возраста (1,3,7,14,21 и 90 суток после рождения) число пейеровых бляшек постоянно увеличивается. Через 2 недели, когда животные переходят на смешанное питание, их число возрастает до $10,5 \pm 1,4$ и появляется впервые герминативная зона, где концентрируются в основном бластные и лимфатически делящиеся лимфоциты. Макрофаги единичны, содержат в цитоплазме умеренное число полиморфных липосом.

После перехода животных на окончательное питание число пейеровых бляшек вдоль тонкой кишки становится как у крыс. Кроме того, отчетливо формируются все характерные для афферентного звена ИССО, структурно-функциональные зоны, эпителий, который инфильтрируется Т-лимфоцитами.

Таким образом, афферентное звено ИССО тонкой кишки формируется после рождения, в основном ко времени перехода на дефинитивное питание.

В эфферентном звене ИССО тонкой кишки также вместо раннее выявляемые бластных клеток определяются дифференцированные плазматические, тучные и другие соединительнотканые клетки, и лейкоциты, единичные макрофаги. Тесно взаимодействующие с Т- и В-лимфоцитами. Между энтероцитами ворсинок больше, очень редко, обнаруживаются Т-лимфоциты.

Следовательно, в собственной пластинке слизистой оболочки как эфферентное звено и ИССО

во времени и пространстве ко времени перехода на окончательное питание дифференцируются клетки рыхлой соединительной ткани. Они тесно интегрируются с афферентным звеном, а также структурами собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Их соотношение определяется характером микробиоценоза [22].

При электронно-микроскопическом изучении процесса всасывания грудного молока у 1–3 суточных крыс выявлено его транспорт на 1 этаже из просвета тощей кишки в энтероциты ворсинок путем рецепторопосредованного эндоцитоза. Тубуло-ветикулярные образования в апикальной цитоплазме энтероцитов, под основаниями микроворсинок с помощью Fc-рецепторов в над ядерную зону к структурам комплекса нутриенты, входящие в состав грудного молока. Как отмечают многочисленные авторы, ферменты, входящие в состав молока, и микроорганизмов переваривают определенные белки, жиры и углеводы [22; 2] всасываются и транспортируются транцеллюлярно к кровеносным и лимфатическим сосудам собственным пластинкам без изменения. После одного короткого кормления на всем протяжении тонкой кишки процесс всасывания ингредиентов грудного молока через слизистую оболочку длится в среднем 5–6 часов. Регуляция его транспорта осуществляется благодаря структурам комплекса Гольджи, расширением между энтероцитами, интерстиция вокруг кровеносных и лимфатических капилляров.

Рецептор-опосредованный эндоцитоз почти полностью прекращается ко времени перехода на дефинитивное питание. Одновременно наблюдается формирование системы ворсинка, проксимо-дистального градиентов переваривание нутриентов [4]. Взаимосвязано и взаимосогласованно с формированием полостного и мембранного пищеварения в слизистой оболочке происходит становление афферентного и эфферентного звеньев ИССО. На основании полученных результатов нами в тонкой кишке контролируются следующие уровни регуляции гомостаза. Первым из них является полостное пищеварение под действием ферментов поджелудочной железы, желчи, собственно энтеральных, экстраурированных энтероцитов, лейкоцитов и кишечной микрофлоры.

Вторым уровнем является надэпителиальный слой слизи (НЭСС). Он по периметру вдоль всей кишки относительно надежно определяет просвет органа от поверхности слизистой оболочки. В его состав в интегрированном состоянии включены в высокой концентрации пространственно ориентированные

ферменты поджелудочной железы, желчи, энтеральные и микрофлоры, экстринированных энтероцитов. В нем также выявлены субстрат-связывающие белки, SJgA, бактерии резидентной флоры [3; 9; 17; 22]. Процессы, протекающие в НЭСС кишки и на поверхности слизистой оболочки интегрированы между собой по принципу обратной связи, обладают высокими адаптивными взаимосвязями сопряжен с первой фазой процесса всасывания через плазмолемму энтероцитов. Он также включает гидролитические ферменты мембранного пищеварения, транспортные ферменты, SJgA [9; 22].

SJgA, который определяется на каждом из 4 уровней регуляции пищеварения и всасывания связывая субстраты антигенной природы (пищи, микроорганизмов и др.) увеличивает массу, препятствует их прохождению через плазмолемму микроворсинок, способствует антигуморальному перевариванию при перемещении просвета кишки к ее поверхности.

Однако, как у крыс, так и у людей [9; 1; 22] отличаются: транспорт малых количеств антигенов через эндоцитарное образование между основанием микроворсинок энтероцитов наблюдается через 1 час после кормления в неядерной зоне отмечается обра-

зование полиморфных лизосом, где перевариваются антисорбированные субстраты. Аналогичные вторжения лизосомы может образоваться в микрофагах собственными пластинами тонкой кишки.

Таким образом, в слизистой оболочке тонкой кишки в раннем постнатальном онтогенезе одновременно, тесно интегрируясь между собой, формируются высокоадаптированная пищеварительно-всасывательная и иммунная системы. Ко времени перехода на дефинитивное питание отличается образование нескольких этапов пищеварения, взаимосвязанных с SJgA, благодаря которым обеспечивается гомеостазирование внутренней среды организма, защита антигенов, содержащихся в пище и микроорганизмах.

Третий, водно-электролитный уровень расположен тонкой полоской между НЭСС и гликокаликсом энтероцитов выстилающих поверхность слизистой оболочки тонкой кишки. Он сбалансирован по составу электролитов, рН, стерилен, содержит только энтеральные ферменты, высокую концентрацию SJgA [3].

Четвертым уровнем регуляции гомеостаза внутренней среды следует считать гликокаликс и плазмолемму микроворсинок энтероцитов ворсинок.

Список литературы:

1. Аруин Л. И., Капуллер Л. Л., Исанов В. А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада, – 1998. – 484 с.
2. Воронцов И. М., Фатеева Е. М. Естественное вскармливание: его значение и поддержка. – СПб: Фолиант, – 1998. – 272 с.
3. Гальперин Ю. М., Лазарев П. И. Пищеварение и гомеостаз. – М.: Наука, – 1986. – 304 с.
4. Зуфаров К. А., Юлдашев А. Ю. Тонкая кишка: руководство по гистологии. – СПб, – 2001. – Т. 2. – С. 115–140.
5. Зуфаров К. А., Юлдашев А. Ю. Ультраструктурная организация пучковых клеток эпителия тонкой кишки//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1981. – Т. 91, – № 6. – С. 759–762.
6. Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В. Отсутствие пролиферации лейкоцитов у новорожденных//Иммунология. – 2000. – № 3. – С. 12–15.
7. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. – М.: Медицина, – 1969. – 423 с.
8. Морозов И. А., Лысинов Ю. А., Питран Б. В., Хвыля С. И. Всасывание и секреция в тонкой кишке: субмикроскопические аспекты. – М.: Медицина, – 1988. – 224 с.
9. Морозов И. А. Структура и функция слизистого слоя тонкой кишки. – М.: Темнус, – 1998. – 282 с.
10. Парфенов А. И. Энтерология. – М.: Триада, – 2002. – 702 с.
11. Пинегин Б. В., Корсакова М. И. Макрофаги: свойства и функции//Иммунология. – 2009. – № 3. – С. 241–249.
12. Сапин М. Р. Иммунные структуры пищеварительной системы. – М.: Медицина, – 1987. – 224 с.
13. Судаков К. В. Физиология функциональных систем организма. – М.: Медицина, – 2005. – 304 с.
14. Хлыстова З. С. Развитие иммунной системы в онтогенезе человека//Архив патологии. – 1991. – № 11. – С. 11–17.
15. Уголев А. М. Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы организма и регуляция. – Л.: Наука, – 1975. – 193 с.
16. Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. – Л.: Наука, – 1985. – 544 с.

17. Хавкин А. И. Микрофлора пищеварительного тракта. – М.: Фонд соц. Защиты, – 2006. – 416 с.
18. Хаитов Р. М. Физиология и иммунитет системы. – М.: ВИНТИ, – 2005. – 448 с.
19. Шлыгин Г. К. Меторганый обмен нутриентами и пищеварительная система. – М.: МГУ, – 1997. – 136 с.
20. Юлдашев А. Ю., Горская Е. М., Гахова О. В., Ленцнер А. А. Слизистая оболочка кишки крыс-гнотобионтов при введении лактобацилл // Архив патологии. – 1982. – Т. 83, – № 7. – С. 68–73.
21. Юлдашев А. Ю., Кахаров З. А., Юлдашев М. А. и др. Функциональная морфология иммунной системы слизистой оболочки тонкой кишки. – Т.: Янги асравлоди, – 2008. – 48 с.
22. Юлдашев А. Ю., Рахманов Р. Р., Нишанова А. А. и др. Механизмы регуляции гомеостаза при всасывании белка из тонкой кишки с кровью // Мед. журн. Узбекистана. – 2009. – № 5. – С. 79–87.
23. Ярилин А. А. Иммунные процессы в желудочно-кишечном тракте // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопрокт. – 2003. – № 4. – С. 46–51.
24. Reynolds E. The use of lead citrate at high pH as an electron jague stain in electron microscopy // J. Cell Biology. – 1963. – Vol. 117, № 1. – P. 208–212.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-7-9>

*Nikitina Veronika Vladlenovna,
doctor of medical Sciences,
docent for nervous diseases, assistant Professor
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
E-mail: nikitina-veronik@mail.ru*

Neurological disorders in patients with metabolic disorders of vitamins and trace elements

Abstract: The article analyzes the ways disorders of the metabolism of b vitamins, trace elements in patients with neurological syndromes of various diseases. Offers diagnostic, therapeutic complexes for the correction of clinical disorders in patients with congenital and acquired metabolic conditions.

Keywords: congenital and acquired metabolic disorders, metabolism of vitamins.

*Никитина Вероника Владленовна,
д.м.н., доцент по нервным болезням, доцент ПСПбГМУ
им.акад. И. П. Павлова,
E-mail: nikitina-veronik@mail.ru*

Неврологические расстройства у пациентов с нарушениями метаболизма витаминов и микроэлементов

Аннотация: В статье проанализированы пути расстройств метаболизма витаминов группы В, микроэлементов у пациентов с неврологическими синдромами при различных заболеваниях. Предлагаются диагностические, терапевтические комплексы для коррекции клинических нарушений у пациентов с врожденными и приобретенными метаболическими состояниями.

Ключевые слова: врожденные и приобретенные метаболические расстройства, метаболизм витаминов.

Метионин — является одной из незаменимых аминокислот. Гомоцистеин (о Гци), промежуточное вещество, которое формируется в ходе метаболизма метионина. ГГ может способствовать выделению ги-

дроксильных радикалов, известных как инициаторы ПОЛ, посредством окисления о Гци и формирования тиолактона [12, 1775–1]. Более того, о Гци взаимодействует с системой природных антикоагулянтов

и фибринолитической системой [16, 34–5]. ГГ является независимым фактором развития атеросклероза и окклюзирующих поражений пре- и церебральных артерий, тромбоэмболической болезни [9, 211–9; 10, 1332–7]. О Гци угнетает синтез оксида азота — вещества, которое расширяет кровеносные сосуды. Вещество — о Гци заявило о своей роли в развитии атеросклероза в начале 60-х годов. В исследованиях было показано, что о Гци делает внутреннюю поверхность сосудистой стенки более рыхлой. Так подготавливается плацдарм для формирования атеросклеротической бляшки. В этом процессе известна роль витаминов группы В (особенно, ФК, В6, В12). ГГ связана с болезнью Альцгеймера (БА) [11, 1097–4]. Экспериментальные данные авторов подтверждают, что фолатная недостаточность и ГГ могут способствовать триггерами формирования нейродегенеративных процессов. О Гци активирует металлопротеиназы и стимулирует синтез коллагена. О Гци вызывает диспропорцию эластин/коллагенового соотношения, вследствие этого уменьшается сосудистая эластичность. Нарушения метаболизма о Гци способствует разрастанию мышечного слоя сосудистой стенки. Повышенный уровень о Гци инактивируется белками посредством гомоцистенирования, посредством эндогенного метаболизма фермента цистатионину-лиазы [18, 49–8]. Гомоцистинурия, обусловленная дефицитом цистатионин бета-синтазы (ЦБС), наиболее часто диагностируется в детском возрасте, имеет рецидивирующий тип течения [17, 257–9]. Наиболее частые нарушения включают в себя когнитивные расстройства, эктопию хрусталика, близорукость, особенности развития позвоночника, тромбоэмболии. Пациентам рекомендована терапия с использованием антикоагулянтов, витаминов группы В, диета. Авторы статьи проанализировали 26 пациентов из Турции, страдавших гомоцистинурией. Когнитивные расстройства наблюдались у 12 больных (46,2% исследованных пациентов), тромбоэмболическими расстройствами страдали 6 пациентов (23,1% исследованных больных), 5 (19,2%) исследованных имели проявления поражения соединительной ткани в виде близорукости и марфаноподобного внешнего вида [14, 197–3].

Всем пациентам проводились молекулярно-генетические исследования МТГФР, фактора V, фактора II, SERPINE. Однако, эти пациенты, страдавшие гомоцистинурией, имели мутации только в гене ЦБС. О Гци способствует развитию и прогрессированию ССЗ, увеличивая уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Хорошо известно, что ГГ, обусловленная генетическими расстройствами связана с нарушениями образования костной ткани и остеопорозом [6, 32–7]. Остеопороз относят сегодня к ведущим заболеваниям человека, таким как рак, инфаркт миокарда, инсульт, внезапная смерть. Остеопороз-системное заболевание скелета из группы метаболических остеопатий, характерные проявления которого — снижение массы костной ткани и нарушение микроархитектоники — обуславливают снижение прочности костей и повышенный риск переломов [5, 43–5]. Метионин также требуется для синтеза холина, который не только предотвращает накопление жира в печени, он также необходим для синтеза ацетилхолина. Этот показатель — жизненно важное для ГМ вещество, участвующее в процессах запоминания и обучения, а также как нейротрансмиттер для мышечных сокращений. Медь является важным микроэлементом для физиологического функционирования клетки и центральной нервной системы (ЦНС) развития [15, 343–4]. Метаболизм меди в ЦНС надежно синхронизирован. Повышение уровня меди в ГМ, как известно, лежит в основе нейродегенеративных расстройств, включая БА. ГГ угнетает не только несколько антикоагулянтных механизмов в организме, которые опосредуют участие эндотелия в патологическом процессе. В результате умеренно повышенные уровни о Гци могут привести к артериальным тромбозам и атеросклерозу [13, 1285–9]. Оксидативный стресс формируется у пациентов с ССЗ и ГГ [7, 887–2]. Пациенты, страдавшие ССЗ имели значительное повышение свободного и общего малонового диальдегида (МДА) в плазме крови, по сравнению с исследованными в контрольной группе. Определение уровня МДА возможно выполнять с помощью масспектрометрии [8, 222–9]. Результаты исследований пациентов с ССЗ, страдавших ГГ нами запатентованы [1–4].

