

Международная Объединенная Академия Наук

Научный диалог: Вопросы медицины

Сборник научных трудов

**по материалам
XX международной научной конференции**

15 июля 2019 г.



Санкт-Петербург 2019

УДК 61
ББК 5

Н34

Научный диалог: Вопросы медицины. Сборник научных трудов по материалам XX международной научно-практической конференции 15 июля 2019 г. Изд. ЦНК МОАН, 2019. -24с.

SPLN 001-000001-0472-MQ
DOI 10.18411/sciencepublic-15-07-2019
IDSP sciencepublic-15-07-2019

В сборнике научных трудов собраны материалы из различных областей научных знаний. В данном издании приведены все материалы, которые были присланы на XX международную научно-практическую конференцию **Научный диалог: Вопросы медицины**

Сборник предназначен для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов.

Все материалы, размещенные в сборнике, опубликованы в авторском варианте. Редакция не вносила коррективы в научные статьи. Ответственность за информацию, размещенную в материалах на всеобщее обозрение, несут их авторы.

Информация об опубликованных статьях будет передана научную электронную библиотеку (ELIBRARY.RU) и наукометрическую базу SPINDEX

Электронная версия сборника доступна на сайте ЦНК МОАН. Сайт центра: conf.sciencepublic.ru

УДК330.1
ББК 65

SPLN 001-000001-0472-MQ

<http://conf.sciencepublic.ru>

Содержание

РАЗДЕЛ I. МЕДИЦИНА	4
Джафарова З.И. Возрастной андрогенный дефицит у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и с сочетанной нестабильной стенокардией	4
Федорина Т.А., Полетаева С.В, Кожевников И.А., Дедюхина Ю.И. Первичные лимфомы головного мозга: клинико-морфологическая характеристика	5
Палатова Т.В., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б., Воронина Е.С., Медведева А.В., Пахомий С.С. Влияние хронической внутриутробной гипоксии на репродуктивную систему плода (экспериментальное исследование)	9
Фараджева С.С. Определение уровня корреляции полиморфизма генов и выраженности висцерального ожирения и артериальной гипертензии у пациентов с сд2 в популяции жителей республики Азербайджан	13
РАЗДЕЛ II. ФАРМАЦЕВТИКА	15
Семенова Е.Н., Кулешова С.И. Определение антимикробной активности гентамицина в креме для наружного применения турбидиметрическим методом	15
РАЗДЕЛ III. БИОЛОГИЯ	20
Кокколова Л.М. <i>Dirofilaria ursi</i> бурого медведя (<i>ursus arctos arctos</i>) в Якутии	20

РАЗДЕЛ I. МЕДИЦИНА

Джафарова З.И.

Возрастной андрогенный дефицит у пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и с сочетанной нестабильной стенокардией

*Азербайджанский Медицинский Университет
(Азербайджан, Баку)*

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-01

idsp: sciencepublic-15-07-2019-01

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является одним из наиболее распространенных болезней человечества. Частота распространенности ДГПЖ колеблется в широких интервалах. По различным данным, частота ДГПЖ в возрасте 40-49 лет составляет 11,3–25%, 50 лет – 14–30%, 60 лет и старше 25–50%. Ключевую роль в дифференциации и росте предстательной железы играют андрогены. Однако, все еще остается спорным вопрос, могут ли андрогены ускорить прогрессирование ДГПЖ. С возрастом у мужчин появляется проблема возрастного андрогенного дефицита (ВАД). Одной из основных причин возникновения андрогенного дефицита являются заболевания сердца. Однако, для понимания патофизиологических процессов при ДГПЖ необходимы дальнейшие исследования.

Цель настоящего исследования заключалась в оценке показателей возрастного андрогенного дефицита у пациентов с ДГПЖ и пациентов с ДГПЖ в сочетании с нестабильной стенокардией (НС).

Материал и методы. В обследование приняли участие 45 мужчин, страдающих ДГПЖ (1 группа) и 52 мужчин с ДГПЖ и НС (2 группа). У всех пациентов получено информированное согласие. Возраст обследованных варьировал от 50 до 75 лет, средний возраст составил $62,3 \pm 1,1$ лет. Определение лютеинизирующего гормона (ЛГ) проводили методом ИФА с помощью тест-набора фирмы «PishtazTEBDiagnostics» (Германия). Тестостерон определяли методом электрохемилюминесценции на электрохемилюминесцентном анализаторе Elecsys 2010 фирмы RocheDiagnosticsGmbH (Германия). Дегидроэпиандростерон (ДГЭА-S) определяли методом ИФА тест-набором фирмы DiaMetraSRL (Италия). Применены опросник (шкала) IPSS (International Prostate Symptom Score) и AMS (Aging Males' Symptom rating scale). Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Хельсинской Декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Результаты и обсуждение. Средний уровень ЛГ у пациентов 1 и 2 группы составил соответственно $7,8 \pm 3,6$ мЕд/мл и $9,2 \pm 3,0$ мЕд/мл, тестостерона - $3,36 \pm 2,05$ нг/мл и $2,37 \pm 1,55$ нг/мл, ДГЭА-S - $4,94 \pm 1,87$ нмоль/л и $5,27 \pm 2,07$ нмоль/л. Согласно результату опросников IPSS и AMS, у пациентов обеих групп среднее значение баллов указывало на среднюю выраженность симптомов. Средняя сумма баллов опросников IPSS и AMS у пациентов 1 группы составила $16,0 \pm 7,2$ и $36,2 \pm 11,1$ баллов, во 2 группе $18,6 \pm 8,4$ и $41,3 \pm 8,2$ баллов соответственно. У пациентов групп обследования прослеживалась положительная возрастная динамика ЛГ, ДГЭА-S и отрицательная возрастная динамика тестостерона. Самые высокие значения ЛГ отмечались у мужчин в возрастной группе 70-75 лет. Так, концентрация этого гормона в крови у пациентов ДГПЖ (1 группа) в возрасте 70-75 лет превышала таковую у пациентов 50-59 лет в среднем на 30,3%, у обследованных с ДГПЖ и НС (2 группа) –

на 21,2%. Содержание ДГЭА-S у пациентов 1 группы в возрасте 70-75 лет превышало таковой у пациентов 50-59 лет – на 67,8% ($p<0,05$), во 2 группе – на 58,0% ($p<0,05$). Концентрация тестостерона снижалась и достигла своего максимума в возрасте 70-75 лет. Так, у пациентов с ДГПЖ разница в среднем составила 32,1% ($p<0,05$), с ДГПЖ и НС – 53,8% ($p<0,05$). По данным опросника AMS, симптомы старения мужчины в группах исследования были средней выраженности. С возрастом выраженность симптомов усиливалась. В отношении шкалы IPSS следует отметить, что у пациентов 1 и 2 группы выявлялась умеренная степень выраженности клинических проявлений. У пациентов с ДГПЖ (1 группа) отмечалась умеренная достоверная прямая корреляционная взаимосвязь ЛГ с AMS ($r=0,355$, $p=0,017$), слабая положительная корреляционная связь ЛГ с ДГЭА-S ($r=0,268$, $p=0,075$) и слабая отрицательная связь с тестостероном ($r=-0,229$, $p=0,131$), умеренная корреляция тестостерона с ДГЭА-S ($r=-0,308$, $p=0,05$) и средняя с AMS ($r=-0,555$, $p=0,01$) и IPSS ($r=-0,469$, $p=0,01$). Во 2 группе достоверные корреляционные связи тестостерона отмечались с AMS ($r=-0,313$, $p=0,024$) и IPSS ($r=-0,319$, $p=0,021$). В группе больных с ДГПЖ (1 группа) выявлялась умеренная прямая корреляция ДГЭА-S с AMS ($r=0,430$, $p=0,003$) и IPSS ($r=0,362$, $p=0,015$).

