

На правах рукописи

РЕЧКИНА ОКСАНА ЮРЬЕВНА

**АДАПТОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХИТОЗАНА И НАНОКОМПЛЕКСА «ХИТОЗАН-  
ЗОЛОТО» В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЛУЧЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ И  
ГИПОКСИИ НА СИСТЕМУ КРОВИ КРЫС**

03.03.01- физиология

03.01.04- биохимия

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

Нижний Новгород  
2012

Работа выполнена на кафедре физиологии и биохимии человека и животных и на кафедре высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

- Научные руководители:** доктор биологических наук, профессор  
**Корягин Александр Сергеевич**  
доктор химических наук, профессор  
**Смирнова Лариса Александровна**
- Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Моничев Александр Яковлевич**  
доктор биологических наук  
**Ягин Валерий Васильевич**
- Ведущая организация:** ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздравсоцразвития России

Защита диссертации состоится: «\_\_\_\_\_» 2012г в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном университете им. Н. И. Лобачевского по адресу: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» 2012г.

Автореферат размещен на сайте ВАК РФ «\_\_\_\_\_» 2012г.

Ученый секретарь диссертационного совета:  
доцент, кандидат биол. наук

Копылова С.В

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность проблемы**

Среди экстремальных факторов детерминирующих стрессорные состояния организма человека и животных в настоящее время особо привлекают внимание ионизирующее излучение и дефицит кислорода. В этом свете актуальной является разработка новых эффективных адаптогенов с полифункциональными свойствами, обеспечивающих резистентность организма к действию радиации, гипоксии и других неблагоприятных факторов среды. Классические радиопротекторы и антигипоксантами обычно имеют кратковременное действие и выраженные побочные эффекты. В связи с этим перспективным представляется создание биопрепаратов на основе природных биологически активных веществ.

Активация процессов свободно-радикального окисления — обязательное звено в механизме действия радиации, гипоксии и других экстремальных факторов, поэтому использование веществ, способных противостоять активации свободно-радикальных процессов является необходимым условием профилактики и лечения стрессорных поражений (Барабой и др., 2006). Несомненный интерес в этом направлении исследований представляет биополимер хитозан и его комплексы с другими физиологически активными веществами — антиоксидантами, иммуномодуляторами, зоотоксинами, антигипоксантами.

Хитозан – продукт деацетилирования полисахарида хитина. Интерес к нему связан с уникальными физиологическими и экологическими свойствами, такими как биосовместимость, биодеструкция, физиологическая активность при отсутствии токсичности, доступность сырьевых источников. Хитозан способен выполнять функции иммуномодулятора, носителя лекарственных средств, проникать в межклеточное вещество (Скрябин и др., 2002; Ravi Kumar et al., 2004). Известно, что золото - индифферентный, нетоксичный металл, не оказывает повреждающего действия на структуру компонентов клеток. Наночастицы золота способны проникать в кровь при пероральном применении и оказывать антиоксидантное действие (Якимович и др., 2006). Можно полагать, что антиоксидантные свойства наноконплекса «хитозан-золото» будут выше, чем у каждого компонента в отдельности.

Система крови является интегративной системой, наиболее полно отражающей состояние и характер метаболизма всего организма. Она играет решающую роль в развитии специфических и неспецифических реакций защиты организма. Кровь легко доступна для динамического и комплексного анализа. В качестве основных индикаторных показателей типа адаптационных реакций используют лейкоцитарную формулу и лейкоцитарный коэффициент (отношение между процентным содержанием лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов). Данные параметры гомеостаза крови достаточно полно отражают состояние важнейших физиологических систем и используются в качестве критериев адаптационных реакций организма (Васильев и др., 1992; Гаркави и др., 1998).

В настоящее время имеются лишь немногочисленные исследования, посвященные изучению адаптогенных эффектов многокомпонентной наноструктурированной системы «хитозан-золото-пчелиный яд» в условиях действия экстремальных факторов среды (Корягин и др., 2006; Коновалова, 2009; Таламанова, 2010). Вместе с тем сравнительного изучения адаптогенных свойств составляющих наноконплекса (за исключением пчелиного яда) на систему крови экспериментальных животных в условиях действия повреждающих факторов среды не проводилось, что предполагает актуальность этой проблемы.

### **Цель исследования**

Анализ адаптогенных эффектов хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» в условиях гамма-облучения и гипобарической гипоксии, оцениваемого по показателям системы крови крыс.

### **Задачи исследования**

1. Изучение влияния растворов хитозана с разной молекулярной массой при курсовом пероральном применении на фоне предварительного однократного гамма-облучения экспериментальных животных в дозе 3 Гр на количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, величину лейкоцитарного коэффициента, количество клеток костного мозга, содержание продуктов перекисного окисления липидов и показатели биохемилюминесценции для выявления его формы с наиболее выраженной физиологической активностью.

2. Изучить радиопротекторную эффективность хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» при курсовом пероральном применении перед однократным гамма-облучением лабораторных животных в дозе 5 Гр, оцениваемую по показателям периферической крови, красного костного мозга и активности свободно-радикальных процессов.

3. Исследовать адаптогенные эффекты хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» на систему крови при курсовом пероральном введении после однократного гамма-облучения экспериментальных животных в дозе 5 Гр.

4. Изучить антигипоксические свойства хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» при предварительном курсовом пероральном применении в условиях моделирования гипобарической гипоксии, оцениваемых по показателям системы крови, интенсивности свободно-радикальных процессов и активности лактатдегидрогеназы.

### **Научная новизна исследования**

Впервые показано, что профилактическое пероральное введение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» перед однократным гамма-облучением лабораторных животных приводит к развитию состояния радиорезистентности системы крови.

Впервые установлено, что пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» на фоне предварительного повреждающего действия гамма-облучения оказывает адаптогенное действие, переводя организм из состояния стресса в состояние близкое к норме.

Впервые выявлено, что предварительное пероральное курсовое введение лабораторным животным хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» в условиях гипобарической гипоксии, сопровождается снижением интенсивности процессов перекисного окисления липидов, нормализацией активности одного из ключевых ферментов энергетического обмена - лактатдегидрогеназы.

Установленные адаптогенные эффекты наноконплекса «хитозан-золото» выражены более значимо по сравнению с хитозаном как при действии радиации, так и гипоксии.

### **Научно-практическая значимость**

Полученные результаты расширяют представления о физиологических и биохимических механизмах адаптации в условиях действия радиации и гипоксии при применении биологически активных веществ. Выявленные адаптогенные свойства хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» в условиях моделирования лучевой болезни и гипобарической гипоксии дополняют знания о молекулярных механизмах ответа организма на возникающий окислительный стресс. Обнаруженные радиопротекторные и антигипоксические эффекты хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» открывают перспективу их применения с целью создания многокомпонентных систем с другими физиологически-активными веществами как полифункциональных адаптогенов.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Профилактическое пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» перед однократным гамма-облучением лабораторных животных в дозе 5 Гр снижает повреждающее действие радиации на систему крови.

2. Курсовое пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото»

экспериментальным животным после однократного гамма-облучения в дозе 5 Гр оказывает положительный адаптогенный эффект, переводя организм из состояния стресса в состояние устойчивой активации.

3. Профилактическое курсовое пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» повышает устойчивость системы крови животных к гипобарической гипоксии, снижая интенсивность процессов ПОЛ, уменьшая активность лактатдегидрогеназы.

4. Адаптогенные эффекты наноконплекса «хитозан-золото» в условиях действия неблагоприятных факторов среды выражены более явно по сравнению с хитозаном.

