

Проведенный анализ литературных данных показал, что именно экстремальная зависимость скорости реакции от концентрации субстрата описывает в ферментативной кинетике процесс ингибирования фермента субстратом [8].

Учитывая тот факт, что вид градуировочной зависимости изменения амплитуды силы тока от содержания гексана в кювете более ярко отражает процесс ингибирования микробных ферментов окисления алканов данным субстратом (рис.3Б), был проведен анализ величин амплитуд изменения силы тока биосенсора при окислении алканов с различной длиной углеродного скелета. Результаты позволили сделать вывод, что объем кислородзависимых превращений примерно одинаков для всех субстратов, кроме додекана и ДТ (рис. 4).

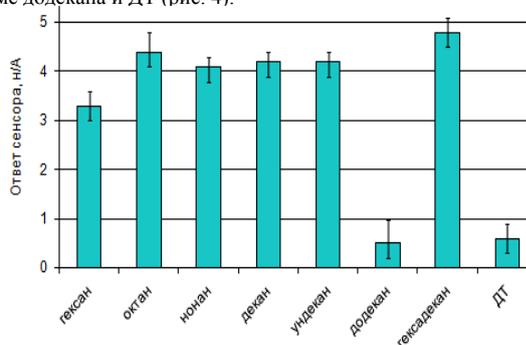


Рис. 4. Величины амплитуд изменения силы тока при введении алканов с длиной цепи C6-C16 (объем вводимого ДТ-100 мкл)

Этот факт может свидетельствовать о том, что биосенсорным способом регистрируются лишь начальные этапы метаболических превращений субстрата – окисление алкана с участием кислорода до соответствующих спирта, альдегида и карбоновой кислоты [2]. Полученные данные по закономерностям окисления алканов нормального строения с длиной цепи C6-C16 с помощью биосенсорного подхода были подтверждены ростовыми и культуральными характеристиками бактерий на данных субстратах (табл.1).

Таблица 1

Ростовые и культуральные характеристики *P.chlororaphis*PCL1391(pOV17) при выращивании в парах алканов

Субстрат	Размер колоний, мм	Интенсивность роста	Продолжительность роста, нед.
Гексан	≤ 0,1	++	1
Октан	≤ 0,1	++	1
Нонан	0,1 – 0,5	++	2
Декан	0,1 – 0,5	++	2
Ундекан	0,1 – 0,5	++	2
Додекан	< 0,1	+	1
Гексадекан	0,5 – 1,0	+++	3

Самая низкая интенсивность роста у микроорганизмов на додекане, колонии практически неразличимы. Наименьший размер колоний и длительность бактериального роста характерны и для токсичных низкомолекулярных алканов – гексана и октана.

Несмотря на своевременную замену кольцевых шлангов с алканами по мере испарения, продолжительность роста колоний штамма *P.chlororaphis*PCL1391(pOV17) на данных субстратах (кроме гексадекана) невысокая (1-2 недели). Это подтверждает сделанный ранее вывод по результатам биосенсорных измерений о том, что алканы являются недостаточными субстратами для бактерий, содержащих нафталиновую плазмиду. Самый интенсивный рост, крупные колонии и наибольшая продолжительность роста данного штамма отмечена на гексадекане, что объясняется большей энергоемкостью длинной молекулы при β-окислении.

Таким образом, использование биосенсорных технологий позволяет определить особенности окисления алканов бактериальными клетками, связанные с длиной углеродного скелета субстрата, его растворимостью, токсичностью самого алкана, а также интермедиатов его микробной трансформации.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-04-99019-р_офи.

