

мировать заторможенные когнитивные и поведенческие стратегии.

Безусловно, рассмотренный выше алгоритм нейромодуляции психофункциональных состояний, являющихся основой динамики эго-состояний, требует дополнительного теоретического анализа и экспериментальной апробации. Однако проведенный нами анализ возможностей использования электромагнитных методов, их экспериментального применения для изменения таких когнитивных функций как восприятие, внимание, память, обучение, эмоциональное и мотивационное напряжение и т.п., делает ожидаемый экспериментальный результат предсказуемым и перспективным.

Список литературы

1. **Берн Э.** Игры, в которые играют люди. Люди, которые играют в игры. Изд.: Университетская книга. М. 1998.
2. **Дубровинская Н.В., Фарбер Д.А., Безруких М.М.** Психофизиология ребенка: Психофизиологические основы детской валеологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС. 2000.
3. **Илюхина В.А.** Теоретические и прикладные аспекты транскраниальных микрополяризаций в психофизиологии и клинике // Лечебная электрическая стимуляция мозга и нервов человека / Под общ. ред. Н.П. Бехтеревой. – М. АСТ; СПб.: Сова; Владимир: ВКТ. 2008. С. 378-461.
4. **Класен И.А.** Практическая психотерапия: Курс лекций. М.: МЕДпресс-информ. 2004.
5. **Костандов Э.А.** Психофизиология сознания и бессознательного. – СПб.: Питер. 2004.
6. **Никитин С.С., Куренков А.Л.** Магнитная стимуляция в диагностике и лечении болезней нервной системы. М.: 2003.
7. **Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А.** Применение технологии нейромодуляции для управления психофункциональным состоянием и когнитивными стратегиями человека // Вестник РУДН, сер. Психология и педагогика. 2011. № 2. С. 32-38.
8. **Чайванов Д.Б., Чудина Ю.А.** Применение нейромодуляции для коррекции психофункциональных состояний в процессе трансактного анализа // Вестник РУДН, сер. Психология и педагогика. 2011. № 4. С. 38-43.
9. **Шелякин А.М., Пономаренко Г.Н.** Микрополяризация мозга. СПб. 2006.

Tool corrections of the vital scenario by neuromodulation of psychofunctional conditions

N.N. Karkischenko, D.B. Chayvanov, Yu.A. Chudina

In this article have been discussing the algorithm of neuromodulation methods and creation toolmaking counterpart of the transactional analysis having used for ego-states alterations and the correction of individual script.

Key words: brain neuromodulation, micropolarization, magnetostimulation, electrodream, transactional analysis, ego condition, cognitive strategy, ontogenesis of cortical structures.

Оценка влияния некоторых физических факторов на энергетический метаболизм крови *in vitro*

А.К. Мартусевич, А.Г. Соловьева, С.П. Перетягин, В.Н. Митрофанов

ФГБУ «ННИИТО» Минздравсоцразвития России

Контактная информация: к.м.н. Мартусевич А.К., cryst-mart@yandex.ru

Проведен анализ действия кислорода, синглетного кислорода, оксида азота (800 мкг/л) и озона (500 мкг/л) на цельную кровь человека *in vitro* по параметрам энергетического метаболизма (активность оксидоредуктаз, уровень лактата). Для комплексной оценки эффекта физических факторов применены разработанные нами производные коэффициенты. Установлено, что обработка крови кислородом, озон-кислородной смесью и синглетным кислородом благоприятно стимулирует энергетические резервы биосреды, а нитроксилирование угнетает их.

Ключевые слова: активные формы кислорода, оксид азота, оксидоредуктазы, лактат.

Система крови, являясь основной жидкой средой, традиционно рассматривается как интегральный индикатор состояния целостного организма на различные воздействия [10]. Этому способствует наличие в ее составе как многочисленных клеточных пулов, так и жидкой части – плазмы, в комплексе обеспечивающих биологические и физико-химические свойства данного биосубстрата и его адаптационно-гомеостатический потенциал [1]. С учетом активно протекающих в рассматриваемой биосреде процессов, обеспечивающих энергетический обмен ее клеточной составляющей, цельная кровь служит достаточно удобной биомоделью для оценки эффекта различных, в частности, физико-химических факторов на указанный аспект метаболизма.