### **Апробация работы**

Результаты работы были доложены и обсуждены на XVI и XVIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2009, 2011); на 14 и 15 Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2010, 2011); European polymer congress (Gras, Austria, 2009); на III Всероссийском, с международным участием, конгрессе студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз Россия 2010» (Нижний Новгород, 2010); на X научной сессии молодых ученых и студентов «Современное решение актуальных научных проблем в медицине» (Нижний Новгород, 2011); на VI российской конференции с международным участием «гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2011); на III научно-практическом симпозиуме «Свободнорадикальная медицина и антиоксидантная терапия» (Волгоград, 2010); на XVI Международной экологической студенческой конференции "Экология России и сопредельных территорий" (Новосибирск, 2011).

По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 2 — в изданиях, рекомендованных ВАК. (1 работа принята к печати в журнале из перечня ВАК «Перспективные материалы»).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа в объеме \_\_\_ страниц содержит главы: обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы. Диссертация иллюстрирована \_\_\_ таблицами, \_\_\_ рисунками.

Библиографические указания включают \_\_\_ литературных источника

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа была проведена на 126 нелинейных крысах самцах массой 200 – 250 г, выращенных в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде, а также естественном чередовании суточной освещенности.

Было проведено 4 серии экспериментов в опытах *in vivo*. Общее распределение животных по сериям представлено в табл.1. Задачей первой серии экспериментов было исследование адаптогенных свойств хитозана с различной молекулярной массой и его олигомера при курсовом пероральном введении на фоне предварительного гамма-облучения с целью выбора наиболее эффективной формы хитозана. Животные подвергались общему однократному гамма-облучению в дозе 3,0 Гр (мощность облучения - 1 Гр/мин), вызывающему костномозговую форму лучевой болезни легкой степени тяжести (Ярмоненко, Вайнсон, 2007). В течение 7 дней животным вводили растворы высокомолекулярного хитозана в дозе 100 мг/кг с молекулярной массой 130 кДа, 230 кДа, смесь (4 кДа + 130 кДа) и его олигомера (4 кДа), предоставленные кафедрой высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета ННГУ им. Н. И. Лобачевского. Хитозан в исследуемых растворах вводили крысам в количестве 1 мл перорально с помощью зонда периодичностью 1 раз в сутки, первый раз - через 2 часа после облучения. Кровь для анализа забирали из подъязычной вены на 1-е, 14 и 28-е сутки после окончания введения препаратов, что соответствовало 8, 21 и 35 суткам после облучения. Выбор этапов забора крови был

обусловлен тем, что эти периоды характеризуются типичными для системы крови реакциями на курсовое введение адаптогенов (Горизонтов и др., 1983; Гаркави и др., 2003). В крови определяли количество лейкоцитов, а также индикаторные показатели: количество сегментоядерных нейтрофилов, количество лимфоцитов и значение лейкоцитарного коэффициента (отношение процента лимфоцитов к относительному содержанию сегментоядерных нейтрофилов), значение которого снижается при стрессе и увеличивается при устойчивой активации (Гаркави и др., 1998), содержание продуктов ПОЛ и интенсивность процессов СРО методом биохемилюминесценции. На 28 сутки дополнительно осуществляли подсчет общего количества клеток красного костного мозга в бедренной кости.

Таблица 1

**Общее количество экспериментальных животных и их распределение по сериям**

Серии исследований	Доза $\gamma$ -облучения, Гр	Количество животных
Изучение адаптогенных свойств хитозана с разной молекулярной массой при курсовом пероральном введении на фоне предварительного $\gamma$ -облучения, оцениваемых по показателям периферической крови, красного костного мозга и активности свободно-радикальных процессов для отбора наиболее эффективной формы хитозана.	3,0	36
Исследование профилактического радиопротекторного действия хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» при однократном общем $\gamma$ -облучении на показатели периферической крови и свободно-радикальные процессы в плазме крови.	5,0	30
Изучение адаптогенных эффектов хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» на систему крови при курсовом пероральном введении после однократного $\gamma$ -облучения экспериментальных животных.	5,0	30
Изучение антигипоксических свойств хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» к действию гипобарической гипоксии по показателям белой и красной крови, интенсивности свободнорадикального окисления и активности лактатдегидрогеназы.	-	30
Общее количество животных		126

Во второй серии экспериментов проводили сравнительное исследование радиозащитных эффектов хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» при однократном общем гамма-облучении. Растворы наноконплекса и хитозана были получены по методике Л. А. Смирновой и др. (2005) и предоставлены кафедрой высокомолекулярных соединений и коллоидной химии химического факультета ННГУ им. Н. И. Лобачевского. Хитозан использовали с молекулярной массой 130 кДа и степенью деацетилирования 0,82 в дозе 100 мг/кг. Наночастицы золота получали в растворе хитозана при УФ-индуцированном восстановлении золотохлористоводородной кислоты. Вводимая доза золота составляла 0,5

мг/кг. Средний размер наночастиц золота в нанокompозите находился в пределах 5-10 нм. Система сохраняла устойчивость не менее 3 месяцев (Якимович, 2006). Хитозан в составе нанокompозита выполняет восстановительную и стабилизирующую функцию (Якимович, 2008). Растворы (нанокompлекс, хитозан, физ. раствор) вводили с периодичностью 1 раз в сутки в течение 7 дней. Так как через неделю после окончания введения «препаратов» происходит развитие реакции активации (Корягин и др., 2006), через 7 дней после окончания введения растворов животные подвергались общему однократному гамма-облучению в дозе 5,0 Гр, вызывающей развитие костномозговой формы лучевой болезни средней степени тяжести (мощность облучения - 1 Гр/мин) на терапевтической установке АГАТ-С (Co<sup>60</sup>) на базе Нижегородского городского онкологического диспансера. Изменение состояния основных показателей крови (количество лейкоцитов, лейкоцитарная формула, значение лейкоцитарного коэффициента, количество эритроцитов и концентрация гемоглобина), содержание продуктов ПОЛ и интенсивность процессов СРО определяли на 1, 14 и 28 сутки после облучения. На 28 сутки вели подсчет общего количества клеток костного мозга экспериментальных животных. В качестве индикаторных показателей характеризующих функциональное состояние организма (стресс, активация, тренировка) были выбраны параметры системы крови – лейкоцитарная формула и лейкоцитарный коэффициент.

Задачей третьей серии экспериментов было сравнительное исследование адаптогенных свойств хитозана и нанокompлекса «хитозан-золото» при курсовом пероральном применении в условиях предварительного гамма-облучения. Животные подвергались общему однократному гамма-облучению в дозе 5,0 Гр. Хитозан и нанокompлекс «хитозан-золото» вводили крысам в количестве 1 мл перорально с помощью зонда периодичностью 1 раз в сутки. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же количестве, введение проводили в течение 7 суток, начиная через 2 часа после облучения. Кровь для анализа забирали из подъязычной вены на 1-е, 14 и 28-е сутки после окончания терапии, что соответствовало 8, 21 и 35 суткам после облучения. Выбор этапов забора крови был обусловлен тем, что эти периоды характеризуются типичными для системы крови реакциями на курсовое введение адаптогенов (Горизонтов и др., 1983; Гаркави и др., 2003). В крови определяли количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, лейкоцитарный коэффициент, содержание продуктов ПОЛ и интенсивность процессов СРО. На 28 сутки осуществляли подсчет общего количества клеток красного мозга.

В четвертой серии экспериментов при сравнительной оценке антигипоксических свойств хитозана и нанокompлекса «хитозан-золото» исследуемые растворы (хитозан, нанокompлекс, физиологический раствор) вводили в течение 7 суток с периодичностью 1 раз в сутки перорально при помощи зонда в объеме 1 мл. Животные подвергались действию гипобарической гипоксии (8000м над уровнем моря, 30 минут) через неделю после окончания курса введения «препаратов». На следующие сутки определяли показатели белой и красной крови, содержание продуктов ПОЛ, интенсивность процесса СРО методом биохемилюминесценции и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ).