Литература

1. Margesin R., Schinner F. // Appl. Microbiol. Biotechnol.– 1997.– Vol.47, № 4.– P.462–468.
2. Van Hamme J.D, et al. // Microbiol.Mol.Biol.Rev.– 2003.– Vol.67, № 4.– P.503–549.
3. Beyersdorf-Radeck B. et al.// Microbiol Res.– 1998.– Vol. 153, №3.– P.239–245.
4. Лагунова Н.Л. и др. // Известия ТулГУ. Серия ЕН, Вып.1.– 2007.– С.243–252.
5. Evans C., et al. // Methods in Microbiology.– 1970.– Vol.2, №4.– P.277–327.
6. Лагунова Н.Л. и др. // Известия ТулГУ. Серия Химия, Вып.6.– 2006.– С.179–188.
7. Петров А.А. Химия алканов.– М., 1986.– 394 с.
8. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика.– М.: ФАИР-ИРЕСС, 1999.– 720 с.

THE BIOSENSOR DETERMINATION OF THE CHARACTERISTICS OF MICROBIAL OXIDATION OF N-ALKANE WITH C6-C16 CHAIN LENGTH

N.L. LAGUNOVA

Summary

The method based on measurement of respiration activity of immobilized microorganisms by Clark electrode was used for assessment. The characteristics of n-alkane oxidation by *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391(pOV17), which able to degrade the hydrocarbons from crude oil, were obtained. The biosensor assessment shown, that respiration activity of microorganisms depend on n-alkane properties: length of carbonic backbone, solubility, alkane toxicity, as well as toxicity of intermediates of alkane microbial transformation.

Key words: biosensor, respiration activity, microorganisms

УДК 616/711-002

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КИНЕЗОТЕРАПИИ НА ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВЫЙ ОБМЕН И СОСТОЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ У ЛЮДЕЙ С ОСТЕОХОНДРОЗОМ ПОЗВОНОЧНИКА

Г.С. КОЗУПИЦА, В.М. ЕСЬКОВ, И.А. ВАСЕЛЬЦОВА, О.Н. БИЛЕНЬКАЯ*

Проблема остеохондроза позвоночника привлекает большое внимание отечественных и зарубежных специалистов, что обусловлено как распространенностью данного заболевания, так и полиморфизмом синдромов. Отмечается устойчивая тенденция к увеличению количества больных с этой патологией.

Ключевые слова: остеохондроз позвоночника, кинезотерапия

Ситуация осложняется рецидивами, которые возникают зачастую спустя некоторое время после лечения в стационаре [3, 10]. Сказанное связано с тем, что проведенное лечение коснулось лишь симптомов заболевания, не вторгаясь в патогенетический механизм проблемы [2, 4, 5]. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется разработке новых способов лечения и реабилитации больных с применением безмедикаментозных средств: современные физиотерапевтические методы, массаж, мануальная терапия, лечебная физическая культура, кинезотерапия [3, 8, 9].

Цель исследования – улучшение результатов лечения больных с остеохондрозом позвоночника путем разработки и внедрения в практику комплексного лечения метода кинезотерапии. В настоящем исследовании ставилась задача по выяснению влияния занятий кинезотерапией у больных с остеохондрозом позвоночника на состояние фосфорно-кальциевого обмена и минеральной плотности костной ткани.

Материал и методы. Был проведен анализ лечения 97 больных с остеохондрозом позвоночника, прошедших курс лечения в неврологическом отделении Городской клинической

* ХМАО, г. Сургут, ул. Энергетиков 14, СурГУ

больницы. Исследования проводились во время выписки и спустя пять месяцев после выписки из стационара.

Таблица 1

Ультразвуковые характеристики состояния костной ткани в экспериментальной и контрольной группах (n – количество обследованных; T – разница между МПКТ у конкретного пациента и средней величиной его у здоровых людей в возрасте 40 лет (возраст пика костной массы); Z – разница между плотностью костной ткани у конкретного пациента и теоретической МПКТ у здоровых людей того же возраста)

Группы	n	T	Z
Во время выписки из стационара			
Контрольная	62	-1,34±0,26*	-1,03±0,24
Экспериментальная	30	-1,12±0,09	-0,98±0,34
Спустя пять месяцев после выписки из стационара			
Контрольная	48	-1,68±0,14*	-1,15±0,48*
Экспериментальная	24	0,53±0,19	0,34±0,42