В настоящее время установлено, что действие многих лекарственных препаратов и лечебных воздействий физическими факторами опосредовано через модификацию направленности и интенсивности процессов липопероксидации, а также генерацию, циркуляцию и деградацию активных биорадикалов,

в том числе представленных активными формами кислорода и азота [2, 4-8, 11]. Кроме того, в последнее десятилетие особое внимание уделяется полифункциональной роли оксида азота (II) как универсального биорегулятора и дополнительного источника биорадикалов [3, 4, 7, 12].

В связи с этим, **целью** исследования служило изучение влияния газообразных активных форм кислорода и оксида азота (II) на параметры энергетического метаболизма крови в эксперименте.

Материалы и методы

Изучен характер реакции цельной консервированной крови на воздействие различных физико-химических факторов, являющихся источниками активных форм кислорода и азота. Использовали кровь, полученную от 10 доноров (по 25 мл). Для проведения эксперимента ее разделяли на 5 порций (интактную, на которую не оказывали воздействий, и 4 опытных, подвергшихся обработке). Для этого производили прямой барботаж образцов крови (5 мл) газообразным аген-

Таблица

Основные и расчетные параметры энергетического метаболизма крови при действии различных источников активных форм кислорода и азота

Параметр	Фактор				
	контроль	кислород	озон	оксид азота	синглетный кислород
ЛДГпр, нмоль НАДН/мин* мг белка	51,99±2,84	58,15±3,27*	60,29±4,12*	44,18±3,20*	54,09±3,37
ЛДГобр, нмоль НАДН/мин* мг белка	21,76±1,63	24,32±1,70	32,42±2,28*	40,58±2,71*	28,09±2,06*
Лактат плазмы, ммоль/л	6,93±0,21	7,15±0,24	7,15±0,26	6,65±0,22	7,37±0,23*
Лактат эритроцитов, ммоль/л	3,00±0,17	3,05±0,18	2,67±0,14*	3,33±0,16	2,70±0,15*

Примечание: «*» – статистически значимые различия по сравнению с контрольным образцом, $p < 0,05$ (по парному критерию Стьюдента).

том (молекулярный кислород, озон – 50 мкг, оксид азота – 80 мкг, синглетный кислород) в течение 2 мин. Синтез озono-кислородной смеси осуществляли с помощью озонатора «Медозонс-БМ» (Россия). Генерацию холодной плазмы, насыщенной оксидом азота (концентрация вещества в газовом потоке в выбранных условиях – 800 мкг/л), выполняли аппаратом «Плазон» (Россия). Воздушный поток, содержащий синглетный кислород, получали с применением аппарата «Airnergy» (Германия). Экспозиция после воздействия составляла 3 мин.

В донорской консервированной крови спектрофотометрически определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в прямой и обратной реакциях по методу Г.А. Кочетова (1980), альдегиддегидрогеназы (АлДГ) – по методу Б.М. Кершенгольца, Е.В. Серкиной (1981). Содержание белка устанавливали по модифицированному методу Лоури. Уровень лактата в плазме крови и эритроцитах определяли с помощью анализатора SuperGL Ambulance.

Для оценки направленности сдвигов энергетического метаболизма крови при

действии выбранных физико-химических факторов использовали ряд специализированных коэффициентов: коэффициент баланса энергетических реакций (КБЭР) [9], коэффициент субстратной обеспеченности (КСО), нормализованный коэффициент субстратной обеспеченности (КСOnorm). Расчет данных показателей производили по следующим формулам:

$$КБЭР = \frac{ЛДГ_{пр}^2}{ЛДГ_{обр}^2} \cdot 100$$

где ЛДГпр – активность ЛДГ в прямой реакции, ЛДГобр – активность ЛДГ в обратной реакции;

$$КСО = \frac{C(лактат) \cdot ЛДГ_{пр}}{ЛДГ_{обр}}$$

где С(лактат) – концентрация лактата в плазме крови, ЛДГпр и ЛДГобр – аналогично предыдущей формуле;

$$КСOnorm = \frac{C(лактат) \cdot ЛДГ_{пр}}{ЛДГ_{обр}} \cdot \frac{ЛДГ_{обр, контроль}}{ЛДГ_{пр, контроль}} \cdot \frac{C(лактат)}{ЛДГ_{пр, контроль}}$$

где С(лактат), ЛДГпр и ЛДГобр – аналогично предыдущей формуле, ЛДГпрконтроль – активность ЛДГ в прямой реакции в интактном образце,

ЛДГобрконтроль – активность ЛДГ в обратной реакции в интактном образце.

Результаты обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Анализ состояния энергетического обмена крови оценивали как с позиций субстратного обеспечения процесса, так и активности ферментных систем (табл.).