Заключение. Таким образом, у пациентов с сочетанной патологией определялись максимальные величины ЛГ и ДГЭА-S и минимальный уровень тестостерона. Прослеживалась положительная возрастная динамика ЛГ и ДГЭА-S и отрицательная возрастная динамика тестостерона. По данным опросников IPSS и AMS, у пациентов обеих групп определялась средняя выраженность симптомов. Отмечалась выраженность возрастного андрогенного дефицита, как с возрастом, так и наличием сочетанной патологии. Лютеинизирующий гормон и ДГЭА-S достоверно положительно, а тестостерон отрицательно коррелировали с симптомами стареющего мужчины. Отмечалась выраженность ВАД, как с возрастом, так и наличием коморбидного состояния, т.е. сочетания НС с ДГПЖ.

**Федорина Т.А., Полетаева С.В, Кожевников И.А., Дедюхина Ю.И.
Первичные лимфомы головного мозга: клиничко-морфологическая
характеристика**

*ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет
(Россия, Самара)*

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-02

idsp: sciencepublic-15-07-2019-02

Аннотация

В данной статье рассмотрены проблемы морфологической диагностики первичных лимфом головного мозга. Проанализированы характерные особенности лучевой визуализации и гистологической картины данной патологии. Обоснована необходимость использования иммуногистохимического метода для верификации диагноза первичной лимфомы центральной нервной системы. Определены опухоли, требующие проведения дифференциальной диагностики с лимфомами головного мозга.

Ключевые слова: иммуногистохимический метод, первичная лимфома головного мозга, первичные опухоли головного мозга, CD20.

Введение

Первичные лимфомы головного мозга составляют 2,4-3% всех новообразований головного мозга и 4-6% всех экстрадуральных лимфом. Лимфомы могут быть представлены одиночными и множественными очагами, могут имитировать опухоли другого гистогенеза, например, злокачественные глиомы, в случае выраженной инфильтративной границы, или метастазы – при наличии четкой границы. При этом перитуморальный отек головного мозга при лимфомах, как правило, меньше. Затрудняет диагностику также диффузный характер роста в гистологических микропрепаратах, характерный для многих опухолей иного происхождения. Размеры клеток варьируют от крупных, атипичных, до мелких, монотипных. Для дифференциальной диагностики необходимо использование иммуногистохимического метода. В основе исследования лежит цель повысить точность морфологической диагностики первичных лимфом головного мозга. Морфологическое исследование новообразований головного мозга ответственным этапом диагностического процесса, так как помогает выделить опухоли, чувствительные к лучевой терапии и химиотерапии. ИГХ-исследование является вспомогательным методом, позволяющим установить гистогенез и помочь в оценке степени злокачественности опухоли головного мозга.

Методы и принципы исследования

Нами был проведен анализ клинических данных, результатов данных КТ и МРТ, исследовано 72 микропрепарата, окрашенных гематоксилином и эозином, и 80 – окрашенных иммуногистохимически, от 15 пациентов ГБУЗ СОКОД, за 2006-17 гг. В исследование не включали наблюдения вторичного поражения ЦНС при наличии системного заболевания.

Основные результаты

В работе ставились следующие задачи:

Осуществить гистогенетическую диагностику первичных лимфом головного мозга;

Определить прогноз опухолевого заболевания;

Установить частоту встречаемости первичных лимфом головного мозга по полу, возрасту и локализации новообразований у пациентов ГБУЗ СОКОД за 2006-2017 годы.

Выделить гистологический ряд опухолей головного мозга для дифференциальной диагностики.

Распределение пациентов по полу: мужчин – 9, женщин – 6, медиана возраста 63,5 года. В структуре наблюдений преобладали лимфомы супратенториальной локализации (13), инфратенториальные лимфомы (мозжечка) – 2 набл. В 9 наблюдениях было выявлено поражение паравентрикулярной зоны, в 4 – поражение лобных долей. У 8 пациентов диагностирован солитарный очаг, у 7 – множественные очаги. 3 пациента имели положительный ВИЧ-статус. До иммунофенотипирования лимфомы (в консультативных наблюдениях) ошибочно интерпретировали как герминогенные опухоли, медулло-бластомы, нейробластомы, мелкоклеточные глиобластомы, олигодендроглиомы, метастазы мелкоклеточной карциномы.

Клиническое наблюдение №1

Женщина, 1986 г.р., Жалобы: на периодические головные боли, головокружение, тошноту, шаткость походки, неустойчивое равновесие, усталость, похудание на 4 кг за 2 недели. На МРТ в левой гемисфере мозжечка определяется зона изменённого уровня

МР-сигнала, размерами 24.5x18 мм. В правой гемисфере мозжечка определяется зона патологически изменённого уровня МР-сигнала, размерами до 9x7.5 мм.

Патогистологическое заключение после исследования препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином: «Гистологическая картина эмбриональной нейроэпителиальной опухоли. Схожее гистологическое строение имеют: полушарная нейробластома и медуллобластома. С учетом локализации опухоли, можно думать о десмопластической медуллобластоме мозжечка. Для постановки диагноза необходимо ИГХ-исследование».

При ИГХ исследовании использовали антитела к маркерам: CD20, CD5, CD3, Циклин D1, CD 45, BCL-2, BCL-6, Ki 67, GFAP, Vimentin, S-100, CD 34, Melan A, Синаптофизин, панцитокератин, цитокератин 18, ЕМА, PLAP. При окрашивании с антителами CD-20 выявлена диффузная мембранная экспрессия неопластическими клетками. В части клеток определяется экспрессия при окрашивании с антителами к EBV. Элементы опухоли диффузно экспрессируют виментин, и негативны при реакции с антителами к CD3 и CD5 (внутренний контроль – реактивные лимфоциты), S100 (внутренний контроль - реактивные гистиоциты), GFAP, (внутренний контроль - глиальные клетки), Synaptophysin, ЕМА, Melan A. Ядерная экспрессия Ki 67 выявлена более чем в 80% клеток.

Заключение: при исключении системного поражения - гистологическое строение и иммунофенотип первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы головного мозга, CD20(+) более 80% клеток.

Клиническое наблюдение №2

Женщина, 1946 г.р., Жалобы: на образование в лобной области слева.

На МРТ В левой лобной области, с распространением на чешую лобной кости, в наружные мягкие ткани и частично интракраниально, определяется патологическое образование с размерами 34x29 мм. Оно инфильтрирует кость на протяжении 30 мм.

Патогистологическое заключение после исследования препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином: мелкокруглоклеточная опухоль. Для дифференциальной диагностики (анпластическая менингиома\лимфома\метастаз мелкокруглоклеточной карциномы) необходимо - ИГХ-исследование.