Примечание: * – статистическая значимость различий с экспериментальной группой при P ≤ 0,05

Таблица 2

Ультразвуковые характеристики состояния костной ткани в экспериментальной и контрольной группах (n – количество обследованных)

Группы	n	T	Z
Во время выписки из стационара			
Контрольная	62	-1,34±0,26*	-1,03±0,24
Экспериментальная	30	-1,12±0,09	-0,98±0,34
Спустя пять месяцев после выписки из стационара			
Контрольная	48	-1,68±0,14*	-1,15±0,48*
Экспериментальная	24	0,53±0,19	0,34±0,42

Примечание: * – статистическая значимость различий с экспериментальной группой при P ≤ 0,05

Пациенты были разделены на 2 группы. Контроль составили 67 человек, курс восстановительного лечения которых включал: медикаментозную терапию, физиотерапию, акупунктуру, лечебную физическую культуру, массаж, мануальную терапию. Экспериментальную группу составили 30 пациентов, у которых, осуществлялся курс лечения в условиях стационара по общепринятой методике. Однако после выписки из стационара больные проходили 5-месячный курс реабилитации с применением кинезотерапии в «Центре медицины и валеологии «ЛИТТЛ».

Минеральную плотность костной ткани (МПКТ) определяли методом ультразвуковой денситометрии пяточной кости на аппарате «Achilles+» (Zunar, USA) [11]. Определялись индексы T и Z. Здесь: T – разница между МПКТ у конкретного пациента и средней величиной его у здоровых людей в возрасте 40 лет (возраст пика костной массы); Z – разница между плотностью костной ткани у конкретного пациента и теоретической МПКТ у здоровых людей того же возраста. Диагностика МПКТ осуществлялась по рекомендациям ВОЗ на основании оценки T [1]. Статус фосфорно-кальциевого обмена оценивали по содержанию кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови, а также по уровню их экскреции с мочой натощак по отношению к экскреции креатинина. О состоянии оссификации косвенно судили по активности щелочной фосфатазы (наиболее часто используемый маркер остеогенеза), а костной резорбции – по уровню кальцийурии. Для этого определяли величину уровня кальция по отношению к экскреции креатинина. Определение этих показателей вели фотометрическим методом наборами фирмы «Human» с помощью биохимического анализатора «Screen master plus».

Денситометрию, анализ параметров фосфорно-кальциевого обмена, интерпретацию результатов вели по рекомендациям, изложенным в соответствующих работах [5]. Результаты исследования анализировались с применением современных методов статистики с использованием дескриптивного, корреляционного и регрессионного анализом. Статистические гипотезы проверялись при помощи t-критерия. Различия считались статистически значимыми при P ≤ 0,05. Обработка данных велась в среде специализированного пакета программ «Statistica» фирмы «StatSoft». Наряду с этим проводили анализ данных с позиций компарментно-кластерного подхода в рамках теории хаоса и синергетики по параметрам аттракторов вектора состояния организма человека [6, 7], базирующемся на сравнении различных кластеров, представляющих биологические динамические системы.

Результаты. В табл. 2 представлены результаты исследования ультразвуковых показателей состояния костной ткани у представителей обеих групп во время выписки из лечебного учреждения и спустя пять месяцев после выписки.

Величины показателей минеральной плотности костной ткани при выписке из стационара между группами пациентов были статистически незначимыми. Спустя пять месяцев в контрольной группе T и Z практически не изменились, а в экспериментальной – статистически значимо увеличились. При этом различия между группами пациентов также стали значимыми.

Исследование биохимических показателей костной ткани показало, что в контрольной и экспериментальной группах во время выписки из стационара величины показателей кальций-фосфорного обмена были практически одинаковыми (табл. 1).