Прежде всего, нами произведен анализ применимости консервированной крови для достижения цели исследования. На основании полученных данных установлено, что в цельной консервированной крови активность ЛДГ в обратной реакции преобладает над активностью фермента в прямой, что совпадает с динамикой, наблюдающейся в свежеполученной крови [9], и свидетельствует об отсутствии значимого влияния применяемого консерванта на ее рассматриваемые параметры. Следовательно, используемая биомодель цельной консервированной крови является адекватной и может быть применена для оценки характера воздействия на нее выбранных физико-химических факторов.

Вторым этапом работы явилось непосредственное определение особенностей действия источников активных форм кислорода и азота на состояние энергетического метаболизма биологической жидкости. Установлено, что активность ЛДГ в прямой реакции при действии на образцы цельной крови изучаемых физических факторов существенно варьирует (табл.). Так, при барботировании биологической жидкости кислородом и озono-кислородной смесью с концентрацией озона 500 мкг/л наблюдали значимое нарастание данного показателя (на 11 и 15% относительно контрольного образца соответственно; $p < 0,05$), тогда как введе-

ние в биосреду газообразного монооксида азота снижало активность этого фермента в прямой реакции (на 15%; $p < 0,05$). Применение синглетного кислорода не оказывало существенного влияния на рассматриваемый параметр.

Повышенная активность ЛДГ в обратной реакции была зарегистрирована при воздействии на образцы крови оксида азота, озono-кислородной смеси и, в меньшей степени, синглетного кислорода (на 86, 48 и 29% соответственно; $p < 0,05$). В условиях действия на биологическую жидкость газообразного оксида азота данная тенденция в сочетании с падением активности лактатдегидрогеназы в прямой реакции создает предпосылки для нарастания энергодефицита клеток крови.

Изучение уровня лактата в плазме крови, демонстрирующего в том числе результат функционирования ЛДГ, позволило установить, что большинство оцениваемых факторов не оказывает существенного влияния на концентрацию изучаемого соединения (нарастание в диапазоне 3-6% относительно контрольного образца). Только при барботировании биологической жидкости синглетным кислородом выявлено статистически значимое нарастание указанного показателя ($p < 0,05$). При обработке консервированной крови газовым потоком, содержащим монооксид азота, наблюдали умеренное падение уровня лактата в ней на уровне тенденции.

С наших позиций клинически важны результаты определения содержания лактата в эритроцитах как модели клеточной биосистемы. Выявлено, что концентрация лактата в эритроцитах сохраняется на исходном уровне только в случае оксигенации биологической системы. В то же время, после обработки консервированной крови озono-кисло-

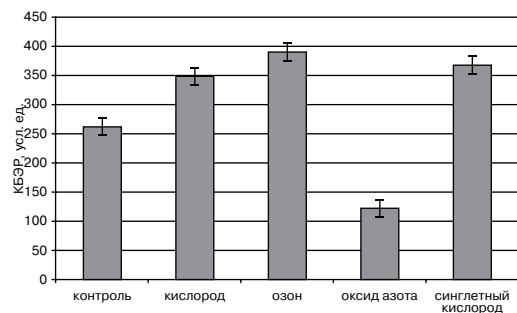


Рис. 1. Уровень коэффициента баланса энергетических реакций (КБЭР) крови при действии источников активных форм кислорода и азота.

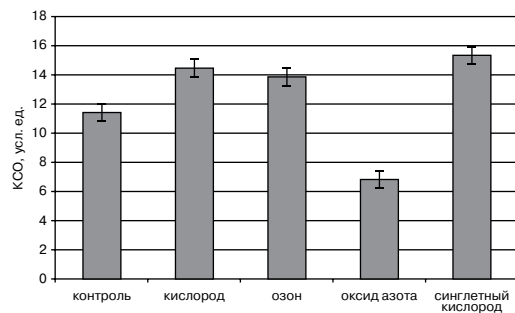


Рис. 2. Уровень коэффициента субстратного обеспечения (КСО) крови при действии на нее различных активных форм кислорода и азота.

родной смесью и синглетным кислородом регистрировали значимое снижение значения данного показателя (на 11 и 10% соответственно; $p < 0,05$), что косвенно указывает на антигипоксический эффект изучаемых воздействий. Это обеспечивается стимуляцией активными формами кислорода аэробного пути функционирования ЛДГ и, соответственно, направленной утилизацией лактата на нужды энергообеспечения клетки при озонировании биологической жидкости.