При ИГХ исследовании использовали антитела к маркерам: CD20, CD5, CD3, Циклин D1, CD 45, BCL-2, BCL-6, Ki 67, GFAP, Vimentin, S-100, CD 34, Melan A, Синаптофизин, пан-цитокератин, цитокератин 18, ЕМА, PLAP

Элементы опухоли диффузно экспрессируют виментин. При окрашивании с антителами CD-20 выявлена диффузная мембранная экспрессия неопластическими клетками. Выявлена негативная реакция с антителами к CD3 и CD5 (внутренний контроль – реактивные лимфоциты), S100 (внутренний контроль - реактивные гистиоциты), GFAP(внутренний контроль - глиальные клетки), Synaptophysin, ЕМА, Melan A. Ядерная экспрессия Ki 67 выявлена более чем в 80% клеток.

Заключение: при исключении системного поражения - гистологическое строение и иммунофенотип первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомы головного мозга, CD20(+) более 80% клеток.

При ИГХ исследовании во всех наблюдениях диагностирован CD20-позитивный фенотип. Наблюдалась положительная экспрессия других маркеров: BCL-6 (12), MUM1 (11), CD138 (2), BCL2 (13), CD10 (4). Индекс Ki67 превышал 70% в 5 наблюдениях, 80% – в 10 набл. Маркер EBV, свидетельствующий об участии в патогенезе лимфомы вируса Эпштейн-Барр, выявлен в 5 наблюдениях лимфом, в т.ч. в 3 у ВИЧ-

инфицированных пациентов в стадии СПИД. Во всех наблюдениях сделано заключение о первичной диффузной В-крупноклеточной лимфоме головного мозга.

Заключение

Морфологическая диагностика первичных лимфом может быть затруднена сходством со многими опухолями и требует обязательного применения иммуногистохимического метода для дифференциальной диагностики. Мелкоклеточные опухоли представляют собой гетерогенную группу, включающую как первичные опухоли головного мозга (лимфома, вариант рабдомиосаркомы, эмбриональные опухоли, в т.ч. атипическая тератоидно-рабдоидная опухоль, гемангиоперицитомы, герминогенноклеточная опухоль, мелкоклеточные варианты глиальных опухолей), так и метастатические (мелкоклеточная карцинома легкого, мелкоклеточные нейроэндокринные карциномы других первичных локализаций, медуллярная карцинома щитовидной железы, меланома, саркома Юинга, мелкоклеточные типы сарком и др.). При назначении кортикостероидной терапии, индуцирующей быстрый апоптоз клеток, или при попадании в биоптат участка распада опухоли с массивной зоной некроза, существует риск ошибочной интерпретации смешанного Т- и В-клеточного инфильтрата как воспалительного. При выявлении в неопластическом инфильтрате большого количества реактивных перивазальных CD3-позитивных Т-лимфоцитов необходимо указывать в заключении в связи с благоприятным прогностическим значением.

1. Мацко Д.Е., Коршунов А.Г. Атлас опухолей центральной нервной системы (гистологическое строение). – СПб., 1998, с. 132-145
2. Коршунов А.Г. Иммуногистохимия в дифференциальной диагностике первичных и метастатических опухолей головного мозга // Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. – Казань, 2014. – С.171-175.
3. Мацко Д. Е., Соколова И.А. Роль иммуногистохимии в современной нейроонкологии / Мат. конф. «Поленовские чтения». – СПб, 2006. - С. 202- 204.
4. Мацко Д.Е., Ковальский Г.Б. Инструкция по принципам унифицированной диагностике и регистрации опухолей центральной нервной системы. – СПб., 2010.
5. Улитин А.Ю., Олюшин В.Е., Сафаров Б.И., Мацко Д.Е. Метастатические опухоли головного мозга. – СПб. 2010.
6. Волошин С.В., Криволапов Ю.А., Шуваев В.А., Шмидт А.В., Фоминых М.С., Потихонова Н.А., Губарина Н.К., Абдулкадыров К.М. Первичная диффузная В-клеточная лимфома центральной нервной системы: современные представления о патогенезе, диагностике и принципах лечения. Вестник гематологии. 2011;7(3):22-34.
7. Губкин А.В., Звонков Е.Е., Кременецкая А.М., Криволапов Ю.А., Пересторонина Т.Н., Капланская И.Б., Лошаков В.А., Голанов А.В., Кобяков Г.Л., Кравченко С.К. Первичные лимфопролиферативные заболевания центральной нервной системы. Клиническая онкогематология. 2008;1(4):323-333
8. Волошин С.В., Криволапов Ю.А., Шуваев В.А., Шмидт А.В., Фоминых М.С., Потихонова Н.А., Губарина Н.К., Абдулкадыров К.М. Первичная диффузная В-клеточная лимфома центральной нервной системы: современные представления о патогенезе, диагностике и принципах лечения. Вестник гематологии. 2011;7(3):22-34.
9. Ковалева АЗ, Симонян В.А., Евтушенко С.К. и др. Первичная лимфома головного мозга (случай из практики). Международный неврологический журнал. 2010; 3: 33.
10. Григорьев Д.Г., Черствой Е.Д., Герасимович А.И. Опухоли и опухолеподобные процессы центральной нервной системы (классификация, частота, определение степени злокачественности, патоморфологическая диагностика): Учеб.-метод. пособие.
11. Шакунов А.Н. Морфологическая диагностика опухолей ЦНС: авто-реф. дис. . канд. мед. наук / А.Н. Шакунов. Ростов-н/Д, 1990. - 28 с.

Палатова Т.В., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б., Воронина Е.С.,
Медведева А.В., Пахомий С.С.

**Влияние хронической внутриутробной гипоксии на репродуктивную систему
плода (экспериментальное исследование)**

*ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И.
Разумовского»
(Россия, Саратов)*

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-03

idsp: sciencepublic-15-07-2019-03

Наиболее частой причиной патологических состояний плода и новорожденного является гипоксия, которая возникает при недостатке поступления кислорода в ткани. В зависимости от продолжительности воздействия различают острую или хроническую гипоксию. Острая гипоксия развивается как правило интранатально, тогда как хроническая сопровождает различные заболевания матери и плода и оказывает неблагоприятное влияние на развитие всех органов и систем.

Важное значение имеет антенатальное повреждение репродуктивной системы, поскольку последствия могут привести к нарушению функции яичек в постнатальном периоде [1; 2].

Влияние хронической гипоксии на развитие половой системы в условиях эксперимента изучалось различными исследователями. Было установлено снижение массы тела и массы яичек новорожденных крысят по сравнению с контролем. При гистологическом исследовании отмечали интерстициальный отек, уменьшение размеров канальцев, очаговую дистрофию и атрофию сперматогенного эпителия, дистрофические изменения и нарушение функциональной активности клеток Лейдига [1;3;4].

По всей видимости, гипоксия нарушает процессы апоптоза и пролиферации, которые играют важную роль в процессах нормального развития и гомеостаза. В семенниках, в эмбриональном и раннем постнатальном периодах, они могут определить окончательный размер яичек взрослого и потенциал фертильности[5].

Одним из способов оценки состояния мужской половой системы может служить иммуногистохимическое исследование с определением маркеров пролиферации и апоптоза.

Наиболее часто для изучения пролиферативной активности исследуют белок Ki-67 - ядерный протеин, который выявляет пролиферирующие клетки, находящиеся на разных фазах цикла[6].

Белок Вах - проапоптотический протеин, локализующийся в цитоплазме и выступающий как ингибитор роста. Белок Вах регулируется ядерным белком р53. Ген р53 является стресс-зависимым белком: в ответ на повреждение ДНК он тормозит смену фаз клеточного цикла или индуцирует апоптоз. Имеются данные, что белок Вах также может накапливаться внутри ядра вскоре после физиологического запуска апоптоза [6].