Спустя пять месяцев содержание Са в сыворотке крови в контрольной группе стало статистически значимо меньше, чем у в экспериментальной группе. При этом в контроле был увеличен уровень Са в моче и экскреция Са с мочой по отношению к экскреции креатинина (p ≤ 0,05). Активность щелочной фосфатазы в контроле была выше, чем в экспериментальной группе. Для объяснения этих результатов был проведен корреляционный анализ. Величина минеральной плотности кости (T) у пациентов тесно взаимосвязана с содержанием Са в крови и моче (соответственно r = 0,91, p = 0,000 и r = -0,79, p = 0,000). Найденная зависимость T от концентрации Са в крови была положительной, а от концентрации Са в моче – отрицательной. Росту уровня Са в крови соответствует нормализация минеральной плотности костной ткани, а росту содержания Са в моче – снижению уровня минерализации костной ткани. Эта взаимосвязь представлена на рис. 1 и с высокой степенью значимости (R² = 0,87 и R² = 0,89 соответственно) описывается регрессионными уравнениями:

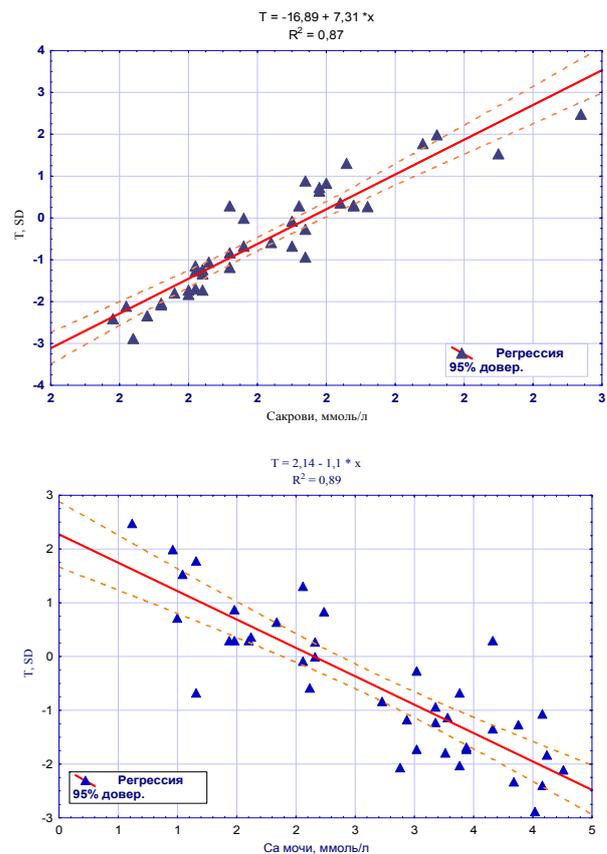


Рис. 1. Зависимость минеральной плотности кости от уровня Са в крови и моче

Таким образом, результаты корреляционного анализа позволяют квалифицировать описанные выше изменения у пациентов контрольной группы спустя 5 месяцев после выписки из стационара (уменьшение минеральной плотности костной ткани на фоне спада концентрации Са и роста концентрации неоргани-

ческого фосфора в сыворотке крови при одновременном увеличении экскреции Са с мочой по сравнению с больными, прошедшими курс физической реабилитации) как нарушения кальций-фосфорного обмена и повышенной резорбции костной ткани. Для нахождения более тонких закономерностей влияния кинезотерапии на минеральную плотность костной ткани и фосфорно-кальциевый обмен у больных остеохондрозом был поведён анализ в рамках теории хаоса и синергетики. В табл. 3, представлены результаты обработки данных аттрактора параметров вектора состояния фосфорно-кальциевого обмена и минеральной плотности костной ткани (ВСФКМП) в двух кластерах (контроль и экспериментальная группы) в 8-мерном пространстве признаков.