Список литературы:

1. Никитина В. В., Жлоба А. А., Баранцевич Е. Р., Беякова Л. А. Способ диагностики окклюзирующих поражений сосудов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Патент на изобретение – № 2557916. – 27.12.2013.
2. Никитина В. В., Жлоба А. А., Баранцевич Е. Р., Беякова Л. А., Порхун Ф. Н. Способ диагностики тяжести последствий ишемического инсульта. Патент на изобретение – № 2553183 от – 27.05.2014.

3. Никитина В. В., Жлоба А. А., Баранцевич Е. Р., Белякова Л. А., Порхун Ф. Н. Способ диагностики тяжести дисциркуляторной энцефалопатии у мужчин. Патент на изобретение – № 2561288 от – 05.11.2014.
4. Никитина В. В., Жлоба А. А., Баранцевич Е. Р., Белякова Л. А. Способ диагностики тяжести дисциркуляторной энцефалопатии у больных с гипергомоцистеинемией. Патент на изобретение № 2546519 от 27.03.2014.
5. Рожинская Л. Я. Соли кальция в профилактике и лечении остеопороза. Остеопороз и остеопатии. – 1998; 1: 43–45.
6. Рубин М. П., Чечурин Р. Е., Зубова О. М. Остеопороз: диагностика, современные подходы к лечению, профилактика. Терапевтический архив. – 2002; 74 (1): 32–37.
7. Cavalca V., Cighetti G., Vamonti F. et al, Oxidative Stress and Homocysteine in Coronary Artery Disease. Clinical chemistry. – 2001; 47: 887–892.
8. Cighetti G, Debiassi S, Paroni R. et al. Free and total malondialdehyde assessment in biological matrices by gas chromatography-mass spectrometry: what is needed for an accurate detection. Anal Biochem. – 1999; 266: 222–229.
9. D'Angelo A., Mazzola G., Crippa L. et al. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolic disease. Haematologica. – 1997; 82 (2): 211–219.
10. De J., Stehouwer C. D., van-den-Berg M. et al. Endothelial marker proteins in hyperhomocysteinemia. Thromb. Haemost. – 1997; 78 (5): 1332–1337.
11. Farkas M., Keskitalo S., Smith D. E., Bain N., Semmler A., Ineichen B., Smulders Y., Blom H., Kulic L., Linnebank M. Hyperhomocysteinemia in Alzheimer's Disease: The Hen and the Egg? J Alzheimers Dis. – 2013; 33 (4):1097–1104.
12. Graham I. M., Daly L. E., Refsum H. M. et al Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. JAMA. – 1997; 277: 1775–1781.
13. Harpel P. C., Zhang X., Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenetic mechanisms predisposing to thrombosis. J. Nutr. 1996; 126 (4): 1285–1289.
14. Karaca M., Hisimi B., Ozqul R. K., Karaca S., Yimaz D. Y., Coskun T., Sivri H. S., Tokatli A., Dursun A. High prevalence of cerebral venous sinus thrombosis (CVST) as presentation of cystathionine beta-synthase deficiency in childhood: molecular and clinical findings of Turkish probands. Gene. – 2014; 25 (534 (2)): 197–203.
15. Pal A., Siotto M., Prasad R., Squitti R. Towards a Unified Vision of Copper Involvement in Alzheimer's Disease: A Review Connecting Basic, Experimental, and Clinical Research. J Alzheimers Dis. – 2015; 44 (2): 343–54. – doi: 10.3233/JAD-141194.
16. Piolot A., Nadler F., Pazer N., Jacolot B. L homocysteine: ses liens avec les maladies cardiovasculaires ischémiques. Rev.Med.Interne. – 1996; 17: 34–45.
17. Sarov M., Not A., de Baulny H. O., Masnou P., Vahedi K., Bousser M. G., Denier C. A case of homocystinuria due to CBS gene mutations revealed by cerebral venous thrombosis. J Neurol Sci. – 2014; 336 (1–2): 257–9.
18. Sen U., Mishra P. K., Tyagi N., Tyagi S. C. Homocysteine to hydrogen sulfide or hypertension. Cell Biochem Biophys. – 2010; 57 (2–3): 49–58.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-9-12>

*Seydaliyeva Aytan Ilham,
Azerbaijan Medical University,
Student, Treatment-Prophylaxis faculty
E-mail: ayten.seydaliyeva@gmail.com*

Analysis of risk factors and diagnosis of celiac disease

Abstract: The risk factors of celiac disease were researched and age, gender, heredity and absent breastfeeding were identified. The diagnostic methods of celiac disease were analysed and HLA typing, antibody level and endoscopy were reviewed. The general principles of treatment methods of celiac disease were estimated.

Keywords: celiac disease, gluten, infant diet, enteropathy, HLA typing, Marsh stages.

Celiac disease was first described in 100 AD by the Greek doctor Aretaeus, who used the term abdominal diathesis. His extant works were first published in Latin in 1552 [2]. Although celiac disease was formally described late in the 19th century, treatment remained empiric until the middle of the 20th century when patients were noted to improve dramatically after wheat was removed from their diet. With the development of small-bowel biopsy techniques, the small intestine was identified as the target organ. Disease causality was established when the characteristic features of villous flattening, crypt hyperplasia, and increased intraepithelial lymphocytes were shown to normalize after the institution of a gluten-free diet.

Celiac disease is characterized by small bowel enteropathy, precipitated in genetically susceptible individuals by the ingestion of “gluten,” a term used to encompass the storage proteins of wheat, rye, and barley [3]. It is estimated to affect 1 in 100 people worldwide. Celiac disease affects 0.5% to 1% of the people in the western hemisphere and Europe.

When people with celiac disease eat gluten (a protein found in wheat, rye and barley), their body mounts an immune response that attacks the small intestine. These attacks lead to damage on the villi, small fingerlike projections that line the small intestine, that promote nutrient absorption. When the villi get damaged, nutrients cannot be absorbed properly into the body.

Celiac disease is hereditary, meaning that it runs in families. People with a first-degree relative with celiac disease (parent, child, sibling) have a 1 in 10 risk of developing celiac disease.

Causes and risk factors

- Gliadins and glutenins in the presence of CD4+ T cells with HLA-DQ2 and HLA-DQ8 activate cytokine production and clonal expansion of antibody-producing B cells, which lead to lymphocyte-mediated destruction of the epithelium and mucosa. This is termed the adaptive response. The resulting injury impairs villous function and absorption of nutrients, producing the clinical signs and symptoms of celiac disease. In addition, there is an innate response, which involves interleukin-15 expressed by enterocytes;

- Celiac disease affects predominantly the mucosa of the proximal small intestine, which receives the majority of dietary gluten. Distal parts of the small intestine are less affected because gluten has generally been absorbed by the time the enteric bolus reaches these areas.

Risk factors:

Geographic: The highest incidence of celiac disease is found in western Europe and the U. S.

Age: Peaks in diagnosis occur in childhood (when approximately 6% of the cases are diagnosed) and between the fifth and seventh decades of life.

Female gender: The female-to-male ratio in celiac disease is about 2:1.

Hereditiy:

- Celiac disease is an inherited condition with a concordance rate of 70% to 100% between monozygotic twins;
- The concordance rate among siblings is 7% to 30%. The rate increases up to 40% if the sibling has the same HLA risk haplotype as the index case;
- Risk is higher among first-degree relatives of those with the condition, with a 1:22 ratio, compared with the risk among second-degree relatives (1:29);
- At least 11% of first-degree relatives of index cases have celiac disease.

Infant diet:

- If gluten-containing foods are brought into the diet within the first 3 months or after 7 months of life, the risk of developing celiac disease increases five-fold;
- The risk is higher in the first 3 months because of the infant's underdeveloped intestinal mucosal barrier, which allows immunogenic peptides to cross the epithelium.

Absent breastfeeding:

Breastfeeding protects against the development of celiac disease in childhood. Gradual introduction of gluten-containing foods while breastfeeding decreases the risk by 48%.

Breastfeeding may have the following protective effects:

- Breast milk protects against gastrointestinal infections that increase the permeability of the intestinal mucosa to gluten;
- IgA in breast milk agglutinates with antigen, preventing the antigen's uptake to the mucosa;
- Breast milk has T-cell-specific suppressive effects.

Inflammatory bowel disease: A few studies have shown an increased prevalence of celiac disease in patients with Crohn disease and, to a lesser extent, ulcerative colitis.

Comorbid risk factors:

- Lymphocytic colitis (increases risk of celiac disease 15%-27%);
- Down syndrome (increases risk 12%);
- Type 1 diabetes mellitus (increases risk 5%-6%);

- Autoimmune thyroid disease (increases risk 5%);
- Chronic fatigue syndrome (increases risk 2%).

Diagnosis

Approach to initial CD diagnosis

In 1970, the European Society of Paediatric Gastroenterology laid down criteria for the diagnosis of CD in children, entailing three biopsies of an initial flat mucosa in the upper small intestine, restoration of the mucosa to normal on a GFD, and a deterioration of the mucosa after gluten challenge. Given the current availability of serological tests being highly sensitive and specific, the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition has proposed a revised CD diagnostic protocol. Based on this protocol, if the symptoms (either “classical” or “atypical”) and serological tests are suggestive of CD, small bowel biopsy followed by a favourable clinical and serological response to the GFD is now considered sufficient to definitely confirm the diagnosis. In asymptomatic patients improvement in mucosal appearance may be required to confirm the diagnosis, but in majority symptomatic patients, continual abnormality of mucosa at the second biopsy is more likely to indicate slow/partial mucosal recovery. This may also reflect that the site of re-biopsy (proximal small intestine) is often the last site to improve.

The current approach to evaluating CD has been modified by the advent of highly sensitive and specific serological tests. An algorithm for diagnosing CD is given in. Assays for IgA anti-tissue transglutaminase (TGA) and IgA anti-endomysial (EMA) have both the highest specificities and sensitivities, and are therefore regarded as being superior serological screening tools for diagnosis of CD. Initial CD evaluation is based on a combination of positive CD-specific serological tests, histological findings in the intestinal biopsy, CD-predisposing gene encoding HLA DQ2 or DQ8, family and medical history of CD, and clinical or histological response to GFD. However, CD diagnosis can be challenging in some non-responsive patients to GFD. Practically all patients with CD carry HLA-DQ2 or HLA-DQ8. Thus the absence of these gene pairs reflects a very high negative predictive value for CD and should prompt consideration of other causes of small bowel-related symptoms and pathological changes. Positive TGA or EMA at initial diagnosis of CD or at any time in the clinical course of the disease helps to confirm the diagnosis of CD because of their excellent specificities of over 99% when small bowel villous atrophy is present on biopsy.

Serological tests

HLA typing: The contribution of HLA type to the genetic risk for CD has been variously estimated at 30%-

50%. Many of the polymorphic genes are involved in susceptibility to CD encode products that influence the immune response upon gluten ingestion, as shown for the HLA-linked genes. Although Non-HLA genes contribute more than HLA genes to the genetic background of CD, each of them adds only a minor contribution to the disease development.

There is strong association between CD and the presence of HLA DQA1*0501-DQB1*02 (DQ2) and DQA1*0301-DQB1 [0302 (DQ8) haplotypes. Approximately 90% to 95% of patients with CD carry DQ2 and those patients that are negative for HLA-DQ2 are usually positive for HLA-DQ8, indicating a strong genetic risk for the disease. Several studies also have confirmed that the absence of HLA-DQ2, HLA-DQ8, or both virtually excludes the diagnosis of CD]. However, the modest sensitivity (HLA-DQ2, 70%-99.8%; HLA-DQ8, 1.6%-38%) and specificity (HLA-DQ2, 69%-77%; HLA-DQ8, 77%-85%) of the test means that a positive result is not sufficient to diagnose the disease [having a low positive predictive values (HLA-DQ2, 6.3–18; HLA-DQ8, 0.28–8.1) and likelihood ratios (HLA-DQ2, 2.25–4.33; HLA-DQ8, 0.07–2.53)]. Even the presence of HLA-DQ2 or HLA-DQ8 in patients with positive serologic test results is strongly suggestive but not pathognomonic for CD. Antibody screening to identify participants with preclinical CD may be reduced by preselecting HLA risk group from the large populations with long-term follow-up for CD. Hence HLA-DQ genotyping could be included in the algorithm of selecting large populations prospectively screened for CD.

Antibody level: Several serum antibodies have been used to initially evaluate patients with suspected CD, monitor adherence and response to GFD, and screen asymptomatic individuals. Anti-gliadin antibodies (AGA) detection has low sensitivity and specificity, leading to high false-positive rate in patients. Recent reports of deamidated gliadin peptide AGA (DGP-AGA) have suggested a much improved accuracy. The sensitivity and specificity for IgA DGP-AGA is 84.3% and 79.8%, whereas for IgG DGP-AGA the sensitivity and specificity are 82.3% and 98.9%, respectively. As shown in Table, EMA and TGA have been found to be superior to AGA and gives highest sensitivity and specificity of greater than 95% when used in combination. EMA testing, however, produces a subjective and highly observer-dependent result, whereas TGA testing is quantitative [4].

Endoscopy: The only way to confirm a celiac disease diagnosis is by having an endoscopic biopsy. During the biopsy, the gastroenterologist will insert a small

tube with a camera through the digestive tract to the small intestine. Once there, the physician will examine the duodenum and take multiple tissue samples due to the “patchy” nature of villous atrophy. The tissue samples will then be examined by a pathologist under a microscope and assigned a Marsh classification [5].

Marsh Stages

Marsh 0: The mucosa (intestinal lining) is normal, so celiac disease is unlikely. Stage 0 is known as the “pre-infiltrative stage.”

Marsh I: The cells on the surface of the intestinal lining (the epithelial cells) are being infiltrated by white blood cells known as lymphocytes. This is also seen in tropical sprue, giardiasis, acute infective enteropathy, H. pylori gastritis, Crohn’s disease, during NSAID usage,

and in various autoimmune disorders. Therefore, it is not specific for celiac disease.