При экспериментальном исследовании [5], цель которого состояла в том, чтобы определить экспрессию Вах в зародышевых клетках крыс с односторонним крипторхизмом, было выявлено повышение экспрессии его в крипторхированных яичках. Была высказана роль апоптоза в потере зародышевых клеток.

Данные по экспрессии маркеров пролиферации и апоптоза в яичках новорожденных крыс под влиянием антенатальной гипоксии малочисленны [5; 6].

Цель исследования – оценить влияние хронической гипоксии на развитие половых желез плодов крыс в эксперименте.

Материалы и методы

В экспериментальном исследовании было изучено влияние хронической внутриутробной гипоксии на развитие яичек у крыс.

В основу разработки модели экспериментального исследования были положены «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [7], «Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях» [8].

Работа с лабораторными животными осуществлялась согласно протоколу исследований в соответствии с Женевской конвенцией о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных» (1985) и Хельсинкской декларацией (2000) о гуманном отношении к животным.

В работе были использованы 10 самок в возрасте от 4 до 10 месяцев белых беспородных крыс с массой 200 ± 30 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Лабораторные животные были разделены на 2 экспериментальные группы, по 5 самок в каждой. Первая (опытная) группа подвергалась гипоксии на протяжении всей беременности (21 день). Моделирование гипоксии проводилось в соответствии с методикой Н.Н. Каркищенко (2010). Вторая (контрольная) группа не подвергалась какому-либо воздействию на протяжении всей беременности.

Отсчет срока беременности начинался с момента обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке крысы. После родоразрешения взрослые животные выводились из эксперимента методом декапитации, новорожденные крысята на 1-е сутки жизни – методом цервикальной дислокации. Подсчитывалось количество крысят в помете и измерялась их масса тела. Был проведен забор яичек крысят-самцов для проведения морфологических исследований.

Морфологическое исследование. Яички крысят фиксировали в забуференном нейтральном 10%-ном формалине (рН=7,2; от 5 до 24 часов); дегидратировали в батарее спиртов восходящей концентрации, заливали в парафин. Срезы тканей яичка толщиной 4–5 мкм помещали на предметные стёкла и депарафинировали согласно принятой стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для иммуногистохимического окрашивания (ИГХ).

В десяти полях зрения каждого случая в яичках был проведен подсчет следующих показателей: количество канальцев, количество клеток в канальцах, количество сосудов в строме, количество клеток Лейдига, диаметр канальцев, площадь паренхимы и стромы.

Иммуногистохимический метод (ИГХ). После депарафинизации и регидратации парафиновых срезов проводили ИГХ-исследование согласно протоколу иммуногистохимического окрашивания. В качестве системы визуализации использовали REVEAL-Biotin-Free Polyvalent DAB (Spring Bioscience, USA). В работе использовали следующие антитела: Monoclonal Rabbit Anti- Ki67 (abcam, USA, разведение 1:100); Monoclonal Mouse anti Vax antibody (abcam, USA, разведение 1:50).

Оценка иммуногистохимических реакций базировалась на визуальной оценке интенсивности окрашивания и подсчета количества иммунопозитивных (положительных) клеток.

Индекс пролиферации и апоптоза определяли путём подсчета количества Ki-67 и Vax- позитивных ядер на 100 клеток соответствующих структур (половые клетки, клетки Сертоли, клетки Лейдига) во всех группах при увеличении $\times 774$ с последующим вычислением показателя в процентах.

При статистическом анализе полученных результатов использовались пакеты компьютерных программ IBM SPSS Statistics 24.0, Microsoft Office Excel 2007.

Для сравнительного анализа использовали методы непараметрической статистики с расчетом медианы, межквартильного размаха, уровней достоверности

различия между группами по критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

При проведении исследования потомства количество крысят в помете в группах различалось незначительно. Так, в опытной группе среднее количество крысят составило 17, в контрольной – 21 (таблица 1). Отмечалось снижение массы тела у потомства ($M_e = 5,8$) опытной группы по сравнению с контрольной ($M_e = 6,4$).

При обзорной световой микроскопии ткани яичек первой и второй групп морфологическая картина существенно не отличалась. Снаружи яички были покрыты белочной оболочкой. Деление ткани яичек на дольки отсутствовало. Извитые семенные каналцы имели овальную и округлую форму. Клетки в каналцах располагались хаотично, просвет отсутствовал. Среди сперматогенного эпителия обращали внимание крупные округлые клетки с большим ядром и розовой цитоплазмой – гоноциты. Между каналцами располагалась соединительная ткань с явлениями отека и мелкими кровоизлияниями. Некоторые поля зрения были представлены только стромальным компонентом, каналцы отсутствовали (60х).

При анализе морфометрических показателей (таблица 1) было выявлено, что диаметр каналцев в опытной группе был меньше ($M_e = 0,0435$), чем в контрольной группе ($M_e = 0,0510$). При измерении площади паренхимы и стромы также были выявлены различия в группах. Так, площадь каналцев в первой группе была меньше ($M_e = 0,0109$) по сравнению с контрольной группой ($M_e = 0,0120$). В отношении стромального компонента отмечалась обратная зависимость ($M_e = 0,0101$ и $0,009$ соответственно).

По результатам непараметрического теста Манна-Уитни были выявлены достоверные отличия в первой и второй группах по следующим параметрам: масса плодов ($p < 0,005$), диаметр каналцев ($p < 0,005$), площадь каналцев ($p < 0,005$), площадь стромы ($p < 0,005$), количество каналцев в поле зрения ($p < 0,01$).

Таблица 1

Морфометрические показатели яичек новорожденных крысят

Количественные характеристики	1-я группа - гипоксия (медиана, процентиля)	2-я группа - контроль (медиана, процентиля)
Количество каналцев в п/зр, увеличение 774	3 [2;4]*	4 [3;5] *
Количество клеток в каналцах в п/зр, увеличение 774	23 [19;27]	21 [16; 25]
Количество сосудов в строме в п/зр, увеличение 774	4 [3;4,5]	3 [2; 5,75]
Количество клеток Лейдига в п/зр, увеличение 774	13 [11;20,0]	11 [9;17,0]
Диаметр каналцев, мм в п/зр, увеличение 774	0,0435 [0,0358;0,0470]**	0,0510 [0,047;0,0535] **
Площадь каналцев, мм ² в п/зр, увеличение 774	0,0109 [0,0096;0,0119]**	0,0120[0,0116;0,0138] **
Площадь стромы, мм ² в п/зр, увеличение 774	0,0101 [0,0091;0,0114]**	0,009[0,0073;0,0095] **
Количество крысят в помете	17	21
Масса плодов, г	5,8 [5,735;6,505]**	6,4 [6,0875; 6,6475] **

Примечание: различия достоверны: * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,005$.

При анализе данных иммуногистохимического исследования экспрессия Ki-67 (маркера пролиферации) в гоноцитах, клетках Сертоли и клетках Лейдига в первой (опытной) группе составила 36,65%, а во второй группе – 43,2%. Экспрессия Вах (маркера апоптоза) в опытной группе составила 84,3%, а в контрольной группе – 71,7%.

Было отмечено снижение экспрессии маркера пролиферации и увеличение экспрессии маркера апоптоза в опытной группе, но, вероятно, за счет небольшого количества наблюдений данные различия не достоверны.

Необходимо отметить, что, несмотря на то, что Вах является цитоплазматическим маркером апоптоза, мы наблюдали его ядерную экспрессию в гоноцитах, клетках Сертоли и клетках Лейдига.