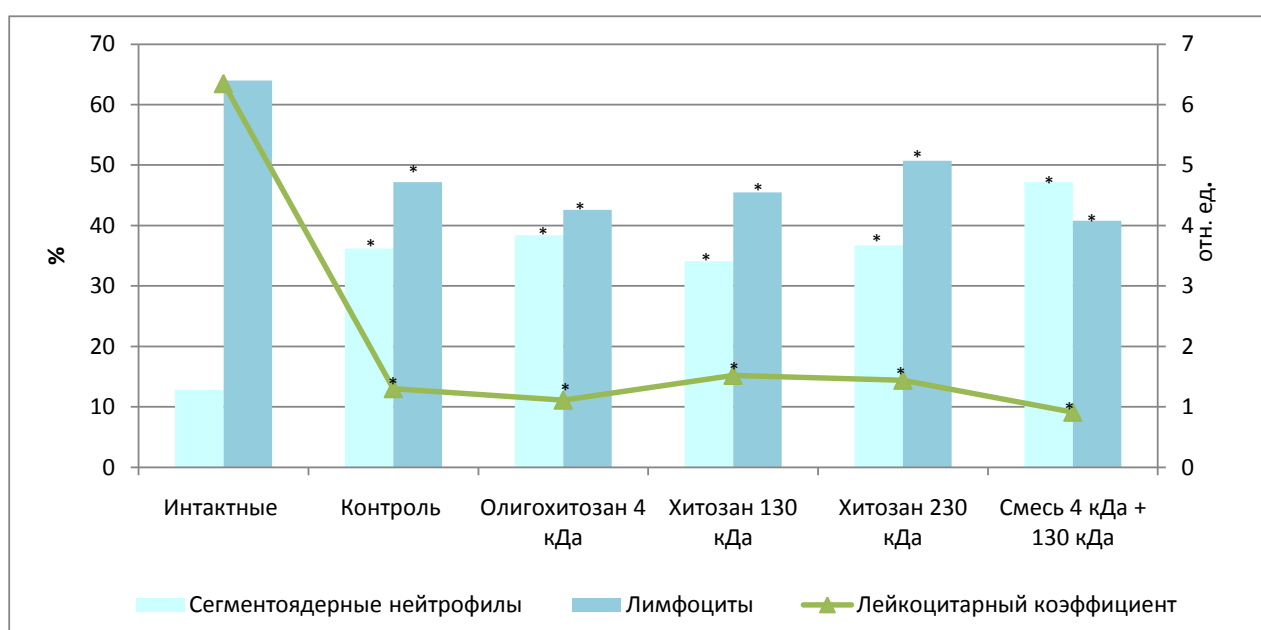
Количество лейкоцитов определяли с помощью камеры Горяева (Ронин, Старобинец, 1989). Определение лейкоцитарной формулы - общепринятым методом с окраской мазков по Романовскому – Гимзе (Козинец, Макаров, 1998). Подсчет общего количества клеток костного мозга в бедренной кости — методом П. Д. Горизонтова (1983). Подсчет числа эритроцитов – фотоэлектроколориметрическим методом (Меньшиков и др., 1987); концентрацию гемоглобина - стандартным гемиглобинцианидным методом (Меньшиков и др., 1987). Активность ЛДГ определяли по Кочетову (1971). Продукты ПОЛ (диеновые, триеновые конъюгаты, основания Шиффа) — в гептан-изопропанольных фракциях (Волчегорский и др., 1989). Интенсивность свободнорадикального окисления — методом индуцированной биохемилюминесценции (БХЛ) (Кузьмина и др., 1983).

Результаты исследований статистически обрабатывали с помощью программы BIOSTAT. Независимые выборки сравнивали с помощью непараметрических критериев Крускала-Уоллиса и Ньюмена-Кейлса (Гланц, 1999).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Изучение адаптогенной эффективности растворов хитозана с различной молекулярной массой при курсовом пероральном применении после однократного гамма-облучения в дозе 3 Гр

Изучение адаптогенной эффективности растворов хитозана с различной молекулярной массой на систему крови облученных животных при курсовом применении после однократного гамма-облучения в дозе 3 Гр, вызывающего костно-мозговую форму лучевой болезни легкой степени тяжести, показало, что на 1 сутки после окончания введения растворов хитозана в опытных и контрольной группах наблюдался сегментоядерный нейтрофилез, лимфопения и снижение лейкоцитарного коэффициента по отношению к интактным животным. Это свидетельствовало, что облучение животных приводило их в состояние стресса (Гаркави, 1990; Барабой, 2006) (рис. 1).



**Рис. 1.** Значения индикаторных показателей крови крыс на 1 сутки после окончания перорального введения растворов хитозана в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 3 Гр

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным.

Через 2 недели после окончания курса введения растворов хитозана облученные животные еще не вышли из состояния стресса.

На 28 сутки исследуемые показатели крови у опытной группы «хитозан 130 кДа» статистически значимо не отличались от интактных крыс. Это может свидетельствовать с большей долей вероятности о завершении процессов выхода животных данной группы из состояния стресса и переход к состоянию близкому к норме. В других группах исследуемые показатели отличались от интактных животных.

Общее количество клеток костного мозга в группе «хитозан 130 кДа» приближается к показателю интактных животных, что, возможно, обусловлено интенсивными репаративными процессами протекающими в пораженном костном мозге, в остальных экспериментальных группах данный показатель статистически значимо ниже ( $p < 0.05$ ) значений интактных животных (табл. 1), что служит констатацией более низкой скорости



восстановительных процессов. Таким образом, показатели системы крови служат доказательством того, что наиболее выраженным адаптогенным эффектом обладает хитозан с молекулярной массой 130 кДа, по сравнению с другими формами хитозана.

Таблица 2

**Значения индикаторных показателей крови крыс и общее количество кровяных клеток костного мозга на 28 сутки после окончания перорального введения растворов хитозана в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 3 Гр**

Группа	Сегментоядерные нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Лейкоцитарный коэффициент	Общее кол-во клеток костного мозга, $\times 10^6$ кл/л
Интактные	13,7 $\pm$ 0,88	72,0 $\pm$ 4,04	5,30 $\pm$ 0,61	17,0 $\pm$ 0,72
Контроль	27,6 $\pm$ 2,73*	53,6 $\pm$ 4,59*	2,06 $\pm$ 0,37	5,57 $\pm$ 0,81*
Олигохитозан 4 кДа	18,8 $\pm$ 3,53*#	57,0 $\pm$ 3,5*	3,65 $\pm$ 0,91	7,58 $\pm$ 1,18*
Хитозан 130 кДа	15,5 $\pm$ 2,25#	71,0 $\pm$ 2,67#	5,28 $\pm$ 1,06	15,3 $\pm$ 1,26#
Хитозан 230 кДа	21,3 $\pm$ 3,98*	59,2 $\pm$ 5,01*	3,5 $\pm$ 0,88	2,08 $\pm$ 0,36*#
Смесь 4 кДа + 130 кДа	25,7 $\pm$ 3,66*	53,7 $\pm$ 4,15*	2,35 $\pm$ 0,39	2,33 $\pm$ 0,43*#

Примечание: статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Действие ионизирующего излучения на организм увеличивает активность свободно-радикальных процессов. Показатели биохимилуминесценции на 1 сутки подтверждают увеличение максимальной интенсивности процессов ПОЛ в опытных и контрольной группах относительно группы «интактные». Суммарный показатель активности ПОЛ и АОС в данных группах также выше интактных животных (табл. 3).