Marsh II: The changes of Marsh I are present (increased lymphocytes), and the crypts (tube-like depressions in the intestinal lining around the villi) are “hyperplastic” (larger than normal).

Marsh III: The changes of Marsh II are present (increased lymphocytes and hyperplastic crypts), and the villi are shrinking and flattening (atrophy). Most patients with celiac disease are Marsh III. There are three subsets of Marsh III: partial villous atrophy, subtotal villous atrophy and total villous atrophy.

Marsh IV: The villi are totally atrophied (completely flattened) and the crypts are now shrunken, too.

References:

1. David A., Nelsen, JR., M. D., M. S., University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, Arkansas. *Am Fam Physician.* – 2002 Dec 15;66 (12):2259–2266.
2. *Lancet Neurology, The,* – 2010–03–01, – Volume 9, – Issue 3, – P. 318–330, Copyright © 2010 Elsevier Ltd.
3. *Gastroenterology Clinics of North America,* – 2007–03–01, – Volume 36, – Issue 1, – P. 93–108, Copyright © 2007 Elsevier Inc.
4. *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Nov 14; – 18 (42): 6036–6059.
5. URL: http://celiac.org/wp-content/uploads/2013/07/Capsule_Endoscopy.jpg

Section 2. Biomedical science

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-13-15>

*Tigai Zhanna Gennadievna,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: shekz@mail.ru*

*Adilkhanov Arsen Vagabovich,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: arsh204@mail.ru*

*Akhuba Liia Georgievna,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: leka.166@mail.ru*

*Shek Dmitrii Leonidovich,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: dls3191@gmail.com*

Evaluation of the quality of practical skills depending on the period of the simulation training of basic CPR

Abstract: Numerous studies have shown that the skills of cardiopulmonary resuscitation according to the ERC (European Resuscitation Council) algorithm weaken after a few weeks of training in the absence of their regular use in practice. So, if the quality of the provision of basic cardiopulmonary resuscitation does not change significantly after 3–6 months after the first training, then after 6–12 months, the quality of the provision significantly weakened.

Keywords: CPR, simulation medicine, emergency medicine.

*Тигай Жанна Геннадьевна,
Российский Университет Дружбы народов
Центр симуляционного обучения
E-mail: shekz@mail.ru*

*Адильханов Арсен Вагабович,
Российский Университет Дружбы народов
Центр симуляционного обучения
E-mail: arsh204@mail.ru*

*Ахуба Лиля Георгиевна,
Российский Университет Дружбы народов
Центр симуляционного обучения
E-mail: leka.166@mail.ru*

Шек Дмитрий Леонидович,
Российский Университет Дружбы народов
Центр симуляционного обучения
E-mail: dls3191@gmail.com

Оценка качества практических навыков в зависимости от периода прохождения симуляционного тренинга по базовой сердечно-легочной реанимации

Аннотация: Многочисленные исследования показали, что практические навыки проведения сердечно-легочной реанимации согласно алгоритма ослабевают спустя несколько недель после тренинга при условии отсутствия их регулярного применения на практике. Так, если через 3–6 месяцев после первого тренинга качество оказания базисной сердечно-легочной реанимации существенно не меняется, то спустя 6–12 месяцев качество оказания практических реанимационных приемов значительно ослабевает.

Ключевые слова: сердечно-легочная реанимация, симуляционный тренинг, неотложная медицина.

Цель исследования: оценить качество практических базовых реанимационных навыков согласно алгоритма Европейского совета по реанимации у врачей скорой помощи, с уже имеющимися навыками, пришедшие на однодневный тренинг — модуль по базовой сердечно-легочной реанимации.

Материалы и методы: были проанализированы анкеты 90 участников, пришедших на однодневный тренинг и данные имеющихся практических навыков до и после тренинга (показатели обучающихся после тренинга составили данные сравнения). Все участники были разделены на три группы, в зависимости от давности прохождения тренинга по базовой сердечно-легочной реанимации: 6–12 месяцев (до года), 13–24 месяца (1–2 года) и 25–36 месяцев (2–3 года).

Результаты: в группе 6–12 месяцев (до года) выявлено достоверное ($p < 0,05$) снижение качества оказания реанимационной помощи по следующим показателям: объем и длительность вдуваний, закрытие носа во время вдуваний, применение приема лоб-подбородок для открытия и поддержания проходимость дыхательных путей, экскурсия грудной клетки, количество вдуваний в цикле, место проведения компрессий грудной клетки, глубина компрессий во время непрямого массажа сердца, количество компрессий в цикле, нарушение положения рук на грудной клетке во время компрессий, расправление грудной клетки после компрессий, длительность интервала между циклами компрессий, частота компрессий.

В группах 13–24 месяцев (1–2 года) и 25–36 месяцев (2–3 года) при оценке качества выполненных навыков до начала и после проведенного тренинга нами выявлено значительное снижение качества оказания

респираторной поддержки и непрямого массажа сердца. Выполненные навыки соответствовали рекомендациям: по глубине вдуваний — у 14% обучающихся, по длительности вдуваний — у 11%, по качеству экскурсии грудной клетки — у 14%, по количеству вдуваний в цикле — у 37%, по поддержанию проходимость дыхательных путей — у 7% обучающихся.

По показателям качества выполнения непрямого массажа сердца у обучающихся группы до одного года соответствие места проведения непрямого массажа сердца, согласно рекомендациям, было определено правильно у 80% обучающихся, количество компрессий в цикле — у 61%, длительность интервала между циклами компрессий — у 64%, частота компрессий — у 34% и глубина компрессий — у 57% обучающихся.

В группах 13–24 месяцев (1–2 года) и 25–36 месяцев (2–3 года): выбранная точка непрямого массажа сердца соответствовала рекомендованной у 62% и 61% обучающихся соответственно, количество компрессий в цикле — у 70% и 68%, длительность интервала между циклами компрессий — у 62% и 61%, частота компрессий — у 41% и 36%, глубина компрессий — у 34% и 33% обучающихся соответственно.

Выводы: учитывая выявленное нами достоверное снижение качества реанимационных навыков у обучающихся в течение первого года, при отсутствии их частого применения на практике, проведение симуляционных тренингов необходимо для усиления практической подготовленности с периодическим повторением тренинга даже среди лиц медицинского состава, с обязательным введением персонифицированного электронного регистра.

Список литературы:

1. Tigay Zh. G., Dogotar O. A., Kostsova N. G., Akhuba L. G., Sopotik V. S., Organization of the simulation education in Institute of medicine of the Peoples' Friendship University of Russia.; В сборнике: The tenth European Conference on Biology and Medical Sciences – 2016. – С. 81–83.
2. The effectiveness of the simulation training of basic practical skills in 3rd-year medical students of the peoples' friendship university of Russia и Kostsova N. G., Dogotar O. A., Tigay Zh. G., Sopotik V. S., Akhuba L. G. В сборнике: The Tenth European Conference on Biology and Medical Sciences – 2016. – С. 79–81.
3. Importance of the simulation training in education of basic nursing skills of 2-year students of the institute of medicine of peoples' friendship university of Russia Dogotar O. A., Tigay Zh. G., Kostsova N. G., Sopotik V. S., Akhuba L. G. В сборнике: The Tenth European Conference on Biology and Medical Sciences – 2016. – С. 75–76.
4. Методы и формы симуляционного обучения в подготовке специалистов по специальности «Сестринское дело» Косцова Н. Г., Шубина Л. Б., Грибков Д. М., Тигай Ж. Г., Доготарь О. А., Сопетик В. С., Шек Д. Л. Вестник последипломного медицинского образования. – 2015. – № 3. – С. 4–9.
5. Организация Симуляционного Обучения Студентов Медицинского Института Российского Университета Дружбы Народов Тигай Ж. Г., Доготарь О. А., Сопетик В. С., Шек Д. Л. Вестник последипломного медицинского образования. – 2015. – № 4. – С. 80.
6. Необходимость Симуляционных Технологий В Обучении Навыкам Базовой Сердечнолегочной Реанимации. Косцова Н. Г., Тигай Ж. Г., Доготарь О. А., Сопетик В. С., Шек Д. Л., Ахуба Л. Г. Вестник последипломного медицинского образования. – 2015. – № 4. – С. 81.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-15-19>

*Velikanov Valerian Ivanovich,
Doctor of Biological Sciences,
Contributing author:*

*Elizarova Elena Anatolievna,
Candidate of Biological Science,
Elizarova Anastasia Romanovna
veterinary physician,*

*Terentev Sergey Sergeevich,
Postgraduate Student,*

*Klyapnev Andrey Vladimirovich,
Postgraduate Student,*

*Federal State Educational Institution of Academic Degree
“Nizhny Novgorod State Agricultural Academy», Russia,
Nizhny Novgorod,*

E-mail: anatomifarmitox@mail.ru

Biochemical and hematological parameters of blood of dogs in the acute form of parvoviral enteritis under the action of the drug “Azoxivet”

Abstract: This article considers the influence of “Azoksivet” on the biochemical and physiological indicators of blood of dogs suffering from parvoviral enteritis in its acute form. Detoxification and immunostimulatory effects of the drug are described in this article.

Keywords: “Azoksivet”, parvovirus enteritis, dog, physiological blood parameters, biochemistry blood parameters.

Parvovirus enteritis of dogs is a dangerous, highly contagious disease characterized by the common toxic effects on the body in the acute form. One of the problems in the treatment of the disease of viral nature, is the selection of an effective immunomodulatory drug. The article presents the results on the study of the drug "Azoksivet" on the dogs infected by parvoviral enteritis in an acute form. The drug is a true immunomodulator that: increases reduced and reduces the increased immunological activity; effects on phagocytes and natural killer cells; stimulates the production of IL-1 β , IL-6, TNF- α and β -interferons; restores immune responses in secondary immunodeficiency states; increases the resistance of the body against local and generalized infections; is a detoxifier, an antioxidant and stabilizes cell membranes [6; 7].

Materials and methods

Investigations were carried out on the basis of a veterinary clinic located in Dzerzhinsk in Nizhny Novgorod region. For the investigations two groups of dogs were formed, the control and testing groups, 15 dogs in each. In the selection of the animals similar symptoms, breed (Mixed Breed), age (from 8 months to 1 year), the period of treatment in the clinic (from the appearance of the first symptoms of the disease of the animal) were taken into account. To determine the etiology of the disease express-test diagnostics VetExpert (chromatographic immunoassay method) was used, it allows to diagnose causative agent of the disease very quickly [4]. Blood for hematological and biochemical analysis was taken from a vein safena at 8 o'clock in the morning before the first procedure in the amount of 2 ml. The first sample was taken at the admission of the animal, and then on the fifth and tenth days of the illness. Hematological research of blood was analyzed by PCE-90Vet. Biochemical research of blood was carried out by BioChem SA by 10 parameters: total protein, total bilirubin, aspartate transaminase, glutamyl pyruvic transaminase, gamma glutamine transferase, α -amylase, alkaline phosphatase, creatinine, urea [1]. Statistical data processing was carried out by BioStat v5 program.

To the animals of the control group therapeutic regimen with the use of: Hartmann's solution (intravenously according to the formula for calculating the deficit and support the volume, taking into account the weight and condition of the dog), "Reamberin" intravenously 10 ml/kg; "Metrogil" intravenously 10 mg/kg, "Dyufalayt" intravenously 50ml/kg 5; "Miksoferon" intravenously one commercial dose on a 2.5 kg of animal body weight; "Dimedrolum" intravenous 1 mg/kg, "Reglan" intravenously 0.5 ml/kg; "Enterodez" into 15 grams per 25 kg body weight, "laktobifadola" orally 0.2 g/kg; "Lauritin-S"

twice daily intravenously at a dose of 1 to 5 ml (depending on the animal's weight); aminokopronovaya acid was administered intravenously 10 mg/kg was applied.

To the animals of the experimental group therapeutic regimen with the use of: "Azoksivet" 3mg/10kg intravenously; Hartmann's solution (intravenously according to the formula for calculating the deficit and support the volume, taking into account the weight and condition of the dog), "Reamberin" intravenously 10 ml/kg; "Metrogil" intravenously 10 mg/kg, "Dyufalayt" intravenously 50ml/kg 5; "Dimedrolum" intravenous 1 mg/kg, "Reglan" intravenously 0.5 ml/kg; "Enterodez" into 15 grams per 25 kg body weight, "laktobifadola" orally 0.2 g/kg; "Lauritin-S" twice daily intravenously at a dose of 1 to 5 ml (depending on the animal's weight); aminokopronovaya acid was administered intravenously 10 mg/kg [2] was applied.

Result

In the experimental and control groups of animals in the primary treatment similar syndrome was registered: frequent vomiting, more than 5 acts per day; prostrateing diarrhoea, more than 10 times a day, stool consistency was liquid, with a lot of blood; pronounced flatulence; expressed signs of dehydration (elongated capillary refill time (more than 2 seconds); dry mucous membranes; sunken eyes; gathered from sentinel tag remains in place; dry mucous membranes; unclear eye).; body temperature 38 °C; sthenic polycardia; strong labored breathing. The general condition critical: depression, ataxia, hyposthesia, myasthenia gravis.

On the 5th day of treatment in the control group the amelioration of dogs was observed: the number of vomiting acts triggered by intake of liquid food was reduced till 5 per day; acts of diarrhea were repeated several times a day; consistency of feces ranged from semi to watery, brown and black; depressed state of the animals continued; respiratory rate and heart rate per minute on the upper limit of the normal range; tachycardia and dyspnea were after walking; body temperature was 38,6 °C + 0,5 °C; a slight loss of skin elasticity in the range of 2–4%; appetite was greatly reduced.

The condition of the experimental group of animals on the 5th day of therapy was much more different from that of the control group of dogs: vomiting was not observed; not more than three defecation acts per day; semi-liquid faeces; a slight pain on the abdomen palpation; moderate thirst; respiratory rate and heart rate per minute within or at the upper limit of the physiological norm; body temperature was 38,7 °C + 0,3 °C; the animals were moderately active; the appetite was reduced.