Обсуждение

Анализ полученных результатов позволил установить, что хроническая гипоксия оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности и последствия для развивающегося организма.

Данные о влиянии хронической гипоксии на плодовитость самок крыс в литературе противоречивы. В работе Черкесовой Д.У. и соавт. [4] при моделировании хронической внутриутробной нитритной гипоксии индекс плодовитости самок крыс в контрольной и опытной группах имел сопоставимые значения. Другие исследователи [1] выявили достоверное снижение количества крысят в помете в исследуемой группе, снижение массы, длины тела и хвоста.

В нашем исследовании мы отметили снижение количества новорожденных крысят в потомстве самок с гипоксией, но достоверного отличия с контрольной группой не было выявлено, вероятно, из-за небольшого количества наблюдений по группам.

В исследованиях ряда авторов ранее были отмечены дистрофические и некробиотические изменения сперматогенного эпителия канальцев, а также склеротические изменения и уменьшение численности клеток Лейдига под влиянием гипоксии [3].

В нашем исследовании мы отметили уменьшение размеров канальцев, уменьшение площади паренхимы и увеличение площади стромы в исследуемой группе. Изменений со стороны клеток Лейдига при обзорных методах окраски мы не наблюдали.

При иммуногистохимическом исследовании нами было отмечено снижение пролиферативного потенциала и увеличение экспрессии маркера апоптоза в гоноцитах, клетках Сертоли и Лейдига у потомства крыс с гипоксией. Наши данные согласуются с данными других авторов [9], которыми было отмечено увеличение экспрессии маркеров апоптоза в клетках Сертоли, Лейдига и половых клетках при изучении особенностей семенников плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что гипоксия в антенатальном периоде негативно влияет на количество и соматометрические показатели новорожденных крысят в потомстве. Отмечено достоверное снижение массы крысят в помете при моделировании хронической гипоксии.

При гистологическом исследовании ткани яичек наблюдалось достоверное снижение количества канальцев в поле зрения, уменьшение диаметра и площади канальцев, при одновременном нарастании площади стромы в группе крысят, подвергавшихся действию хронической гипоксии в антенатальном периоде. При иммуногистохимическом исследовании было отмечено снижение пролиферативного потенциала и увеличение апоптоза гоноцитов, клеток Лейдига и Сертоли у крысят опытной группы, но данные различия не были достоверными. Это свидетельствует о задержке и нарушении развития ткани яичек в условиях гипоксии уже в антенатальном периоде.

1. Марковский В.Д., Сорокина И.В., Мирошниченко М.С. и др. Влияние хронической внутриутробной гипоксии и инфекционной патологии матери на соматометрические показатели новорожденных (экспериментальное исследование)/ В.Д.Марковский и др.//Здоровье-основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2014. – Т.9-№2-С.659-661.

2. Маслякова Г.Н., Палатова Т.В., Серкова А.А. Современное представление о развитии и патологии яичек плода/Г.Н.Маслякова и др.//Саратовский научно-медицинский журнал.-2015.-Т11.-№4.-С.511-514.
3. Саяпина И.Ю., Целуйко С.С. Динамика количественных показателей клеток Лейдига при адаптации организма к низким температурам/И.Ю. Саяпина, С.С. Целуйко//Дальневосточный медицинский журнал.- 2011. - №2.-С.84-87.
4. Черкесова Д.У., Магомедгаджиева Д.Н., Рабаданова А.И. Функциональные изменения в системе мать-плод при экспериментальной хронической нитритной гипоксии/Д.У.Черкесова и др.//Известия Самарского научного центра Российской академии наук.Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки.-2009.-Т11.-№1-5.-С.934-937.
5. Dündar M, Koçak I, Culhaci N. Determination of apoptosis through bax expression in cryptorchid testis: an experimental study. *Pathol Oncol Res.* 2005.11(3). P. 170-173.
6. Zhao W, Zhang B, Guo X . Expression of Ki-67, Bax and p73 in patients with hilar cholangiocarcinoma. *Cancer Biomark.* 2014.14(4). P.197-202.
7. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У.Хабриев//М.: Медицина -2005.-835с.
8. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях/ Н.Н.Каркищенко, С.В. Грачев//М.:Профиль-2010.-358с.
9. Потапов С.Н., Яковцова А.Ф. Иммуногистохимические особенности семенных желез плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией/С.Н. Потапов, А.Ф. Яковцова//Проблемы эндокринной патологии.-2010.-№1.-С.68-76.

Фараджева С.С.

Определение уровня корреляции полиморфизма генов и выраженности висцерального ожирения и артериальной гипертензии у пациентов с сд2 в популяции жителей республики Азербайджан

*Азербайджанский Государственный Институт Усовершенствования
врачей им.А.Алиева*

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-04

idsp: sciencepublic-15-07-2019-04

В настоящее время получены убедительные данные о влиянии данных генов на пищевое поведение. Расстройство пищевого поведения в виде переедания, развивающееся вследствие нарушения центральных регуляторных механизмов, способствует предпочтению гиперкалорийного питания и опосредованному им увеличению массы тела [1].

На развитие СД2 и висцерального ожирения влияет носительство полиморфизмов гена, ассоциированного с избыточной массой тела и ожирением, FTOc-46–23525 T>A rs9939609 и гена лептина LEP g6591126 G>A rs7799039. Гены FTO и LEP рассматриваются как синтропные для СД2 и ожирения. В популяции жителей Республики Азербайджан клинико-генетическое исследование ассоциации полиморфизмов генов FTO и LEP с СД2 и висцеральным ожирением было проведено впервые. Необходимо отметить, что данная популяция является полиэтнической. Главной этнической подгруппой являются азербайджанцы, проживающие на равнинной местности в более развитых социально-экономических условиях, с более высокой степенью урбанизации. Генетический анализ был выполнен также у представителей двух других этнических подгрупп – талышей и лезгин, проживающих в горных районах, расположенных соответственно в южном и северном регионах Азербайджана.

Цель – выявить этнические различия распространенности генетических полиморфизмов rs9939609 гена FTO, ассоциированного с избыточной массой тела и ожирением, а также rs7799039 гена лептина LEP и rs1137101 гена рецептора к лептину LEP и оценить уровень корреляции с выраженностью висцерального ожирения и артериальной гипертензии (АГ) у пациентов с СД2 в популяции жителей Республики Азербайджан.

Материал и методы. Обследованы 86 больных с СД2, (31 азербайджанец, 28 лезгин, 27 талышей). У всех пациентов (32 мужчины, 54 женщины) было получено информированное согласие. Всем больным выполнены общеклиническое и антропометрическое обследования – определение окружности талии (ОТ), объема бедер (ОБ), оценка соотношения ОТ/ОБ и расчет индекса массы тела (ИМТ). Определение полиморфизма гена лептина (g65911626G>A) и гена FTO, ассоциированного с избыточной массой тела и ожирением (C46-23525T>A), проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (с разделением ионов) с помощью генетического анализатора «MassARRAY» (фирма Sequenom Inc., США).

Результаты и их обсуждение. Выявлены этнические различия в степени выраженности висцерального ожирения и АГ у проживающих в Азербайджане пациентов с СД2. Накопление мутантного аллеля А полиморфизма rs9939609 гена FTO характеризуется повышением индекса массы тела и уровня артериального давления. Наиболее значимо данный эффект проявляется у этнических жителей Республики Азербайджан. Накопление мутантных аллелей G полиморфизма rs7799039 гена лептина LEP и G полиморфизма rs1137101 гена рецептора к лептину LEPR чаще встречается у пациентов с СД2, развившемся на фоне висцерального ожирения и АГ (сравнение проходило с данными нормотензивных пациентов с СД2 без ожирения).