На 28 сутки значения свободно-радикального окисления в опытной группе «хитозан 130 кДа» достигли уровня интактных животных, в отличие от других исследуемых групп, что свидетельствует о более выраженном антиоксидантном действии хитозана с молекулярной массой 130 кДа (табл. 3).

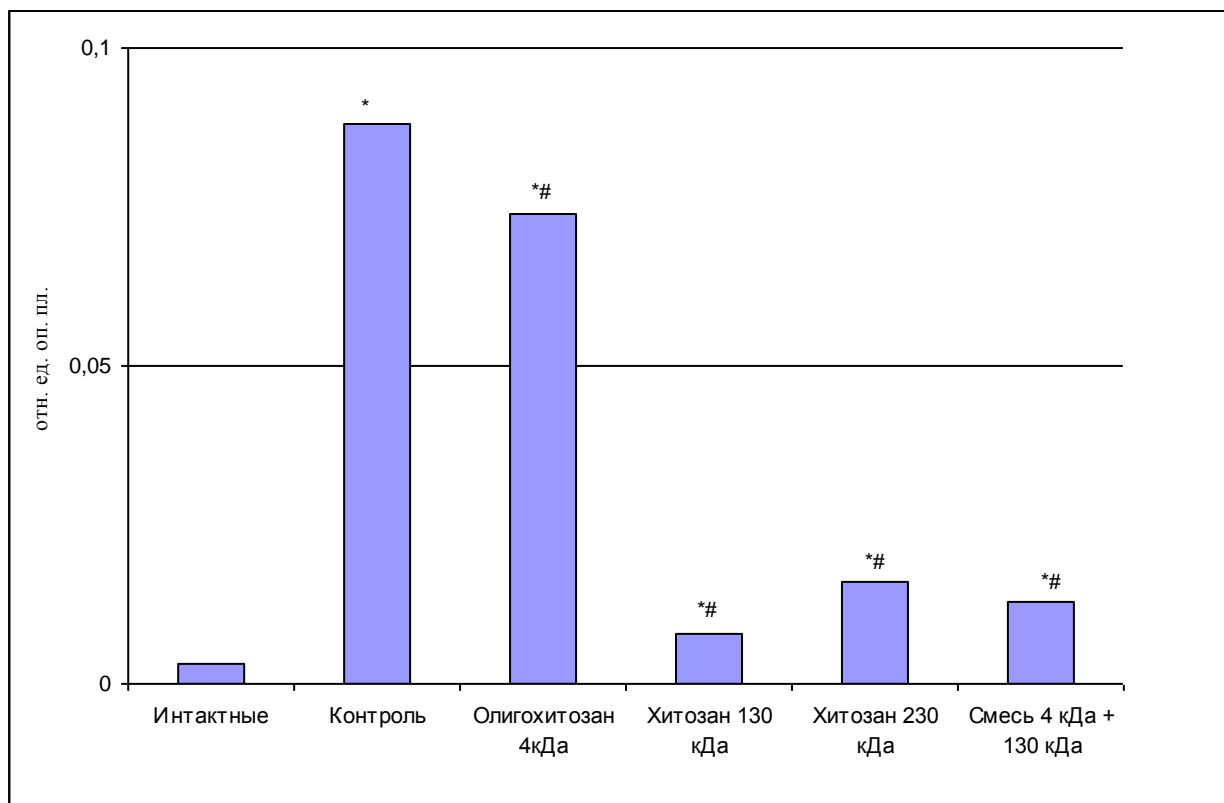
Таблица 3

**Показатели биохимилуминесценции плазмы крови крыс на 1 и 28 сутки после окончания перорального введения растворов хитозана в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 3 Гр**

Сутки	1 сутки		28 сутки	
	I max (mV)	S (за 30 сек)	I max (mV)	S (за 30 сек)
Интактные	375,7 $\pm$ 57,9	2070 $\pm$ 194,6	247,8 $\pm$ 67,2	2694 $\pm$ 98,1
Контроль	602,1 $\pm$ 43,5*	3740 $\pm$ 217,3*	581,5 $\pm$ 58,9*	4181 $\pm$ 124,3*
Олигохитозан	791,5 $\pm$ 63,9*#	4020 $\pm$ 186,0*	543,1 $\pm$ 38,4*	3982 $\pm$ 115,7*
Хитозан 130 кДа	600,7 $\pm$ 45,0*	3294 $\pm$ 190,8*	343,8 $\pm$ 41,7#	2865 $\pm$ 109,3#
Хитозан 230 кДа	750,3 $\pm$ 35,3*	4378 $\pm$ 243,2*	377,4 $\pm$ 38,9#	3201 $\pm$ 89,9*#
Смесь	674,5 $\pm$ 15,0*	3973 $\pm$ 155,4*	408,2 $\pm$ 18,8#	3751 $\pm$ 96,6*#

Примечание: статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Содержание продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов, оснований Шиффа) на 1 сутки во всех исследуемых группах было статистически значимо выше ( $p < 0.05$ ) показателей интактных животных, что еще раз говорило об усилении процессов пероксидации. Однако к 14 суткам содержание первичных и конечных продуктов ПОЛ в группе получавшей хитозан с Мг 130 кДа снижалось, таким образом так проявлялось его антиоксидантное действие. Такая тенденция наблюдалась и на 28 сутки после окончания курсового введения растворов хитозана. Показатели активности ПОЛ диеновые и триеновые конъюгаты не являются стойкими соединениями, быстро метаболизируют в основания Шиффа, поэтому уровень последних является наиболее информативным. Содержание оснований Шиффа в группе «хитозан 130 кДа» достоверно не отличается от значений интактных животных ( $p > 0.05$ ) (рис. 2).



**Рис. 2.** Содержание оснований Шиффа в плазме крови крыс на 28 сутки после окончания перорального введения растворов хитозана в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 3 Гр.

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Проведенные исследования по изучению адаптогенных и антиоксидантных свойств растворов хитозана с различной молекулярной массой (4 кДа-230 кДа) на систему крови при действии ионизирующей радиации на организм животных показывают, что раствор хитозана с молекулярной массой 130 кДа проявляет наиболее выраженные адаптогенные и антиоксидантные эффекты, приближая показатели крови к значениям интактных животных, и снижая активность свободно-радикального окисления. Это послужило основой для его дальнейшего использования в составе наноконцентра «хитозан-золото».

## Сравнительное изучение радиопротекторной эффективности хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» при его профилактическом курсовом применении при однократном гамма-облучении лабораторных животных в дозе 5 Гр

На следующие сутки после однократного гамма-облучения отмечалось снижение количества лейкоцитов во всех исследуемых группах относительно интактных животных, особенно в группе «контроль», что указывало на сильное повреждающее действие радиации на систему крови.

Происходило также статистически значимое ( $p < 0.05$ ) снижение количества лимфоцитов и лейкоцитарного коэффициента в опытных и контрольной группах относительно интактных животных, и статистически значимое ( $p < 0.05$ ) увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов. Эти показатели подтверждали, что гамма-облучение животных сопровождается развитием стресса, а адаптогенные эффекты исследуемых растворов еще не проявляются (табл. 4). Следует указать, что количество выживших лейкоцитов в группах получавших хитозан и наноконплекс было выше, чем в контроле, это свидетельствовало об определенном защитном действии «препаратов» на систему крови.