Table 1. – Hematologic parameters of blood animal control and experimental groups

group number Values	initial consultation		5th day of treatment		10th day of treatment	
	Control group	Experimental group	Control group	Experimental group	Control group	Experimental group
Hematocrit (Ht),%	72,20 ± 6,8	70,13 ± 7,31*	43,55 ± 5,51	40,47 ± 3,90*	42,21 ± 3,51	45,47 ± 3,62*
Hemoglobin (Hb), g/L	98,0 ± 9,8	102,1 ± 10,1	68,8 ± 8,2	107,2 ± 11,8	89,7 ± 16,9	125 ± 15,2
Erythrocytes (RBC), 10 ¹² /l	7,89 ± 1,2	8,03 ± 1,4*	5,47 ± 1,6	7,18 ± 1,3*	6,82 ± 1,4	8,32 ± 1,4*
the average content of hemoglobin in the red blood cell (MCH)	0,37 ± 0,02	0,38 ± 0,04	0,37 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,39 ± 0,02	0,45 ± 0,02
ESR, mm/h	8,2 ± 0,25	8,4 ± 0,22*	37,2 ± 2,4	23 ± 1,8*	28,5 ± 2,2	14,7 ± 2,2*
White blood cells (WBS), 10 ⁹ /l	4,48 ± 0,31	4,51 ± 0,49*	1,32 ± 0,1	2,08 ± 0,2*	2,61 ± 0,3	3,27 ± 0,3*
Eosinophils (EOS),%	8,80 ± 1,2	8,80 ± 0,15	3,4 ± 0,8	3,8 ± 0,4	5,9 ± 0,9	6,2 ± 1,2
Stab neutrophils,%	3,00 ± 0,25	3,00 ± 0,20	21,7 ± 2,4	14,6 ± 1,9	16 ± 2,2	9,5 ± 1,2
Segmented neutrophils,%	2,40 ± 0,19	2,40 ± 0,18	15 ± 2,4	11,7 ± 3,4	12,6 ± 1,2	8,4 ± 1,5
Lymphocytes (LYM),%	64,60 ± 16,2	64,60 ± 17,7	22,4 ± 2,6	38,1 ± 1,2	31,6 ± 4,2	47,4 ± 3,8
The monocytes (MONO),%	25,00 ± 2,10	25,00 ± 2,10	7,6 ± 1,2	9,2 ± 2,4	10,8 ± 3,2	13,7 ± 2,2

$N = 15; p \leq 0.05$

At the time of the initial inspection at dogs of both groups strong asiderotic anemia in a color index of 0.37 was observed. That was two and a half times lower than the minimum allowable values. The level of hematocrit in the course of strong dehydration doubled (compared to the lower limit of normal). In the study of leukogram, we observed the critical segmented neutropenia in the course of double lymphocytosis and three-time monocytosis.

Described above the blood condition, was named as “progressive malignant neutropenia mature” and indicates the hardest depletion of reserves of bone marrow and the destruction of multiple cells as a result of the toxic process, supported by high titers of virus or severe bacterial infection.

Hematological analysis of samples (shown in Table 1) selected on the 5th day of treatment showed that in spite of the intensive treatment rendered, the rate of ESR continues to increase in both groups of dogs, exceeding the norm almost six times. By the 10th day of treatment, ESR slowly begins to decrease, this decrease in the control group reaches only 4.5% compared with the peak value is in the experimental group decreases by 55%, twice the upper limit physiological.

A similar pattern is observed in the blood are often secondary not purulent stage cardiomyopathies and cardiac myocyte degeneration without inflammatory infiltration [3]. On the 5th day of therapy observed drop in the number of leukocytes in both groups (in control of 70%. In the experimental of 53%). By the 10th day of treatment the number of leukocytes in the blood of dogs in both groups growing gradually, but in the treated group, this rise is faster and 20% ahead of the control group.

Biochemical indicators of blood are shown in Table 2. Because of the strong overall dehydration total protein content in the first day the survey was overstated to the fifth day of treatment twice as compared with the average protein content in the blood.

Infusion therapy partially removes signs of dehydration (on the 5th day of treatment), however, to the upper limits of physiological norms this value approaches only on the 10th day of intensive therapy and only in dogs of the experimental group. At this time we see a strong globulinemia, its value is less by 43% below the physiological norm. In the experimental group, the content of globulins is reduced by

10% on the 5th day of therapy. And sharply increase by 25% (compared with the 5th day) on the 10th day,

which is 2 times higher than the values of the control group.

Table 2. – Biochemical parameters of blood dogs experimental and control groups

group number Values	initial consultation		5th day of treatment		10th day of treatment	
	Control group	Experimental group	Control group	Experimental group	Control group	Experimental group
total protein g/l	148,7 ± 37,2	146,3 ± 41,2	132,3 ± 39,7	124,7 ± 29,8	148,5 ± 34,1	109,3 ± 16,2
globulin g/dl	17,7 ± 1,62	18,2 ± 1,84*	11,3 ± 2,13	16,2 ± 2,34*	11,8 ± 1,95	21,7 ± 3,94*
ALT	364 ± 50	380 ± 62*	445 ± 91	402 ± 75*	422 ± 62	389 ± 51*
AST	686 ± 62	656 ± 48*	808 ± 106	576 ± 168*	796 ± 95	502 ± 79*
index De Rytisa	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1
Total bilirubin	44,2 ± 11,0	46,6 ± 9,8	69,2 ± 19,3	41,8 ± 11,4	52,3 ± 18,1	35,1 ± 11,9
alkaline phosphatase	184,6 ± 38,2	179,0 ± 42,1	204,6 ± 96,8	162,0 ± 64,1	132,9 ± 34,3	99,0 ± 12,1
A-amylase	184 ± 65	201 ± 57*	306 ± 85	441 ± 98*	399 ± 36	701 ± 57*
GGT	27 ± 3	26 ± 3*	21 ± 6	21 ± 2*	18 ± 2	16 ± 2*
creatinine	300,3 ± 52,1	295,2 ± 49,8	268,8 ± 34,6	246,2 ± 98,5	182,5 ± 44,8	154,6 ± 31,6
Urea	29,7 ± 8,44	27,9 ± 9,11	28,6 ± 12,12	26,9 ± 12,70	18,9 ± 5,12	16,5 ± 2,31

$N = 15; p \leq 0.05$

In studying hepatic transaminases hyperfermentemia was observed, ALT is high in the primary inspection eight times compared with the norm, by the fifth day of treatment ALT the activity increases by 12.5% in the control group, exceeding the norm of more than 10 times. In the work of several authors, the process is considered to be complications of viral or bacterial infections [5]. De Rytis coefficient take a value physiologically normal in the animals of the experimental group on the 10th day of treatment. De Rietz coefficient stick with throughout of the treatment period in animals of the control group, which indicates hard toxic liver damage with the destruction of a large number of hepatic cells.

The content of GGT is high more than 3-fold compared with the norm in animals of both groups. This indicator was high level on the 5th day of therapy and decreases on the 10th day of treatment (by 23% in the experimental group, by 14% in the control group). Activity of α -amylase lower and the values of creatinine and urea are increased in animals of both groups. These values indicate a deep lesion of liver and nephros tissues due to infectious toxicosis. These indicators

were values of the limits of the norm to the 10th day of therapy in the animals of the experimental group, which is due to the neutralization of body toxicity. The duration of the course of the disease was 18 ± 4 days in the animals of the control group. The duration of the course of the disease was 12 ± 3 days in the experimental group animals. Sequels of the disease appeared in 30% animals of the control group. Sequels of the disease appeared in 26.6% animals of the experimental group. Mortality in the control group was 60%, and in the experimental group 20%.

Discussion

Based on the results of hematological and biochemical analysis of blood, inference should be drawn that drug "Azoxiveth" reduces the intoxication of the body. This is evident from the rapid recovery of α -amylase activity and the increase in De Ritis index (compared to the control group).

In such a manner, use the drug "Azoxiveth" in the treatment of acute course of parvovirus enteritis of dogs, greatly charm away the course of the disease, reduces the duration of the disease by an average of 6 days.

References:

1. Joyce LeFever Kee, Laboratory and Diagnostic Tests with Nursing Implications//Prentice Hall, – 2013.
2. Haitov R. M., Pinegin B. V. Osnovnye principy immunomodulirujushhej terapii//Allergija, astma klin. immunol. – 2000. – № 1. – S. 9–16.
3. Veterinary Disaster Medicine: Working Animals//Wayne E. Wingfield, Sherrie L. Nash, Sally B. Palmer, Jerry J. Upp. Willey-Blackwell, – 2009.
4. Green R. M., Flamm S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. Gastroenterologia – 2002. – P. 1367.

5. Paul T. Mildly Elevated Liver Transaminase Levels in the Asymptomatic Patient/T. Paul, M. D. Giboney//Am Fam Physician. – 2005. – V. 71 (6). – P. 1105–1110.
6. zoomedvet URL: <http://www.zoomedvet.ru/articles/lechenie/azoksivet-kompleksnyy-vysokotekhnologichnyy-immunomodulyator/>
7. URL: <http://www.vet.petrovax.ru>

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-19-22>

Ismat S. Ahmadov,
Department of Chemical Physics
of Nanomaterials, Faculty Physics,
Nargiz J. Agayeva,
Narmina A. Sadigova,
Department of Bioecology, Faculty
of Biology, Baku State University,
Baku, Azerbaijan
E-mail: matlabm@yandex.ru

The impact of nanoparticles on the embrional and postembrional development in molluscs *Lymnaea Auricularia*

Abstract: In this article has been studied toxic effects of some nanoparticles on the embrional and postembrional development of mollusks. Experiments were carried out on *Lymnaea auricularia* mollusks. It was concluded, the embryonic and postembryonic stages of development of mollusks are very sensitive against nanoparticles.

Keywords: Food chain, mollusks, hatchability, egg clusters, embryo, nanoparticles, nanotoxicology.

1. Introduction. Using as model organisms, the mollusks living both in marine and fresh waters, the toxic influences of nanoparticles are comparatively investigated in them and the main aim in these studies is to determine the risk of nanomaterials. Based on reviews of scientific articles, there are no standart experimental approaches to determine the toxicity of nanoparticles and it needs a lot of experimental results in their organization. Generally it is known that, the main organs accumulated in water organisms of nanoparticles are glands of digestive system and their cells. The main targets of nanoparticles are the endosomal-lizosomal system and mitochondrias. Nanoparticles both directly and by the products are separated from them, create immunetoxicity, oxadizing stress and damage cell proteins, biological membranes and DNA [1]. Maria Noyel and her colleagues (2014) studied the bioaccumulation of copper oxide nanoparticles (^{65}CuO) which were modified with isotope, by keeping in water and feeding its mollusk *Lymnaea stagnalis* living in freshwater basin. They identified that, the mollusks effectively adopt CuO nanoparticles included

by this way. The adopting effect was 83% and absorption speed $0.61 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ at concentration of CuO nanoparticles ($< 100 \text{ nmol g}^{-1}$). At higher values of concentration the effectiveness decreased to 50%. It is interesting that, in a day CuO nanoparticles were cleaned up from snail's body. It has been identified that, TiO nanoparticles at $\geq 1.0 \text{ mg/kg}$ concentrations stimulate the immune system in *Octopus vulgaris* (*Mollusca: Cephalopoda*) snail. In 4 hours after nanoparticle injection the increase of circulating hemosit number, lizosome activity, the concentration of nitrogen oxide were observed. Return to these parameters norm happened in 24 hours [2]. In order to identify the influences of biotransformation of nanoparticles in marine ecosystems Milca O. Montes and his colleagues (2012) fed the median concentrations of *Mytilus galloprovincialis* with two various nanometals — CeO_2 and ZnO being in 1 mg L^{-1} to 10 mg L^{-1} interval in laboratory condition. At 10 mg L^{-1} concentrations medians adopted $62 \mu\text{g L}^{-1}$ Ce and $880 \mu\text{g L}^{-1}$ Zn-calculated in dry weight of tissue. By Electron Scan Microscope it was determined that CeO_2 nanoparticles remained in median

body, but ZnO nanoparticles were removed [2]. Based on these results of experiments it becomes clear that nanoparticles can make serious toxic effects in mollusks being important components of water ecosystems and in other invertebrates. Therefore to learn the exposing results of mollusks participating in food chain of nanoparticles is one of the actual problems. Taking this idea in mind the present investigation was undertaken to study the sequential events of the embryonic and postembryonic development of *L. auricularia* which were developed in solutions of nanoparticles.

2. Materials and methods. Experiments were carried out in *Lymnaea auricularia* mollusks — being the second component of simple food chain (phytoplankton-mollusk-fish) existing in water ecosystems. *L. auricularia* is found in freshwater lakes, ponds, and slow-moving

rivers with mud bottoms [3]. *L. auricularia* are the pulmonary breathing gastropod mollusks widely spread in still water basins. Water temperature must be $\sim 19^{\circ}\text{C}$, pH 6–7,1 for their survival and proliferation. These species live in hard water in Great Britain. The species can't live in polysaprobic waters much contaminated areas by higher organic substances, sulphides, bacterias, and lack of oxygen. *L. auricularia* are fed with plants and various detrits. The body sizes of *Lymnaea auricularia* depend on the development of their pelvises. Sometimes the height of the pelvis can develop up to 30 mm and width up to 25 mm, and the ratio of width to length is more than 0,75. But most species grow up to half of the maximum dimension in breeding. The width of the pelvis is 12–18 mm, and height 14–24 mm.

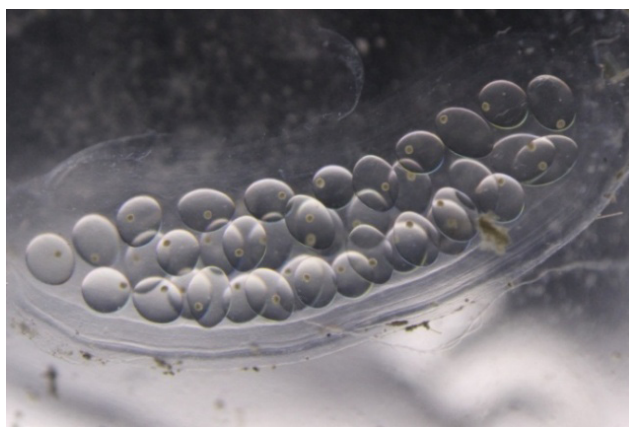


Figure 1. *Lymnaea auricularia* eggs capsules

Their legs are nearly 18×11 mm. As the sizes of neurons in *L. auricularia* nervous system relatively bigger, they are used as the model object to study the functionalizing of animal nervous system in neurophysiology. *L. auricularia* are hermaphrodite, insemination is cross, development is straight and embryo development happens inside of egg membrane till the end. The eggs of *L. auricularia* mollusks are inside of the longish shape transparent, helmes slime mass. The amount of eggs in slime mass can be changed depending on the types of mollusks, age, physiological state, environmental food richness, temperature. They put their eggs as a capsules from 50 to 210 (Figure 1). In experiments the slime masses (complex with eggs) of egg clusters of mollusks have been chosen. The mollusks were distributed into glasswares of 25 mm^3 volume. In a day we observed the mollusks put eggs inside the slime mass.