Заключение. Этнические различия частоты распространенности однонуклеотидных полиморфизмов генов FTO, LEP и LEPR у пациентов с СД2 в Республике Азербайджан определяются накоплением мутантных аллелей и эпигенетическими факторами. Более выраженные фенотипические проявления генетических полиморфизмов отмечаются в этнической подгруппе жителей Республики Азербайджан, у которых СД2 сочетается с более выраженным висцеральным ожирением и более высокой степенью АГ.

1. Church C., Moir L., McMurray F. et al. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity // Nat. Genet. – 2010. – Vol. 42, N 12. – P. 1086–1092.

РАЗДЕЛ II. ФАРМАЦЕВТИКА

Семенова Е.Н., Кулешова С.И.

Определение антимикробной активности гентамицина в креме для наружного применения турбидиметрическим методом

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Россия, Москва)

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-05

idsp: sciencepublic-15-07-2019-05

Представлены результаты разработки турбидиметрической методики определения биологической активности гентамицина в креме для наружного применения. В ходе выполненных исследований были определены наиболее оптимальные условия турбидиметрического анализа (тест-микроорганизм, время инкубации и диапазон концентраций антибиотика, условия пробоподготовки стандартного и испытуемого образцов). Использование разработанной методики позволяет значительно сократить время проведения анализа.

По данным Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС) в нашей стране зарегистрировано более 1000 наименований антибактериальных лекарственных препаратов отечественного и зарубежного производства [1]. Антибактериальные средства в РФ включены в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов.

Одной из первых групп антибиотиков, введенных в медицинскую практику, является группа аминогликозидов, насчитывающая на сегодняшний день более 10 природных антибиотиков и несколько полусинтетических, полученных на их основе.

Среди аминогликозидных антибиотиков, гентамицин, вследствие сохранения чувствительности к нему большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, находит широкое практическое применение. Основными показаниями к применению гентамицина являются инфекции мочевыводящих путей, легких и дыхательных путей, хирургические инфекции, раневые инфекции, ожоги III степени.

Оценивая место и значение гентамицина в современной антибиотикотерапии бактериальных инфекций, необходимо подчеркнуть, что препараты на его основе являются наиболее эффективными средствами лечения тяжелых гнойно-септических процессов, особенно вызываемых грамотрицательными микроорганизмами. Его преимущества перед другими широко применяемыми антибиотиками определяются активностью в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella spp* и др.), более быстрым проявлением бактерицидного эффекта, лучшим проникновением в очаг воспаления, редким выделением устойчивых к его действию штаммов. Комбинированное – местное (в виде кремов, мазей) и парентеральное применение гентамицина оказывается весьма эффективным при лечении гнойно-воспалительных процессов различной локализации [2].

Вместе с тем, следует учитывать достаточно серьезные нежелательные реакции (ото- и нефротоксичность, нейромышечная блокада), которые могут возникнуть в результате его передозировки. С другой стороны, использование противомикробных препаратов, в целом, сегодня требует особой осторожности в связи со стремительным распространением антибиотикорезистентности микроорганизмов. К этому, как правило, приводит применение некачественных антибиотиков и неизбирательное их использование [3]. Следовательно, особое внимание необходимо уделять вопросам

стандартизации и обеспечения качества антибактериальных препаратов, и вытекающей из этого их клинической безопасности и эффективности.

На сегодняшний день ведущими мировыми фармакопеями для количественного определения (антимикробной активности) антибиотиков группы аминогликозидов используются две разновидности биологического тестирования: метод диффузии в агар и турбидиметрический метод. В отечественной фармакопейной практике применяется только метод диффузии в агар, основанный на способности молекул антибиотиков диффундировать в агаровых средах и образовывать зоны угнетения, в которых не развиваются тест-микроорганизмы, чувствительные к испытываемому антибиотику. Несмотря на то, что метод диффузии в агар прост, не нуждается в сложном оборудовании, в связи с этим находит широкое применение, он характеризуется рядом недостатков: длительность проведения анализа; зависимость аналитического сигнала от свойств антибиотика (его растворимости, молекулярной массы и т.п.), не связанных с его активностью; чувствительность тест-культур к качеству используемого агара; сложность автоматизации и некоторые другие. С другой стороны, метод турбидиметрии отличается, наряду с другими положительными сторонами, оперативностью и экономичностью [4, 5].

Цель работы - разработать турбидиметрическую методику количественного определения гентамицина сульфата в креме для наружного применения.

Материалы и методы.

Исследования были выполнены на препарате «Акридерм Гента, крем для наружного применения», Россия; стандартный образец (СО) гентамицин сульфат – GS EPCRS (активность - 17352 IU/vial, batch 14, действительный на момент исследования). Для приготовления основных растворов стандартного и испытываемого образцов использовали воду очищенную, полученную на установке «Millipore», рабочие растворы готовили с буфером №4 (ОФС.1.2.4.0010.15 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар).

Микроорганизмы, питательные среды. В работе использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, (для турбидиметрического анализа); *Bacillus pumilus* NCTC 8241 (для метода диффузии в агар). Определение биологической активности методом диффузии в агар проводили по ОФС.1.2.4.0010.15.

Пробоподготовка. Точную навеску испытываемого образца (1,00000 г) помещали в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 100 мл, добавляли 1 мл спирта этилового 96 %, помещали на водяную баню с температурой 40 °С и тщательно перемешивали до растворения основы и образования однородной эмульсии. Полученную смесь количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл посредством 3 порций растворителя (буферный раствор, pH 8,0) и доводили до метки буферным раствором, pH 8,0. Получали основной раствор испытываемого образца с предполагаемой концентрацией 20 мкг/мл, из которого готовили рабочие растворы испытываемого образца с соответствующей концентрацией.

Определение антимикробной активности турбидиметрическим методом. Штаммы тест-микроорганизмов инкубировали в питательной среде при 37 ± 1 °С в течение 24 ч. В день испытания бульонную культуру разбавляли для достижения мутности суспензии $25 \pm 2\%$ (коэффициент пропускания) с использованием спектрофотометра Agilent 8453 (США) и длины волны 580 нм. Полученную суспензию использовали в качестве посевного материала. Для турбидиметрического анализа была выбрана трехдозная модель параллельных линий (3x3 дизайн; 3 дозы стандарта и 3 дозы образца). На каждые 1000 мл жидкой питательной среды прибавляли 10 мл посевного материала. Затем 9 мл инокулированной среды и 1 мл испытываемого или стандартного раствора (с соответствующей концентрацией 0,67; 1 и 1,5 мкг/мл) вносили в пробирку объемом 20 мл. После этого анализируемые смеси инкубировали

при 37 ± 1 ° С в течение 4,5 ч. Размножение микроорганизмов останавливали добавлением 0,5 мл 12% -ного раствора формальдегида к каждой из пробирок. Оптическую плотность взвеси микроорганизмов в пробирках с испытуемым и стандартными образцами определяли при длине волны 530 нм. Расчет биологической активности антибиотиков, математическую и статистическую обработку результатов осуществляли в соответствии с существующими рекомендациями [6] с помощью программных обеспечений Microsoft Office Excel и CombiStats, version 5.0.