Таблица 4

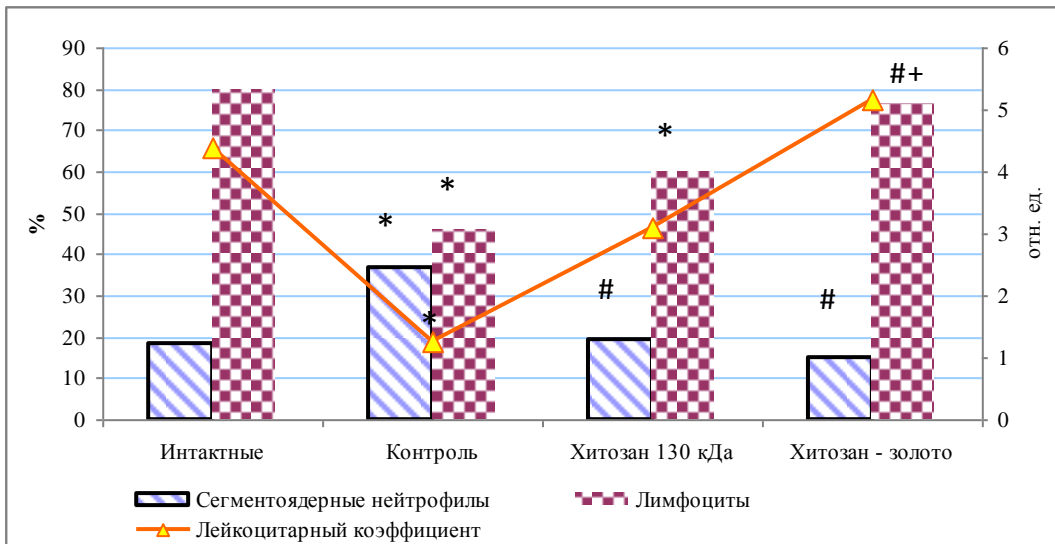
**Количество лейкоцитов и значения индикаторных показателей крови крыс на 1 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 5 Гр при профилактическом пероральном введении хитозана и наноконплекса хитозан-золото**

Группа	Кол-во лейкоцитов, $\times 10^9$ /л	Сегментоядерные нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Лейкоцитарный коэффициент
Интактные	14,1 $\pm$ 1,64	21,2 $\pm$ 2,64	65,6 $\pm$ 5,92	3,6 $\pm$ 1,32
Контроль	3,1 $\pm$ 0,33*	63,2 $\pm$ 4,2*	20,5 $\pm$ 4,8*	0,32 $\pm$ 0,04*
Хитозан 130 кДа	7,58 $\pm$ 0,62*#	48,4 $\pm$ 2,9*	20,1 $\pm$ 4,6*	0,42 $\pm$ 0,08*
Хитозан - золото	9,64 $\pm$ 0,44*#	55,5 $\pm$ 3,61*	11,6 $\pm$ 1,51*#	0,2 $\pm$ 0,03*

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

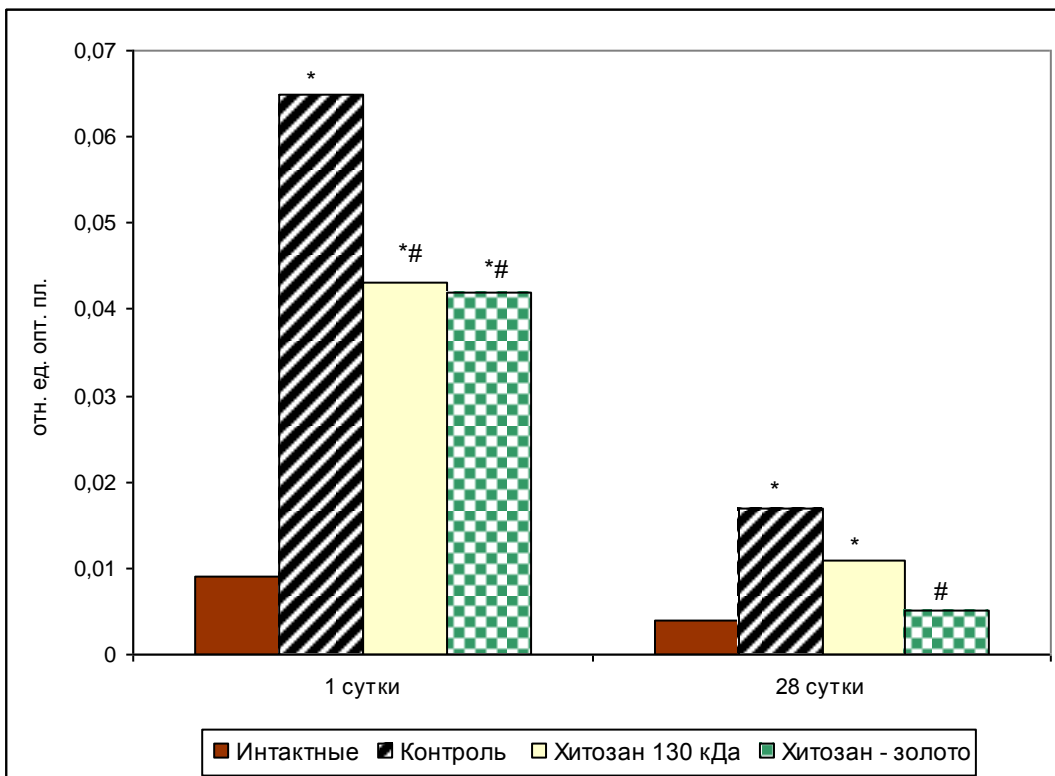
На 28 сутки животные контрольной группы все еще находились в состоянии стресса. У крыс получавших раствор хитозана с молекулярной массой 130 кДа и наноконплекс наблюдалось статистически значимое увеличение количества лимфоцитов, лейкоцитарного коэффициента и уменьшение количества сегментоядерных нейтрофилов относительно показателей контроля и приближение данных параметров к значениям интактных животных. Это служило доказательством того, что животные данных групп вышли из состояния стресса (рис. 3).

Показатели 28 суток (количество лимфоцитов, величина лейкоцитарного коэффициента) у опытной группы получавшей наноконплекс статистически значимо отличаются от значений группы получавшей хитозан, это с большей долей вероятности позволяет утверждать, что адаптогенный эффект наноконплекса более выражен по сравнению с раствором хитозана. Можно полагать, что защитное действие наноконплекса определяется не только хитозаном, но во многом и золотом.



**Рис. 3.** Количество лейкоцитов и значения индикаторных показателей крови крыс на 28 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 5 Гр при профилактическом пероральном введении хитозана и наноконплекса хитозан-золото

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.



**Рис. 4.** Содержание оснований Шиффа в плазме крови крыс на 1 и 28 сутки после однократного гамма-облучения в дозе 5 Гр при профилактическом пероральном введении хитозана и наноконплекса хитозан-золото

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Радиооблучение сопровождается увеличением активности свободно-радикальных процессов. На 1 сутки после гамма-облучения содержание первичных и конечных продуктов

ПОЛ в плазме крови у всех исследуемых групп было статистически значимо выше относительно группы «интактные». Это указывало на то, что облученные животные находятся в состоянии окислительного стресса. Однако на 14 сутки в опытной группе получавшей наноконкомплекс отмечается статистически значимое уменьшение содержания диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа по отношению к контрольной группе. На 28 сутки содержание оснований Шиффа в группе получавшей хитозан, было ниже, чем в контроле (снижение процессов перекисного окисления липидов), а в опытной группе получавшей наноконкомплекс приближается к значению интактных животных, что может свидетельствовать о нормализации процессов пероксидации в организме (рис.4).

Восстановление показателей периферической крови, уменьшение продуктов ПОЛ у животных опытных групп, получавших раствор хитозана и наноконкомплекс «хитозан-золото» свидетельствует о радиозащитных свойствах как хитозана, так и наноконкомплекса.