Таблица 3

Аттракторы параметров вектора состояния минеральной плотности и кальциевого обмена больных с остеохондрозом позвоночника в 8-мерном пространстве изучаемых признаков

	Экспериментальная группа N=17		Контрольная группа N=17	
	Интервал	Асимметрия	Интервал	Асимметрия
X0	4,58	0,01	4,41	0,06
X1	0,66	0,12	0,56	0,15
X2	0,70	0,20	0,70	0,05
X3	0,02	0,05	0,03	0,04
X4	35,0	0,14	36,0	0,08
X5	3,64	0,02	3,08	0,05
X6	5,60	0,17	132,4	0,42
X7	13,1	0,01	13,9	0,03
	rX = 4,83 vX = 454,85		rX = 55,7, vX = 9565,4	

Это фазовое пространство представлено переменными: X₀ – T (отн. ед.), X₁ – концентрация Са в крови (ммоль/л), X₂ – концентрация Р в крови (ммоль/л), X₃ – концентрация Са в моче (отн. ед.), X₄ – содержание щелочной фосфатаз (отн. ед.), X₅ – Са мочи, X₆ – концентрация Р в моче, X₇ – концентрация креатинина в моче. Аттракторы движения ВСФКМП в группах имели разные объёмы (vX) и коэффициенты асимметрии (rX) (vX в контрольной группе более чем в 20 раз превышали таковой в экспериментальной, rX – в 14 раз). При этом они имели разные области в фазовом пространстве (рис.2).

В основе механизма негативных тенденций у пациентов, не применяющих кинезотерапию в качестве средства физической реабилитации после стационарного лечения, лежит нарастание процессов хаоса в системах кальций-фосфорного обмена и минерализации костной ткани. Используя разработанные НИИ биофизики и биокриптоники при СурГУ программные продукты, мы определили расстояние между центрами аттракторов движения ВСФКМП у людей с остеохондрозом позвоночника (Z) (рис.2). Методом исключения ряда признаков выполнен системный синтез, который учитывает влияние X_i признака (параметры ВСФКМП) на величину Z (расстояние между центрами аттракторов). Наиболее значимым диагностическим признаком в фазовом пространстве ВСФКМП является Z7 (концентрация Р в моче), который характеризует процессы «вымывания» Са из организма.

Выводы. Отсутствие программ кинезотерапии в курсе физической реабилитации больных с остеохондрозом позвоночника после стационарного лечения сопряжено с нарушениями кальций-фосфорного обмена, «вымыванием» кальция из организма и ростом уровня резорбции костной ткани. Включение кинезотерапии в курс реабилитации лиц с остеохондрозом позвоночника после стационарного лечения способствует оптимизации процесса минерализации костной ткани и кальций-фосфорного обмена.

Таблица 4

Результаты анализа исключения отдельных признаков параметров аттракторов вектора состояния организма юношей, занимающихся индивидуальными видами спорта до и после физической нагрузки

Объём 1 аттрактора	Объём 2 аттрактора	Различие между объёмами аттракторов	Относительная погрешность, %	Расстояние между центрами аттракторов
Vx0=9565,3	Vy0=454,8	diff0=9110,5	R0=95,2	Z0=7,47
Vx1=2169,0	Vy1=99,3	diff1=2069,7	R1=95,4	Z1=7,40
Vx2=17081,0	Vy2=689,1	diff2=16391,8	R2=95,9	Z2=7,47
Vx3=13606,5	Vy3=649,7	diff3=12956,7	R3=95,2	Z3=7,47
Vx4=354272,9	Vy4=19775,9	diff4=334497	R4=94,4	Z4=7,47
Vx5=65,7	Vy5=12,9	diff5=252,7	R5=95,1	Z5=7,34
Vx6=3105,6	Vy6=124,9	diff6=2980,6	R6=95,9	Z6=7,47
Vx7=72,2	Vy7=81,2	diff7=8,97	R7=11,0	Z7=1,82
Vx8=688,1	Vy8=34,7	diff8=653,4	R8=94,9	Z8=7,47