The egg clusters using for the experiments were chosen, and were put into glassware of 25 mm^3 volume in room temperature. In control approximately in 14–15 days we observed the mollusk babies getting out of the most eggs inside the slime mass. Though the get-

ting out of mollusk babies from the slime mass in test began in 14–15 days, appeared young snails were few compared to control. The appearing of young snails in test eggs, kept in solution which were added nanoparticles with various concentrations was compared to control variant. Embryonic and postembryonic development of mollusks was taken and morphological changes occurring in them were watched.

3. Results. It was interesting to know, in what period of development the influence of nanoparticles on the snails is strictly in embryonic or post-embryonic? In order to find out the answers of these questions, the egg capsules have been kept in the solution of nanoparticles and the development of the embryos has been observed in all period of development. On the first day of experiments were taken two days lading of egg capsules as a control and they were in discrete form, the eggs were in spherical form and embryos are seeing as points. On the 7th day of development, the miniature snail which was possessed in all the structures found in a newly hatched eggs and its spinning was observed. On the tenth day of

the development a very slow jerking movement of the miniature snails is observed and the eyes are apparent.

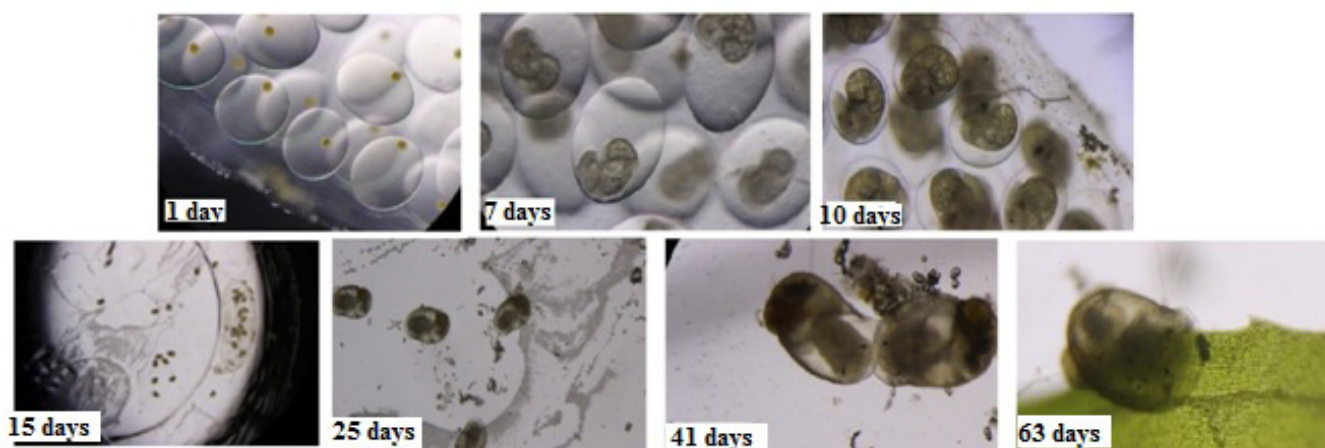


Figure 2. The embrional and postembrional development of molluscs in normal conditions

On the 11, 12, 13-th days of development of snails have been seen normal and structured mouth, the velum and head. On the 14th days of development the snail moved freely in the jelly of the egg capsule, outside the egg. On the 15th day of the development 90% of snails were moved freely in the glass beaker and have already escaped out of an egg. On the 23, 24, 25-th days of development, young snails are feeding and their excrements were observed in glass beaker. During 63 days of development of the snails can be observed the feeding, free movement, growth of the young snails. The results of experiment have given in Figure 2.

The egg clumps of mollusks were exposed to the solutions of the nanoparticles with the various concentrations (0,001%, 0,005%, 0,01%). In the first variant of experiments the eggs of snails were

exposed to the solution of Fe_3O_4 with 0,001% concentration. A few hours after the exposition some changes are observed in the laid egg capsules, the snails periodically thrust its foots against the wall of egg and thus the shape of egg elongates. On the 7-th day of the exposition of eggs it became evident that the development of the embryos in the egg has happened differently compared with control. On the 10-th day of exposition in the solutions of nanoparticles the development of embryo in two of eggs (3,6%) has ceased completely, the development in 4 eggs (7,3%) fell behind than others, and their sizes are small compared with control. On the 15-th day of the exposition there is not any improvement in the eggs which the process of development was delayed, only from two eggs (3,6%) hatched molluscs.

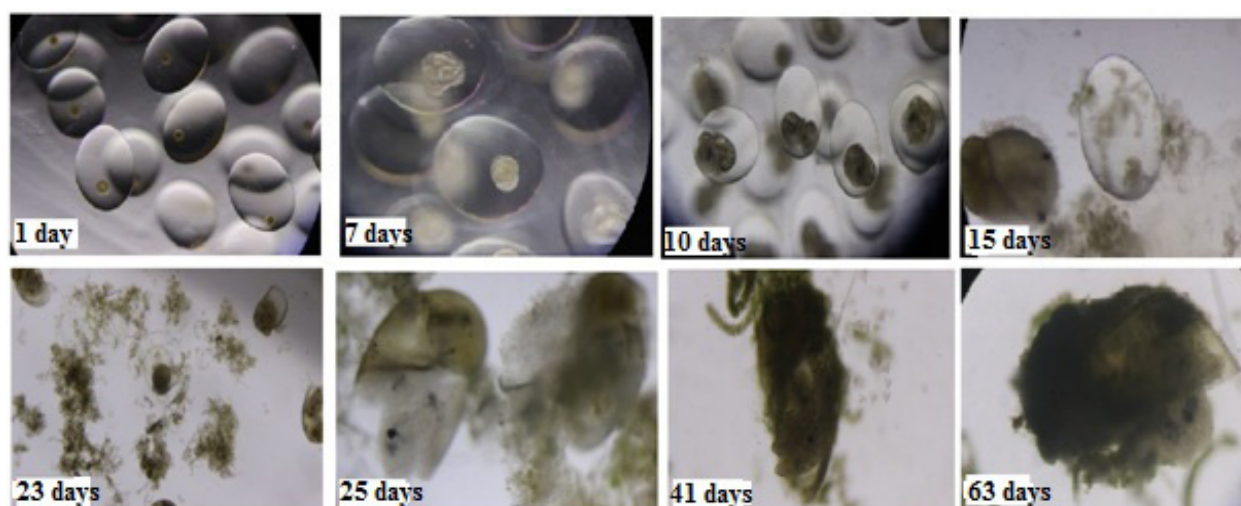


Figure 3. The development of egg snails exposed in the solution of Fe_3O_4 nanoparticles with 0,001% concentration

On the 23-rd day of experiment one of the young snails died, 3 were in the deadly state, heart beating, feeding, weakness in movement were watched. On the

24, 25-th days mass death of young snails was observed, and the bodies of dead ones were outside of the shell. On the other side, there was no improvement in the embryo

state, delayed from the development inside the slime mass in eggs. On other days death among the young snails also continued, and the bodies of the individuals remained outside the shell. On the 63-rd day of experiment the young snails both in eggs and outside the eggs died. As the result of these experiments we can say that in test 12,73% of eggs remained fully undeveloped, and 87,27% of developed ones all died within 63 days. For the comparison it must be noted that in control young snails remained alive within the same day. The results of the experiments were presented in figure 3.

4. Discussion. There are different approaches for the determination toxicity of nanoparticles on aquatic organism. Understanding the toxic effects of nanoparticles on aquatic organism allows to evaluate the risk of the spread in the food chain of water ecosystems. The last review of research articles in the area of nanotoxicology indicates that the aquatic invertebrate

testing will be key in the evaluation of this risk [4; 5; 6; 7; 8;]. The most frequently tested engineered nanoparticles in invertebrate tests are C (60), carbon nanotubes, and titanium dioxide. As the test organism, in the majority of the studies have been used *Daphnia magna*. The results of these studies have indicated that acute toxicity takes place at the low concentration range of engineered nanoparticles, although some indications of chronic toxicity and behavioral changes of aquatic invertebrates have also been described at concentrations in the high microgram/L⁻¹ range [8].

Conclusion

Based on the results of this study it can be concluded, the embrional and postembrional stages of development of mollusks *Lymnaea auricularia* are very sensitive against nanoparticles expozitions. The toxic effects of nanoparticles on the *L.auricularia* depend on their concentrations and exposure time of nanoparticles.

References:

1. Thiago Lopes Rocha, Tânia Gomes, Vânia Serrão Sousa, Nélia C. Mestre, (2015). Ecotoxicological impact of engineered nanomaterials in bivalve molluscs: An overview. *Mar Environ Res* – 111: 74–88.
2. Grimaldi A. M., Belcari P., Pagano E., Cacialli F., Locatello L. Immune responses of *Octopus vulgaris* (Mollusca: Cephalopoda) exposed to titanium. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* – 2013. – 447:123–127.
3. Herman P. M., Ter Maat A., Jansen R. F. The neural control of egg laying behaviour in the pond snail *Lymnaea stagnalis*: Motor control of shell turning. *J. Exp. Biol.* – 1994. – 197: 79–99.
4. Raven C. P. *Morphogenesis: The Analysis of Molluscan Development*. Peragomon, Oxford. – 1966.
5. Morrill J. B. *Developmental Biology of the Pulmonate Gastropod, Lymnaea*. In: Harrison FW, editor. *Developmental Biology of Freshwater Invertebrates*. Liss AR, Inc.; New York: – 1982. – 399–483.
6. Mescheryakov V. N. The Common Pond Snail *Lymnaea stagnalis* L. In “*Animal Species for Developmental Studies. Vol 1: Invertebrates*” Ed by Dettlaff, T. A. and S. G. Vassetzky, editors. Plenum Publishing. New York: – 1990. – 69–132.
7. Adem A C. M., van Deutekom-Mulder E. C., van der Knaap W. P., Sminia T. () NADPH-oxidase activity: the probable source of reactive oxygen intermediate generation in haemocytes of the gastropod *Lymnaea Stagnalis*. *J Leukoc Biol.* – Nov; – 1993. – 54 (5):379–383.
8. Baun A., Hartmann N. B., Grieger K., Kusk K. O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology* – 2008. – 17 (5), 387–395.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-23-25>

Kononenko Alevtina Gennadijevna,
National University of Pharmacy, associate professor,
Department of Human Anatomy and Physiology
E-mail: alevtina-kononen@mail.ru

Kravchenko Vera Nikolaevna,
National University of Pharmacy, professor,
Department of Human Anatomy and Physiology

Influence of aqueous extract from *lemna minor* frond on blood biochemical parameters in autoimmune thyroiditis in rats

Abstract: This article presents the study of the effect of aqueous extract from *Lemna minor* frond on biochemical indicators of metabolism in experimental autoimmune thyroiditis in rats. It founded that the introduction of aqueous extract from *Lemna minor* frond decreases levels of cholesterol, triglycerides, LDL and increases HDL level in the blood serum of rats with autoimmune thyroiditis.

Keywords: aqueous extract from *Lemna minor* frond, autoimmune thyroiditis, metabolism, biochemical parameters.

The literature indicates that thyroid disease occupy the last place among all endocrine pathology, and still remains one of the most difficult problems in clinical endocrinology. This confirmed by the ever-increasing incidence and high rates of disability in this pathology that is associated with environmental degradation, inadequate intake of iodine, increase the frequency of autoimmune diseases. Almost every second or third person on Earth has a particular pathology thyroid structure in which autoimmune thyroiditis (AIT) in frequency and social significance takes first place [3; 5; 14].

Disorders of the functional activity of the thyroid gland leads to changes in metabolic processes and the resulting imbalance in the system homeostasis [2; 7; 14; 15; 16]. Thyroid dysfunction — one of endocrine pathologies, which in most cases is associated with metabolic disorders.

Development of new approaches and search for more effective means to normalize thyroid function at AIT is essential. Correction of biochemical indicators in thyroid dysfunction may be associated with both intake of thyroid hormones and bioactive substances in the blood stream of drugs used for the treatment of metabolic processes [6; 7; 9; 11]. The most promising source of biologically active substances are medicinal plants. The feasibility study in this area of medicinal plants is determined by a wide range of pharmacological actions and the relative safety of long-term use [11; 12; 14; 17].

One of the most promising plants, which contains a set of biologically active substances are *Lemna minor*.

As a result of research in phytochemicals *Lemna minor* frond was established presence of iodine and 14 elements (calcium, potassium, silicon, sodium, etc.), and 32 biologically active substances of different chemical groups (phytosterols, saturated hydrocarbons, aldehydes and ketones, fatty acids, etc.) [1]. Also established the presence of amino acids, including aspartic and glutamic acid, arginine, leucine, alanine, valine and lysine [6]. Therefore, the aim of our investigation was to study the effect of aqueous extract from *Lemna minor* frond (AELMF) on biochemical parameters in serum of rats in conditions of experimental AIT.

Materials and methods of research. The experiments were performed on white nonlinear rats weighing 180–200 g male in compliance with Commission on Bioethics and Pharmacy “General ethical animal experimentation” (Kyiv, 2001), consistent with the provisions of the European Convention “On Protection of Vertebrate Animals used for experimental or other scientific purposes” (Strasbourg, 1986).

Experimental AIT induced in rats by immunization of human thyroid antigen in combination with a complete adjuvant Freud. Introduction AELMF performed intragastric 1 week after the last immunization within 21 days. Upon expiration of the animals taken out of the experiment and measured serum total protein, albumin, urea, creatinine, cholesterol, triglycerides (TG), HDL and LDL using test kits Biosystems (Spain). Glucose was determined using a glucometer One Touch Ultra.

Statistical analysis of the results was performed using standard statistical software package «Statistica 6,0». The experimental data are presented as the mean, its error ($\pm S$). Statistical analysis of the results was performed using nonparametric analogue univariate ANOVA — Kruskal-Wallis criterion and then used the

Mann-Whitney criterion. Differences between groups was considered likely adopted at the level of statistical significance of $p < 0.05$ [10, 13].

Results and discussion. Induced AIT were set changes biochemical parameters in serum of experimental animals.