Результаты проведенного анализа также показали, что адаптогенные эффекты более выражены у наноконкомплекса «хитозан-золото», чем у хитозана, что может быть связано с высокой антирадикальной активностью наночастиц золота.

### **Сравнительное изучение адаптогенной эффективности хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото» при курсовом пероральном применении после однократного гамма-облучения в дозе 5 Гр**

При сравнительном изучении адаптогенной эффективности хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото» на фоне предварительного повреждающего действия радиации установлено, что на 1 сутки после окончания его курсового перорального применения облученным животным количество лейкоцитов в исследуемых группах было статистически значимо ниже по отношению к интактным животным. Наблюдалось существенное ( $p < 0.05$ ) снижение количества лимфоцитов и лейкоцитарного коэффициента во всех группах относительно интактных животных, а также достоверное ( $p < 0.05$ ) увеличение сегментоядерных нейтрофилов, это указывает на то, что облученные животные в начальный период после окончания курса введения «препаратов» продолжают находиться в состоянии стресса, а адаптогенный эффект веществ еще не проявляется. Это, по всей видимости, связано с тем, что реакция активации начинает формироваться через 1 неделю после окончания введения исследуемых соединений.

На 28 сутки показатели периферической крови (количество лимфоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, лейкоцитарный коэффициент) у животных опытных групп, получавших раствор хитозана и наноконкомплекс «хитозан-золото» статистически значимо не отличались от показателей интактных животных.

Наиболее чувствительной к повреждающему действию радиации является система кроветворения, поэтому ее показатели являются наиболее информативными. Количество клеток красного костного мозга у контрольных животных было в 3,25 раза ниже, чем в группе «интактные» - репарационные процессы в данной группе еще не завершились. У животных получавших раствор хитозана количество клеток костного мозга ниже, чем у интактных крыс (в 1,8 раза), но выше, чем в контроле. По всей видимости, восстановительные процессы у этих животных еще не завершились, но адаптогенный эффект хитозана наблюдается. У животных получавших наноконкомплекс данный показатель был статистически значимо выше значений контроля и находился на уровне интактных животных (табл. 5).

Содержание первичных и конечных продуктов ПОЛ на 1 сутки после проведенного курса «терапии» в контрольной и опытных группах было статистически значимо выше, чем у интактных животных. Это дополнительно подтверждало, что животные данных групп находятся в состоянии окислительного стресса.

Таблица 5

**Количество лейкоцитов, значения индикаторных показателей крови крыс и общее количество кроветворных клеток костного мозга в бедренной кости на 28 сутки после окончания курсового применения хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» на фоне предварительного гамма-облучения в дозе 5 Гр**

Группы	Сегментоядерные нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Лейкоцитарный коэффициент	Количество лейкоцитов, $\times 10^9$ /л	Общее количество клеток костного мозга, $\times 10^6$ кл
Интактные	19,4 $\pm$ 0,81	61,0 $\pm$ 1,14	3,14 $\pm$ 1,4	8,96 $\pm$ 0,8	14,9 $\pm$ 1,9
Контроль	62,54 $\pm$ 2,63*	19,86 $\pm$ 1,95*	0,74 $\pm$ 0,32*	4,84 $\pm$ 0,3*	4,58 $\pm$ 2,4*
Хитозан 130 кДа	20,41 $\pm$ 3,95#	67,85 $\pm$ 3,61#	3,32 $\pm$ 0,91#	5,24 $\pm$ 0,4*	8,1 $\pm$ 3,25*
Хитозан-золото	16,89 $\pm$ 2,73#	69,42 $\pm$ 1,64#	4,11 $\pm$ 0,6#	9,08 $\pm$ 0,19#+	12,9 $\pm$ 2,3#

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю; + -  $p < 0.05$  по отношению к группе «хитозан 130 кДа».

На 28 сутки у животных контрольной группы содержание первичных и конечных продуктов ПОЛ было статистически значимо выше, чем у интактных животных. Необходимо отметить, что уровень продуктов ПОЛ в опытных группах был статистически значимо ниже, чем в контроле и статистически значимо, за исключением диеновых конъюгатов, не отличается от интактных животных, что указывает на более низкую интенсивность процессов пероксидации, чем в контрольной группе (табл.6).

Таблица 6

**Содержание продуктов ПОЛ в плазме крови крыс на 28 сутки после окончания перорального введения хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 5 Гр**

Группа	Диеновые конъюгаты, отн. ед. оп. пл.	Триеновые конъюгаты, отн. ед. оп. пл.	Основания Шиффа, отн. ед. оп. пл.
Интактные	0,203 $\pm$ 0,002	0,042 $\pm$ 0,005	0,043 $\pm$ 0,011
Контроль	0,358 $\pm$ 0,007*	0,289 $\pm$ 0,016*	0,138 $\pm$ 0,045*
Хитозан 130 кДа	0,167 $\pm$ 0,006*#	0,054 $\pm$ 0,004#	0,098 $\pm$ 0,006#
Хитозан-золото	0,152 $\pm$ 0,0008*#	0,031 $\pm$ 0,003#	0,095 $\pm$ 0,008#

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Статистически значимых отличий в содержании продуктов ПОЛ между группами, получавшими хитозан и наноконкомплекс, выявлено не было.

Показатели биохемилюминесценции (максимальная интенсивность процессов ПОЛ, светосумма S) через 28 суток после окончания введения «препаратов» в контрольной группе и группе получавшей раствор хитозана были статистически значимо выше, чем у интактных животных. У животных опытной группы получавшей наноконкомплекс значения I<sub>max</sub> и S не имели статистически значимых отличий от значений интактных животных. Это свидетельствует о нормализации активности свободно-радикального окисления в опытной группе получавшей наноконкомплекс «хитозан-золото» и его высокой антирадикальной эффективности (табл.7).

Таблица 7

**Показатели индуцированной биохемилюминесценции плазмы крови крыс через 28 суток после окончания перорального введения хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото» в условиях предварительного гамма-облучения в дозе 5 Гр**

Группы	I <sub>max</sub> , имп/сек	S, за 30 сек
Интактные	241,1 ± 16,1	1735,0 ± 189,3
Контроль	291,6 ± 23,8*	2446,0 ± 189,0*
Хитозан 130 кДа	283,4 ± 30,5*	1896,7 ± 79,3*#
Хитозан-золото	235,8 ± 21,6	1698,9 ± 125,6#

Примечание: статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Анализ показателей периферической крови, биохемилюминесценции, продуктов ПОЛ свидетельствует, что хитозан и наноконкомплекс обладают адаптогенной эффективностью, статистически значимых отличий между данными группами обнаружено не было. У наноконкомплекса более выражен адаптогенный эффект – количество лейкоцитов и клеток костного мозга на уровне интактных животных.

**Сравнительное изучение антигипоксических свойств хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото» при предварительном курсовом применении в условиях гипобарической гипоксии**

Моделирование состояния гипобарической гипоксии (условная высота 8000 м) проводили на 7 сутки после окончания курса введения хитозана и наноконкомплекса. На следующие сутки после гипоксии было выявлено, что в контрольной группе наблюдалась лимфопения, сегментоядерный нейтрофилез и снижение лейкоцитарного коэффициента относительно интактных крыс (табл.8).