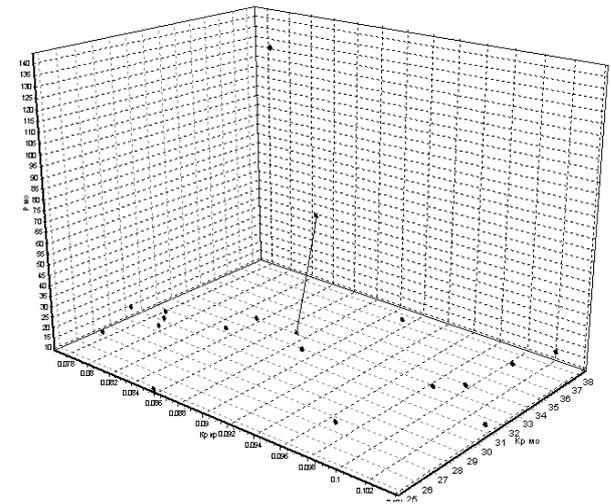
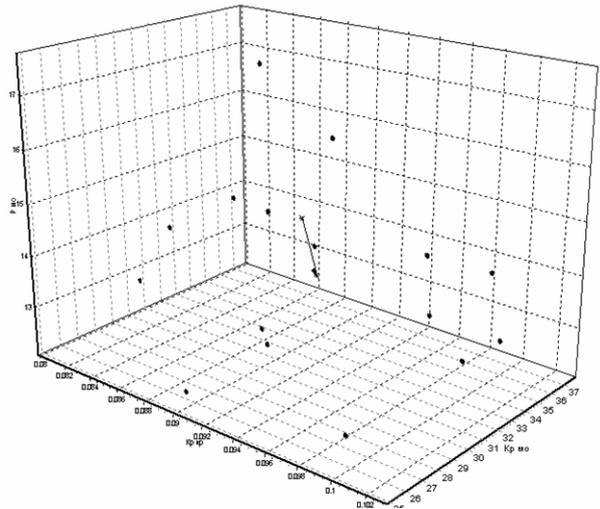


Рис.2. Экспериментальная группа – размерность фазового пространства =8
Контрольная группа – размерность фазового пространства =8

В основе негативных тенденций кальций-фосфорного обмена и увеличенной резорбции костной ткани у больных с остеохондрозом позвоночника, не выполнявших программ кинезотерапии в курсе постстационарной реабилитации, лежат процессы нарастания хаоса в фазовом пространстве параметров аттракторов ВСФКМП. Значимым диагностическим признаком при оценке кальций-фосфорного обмена является уровень Р в моче.

Литература

1. Барен Д.и др. // Остеопороз и остеопат.–1998.–№3.– С. 10.
2. Веселовский В.П. Практическая вертебровневрология и мануальная терапия.– Рига, 1991.– 341 с.
3. Девятова М. В. Лечебная гимнастика при поясничном остеохондрозе.– СПб.: Лениздат; Изд-во «Союз», 2001.– 189 с.
4. Епифанов В.А., Епифанов А.В., 2004. Остеохондроз позвоночника.– М.: МЕДпресс-информ, 2004.– 2-е издание.– 272 с.
5. Ермакова Н. // Остеопороз и остеопат.–2000.–№2.–С. 41
6. Еськов В.М. и др. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах.– 2006.– Т.5, №3.– С. 617–622.
7. Еськов В.М. и др. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах.– 2006.– Т.4, №2.– С. 239–243.
8. Иванчиц Г.А. Миофасциальная боль.–Казань,2007.–392 с
9. Иванчиц Г.А., Старосельцева Н.Г. Миофасциальный генерализованный болевой (фибриомалигический) синдром.– Казань, 2002.– 164 с.
10. Кузнецов В.Ф. Вертебровневрология: Клиника, диагностика, лечение заболеваний позвоночника.– Минск.: Книжный дом.– 2004.– 640 с.
11. Stegman M.R. et al // Osteoporosis Int.– 1995.– 5.– P. 349–353.