Table 1. – Biochemical parameters in blood serum of rats with experimental AIT and the application AELMF (n = 10)

Indicator	Control	AIT	AELMF
Total protein, g/l	61,56 \pm 4,32	64,51 \pm 2,02	62,78 \pm 2,66
Albumin, g/l	28,22 \pm 1,35	29,17 \pm 1,27	32,01 \pm 1,38
Urea, mmol/l	6,56 \pm 0,11	6,37 \pm 0,49	6,44 \pm 0,20
Creatinine mmol/l	83,81 \pm 2,34	70,95 \pm 2,15*	77,38 \pm 2,63
Cholesterol, mmol/l	2,01 \pm 0,08	2,74 \pm 0,26*	2,55 \pm 0,11*
TG mmol/l	0,68 \pm 0,03	0,86 \pm 0,04*	0,68 \pm 0,05**
LDL, mmol/l	0,72 \pm 0,02	0,91 \pm 0,03*	0,85 \pm 0,02*
HDL, mmol/l	0,96 \pm 0,05	0,80 \pm 0,04*	0,92 \pm 0,05
Glucose, mmol/l	6,01 \pm 0,13	6,03 \pm 0,14	6,35 \pm 0,15

Notes: * — statistically significant differences relative to the control group, $p < 0,05$; ** — statistically significant differences with respect AIT group, $p < 0,05$; n — number of animals in each group.

In the study of lipid metabolism was found that AIT was accompanied by a rise in cholesterol in 1.4 times, LDL and triglycerides — in 1,3 times and reduction of HDL 1.2 times. Hypercholesterolemia can occur by increasing cholesterol content consisting of low-density lipoprotein and low-density lipoprotein too, although there are data and increase the concentration of HDL. After 21 days of application, AELMF in rats with experimental AIT observed positive changes. Cholesterol, LDL and TG in the serum of experimental animals decreased, and the content of HDL — increased compared to control group animals (Table. 1).

Analysis of the dynamics of biochemical parameters of protein metabolism in serum of rats found that in a

group of animals with AIT not significant changes of urea, total protein and albumin (Table. 1). Introduction thyroid antigen led to a decrease in creatinine level in blood serum of rats with AIT in relation to that of the control group to 15.3%. Development AIT was not accompanied by changes in the concentration of glucose in the blood serum.

Conclusions. Experimental AIT induced by administration of thyroid antigen human development characterized by the negative effects of biochemical reactions in the form of increased serum cholesterol, triglycerides, LDL and increase HDL, indicating the lipid metabolism. Application AELMF helped restore the biochemical parameters of lipid metabolism in serum of rats with AIT.

References:

1. Владимирова И. Н., Георгианц В. А. Биологически активные соединения *Lemna minor* S. F. gray. Химико-фармацевтический журн. – 2013; – 47 (11): С. 29–31.
2. Исследование влияния милдроната и его производных на уровень тиреоидных гормонов и некоторые показатели липидного и углеводного обмена у гипер- и гипотиреоидных крыс/Е. М. Шарипова, Э. В. Сална, М. Я. Дзинтаре, Л. Я. Ляуберте, Д. В. Мейрена, Н. И. Сьяксте, В. С. Гордюшина, И. Я. Калвиньш // Биомедицинская химия. – 2007. – Т. 53, Вып. 6. – С. 672–682.
3. Кравченко В. І., Постол С. В. Динаміка захворюваності на патологію щитоподібної залози в Україні. Междунар. эндокрин. журн. – 2011;3 (35):26–31.
4. Лебединець Н. В., Парубоча О. М. Сучасні аспекти динаміки ендокринної патології дитячого населення. Environment Health. – 2012;3:21–25.
5. Никифоров Л. А., Белоусов М. В., Фурса Н. С. Изучение аминокислотного состава ряски малой (*Lemna minor* L.). Бюл. сибирской медицины. – 2011;5:74–77.
6. Оценка состояния липидного обмена при дисфункции щитовидной железы/В. Г. Каджарян, А. И. Мельник, П. П. Бидзия, А. О. Соловьяк // Запорожский медицинский журнал. – 2014. – № 1 (82). – С. 20–22.

7. Показатели липидного обмена и белковый состав липопротеинов плазмы крови гипотиреоидных крыс при экспериментальной гиперхолестеринемии/Л.М. Поляков, Е.Л. Лушникова, Л.М. Непомнящих, Г.С. Русских, Н.Г. Биушкина, М.Г. Клиникова, М.М. Мжельская, Р.Д. Непомнящих, В.И. Пичигин, Е.И. Южик//Fundamental research. – 2010. – № 10. – С. 342–345.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. – М.: Медиа Сфера, – 2006. – 312 с.
9. Фадеев В.В. Проблемы заместительной терапии гипотиреоза: современность и перспективы. Клин. и эксперим. тиреологическая. – 2012;8 (3):12–17.
10. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник. – М.: ООО «Бином-Пресс», – 2007. – 512 с.
11. Bajaj J. K., Salwan P., Salwan S. Various possible toxicants involved in thyroid dysfunction: A Review. Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2016;10 (1): FE01-FE03. – doi: 10.7860/JCDR/2016/15195.7092.
12. Boelen A. Thyroid hormones and glucose metabolism: the story begins before birth. Exp. Physiol. – 2009;94:1050–1051.
13. Constantinou C., Margarity M., Valcana T. Region-specific effects of hypothyroidism on the relative expression of thyroid hormone receptors in adult rat brain. Molecular and Cellular Biochemistry. – 2005;278:93–100.
14. Javed Z., Sathyapalan Th. Levothyroxine treatment of mild subclinical hypothyroidism: a review of potential risks and benefits. Ther. Adv. Endocrinol. Metab. – 2016;7 (1):12–23. – doi: 10.1177/2042018815616543.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-25-29>

*Mahlysh Sabina Stepanovna,
Grodno State Medical University,
Assistant professor, the Department of Biological Chemistry
E-mail: maglyshs@gmail.com*

*Lialevich Uladimir Valerianovich,
Grodno State Medical University,
Professor, the head of the Department
of Biological Chemistry,
E-mail: vlevich@yandex.ru*

*Tratsiakova Alena Mihailovna,
Yanka Kupala State University of Grodno,
Assistant professor, the Faculty of Biology and Ecology,
E-mail: ghxost@yandex.ru*

A new methodical approach to the teaching of biological chemistry at the Medical University

Abstract: Sets of creative tasks and exercises on discipline «Biological chemistry» are developed and approved. It is offered to implement them in educational process at medical universities for increase of teaching efficiency in this discipline and development in students of professional creative thinking.

Keywords: biological chemistry, creative tasks and exercises, medical university.

*Маглыш Сабина Степановна,
Гродненский государственный медицинский университет,
доцент, кафедра биологической химии,
E-mail: maglyshs@gmail.com*

*Лелевич Владимир Валерьянович,
Гродненский государственный медицинский университет,
профессор, зав. кафедрой биологической химии
E-mail: vlelevich@yandex.ru*

*Третьякова Елена Михайловна,
Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,
доцент, факультет биологии и экологии
E-mail: ghxost@yandex.ru*

Новый методический подход при изучении биологической химии в медицинском университете

Аннотация: Разработаны и апробированы комплекты творческих задач и заданий по дисциплине «Биологическая химия». Предлагается внедрить их в учебный процесс в медицинских университетах для повышения эффективности преподавания данной дисциплины и развития у студентов профессионального творческого мышления.

Ключевые слова: биологическая химия, творческие задачи и задания, медицинский университет.

Одной из актуальных проблем современного высшего образования является проблема формирования у студентов профессиональной компетентности. Основная идея профессиональной компетентности заключается в том, что образование должно давать не отдельные разрозненные теоретические знания, формировать определенные умения и навыки, а развивать способность студентов применять их для решения конкретных задач в различных ситуациях в своей будущей профессии [1, 26].

Значение биохимических знаний на всех этапах профессиональной деятельности современного врача переоценить невозможно. XXI век — век молекулярной медицины. Достоверно доказано, что все патологические процессы начинаются с изменений на молекулярном, т. е. на биохимическом уровне. Потом в патологический процесс вовлекаются клетки, ткани, органы и организм в целом. Следовательно, биохимические знания нужны врачу для ранней диагностики патологии, а также для контроля правильности и эффективности ее лечения. Поэтому биохимическая подготовка будущих врачей в медицинском вузе призвана не только обеспечивать усвоение готовых научных знаний или сведений, но и способствовать развитию последовательности и логичности мышления, способности связывать изучаемую теорию с профессиональной деятельностью будущих врачей. Все вышесказанное накладывает большую ответственность на преподавателей кафедры биологической химии по обеспечению качественной биохимической подготовки студентов.

Изучение теоретического материала биологической химии в медицинском вузе, как показывает анализ многолетнего опыта, традиционно осуществлялось путем простого запоминания понятий, формул, реакций, метаболических путей. Традиционными формами контроля усвоения биохимических знаний являются: устный опрос, письменная контрольная работа, промежуточный тестовый контроль, управляемая самостоятельная работа студентов (рефераты, составление метаболических карт), итоговый контроль (зачет, экзамен). Все эти формы контроля требуют простого воспроизведения полученных знаний. Студенты в целом достаточно хорошо справляются с заданиями, ориентированными на воспроизведение знаний. В то же время они затрудняются применять полученные знания в конкретных ситуациях. Следовательно, такой подход не способствует развитию творческого мышления у студентов и затрудняет применение полученных знаний для решения практических задач.

Качество высшего образования на современном этапе напрямую зависит не только от содержания дисциплин, но и от форм педагогической деятельности преподавателей. Педагогическая индивидуальность и мастерство преподавателя проявляются в адекватно выбранном и применяемом методе. Однако преподаватель должен уметь реализовать не только известные методы, организационные формы обучения и педагогические технологии, но и привносить в них новые приемы, способствуя тем самым развитию творческой активности, самостоятельности студентов и повышению результативности учебного процесса.

Как содержание, так и методы подготовки специалиста должны быть в равной степени подчинены как целям обучения, так и характеру будущей профессиональной деятельности. Так, изучение биологической химии в медицинском вузе создает основу не только для формирования у студента базового уровня биохимических знаний, но и для развития у него профессионального творческого мышления. Именно эти цели должны определять выбор методов и организационных форм обучения [2, 45–49].

К числу современных востребованных методов обучения, отвечающих требованиям формирования творческого мышления, относится проблемное обучение. Оно рассчитано на активизацию умственных действий студента через собственную познавательную (мыслительную) деятельность. При организации проблемного обучения весьма важно, чтобы преподаватель подбирал задачи наибольшей значимости для будущей профессиональной деятельности. Абсолютно необходимо, чтобы при решении задачи была востребована именно работа ума, мышление, а не только накопленные знания.

Как можно оптимизировать изучение биологической химии в медицинском вузе? Этому, на наш взгляд, должна способствовать разработка новых приемов проблематизации обучения, одним из которых является метод постановки перед студентами творческих задач и заданий, требующих актуализации полученных знаний при поиске путей их решения.

Целью нашего исследования является повышение эффективности преподавания дисциплины «Биологическая химия» путем разработки и внедрения в учебный процесс творческих задач и заданий по основным разделам дисциплины, для решения которых студентам потребуется применение знаний не только общетеоретического, но и прикладного, практического характера.

Однако разработка задач или заданий, которые способствовали бы формированию творческого мышления, является чрезвычайно трудной проблемой. Ее решение требует методологических знаний не только для поиска проблем, пригодных к использованию в учебном процессе, но и для подготовки студентов к самостоятельной работе с информацией. Фактически работа должна проводиться по нескольким направлениям: 1) разработка творческих задач путем устранения одного или нескольких элементов в системе знаний, или путем изменения условий; 2) создание тематического акцента, востребование поиска дополнительной информации; 3) индивидуальное знаком-

ство студентов с новой информацией с использованием глав учебника и лекций; 4) организация работы с задачами разных типов и различной сложности в рамках отдельных тем.

Для создания возможности максимальной индивидуализации обучения необходим избыточный набор задач, из которых студент сам мог бы выбрать задачу, соответствующую его интересам и возможностям. По разделам: «Белки», «Ферменты», «Нуклеиновые кислоты», «Энергетический обмен», «Углеводный обмен», «Липидный обмен», «Функциональная биохимия», нами было разработано по 18–20 задач и заданий, для решения которых студентам требуется применение знаний не только теоретического, но и прикладного, практического характера.

При изучении каждого из разделов биологической химии на практических занятиях, проводимых в форме управляемой самостоятельной работы, были использованы соответствующие творческие задачи и задания [3, 3–5]. Апробация проводилась в группах студентов 2 курса лечебного, педиатрического и медико-диагностического факультетов. По разным разделам в апробации участвовало от 18 до 44 групп студентов (231–576 человек). Результаты были проанализированы отдельно по каждой задаче и заданию и в целом по каждому разделу дисциплины с целью оценки их пригодности для последующего использования в учебном процессе. Критерием оценки являлся процент правильных и неправильных ответов. Пригодными для последующего использования считались задачи и задания, на которые количество правильных ответов не превышало 90% (слишком простые), но и не было ниже 10% (слишком сложные), а остальные либо дорабатывались, либо исключались из комплекта для последующего внедрения. Оценка степени сложности комплектов материалов по отдельным разделам проводилась на основании определения процентного соотношения правильных, частично правильных и неправильных ответов. К внедрению допускались комплекты задач и заданий, по которым количество неправильных ответов не превышало 50% [4, 603–605].

В качестве иллюстрации приведем примеры некоторых разработанных нами творческих задач и заданий.

Задача 1: В молекуле гемоглобина взрослого человека каждая из α -цепей содержит 141 аминокислотный остаток, а каждая из β -цепей — 146 аминокислотных остатков. Сколько пар нуклеотидов должны содержать гены молекулы ДНК, контролирующие

синтез двух типов субъединиц гемоглобина при серповидноклеточной анемии? Допустим, что в составе этих генов имеется по одному интрону, содержащему 100 и 120 нуклеотидов, соответственно.

Решение этой задачи позволяет преподавателю выяснить успешность переноса знаний о структуре белков, о закономерностях транскрипции и трансляции в новые нестандартные условия. В процессе решения задачи студенты глубже осмысливают молекулярные основы хранения и передачи наследственной информации. Для определения количества пар нуклеотидов в генах ДНК, контролирующих синтез субъединиц гемоглобина, они должны «визуализировать» понятие «сплайсинг». При этом преподаватель, решая одновременно задачу закрепления новых знаний, может спросить о механизме сплайсинга, о химической природе ферментов, участвующих в сплайсинге. Для определения количества нуклеотидов, кодирующих аминокислотные последовательности субъединиц гемоглобина при серповидноклеточной анемии, студентам придется актуализировать знания о свойствах генетического кода, способе его расшифровки во время трансляции, о четвертичной структуре данного белка, а также о характере изменения его аминокислотного состава, ставшего причиной данной патологии. Следовательно, решая данную задачу, студенты не только лучше усвоят основной постулат молекулярной биологии, но и запомнят причину серповидноклеточной анемии.