Результаты и их осуждение.

Турбидиметрический анализ оценки биологической активности антибиотиков основан на взаимодействии между тест-микроорганизмом и антибиотиком. Это взаимодействие выражается в логарифмической зависимости степени угнетения роста бактериальной популяции от концентрации антибиотика. О задержке роста микроорганизмов судят по величине мутности среды, которая может быть фотометрически измерена после инкубации. В этой связи, важнейшим вопросом в турбидиметрическом биотестировании является выбор тест-микроорганизма, который должен быть чувствителен к испытуемому антибиотику, а также быстро и равномерно расти в жидкой питательной среде. Среди изученных тест-микроорганизмов был выбран штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, так как он характеризовался чувствительностью к гентамицину, не очень высокими ростовыми потребностями, и в проведенных многофакторных исследованиях давал более быстрый рост в отличие от штамма *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Последнее может быть связано с более длительной лаг-фазой *St. epidermidis* ATCC 12228, так как он метаболически менее активен и, по всей видимости, имеет небольшой арсенал адаптационных механизмов к изменяющимся условиям среды [7].

Выбранная нами для анализа модель параллельных линий предполагает, что: взаимосвязь между логарифмом доз и оптической плотностью взвеси тест-микроорганизмов должна быть представлена в виде прямой линии в диапазоне исследованных концентраций; прямая линия испытуемого образца должна быть параллельна соответствующей прямой линии стандартного образца [6]. Линейный отклик обычно происходит в ограниченном диапазоне концентраций антибиотика и определенной фазе роста тест-микроорганизма (фаза логарифмического роста), в которой микроорганизмы проявляют наибольшую чувствительность к действию антибиотиков.

В ходе проведенных испытаний были выбраны оптимальные условия проведения анализа для количественного определения гентамицина сульфата турбидиметрическим методом (табл. 1).

Для подтверждения линейности и параллельности были построены графики зависимости «доза-реакция» для растворов стандартного и испытуемого образцов с использованием среднего значения оптической плотности взвеси тест-микроорганизма от концентрации антибиотика (рис. 1).

Таблица 1

Определение оптимальных условий количественного определения гентамицина турбидиметрическим методом

Параметр	Проанализированные условия	Выбранные условия
Тест-микроорганизм	<i>St. aureus</i> ATCC 6538P; <i>St. epidermidis</i> ATCC 12228;	<i>St. aureus</i> ATCC 6538P
Диапазон концентраций антибиотика (мкг/мл)	0,67; 1; 1,56 0,5; 1; 2; 4	0,67; 1; 1,56
Время инкубации (ч)	3,5; 4,5; 5,5;	4,5

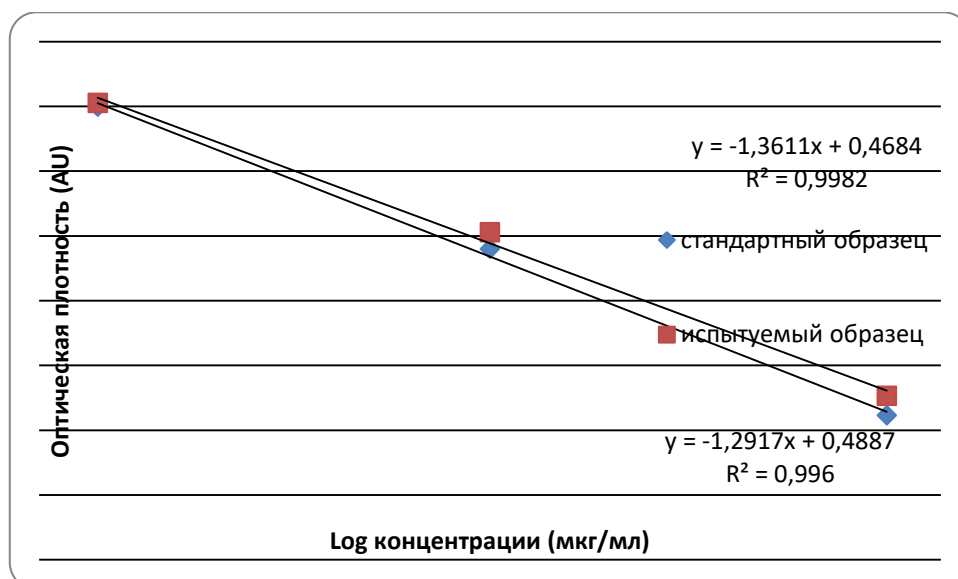


Рисунок 1. Зависимость оптической плотности взвеси микроорганизмов от концентрации гентамицина.

Проведенный дисперсионный анализ показал правильность результатов опыта: значительную регрессию и отсутствие отклонений от линейности и параллельности, в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» [6] (табл. 2).

Таблица 2

Результаты дисперсионного анализа определения биологической активности гентамицина турбидиметрическим методом.

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F _{набл.}	F _{критич.}	
Регрессия	1	0,634800	0,634800	>1000	>8.1	(P=99%)
Параллельность	1	0,000300000	0,000300000	1,216	<4.35	(P=95%)
Линейность	2	0,000900000	0,000450000	1,824	<4.35	(P=95%)
Квадратичность	1	0,000900000	0,000900000	3,649	<4.35	(P=95%)
Разность квадратичностей	1	0,000000001	0,000000001	0,000	<4.35	(P=95%)

Проведенная сравнительная оценка биологических методов количественного определения гентамицина и статистический анализ показали, что метод диффузии в агар и турбидиметрический анализ могут считаться взаимозаменяемыми ($t_{расч.} = 1,27 < t_{крит.} = 2,78$). Вместе с тем, разработанная турбидиметрическая методика количественного определения гентамицина обладает преимуществами в отношении чувствительности и времени, затраченного на проведение анализа (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительная оценка биологических методов количественного определения гентамицина

Метод анализа	Чувствительность, мкг/мл	Время выполнения анализа (инкубации), ч	Среднее содержание гентамицина в креме, %
Турбидиметрическая методика	0,67	4,5	97
Диффузия в агар	1,28	18-20	96

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований, разработана турбидиметрическая методика определения гентамицина в креме для наружного применения, позволяющая получать важную информацию об антимикробной активности лекарственного препарата. Подобраны условия пробоподготовки, тест-микроорганизм, время инкубации и диапазон концентраций антибиотика, оптимальные для проведения анализа.

1. Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. [Электронный ресурс]. // <http://grls.rosminzdrav.ru/>
2. Навашин С.М., Фомина И.П., Сазыкин Ю.О. Антибиотики группы аминогликозидов. М.: Медицина, 1977.
3. Vakulenko S., Mobashery S. Versatility of Aminoglycosides and Prospects for Their Future. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003. V. 16(3). P. 430–450.
4. Олефир Ю.В., Семенова Е.Н., Кулешова С.И., Сакарян Е.И., Процак С.А. Применение турбидиметрического метода анализа для стандартизации и оценки качества антибиотиков группы аминогликозидов и лекарственных препаратов на их основе. *Антибиотики и химиотерапия*, 2018, 63; 7-8.
5. Кулешова С.И. Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2015; 3: 13-7.
6. Государственная фармакопея РФ. - XIV изд. М.:ФЭМБ. 2019 г.
7. Колпакова С.Д., Колпакова Г.А. Исследование особенностей развития музейных и свежевыведенных из организма штаммов. *Вестник СамГУ Естественнонаучная серия*. 2005, 6, 184-193.