Напротив, при барботировании цельной крови оксидом азота, на фоне ингибирования прямой реакции ЛДГ и нарастания интенсивности обратной реакции, содержание лактата в эритроцитах увеличивалось на 11% относительно контрольных значений, что может рассматриваться как тенденция ($p < 0,1$). Указанные сдвиги свидетельствуют о формировании признаков гипоксии при нитроксилировании биосреды, которая может дополнительно стимулироваться за счет NO-зависимого образования метгемоглобина при применяемых концентрациях физического агента (800 мкг/л оксида азота) [2, 7].

С целью получения интегральной информации о сдвигах энергетического

метаболизма, инициированных источниками активных форм кислорода и азота, нами был осуществлен расчет некоторых производных коэффициентов, позволяющих оценить сбалансированность рассматриваемого компонента обменных процессов (рис. 1-3). На основании анализа динамики КБЭР выявлено (рис. 1), что барботирование цельной крови озono-кислородной смесью, синглетным кислородом и молекулярным кислородом способствует смещению активности ЛДГ в сторону прямой реакции ($p < 0,05$). Следует отметить, что в случае применения озона активация ЛДГ также значительна, но сопровождается умеренной стимуляцией обратной реакции (табл.). Нитроксилирование крови, напротив, приводит к преобладанию ЛДГобр на фоне ингибирования аэробного процесса ($p < 0,05$).

Адекватность функционирования ЛДГ с учетом концентрации в биологической жидкости лактата при действии различных источников активных форм кислорода и азота оценивали с помощью классического и нормализованного коэффициентов субстратного обеспечения – КСО и КСО_{норм} (рис. 2 и 3). По нашим данным, физиологический уровень КСО,

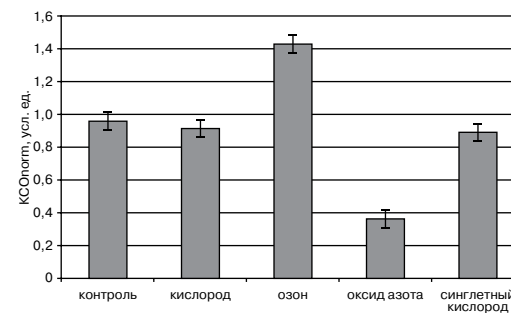


Рис. 3. Влияние источников активных форм кислорода и азота на нормализованный коэффициент субстратного обеспечения (КСО_{норм}) крови.

контролируемый по значению параметра интактной крови, достигался в случаях обработки биологической жидкости озono-кислородной смесью и синглетным кислородом (125 и 132% от нормы). В условиях относительной гиперлактатемии при применении этих воздействий данная тенденция, по нашему мнению, является позитивной и отображает хорошую субстратную обеспеченность рассматриваемого фермента-компонента энергетического обмена (рис. 2). Оксигенация цельной крови, стимулируя активность ЛДГ в прямой реакции при неизменном уровне лактата в плазме и эритроцитах, приводит к более значимому нарастанию КСО. Это косвенно указывает на интенсификацию кислородзависимых процессов, которая может сопровождаться активацией липопероксидации в клеточных пулах крови.

Введение в цельную кровь монооксида азота, в отличие от активных форм кислорода, оказывая прогипоксический эффект, ингибирует активность ЛДГ в прямой реакции, выраженно стимулируя обратную реакцию фермента. О дисбалансе изучаемой биосистемы дополнительно свидетельствует нарастание лактата в эритроцитах при нитроксилировании

консервированной крови, указывая на формирующийся в созданных условиях энергодефицит.

Наиболее четко рассмотренные тенденции визуализируются при подсчете нормализованного коэффициента субстратного обеспечения, учитывающего не только текущее соотношение компонентов энергетического метаболизма в биологической системе, подвергшейся воздействию физического агента, но и физиологическую активность ЛДГ в прямой и обратной реакциях, а также уровень лактата в интактном образце крови (рис. 3).

Заключение

Таким образом, барботирование консервированной крови кислородом, озono-кислородной смесью и синглетным кислородом благоприятно стимулирует энергетические резервы биосреды. Напротив, нитроксилирование потоком, генерируемым аппаратом «Плазон», угнетает их, что связано с поступлением в биологическую жидкость достаточно высоких концентраций оксида азота и активных форм кислорода.