Задание 2: При синдроме Фанкони (нарушение образования костной ткани) у человека с мочой выделяются аминокислоты, которым соответствуют кодоны иРНК: АУА, ГУЦ, АУГ, УЦА, УУГ, ГУУ, АУУ. В моче у здорового человека содержатся аминокислоты: аланин, серин, глутаминовая кислота и глицин. Определите, выделение каких аминокислот с мочой у человека будет свидетельствовать о наличии у него синдрома Фанкони.

Выполнение данного задания показывает взаимосвязь теоретических знаний о расшифровке гене-

тического кода и знаний о клинико-диагностических показателях патологий. Чтобы выяснить, какой спектр аминокислот выделяется с мочой у больного с синдромом Фанкони, студентам нужно вспомнить свойства генетического кода и расшифровать данную последовательность иРНК, заменив кодоны аминокислотами. Затем из полученного перечня аминокислот нужно исключить те из них, которые присутствуют в моче здорового человека. Такой поиск различий в аминокислотном составе мочи у человека с синдромом Фанкони и здорового позволит лучше запомнить клинико-диагностический показатель данного заболевания.

Заслуживает особого внимания тот факт, что после коллективного обсуждения полученную информацию могут рассудительно воспроизвести даже те студенты, которым с трудом даются готовые сведения, изложенные в учебнике. Следовательно, творческие задачи не только стимулируют мыслительную деятельность в момент их решения, но и обладают позитивным «последствием». Именно осознанное применение полученных знаний способствует развитию культуры научной речи студента, которая станет в последующем частью общей культуры современного медика.

В заключение можно сделать вывод, что творческие задачи и задания проблемного характера в курсе «Биологическая химия» могут выступать как в качестве отдельных познавательных объектов на занятиях, проводимых в форме управляемой самостоятельной работы по определенной теме, так и играть роль контролирующих элементов на текущих и итоговых занятиях.

Решение творческих задач и заданий позволяет определить уровень подготовки студентов с точки зрения компетентностно-ориентированного обучения. Они могут выступать в качестве ресурса для развития мотивации студентов к познавательной деятельности. Процесс решения творческих задач и заданий всегда предполагает «выход» студента за рамки учебного процесса, в пространство профессиональной практики.

Список литературы:

1. Шишов С. Е., Аганов И. Г. Компетентностный подход к образованию: прихоть или необходимость? // Стандарты и мониторинг в образовании. – 2002. – № 2. – С. 26.
2. Снежицкий В. А., Гущина Л. Н., Курбат М. Н. Формирование профессиональной компетентности врача – необходимое условие современного инновационного образования в вузе // Высшая школа. – 2011. – № 2. – С. 45–49.
3. Разработка и апробация творческих задач и заданий по разделу «Углеводный обмен» предмета «Биологическая химия»: Сб. науч. тр./Гродненский государственный медицинский университет/Отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно: ГрГМУ, – 2015. – Ч. 2. – С. 3–5.

4. Разработка и использование творческих задач и заданий при изучении биологической химии в медицинском вузе: Сб. науч. тр./Гомельский государственный медицинский университет/Отв. ред. А. Н. Лызикив – Гомель: ГомГМУ, – 2015. – С. 603–605.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-29-32>

Melnik Andrii Vladimirovich,

PhD, Associate professor

Zaichko Natalia Valentinovna,

National Pirogov Memorial Medical University,

MD, PhD, Associate Professor Vinnytsya, Ukraine

E-mail: anderneting@gmail.com

Influence of polyphenolic compounds on H₂S-induced vasodilation of aorta in male and female rats under hyperhomocysteinemia

Abstract: Hyperhomocysteinemia is accompanied by disturbances in sensitivity of aorta to vasodilating action of hydrogen sulfide (H₂S) in male and female rats. The ability of various polyphenolic compounds affect aorta tone in this disease remains unexplored. Therefore, the purpose of the work was to investigate the effect of bioflavonoids quercetin and genistein on changes induced by hyperhomocysteinemia H₂S-induced vasodilation in aortic ring fragments in male and female rats. It was established that under the conditions of hyperhomocysteinemia applying of genistein inhibits reduction of H₂S-induced vasodilation in rats of both sexes, and in males this effect was significantly higher. Under these conditions, quercetin didn't significantly influence the sensitivity of aorta ring fragments to the action of H₂S.

Keywords: hyperhomocysteinemia, hydrogen sulfide, aorta, genistein, quercetin, sex.

Мельник Андрей Владимирович,

канд. мед. наук, доцент

Заичко Наталья Валентиновна,

доктор. мед. наук, доцент, Винницкий национальный

медицинский университет им. Н. И. Пирогова

E-mail: anderneting@gmail.com

Влияние полифенольных соединений на H₂S-индуцированную вазодилатацию аорты у самцов и самок крыс при гипергомоцистеинемии

Аннотация: Гипергомоцистеинемия сопровождается нарушением чувствительности аорты к вазодилатирующему действию гидроген сульфида (H₂S) у самцов и самок крыс. Остается неизученным способность различных полифенольных соединений влиять на тонус аорты при данной патологии. Поэтому, целью работы было исследовать влияние биофлавоноидов генистеина и кверцетина на индуцированные гипергомоцистеинемией изменения вазодилатации кольцевых фрагментов аорты под влиянием H₂S у самцов и самок крыс. Установлено, что при гипергомоцистеинемии применения генистеина сдерживает снижение H₂S-индуцированной вазодилатации у крыс обоего пола, причем у самцов этот эффект был достоверно выше. В то же время кверцетин достоверно не влиял на чувствительность кольцевых фрагментов аорты к действию H₂S.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, гидроден сульфид, аорта, генистеин, кверцетин, пол.

Актуальность. Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) — признанный фактор риска сосудистой патологии [1]. Одним из патофизиологических механизмов эндотелиальной дисфункции при ГГЦ является развитие дисбаланса между вазодилататорами и вазоконстрикторами [1]. Известно, что ГГЦ сопровождается уменьшением синтеза вазодилаторных молекул азота оксида, H_2S и увеличением продукции вазоконстрикторов ангиотензина, эндотелина.

В качестве корректоров функционального состояния эндотелия широко используют полифенольные соединения (генистеин, кверцетин и др.), которые проявляют антиоксидантные и противовоспалительные свойства [2; 3]. Выяснилось, что генистеин оказывает также гипогомоцистеинемическое действие при экспериментальной метиониновой ГГЦ [4]. Однако, неизучена способность биофлавоноидов корригировать функциональное состояние эндотелия в аорте у самцов и самок крыс при ГГЦ.

Цель исследования — исследовать влияние биофлавоноидов генистеина и кверцетина на ГГЦ-индуцированные изменения вазодилатации кольцевых фрагментов аорты под влиянием H_2S .

Материалы и методы. Опыты проведены на 80 белых лабораторных крысах обоего пола массой 220–280 г. Животные находились в стандартных условиях с естественным световым режимом день/ночь, воду и корм получали *ad libitum*. Исследование проведено по общим этическим принципам экспериментов на животных согласно «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Модель гипергомоцистеинемии создавали путем введения тиолактона D, L-гомоцистеина (Sigma, США) внутривенно в дозе 100 мг/кг массы на 1% растворе крахмала 1 раз в сутки в течение 28 суток [5]. Две группы животных (по 10 самцов и самок в каждой) кроме тиолактона гомоцистеина получали генистеин (2,5 мг/кг массы тела внутривенно на 1% растворе крахмала 1 раз в сутки) [4] или кверцетин (25 мг/кг массы тела внутривенно на 1% растворе крахмала 1 раз в сутки) в течение 28 суток [6].

Содержание гомоцистеина в сыворотке крови определяли с помощью набора «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англия). Регистрацию сократимости кольцевых фрагментов грудной аорты проводили в модельной системе *in vitro*. Изолированные фрагменты стенок аорты шириной 2–3 мм помещали в тифлоно-

вую камеру, растягивали на стальных крючках и выдерживали в течение 60 мин в изометрическом режиме [7]. Для оценки H_2S -стимулированного расслабления изолированные фрагменты аорты, предварительно сокращенные фенилэфрином (10^{-6} М), перфузировали растворами, содержащими одновременно фенилэфрин (10^{-6} М) и H_2S в различных концентрациях (10^{-3} – 10^{-6} М), в течение 15 мин каждый с последующей регистрацией изменений изометрического напряжения. Регистрацию сократительной активности проводили с применением механотронного датчика и многофункционального аналогово-цифрового преобразователя USB-6008/6009 («National Instruments», США), соединенного с персональным компьютером. Достоверность различий между показателями оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение.

Введение тиолактона гомоцистеина сопровождается повышением содержания гомоцистеина у самцов и самок соответственно в 2,1 и 1,8 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Применение генистеина проявляет гипогомоцистеинемический эффект: уровень гомоцистеина у самцов и самок был меньше соответственно на 50,3 и 37,1% ($p < 0,05$), относительно группы «ГГЦ». В то же время, введение кверцетина не влияет на уровень гомоцистеина в крови.

Выяснилось, что 28-дневное введение тиолактона гомоцистеина приводит к достоверному уменьшению H_2S -стимулированного расслабления кольцевых фрагментов аорты крыс обоего пола, причем у самцов эффект был более выразительным (рис. 1). При этом расслабление аорты под влиянием H_2S в концентрациях 1 мкМ, 10 мкМ, 100 мкМ и 1000 мкМ у самцов было меньше на 24,5; 35,2; 63,2 и 29,3% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и составляло, соответственно в то же время у самок ГГЦ вызывала менее выразительные изменения: уменьшение расслабления кольцевых фрагментов аорты при этих концентрациях H_2S составляло 12,8; 16,5; 14,7 и 9,4% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Использование генистеина тормозит гомоцистеин-индуцированное уменьшение H_2S -стимулированного расслабления кольцевых фрагментов аорты у самцов и самок крыс (рис. 1). У самцов в группе «ГГЦ+Генистеин» расслабление колец аорты в присутствии этих концентраций H_2S было больше соответственно на 14,3%; 37,1% ($p < 0,05$); 41,7%

($p < 0,05$) и 38,2% ($p < 0,05$), чем в группе «ГГЦ». В тоже время у самок в группе «ГГЦ+Генистеин» увеличение расслабления аорты в присутствии этих концентраций H₂S было менее выразительным и со-

ставляло 10,1%; 16,0% ($p < 0,05$); 15,5% ($p < 0,05$) и 10,1% ($p < 0,05$), относительно группы «ГГЦ». Кверцетин не влиял на ГГЦ-индуцированные изменения H₂S-стимулированного расслабления.

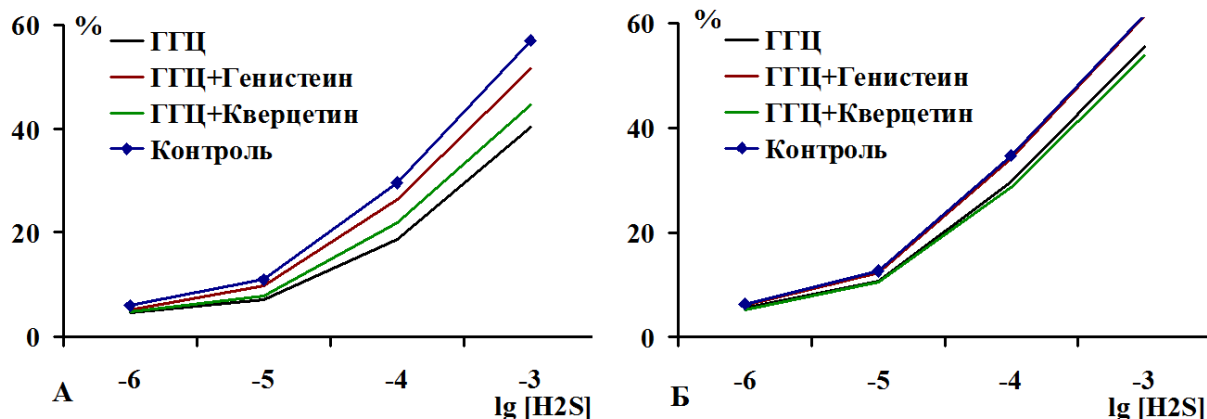


Рисунок 1. Влияние биофлавоноидов на дозозависимость H₂S-стимулированного расслабления аорты у самцов (А) и самок (Б) крыс при ГГЦ. По оси абсцисс — десятичный логарифм концентрации H₂S (М) в перфузионном растворе, по оси ординат — нормированная интенсивность расслабления кольцевых фрагментов аорты под влиянием возрастающих концентраций H₂S

Дополнительные доказательства способности флавоноидов корректировать H₂S-стимулируемое расслабление кольцевых фрагментов аорты у самок и самцов крыс при ГГЦ предоставляет сравнительный анализ EC₅₀ (среднеэффективных концентраций) H₂S (рис. 2). Так, в группе животных «ГГЦ» EC₅₀ H₂S в аорте составляют 125±5,26 мкМ у самцов и 89,5±4,12 мкМ у самок. Применение генистеина предотвращает ГГЦ-

индуцированное уменьшение чувствительности аорты к релаксирующему действию H₂S. При этом EC₅₀ H₂S были меньше соответственно на 21,0 и 15,6% у самцов и самок крыс по сравнению с группой нелеченных животных и составили 98,7±4,35 мкМ у самцов и 75,5±3,86 мкМ у самок. Использование кверцетина не вызвало достоверные изменения EC₅₀ H₂S в аорте, по сравнению с группой «ГГЦ».