Таблица 8

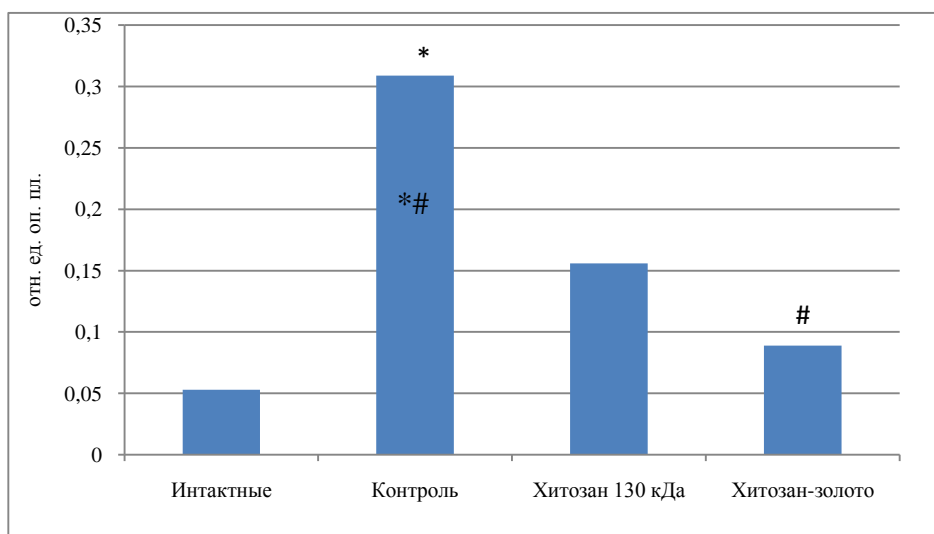
**Лейкоцитарная формула и лейкоцитарный коэффициент в крови крыс при моделировании гипобарической гипоксии после окончания перорального введения хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото»**

Группы животных	Сегментоядерные нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Лейкоцитарный коэффициент
Интактные	20,2 ± 1,16	61,6 ± 2,19	3,05 ± 0,14
Контроль	49,8 ± 2,61*	41,1 ± 2,2*	0,82 ± 0,10*
Хитозан 130 кДа	26,5 ± 0,87#	56,8 ± 1,5#	2,15 ± 0,10
Хитозан-золото	23,4 ± 1,03#	58,8 ± 2,35#	2,55 ± 0,20

Примечание: статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

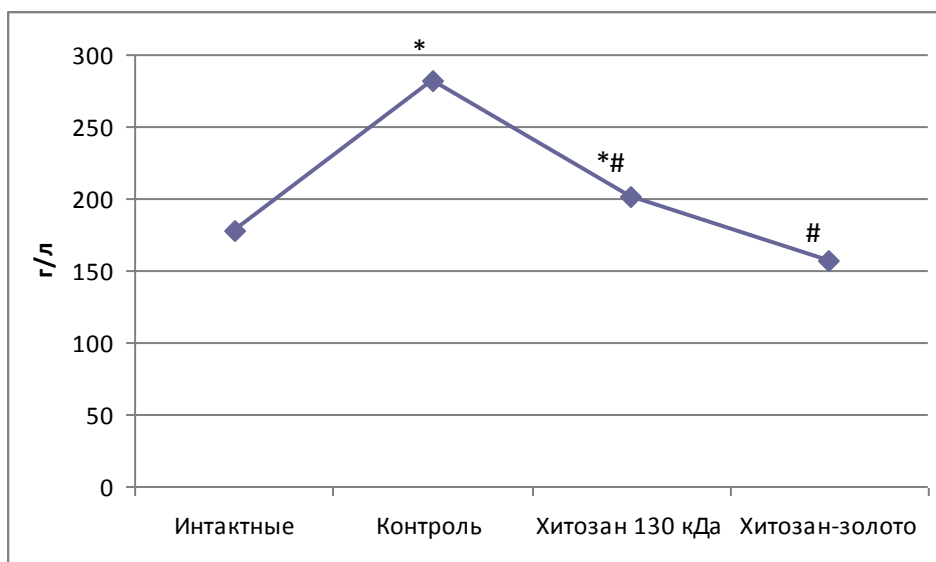
Это указывало, что животные контрольной группы находятся в состоянии стресса после

воздействия гипоксии. В группах животных получавших наноконкомплекс «хитозан-золото» и раствор хитозана с Mr 130 кДа данные показатели не отличались от соответствующих значений интактных животных и были близки к показателям нормы, что говорит об адаптогенных эффектах к условиям гипоксии как хитозана, так и наноконкомплекса.



**Рис. 5.** Содержание оснований Шиффа в плазме крови крыс при моделировании гипобарической гипоксии после курсового перорального введения хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото»

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.



**Рис. 6.** Концентрация гемоглобина (г/л) в периферической крови крыс при моделировании гипобарической гипоксии после окончания перорального введения хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото»

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

При гипоксии происходит усиление свободно-радикальных процессов. Одним из проявлений адаптогенной активности веществ следует считать их антиоксидантное действие, поскольку защита организма от разного рода повреждений в значительной степени связана и сопровождается повышением антиоксидантного потенциала организма (Яременко, 2008).



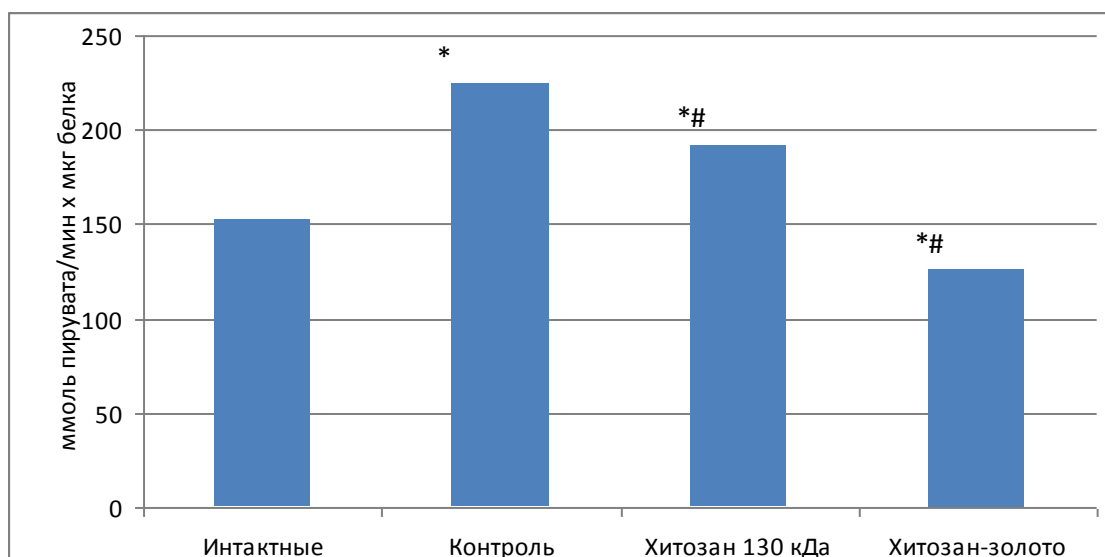
Основания Шиффа оказывают наиболее разрушительное действие на липидный бислой мембран. Содержание оснований Шиффа в плазме крови у животных контрольной группы и группы получавшей раствор хитозана было статистически значимо выше уровня данного показателя у интактных животных (в 5,8 и в 2,9 раз соответственно). Это указывало на состояние окислительного стресса у контрольных животных, подтверждая, что гипоксия сопровождается повреждающим действием на биологические мембраны. Содержание оснований Шиффа в опытной группе получавшей наноконкомплекс статистически значимо не отличалось от интактных, что еще раз подтверждает его антиоксидантные свойства (рис.5).

Известно, что одной из реакций животных на гипоксию является увеличение концентрации гемоглобина и количества эритроцитов.

Концентрация гемоглобина в контроле и группе получавшей раствор хитозана была статистически значимо выше данного показателя у группы «интактные», это указывает на развитие компенсаторной реакции в ответ на гипоксию (рис. 6). Тогда как в группе получавшей наноконкомплекс концентрация гемоглобина существенно не отличалась от значений интактных животных.