Список литературы

1. **Анохин П.К.** Теория функциональной системы как предпосылка к построению физиологической кибернетики // Сб. «Избранные труды. Кибернетика функциональных систем». М.: Медицина. 1998. С. 12-86.
2. **Граник В.Г., Григорьев Н.Б.** Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств. М.: Вузовская книга. 2004.
3. **Костюк В.А., Потапович А.И.** Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ. 2004.
4. **Мартусевич А.А., Перетягин С.П., Мартусевич А.К.** Молекулярные и клеточные механизмы действия син-



- глетного кислорода на биосистемы // Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С. 128-134.
5. **Мартусевич А.К., Камакин Н.Ф., Иванникова Е.В., Жукова Н.Э.** Характер действия физико-химических факторов на особенности структуризации сыворотки крови человека in vitro // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2012. Вып. 43. С. 112-115.
 6. **Меньщикова Е.Б. с соавт.** Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА. 2008.
 7. **Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С.** Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих. М.: Наука, 1998.
 8. Синглетно-кислородная терапия. Научно-методическое пособие / Под ред. И.З. Самосюк, Л.И. Фисенко. Киев. 2007.
 9. **Соловьева А.Г., Зимин Ю.В.** Новый способ оценки динамики метаболизма крови у больных и термической травмой // Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С. 116-117.
 10. **Судаков К.В. с соавт.** Нормальная физиология. Курс физиологии функциональных систем. М.: «Медицинское информационное агентство», 1999.
 11. **Узденский А.Б.** Клеточные-молекулярные механизмы фотодинамической терапии. М.: Наука. 2010.
 12. Nitric Oxide. Basic Research and Clinical Application / Ed. R.J. Gryglewsky, P. Minuz. Amsterdam; Berlin; Oxford; Tokyo; Washington: IOS Press. DC. 2001.

Estimation of some physical agents action on energy metabolism of human blood in vitro

A.K. Martusevich, A.G. Soloveva, S.P. Peretyagin, V.N. Mitrofanov

We tested action of oxygen, ozone (500 mcg/l), nitric oxide (800 mcg/l) and singlet oxygen on human blood specimens in vitro. Estimated parameters were lactate dehydrogenase activity, blood lactate and some special coefficients. It was stated, that blood oxygenation, ozonation or processing by singlet oxygen stimulated energy reserves, and nitroxylation depressed it.

Key words: reactive oxygen species, nitric oxide, oxidoreductases, blood lactate.

Значение гена раннего реагирования *c-fos* и продуктов его экспрессии в нейронах при различных воздействиях

С.Л. Кузнецов, М.А. Афанасьев

ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздравсоцразвития России, Москва

Контактная информация: Афанасьев Максим Александрович, am-mma@mail.ru

В статье обобщён материал исследований по изучению экспрессии гена раннего реагирования *c-fos* в клетках нервной системы и белков *c-fos*, синтез которых он инициирует в различных условиях эксперимента. Показано, в частности, участие гена и его продуктов в физиологических и патологических процессах, протекающих в отдельных структурах нервной системы.

Ключевые слова: гены раннего реагирования, мРНК *c-fos*, *c-fos*-белки, нейроапоптоз.

Активация генов раннего реагирования – один из механизмов регуляции процесса апоптоза в нервной системе. В свою очередь, нейроапоптоз как патобиохимический процесс лежит в основе многих нейродегенеративных расстройств и проявлений повреждающего влияния на нервную ткань ишемической и/или травматической природы.

Первичная реакция нейрона на апоптическое воздействие, возможно, реализуется именно генами раннего реагирования, такими как *c-fos*, *c-jun* и др. Инициирование их может рассматриваться в качестве эволюционно закреплённого механизма в ответ на повреждение. Следует отметить, что мощным (хотя и не единственным; известны, в частности, белки p53, Rb и др.) ингибитором транскрипции гена *c-fos* служит продукт его экспрессии – белок *c-fos* [31]. Это ингибирование определяется, как предполагается, сывороточным

элементом SRE [22, 30]. Известно, что *Fos*-белок содержит обогащённый положительно заряженными аминокислотами ДНК-связывающий регион и прилежащий к нему домен «лейциновой молнии», необходимый для димеризации с белками *jun*-семейства с образованием активного AP-1 фактора [9, 20].

Изучение экспрессии *c-fos* белков всё больше и больше используется в качестве средства для идентификации функциональности нервных клеток, которые являются частью специфических проводящих путей в нервной системе. Подавляющее большинство экспериментов при этом было проведено на крысах. Одним из первых, кто изучал содержание данных белков, был Е. Булитт (Е. Bullitt). В своих экспериментах он показал, что *c-fos* белки могут применяться в качестве трансинаптических маркёров нейрональной передачи импульса после стимуляции