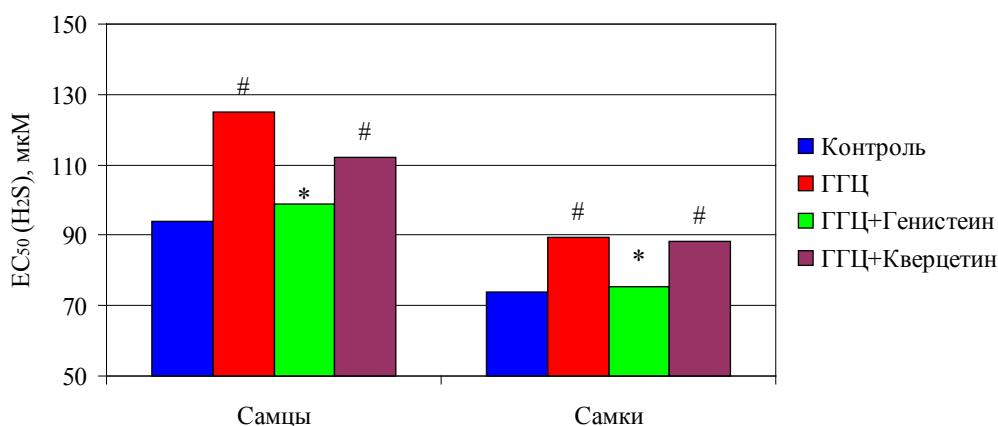


Рисунок 2. Влияние генистеина и кверцетина на EC₅₀ H₂S в аорте крыс обоего пола при ГГЦ

Примечания: * — статистически достоверное различие ($p < 0,05$) относительно группы ГГЦ; # — статистически достоверное различие ($p < 0,05$) относительно группы контроля

Таким образом, среди использованных биофлавоноидов только генистеин предупреждал ГГЦ-индуцированное снижение H₂S-стимулированного расслабления аорты у самцов и самок крыс. При этом у кверцетина этого эффекта не наблюдалось, что в определенной степени можно объяснить отсутствием у него гипогомоцистеинемического действия,

ведь гомоцистеин стимулирует свободнорадикальное окисление и может вызывать модификацию K_{ATP} каналов (основная мишень через которую реализуется вазодилатирующее действие H₂S в аорте) [8].

Выводы. 1. Генистеин тормозит ГГЦ-индуцированное снижение чувствительности аорты к вазодилатирующему действию H₂S. В группе «ГГЦ+генистеин»

EC₅₀ H₂S в аорте была меньше у самцов и самок соответственно на 21,0 и 15,6% по сравнению с группой «ГТЦ».

2. При ГТЦ кверцетин не влияет на H₂S-стимулируемое расслабление аорты у самцов и самок крыс.

Список литературы:

1. Lai W.K. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction/W. K. Lai, M. Y. Kan//Ann Nutr Metab. – 2015. – Vol. 67, – № 1. – P. 1–12.
2. Protective effects of soy-isoflavones in cardiovascular disease: identification of molecular targets/U. Wenzel, D. Fuchs, H. Daniel//Hamostaseologie. – 2008; – Vol. 28, – № 1–2. – P. 85–88.
3. Protective effects of genistein in homocysteine-induced endothelial cell inflammatory injury/S. Han, H. Wu, W. Li, P. Gao//Mol Cell Biochem. – 2015. – Vol. 403, – № 1–2. – P. 43–49.
4. Genistein attenuates vascular endothelial impairment in ovariectomized hyperhomocysteinemic rats/P. Zhen 1, Q. Zhao, D. Hou, T. Liu et al.//J Biomed Biotechnol. – 2012. Режим доступа: URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/730462>
5. Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats/G. I. Stangl, K. Weisse, C. Dinger [et al.]//Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2007. – Vol. 232, – № 1. – P. 81–87.
6. Quercetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the heart of streptozotocin-nicotinamide-induced adult male diabetic rats/J. Roslan, N. Giribabu, K. Karim, N. Salleh//Biomed Pharmacother. – 2017. – Vol. 86. – P. 570–582.
7. Вікові особливості змін скорочувальних судинних реакцій і вміст вільних радикалів кисню та метаболітів оксиду азоту у мишей лінії BALB/c за умов перебування у зоні відчуження/М.М. Ткаченко, В.Ф. Сагач, О.В. Базілюк//Фізіолог. журн. – 2005. – Т. 51, – №. 3. – С. 32–41.
8. Tang G., Wu L., Wang R. Interaction of hydrogen sulfide with ion channels//Clin Exp Pharmacol Physiol. – 2010. – Т. 37, – № 7. – P. 753–763.

DOI: <http://dx.doi.org/10.20534/ELBLS-17-2-32-35>

*Tigai Zhanna Gennadiyevna,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: shekz@mail.ru*

*Adilkhanov Arsen Vagabovich,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: arsh204@mail.ru*

*Akhuba Liia Georgiyevna,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: leka.166@mail.ru*

*Shek Dmitrii Leonidovich,
Peoples' Friendship University of Russia
Simulation Training Centre
E-mail: dls3191@gmail.com*

The “survival” of the algorithm’s quality of resuscitation skills performance among paramedics

Abstract: low survival after cardiac arrest is caused by improper and untimely provision of resuscitation. We made the analysis of the BLS algorithm performance among emergency doctors, who came to the

one-day training on BLS (basic life support) and also the ability and quality of its performance, depending on the last taken BLS — training.

Keywords: emergency medicine, simulation medicine, first aid.

Тигай Жанна Геннадьевна.

Российский Университет Дружбы народов

Центр симуляционного обучения

E-mail: shekz@mail.ru

Адильханов Арсен Вагабович,

Российский Университет Дружбы народов

Центр симуляционного обучения

E-mail: arsh204@mail.ru

Ахуба Лия Георгиевна,

Российский Университет Дружбы народов

Центр симуляционного обучения

E-mail: leka.166@mail.ru

Шек Дмитрий Леонидович,

Российский Университет Дружбы народов

Центр симуляционного обучения

E-mail: dls3191@gmail.com

Изучение «выживаемости» качества выполнения критериев реанимационных навыков врачами скорой помощи

Аннотация: низкая выживаемость после остановки сердца обусловлена неправильным и несвоевременным предоставлением реанимации. Мы провели анализ эффективности алгоритма BLS среди врачей скорой помощи, которые пришли к однодневному тренингу по BLS (базовая жизнеобеспеченность), а также способности и качеству его работы, в зависимости от последнего проведенного BLS-обучения.

Ключевые слова: неотложная медицина, имитационная медицина, скорая помощь.

Актуальность: Согласно эпидемиологическим данным выживаемость больных после остановки сердца и дыхания на догоспитальном этапе составляет 5–10%, а на госпитальном этапе 15–17%. Низкие цифры выживаемости являются следствием неправильной и несвоевременной медицинской помощи. Многочисленные исследования указывают на возможность предотвращения смертельных исходов в 6,1% и наличие 80% врачебных ошибок вследствие отсутствия навыков работы в команде. По данным выявлена зависимость между выживаемостью пациентов после остановки сердца и качеством оказания сердечно-легочной реанимации. Исход пациентов напрямую зависит от момента начала, эффективности проведения искусственной вентиляции легких и непрямого массажа сердца. При начатой сердечно-легочной реанимации в первые 8 минут после остановки сердца, выживаемость увеличивается

на 20%, а применение дефибриллятора в сочетании с базисной сердечно-легочной реанимацией в первые 3–5 минут после остановки сердца увеличивает выживаемость до 75%. Следовательно, каждая минута бездействия повышает смертность на 7–10%.

Самым эффективным и безопасным методом решения данной проблемы является клиническое моделирование неотложных ситуаций в максимально приближенных к реальным условиям, с абсолютной безопасностью для пациента и с возможностью быстрого получения обратной связи, повторения клинического сценария до достижения успешного результата.

Цель исследования: было изучено «выживаемость» качества выполнения критериев реанимационных навыков у врачей скорой помощи, с уже имеющимися навыками, пришедшие на однодневный тренинг — модуль по базовой сердечно-легочной

реанимации, определить наиболее оптимальный срок повторения симуляционного тренинга.

Материалы и методы: группу наблюдения составили 90 врачей станции скорой помощи, средний возраст $45,1 \pm 10,6$ лет, давность окончания медицинского института $18,2 \pm 11,1$ женщин (67%), мужчин (33%), пришедших на однодневный тренинг по базовой сердечно-легочной реанимации. Все участники были разделены на три группы, в зависимости от давности прохождения тренинга по базовой сердечно-легочной реанимации: до одного года (группа 1), от 1 до 2 лет (группа 2), 2 и более лет (группа 3). Вначале обучающего модуля было проведено анонимное анкетирование с оценкой исходного уровня практических и теоретических знаний, согласно алгоритма Европейского Совета по реанимации (2010 г), затем брифинг, работа на симуляторе и контрольное тестирование уровня знаний и практических навыков по тем же показателям.

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 7.0 для Windows. Для сравнения частот признаков и качественных переменных пользовались критерием хи-квадрат (χ^2). Оценку достоверности различий между группами проводили при помощи непараметрического критерия Мана-Уитни, различия в одной группе в разных точках — по критерию Вилкоксона. Результаты считали достоверно значимыми при значениях двустороннего ($p < 0,05$).

Результаты: по данным проведенного анкетирования готовность оказать первую помощь отметили 72%, при этом уверенно знали алгоритм Европейского совета по реанимации только 24%. 93% считали обязательным необходимость периодической переподготовки с тренингами по оказанию экстренной и первой медицинской помощи. Знания о первой помощи отметили только 9% участников. Остальные опрошенные затруднялись ответить на вопрос о необходимости оказания первой помощи или отметили наличие медицинского образования дающего право оказывать первую помощь. По поводу соотношения количества компрессий грудной клетки и вдохов для искусственной вентиляции легких, 59% считали правильным соотношение 30: 2, 12% — 2:15, 29% указали варианты (100: 2, 1: 3, 1: 4 и т. д.), остальные не ответили на данный вопрос. 72% опрошенных считали началом проведе-

ния сердечно-легочной реанимации у взрослых выполнение компрессий грудной клетки, 25% — ИВЛ, 1% — одновременно компрессий и вдохов, 1% затруднился с ответом, 1% — выполнение прекардиального удара.

Лишь 38% опрошенных медиков отметили знание международных рекомендаций (Европейский совет по реанимации 2010 года), на основании которых составлен алгоритм оказания первой помощи.

При анализе критериев выполнения навыка «респираторная поддержка» по исследуемым группам, выявлено достоверно значимое уменьшение количества врачей демонстрирующих правильность выполнения объема и длительности вдуваний, закрытия носа во время вдуваний, применения приема лоб — подбородок для открытия и поддержания проходимости дыхательных путей, экскурсии грудной клетки, количества вдуваний в цикле во всех исследуемых группах.

При анализе критериев выполнения навыка «непрямой массаж сердца» выявлено достоверно значимое уменьшение количества врачей, правильно демонстрирующих выполнение следующих критериев: соответствие места проведения непрямого массажа сердца рекомендованному, сдавливание ребер во время непрямого массажа сердца, количество компрессий в цикле, нарушение положения рук на грудной клетке во время компрессий, частота компрессий, глубина компрессий, в группах 2 и 3, рисунок № 1. Тогда как в группе до 1 года достоверно значимое уменьшение количества обучающихся выявлено по критериям: определение места компрессии, частота и глубина компрессий.

Выводы: качество оказания респираторной поддержки снижается в среднем в 4,8 раз с течением времени, непрямого массажа сердца в 2 раза по сравнению с результатами, продемонстрированными сразу после прохождения тренинга «Выживаемость» качества выполнения критериев алгоритма реанимационных навыков врачами скорой медицинской помощи максимально снижается ко 2 году по сравнению с демонстрацией навыков, полученных сразу после тренинга. Выявленные нами закономерности позволяют рекомендовать прохождение повторных симуляционных курсов по базовой сердечно-легочной реанимации с наиболее оптимальной периодичностью 1 раз в 2 года.

Список литературы:

1. Tigay Zh. G., Dogotar O. A., Kostsova N. G., Akhuba L. G., Sopetik V. S., Organization of the simulation education in Institute of medicine of the Peoples’ Friendship University of Russia.; В сборнике: The tenth European Conference on Biology and Medical Sciences – 2016. – С. 81–83.
2. Importance of the simulation training in education of basic nursing skills of 2-year students of the institute of medicine of peoples’ friendship university of Russia. Dogotar O. A., Tigay Zh. G., Kostsova N. G., Sopetik V. S., Akhuba L. G. В сборнике: The Tenth European Conference on Biology and Medical Sciences – 2016. – С. 75–76.
3. Методы и формы симуляционного обучения в подготовке специалистов по специальности «Сестринское дело» Косцова Н. Г., Шубина Л. Б., Грибков Д. М., Тигай Ж. Г., Доготарь О. А., Сопетик В. С., Шек Д. Л. Вестник последипломного медицинского образования. 2015. № 3. С. 4–9.

Contents

Section 1. Clinical medicine	3
<i>Yuldasheva Sura Zarifovna, Tillashayhova Munavvar Kholmukhamedovna</i>	3
Integration of digestive-absorption and immune function in the mucosa of the small intestine and regulation of homeostasis	3
<i>Nikitina Veronika Vladlenovna</i>	
Neurological disorders in patients with metabolic disorders of vitamins and trace elements	7
<i>Seydaliyeva Aytan Ilham</i>	
Analysis of risk factors and diagnosis of celiac disease	9
Section 2. Biomedical science	13
<i>Tigai Zhanna Gennadievna, Adilkhanov Arsen Vagabovich, Akhuba Liia Georgievna, Shek Dmitrii Leonidovich</i>	
Evaluation of the quality of practical skills depending on the period of the simulation training of basic CPR	13
<i>Velikanov Valerian Ivanovich, Elizarova Elena Anatolievna, Elizarova Anastasia Romanovna, Terentev Sergey Sergeevich, Klyapnev Andrey Vladimirovich</i>	
Biochemical and hematological parameters of blood of dogs in the acute form of parvoviral enteritis under the action of the drug “Azoxivet”	15
<i>Ismat S. Ahmadov, Nargiz J. Agayeva, Narmina A. Sadigova</i>	
The impact of nanoparticles on the embrional and postembrional development in molluscs <i>Lymnaea Auricularia</i>	19
<i>Kononenko Alevtina Gennadievna, Kravchenko Vera Nikolaevna</i>	
Influence of aqueous extract from <i>lemna minor</i> frond on blood biochemical parameters in autoimmune thyroiditis in rats	23
<i>Mahlysh Sabina Stepanovna, Lialevich Uladimir Valerianovich, Tratsiakova Alena Mihailovna</i>	
A new methodical approach to the teaching of biological chemistry at the Medical University	25
<i>Melnik Andrii Vladimirovich, Zaichko Natalia Valentinovna</i>	
Influence of polyphenolic compounds on H ₂ S-induced vasodilation of aorta in male and female rats under hyperhomocysteinemia	29
<i>Tigai Zhanna Gennadievna, Adilkhanov Arsen Vagabovich, Akhuba Liia Georgievna, Shek Dmitrii Leonidovich</i>	
The “survival” of the algorithm’s quality of resuscitation skills performance among paramedics	32