Для гипоксии характерно нарушение энергетического обмена, в частности метаболизма углеводов, а именно резкое усиление пути анаэробного гликолиза, помимо снижения количества синтезируемой АТФ, приводит к накоплению молочной кислоты. Накопление восстановленных эквивалентов в клетке ограничивает утилизацию лактата через окисление его в пируват. Существенному изменению при гипоксии подвергается активность лактатдегидрогеназы (Хватова, Мартынов, 1977). Наши исследования показали, что активность ЛДГ в контрольной группе и в группе получавшей раствор хитозана была выше соответственно в 1,5 и 1,2 раза по сравнению с интактными животными ( $p < 0.05$ ), что служило подтверждением нарушения аэробных энергетических процессов.

Низкая активность фермента ЛДГ в опытной группе «хитозан-золото» после гипоксии с большой долей вероятности указывала на переключение метаболизма по пути полного окисления пирувата в условиях дефицита кислорода (рис. 7).



**Рис.7.** Активность лактатдегидрогеназы (ммоль пирувата/мин x мкг белка) в плазме крови крыс через неделю после курсового перорального введения хитозана и наноконкомплекса «хитозан-золото» в условиях гипобарической гипоксии

*Примечание:* статистически значимые отличия: \* -  $p < 0.05$  по отношению к интактным животным; # -  $p < 0.05$  по отношению к контролю.

Изменение показателей крови, нарушение энергетического обмена, увеличение

процессов ПОЛ свидетельствуют о том, что гипоксия приводит к развитию стресса у контрольных животных. Профилактическое курсовое применение наноконплекса «хитозан-золото» повышает устойчивость организма животных перед гипоксией, приводя в соответствие индикаторные показатели периферической крови к параметрам нормы, снижая содержание конечных продуктов ПОЛ, уменьшая активность лактатдегидрогеназы. Раствор хитозана оказывает менее выраженное антигипоксическое действие по сравнению с наноконплексом. Это позволяет с высокой степенью вероятности предполагать, что адаптогенная антигипоксическая эффективность наноконплекса «хитозан-золото» определяется как хитозаном, так и золотом.

## **ВЫВОДЫ**

1. Профилактическое курсовое пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» перед гамма-облучением в дозе 5 Гр снижает повреждающее действие радиации на систему крови, нормализуя индикаторные показатели системы крови, уменьшая содержания продуктов перекисного окисления липидов в плазме крови, сокращая сроки восстановительных процессов.
2. Курсовое пероральное применение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» животным, предварительно облученным в дозе 5 Гр, оказывает адаптогенное действие на систему крови, переводя организмы из состояния стресса в состояние активации, уменьшая интенсивность свободно-радикальных процессов.
3. Предварительное курсовое пероральное введение хитозана и наноконплекса «хитозан-золото» приводит к повышению устойчивости крыс к гипобарической гипоксии, приводя индикаторные показатели крови к параметрам нормы, снижая интенсивность процессов перекисного окисления липидов, нормализуя активность лактатдегидрогеназы плазмы крови.
4. Адаптогенные эффекты наноконплекса «хитозан-золото» в условиях моделирования лучевого поражения и гипоксии выражены статистически более значимо по сравнению с хитозаном.

### **Список публикаций по теме диссертации.**

#### **В рецензируемых изданиях рекомендованных ВАК:**

1. Ешкова О.Ю. (Речкина О.Ю.). Терапевтические эффекты хитозана при костномозговой форме лучевой болезни у лабораторных животных // Ешкова О.Ю., Таламанова М.Н., Веселова Т.А, Мочалова А.Е., Корягин А.С. Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2010. № 2(2). С. 513-515.
2. Ешкова О.Ю. (Речкина О.Ю.). Адаптогенные эффекты наноструктурированного препарата «хитозан» в условиях действия неблагоприятных факторов // Ешкова О.Ю., Таламанова М.Н., Корягин А.С. Медицинский альманах: Мат-лы 10 научной сессии молодых ученых и студентов «Современное решение актуальных научных проблем в медицине» (17-18 марта 2011г Нижний Новгород). Н. Новгород, 2011. с. 214-215.
3. Ешкова О.Ю. (Речкина О.Ю.). Адаптогенные эффекты нанопрепарата «хитозан-золото» в условиях гипоксии // Корягин А.С., Мочалова А.Е., Саломатина Е.В., Смирнова Л.А. Ешкова О.Ю. Перспективные материалы 2012, № 5.

#### **В других изданиях и материалах конференций:**

4. Ешкова О.Ю.(Речкина О.Ю.) Влияние природного полимера хитозана на активность перекисного окисления липидов при экспериментальной форме лучевой болезни // Мат-лы 16 международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов»; (13-18 апреля 2009)(электронный ресурс). Москва, 2009. С. 15.

5. Eshkova O.Yu. (**Речкина О.Ю.**). Therapeutic efficiency of chitosan with different molecular weight on simulating radiation sickness// Mochalova A.E., Eshkova O.Yu., Koryagin A.S., Smirnova L.A. European polymer congress. 12-17 July, 2009. Gras, Austria, 2009. P. 237.
6. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**). Антиоксидантный эффект природного полимера хитозана при экспериментальной форме лучевой болезни // Ешкова О.Ю., Саломатина Е.В., Таламанова М.Н. Мат-лы 14-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (19-23 апреля 2010г. Пущино). 2010. С. 168.
7. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**) Биопрепарат «яд пчелы и хитозан» как радиопротектор // Таламанова М.Н., Ешкова О.Ю., Корягин А.С. Мат-лы XXI съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. Тезисы докладов. (19-25 сентября 2010 г. Калуга) 2010. С.591-592.
8. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**), Влияние высокомолекулярного хитозана на процессы пероксидации при радиопоражении / Ешкова О.Ю., Мочалова А.Е. Мат-лы III Всероссийского (с международным участием) конгресса студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз Россия 2010» (24-28 мая 2010 г. Нижний Новгород): Изд-во ННГУ, 2010. С. 130.
9. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**), Высокомолекулярный хитозан – эффективный антиоксидант // Ешкова О.Ю., Саломатина Е.В., Таламанова М.Н., Мочалова А.Е., Смирнова Л.А., Корягин А.С. Мат-лы 3-го научно-практического симпозиума «Свободнорадикальная медицина и антиоксидантная терапия» (12-14 мая 2010 года, Волгоград, Россия). Кислород и антиоксиданты. 2010. Вып. 2. С. 81-82.
10. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**) Влияние биопрепаратов хитозана на активность перекисного окисления липидов при профилактике лучевой болезни // Мат-лы 18 международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (11-15 апреля 2011 г, МГУ) (электронный ресурс). Москва, 2011. С. 255.
11. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**) Радиозащитное действие биополимера хитозана при профилактике лучевой болезни // Ешкова О.Ю., Таламанова М.Н., Корягин А.С. Мат-лы 15 школы-конференции «Биология-наука 21 в.» (18-22 апреля 2011 г. Пущино). Пущино, 2011. С. 184.
12. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**). Антигипоксический эффект наноконплекса “хитозан-золото” // Демина Е.И., Ешкова О.Ю., Корягин А.С., Ерлыкина Е.И... Мат-лы 6 российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (11-13 октября 2011). Патогенез 2011.Т. 9(3) С. 29.
13. Ешкова О.Ю. (**Речкина О.Ю.**) Адаптогенный эффект препарата хитозана в условиях гипобарической гипоксии // Дыдыкина В.Н., Ешкова О.Ю. Мат-лы XVI Международной экологической студенческой конференции "Экология России и сопредельных территорий" (28 - 31 октября 2011 г., НГУ). Новосибирск, 2011. С. 259.