РАЗДЕЛ III. БИОЛОГИЯ

Кокколова Л.М.

Dirofilaria ursi бурого медведя (*ursus arctos arctos*) в Якутии

ФИЦ ЯНЦ СО РАН «Якутский научно-исследовательский институт
сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова»
(Россия, Якутск)

doi:10.18411/sciencepublic-15-07-2019-06

idsp: sciencepublic-15-07-2019-06

Аннотация

На территории Якутии бурый медведь *Ursus arctos arctos* относится к одному из крупных диких млекопитающих, по отношению паразитарных болезней является слабо изученным [1]. Исследованием паразитарных болезней и изучение гельминтов бурых медведей начали с 1991 года, тогда основной упор делали на изучение трихинеллеза и обнаружение личинок трихинелл. Нами были исследованы органы и ткани 96 особей по всей территории Якутии.

Ключевые слова: бурый медведь, собака, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria ursi*, *Dirofilaria immitis*, комар, *Aedes*, *Culex*, территория, Якутия

Abstract

On territory of Yakutia brown bear *Ursus arctos arctos* behaves to one of large wild mammals, after the relation of parasitogenic illnesses is poorly studied [1]. By research of parasitogenic illnesses and the study of helminths of brown bears was begun with 1991, then basic support was done on the study of trichinosis and finding out the larvae of трихинелл. Organs and fabrics were investigational by us 96 individuals on all territory of Yakutia.

Keywords: brown bear, dog, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria ursi*, *Dirofilaria immitis*, mosquito, *Aedes*, *Culex*, territory, Yakutia

Половозрелая особь длиной до 30см и шириной до 1,5 мм, нитевидной формы с зауженными концами. У самки имеются рот, пищевод, кишечник, нервное кольцо, вульва, яйцеводы, матка и яичники, у самца – сосочки и спикюлы. Личинки (или микрофилярии) же микроскопически малы – до 320 мкм длиной и до 7 мкм шириной, имеют нитевидный вид с тупым передним и заостренным задним концом. Однако в силу своего размера могут достигать с током крои и лимфы «самых отдаленных уголков человеческого организма». Источник инфекции при диروفилариозе – облигатный или обязательный источник - это домашние животные (собаки в большинстве, реже кошки – *D.greperens* и *D.immitis*), единичные случаи болезни встречаются и среди диких животных. В настоящее время на территории Якутии встречается пораженность собак, промежуточным хозяином являются комары рода *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* – они переносят инвазионные личинки (микрофилярии) от животных друг другу, а также к человеку. Пораженность комаров личинками разная, не исключают и роль в передачи личинок и другим кровососущим насекомым – блохи, вши, слепни, клещи.

По ранее проведенным нами исследованиям на территории Якутии диروفилариоз был установлен у собак, половозрелых диروفиларий находили у павших в результате заражения диروفилариозом, а также при диагностике лёгочной и

сердечной недостаточности при исследовании мазков крови. Сердечный дирофиляриоз оказывает разрушительное действие на эритроциты, появляется развитие гемоглобинемии, гемоглобинурии. В некоторых случаях приводит к печеночной и почечной недостаточности. Со стороны дыхательной системы характерны хронический сухой кашель, затруднение дыхания и одышка, обнаружение очагов хрипов в легких. Развитие легочной тромбоэмболии характеризуется возникновением лихорадки и выделением мокроты с кровью. При отсутствии лечения у собак наблюдали летальный исход.

Материалом для исследования служили органы и ткани бурого медведя, в отличие от других хищных животных исследован в небольшом количестве с 1991 года по настоящее время было исследовано 96 особей добытых всей территории Якутии, из них трихинеллезом были заражены 41 (42,7±1,03%), а с 1998 года были фиксированы 227 случаев заболевания человека трихинеллезом, последний случай был зарегистрирован в 2015 году с 2 больными, заразившиеся при употреблении мяса бурого медведя. Результаты исследования показали зараженность медведей дирофиляриозом, инвазированных нематодами *Dirofilaria ursi* были 10 особей это составляет 10,4%, обнаружен гельминт *Toxascaris transfuga*, *Uncinaria skrjabini* всех обнаруженных гельминтов фиксировали. Количество бурого медведя, как объект пушного промысла часто добывают на южных, горно-таежных зонах Якутии, по количеству инвазии опасной для человека и зараженности человека при употреблении медвежатины стоит на первом месте, это личинки трихинелл. Хотя предполагается, что в природном биоценозе паразитические болезни могут выполнять функцию регуляторов численности хозяев, но численность бурых медведей на территории Якутии не снижается. Его ареал охватывает всю таежную территорию. Наиболее высокая плотность вида характерна для Юго-Западной и Южной зоны, а также Северо-Восточной и Колымо-Индибирской. Общая численность бурого медведя за 2017-2018 годы оценивается как высокая для данного крупного хищника и равна 17000 особям [3, 4]. Вследствие относительно низкой интенсивности инвазии эти гельминты не могут представлять серьезной опасности для зверя и стать причиной снижения его численности. Годовая и сезонная экстенсивность инвазии у взрослого животного постоянна и равна 100%, Интенсивность инвазии изменяется зависимости сезона года, снижение инвазии в сезон выхода со спячки зависит от питания животного, т.к. после пробуждения в большом количестве животными употребляется брусника, почки и сережки ивы, ягоды и ветки можжевельника, хвощ, эти растения в своем составе содержат различные алкалоиды, эфирные масла и дубильные вещества, действующие как антибиотик и антипаразитарное средство. В осени период количество экстенсивности, так и интенсивности инвазии нематодами поднимается до максимума и может достигнуть до 100%. У бурых медведей с возрастом увеличивается интенсивность инвазии *Dirofilaria ursi* и может достигнуть от 31 до 45 экземпляров в одном килограмме мышцы.

В последние годы особую тревогу вызывает увеличение количества зараженных *Trichinella spiralis* зверей. Употребление в пищу плохо стерилизованного (проваренного и прожаренного) зараженного мяса этого хищника является причиной заболевания трихинеллезом человека и при сильном заражении может привести к его гибели. В последние годы отмечается значительная зараженность трихинеллой этого зверя в Алданском, Нерюнгринской и Олекминском районах Якутии.

1. Боескоров Г.Г. К систематике бурого медведя Якутии // Сибирская зоол. конф.: Тез. докл. Новосибирск: ИСЭЖ СО РАН, 2004. С. 108-109.
2. Губанов Н.М. Гельминтофауна промысловых млекопитающих Якутии. М.: Наука, 1964. 164 с.
3. Винокуров В.Н., Мордосов И.И., Иванов В.С. Опыт авиаучета бурого медведя в Северо-Восточной Якутии // Распространение и экология млекопитающих Якутии. Якутск: ЯФ СО АН СССР, 1982. С. 98-104.
4. Мордосов И.И. Современные границы ареала млекопитающих в Якутии // Наука и образование. 2001. №3 (23). С. 95-99.



Научное издание

**Научный диалог:
Вопросы медицины**

Сборник научных трудов по материалам
XX международной научно-практической конференции
15 июля 2019 г.



SPLN 001-000001-0472-MQ

Подписано в печать 25.07.2019. Тираж 400 экз.
Формат.60x841/16. Объем уч.-изд. л.2,99
Бумага офсетная. Печать оперативная.
Отпечатано в типографии НИЦ «Л-Журнал»
Главный редактор: Иванов Владислав Вячеславович